



دراسة الكرب التأكسدي وفعالية بعض الانزيمات في سائل النخاع

الشوكي لدى الأطفال المصابين بمرض الاستسقاء الدماغي

الملخص

تضمن البحث دراسة حالة الكرب التأكسدي وفعالية بعض الانزيمات في سائل النخاع

ليلاس فرحان بديوي

سيران ستار صالح

لؤي عبد الهلالي

استاذ مساعد

استاذ مساعد

استاذ مساعد

Lelas77244@gmail.com

Sayran_university@yahoo.co

Luayhelaly@yahoo.com

قسم الكيمياء/كلية العلوم/ جامعة

m

قسم الكيمياء/كلية العلوم/ جامعة

الموصل

قسم الكيمياء/كلية العلوم/ جامعة

الموصل

كركوك

الشوكي لدى الأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي من خلال قياس (15) متغيراً من المتغيرات الكيموحيوية والتي تضمنت: إنزيم الأسيتايل كولين أستريز (AChE)، إنزيم البسيديو كولين أستريز (PChE)، إنزيم المونوأمين أوكسيديز (MAOA)، إنزيم اسبارتيت امينوترانسفيريز (AST)، إنزيم الانين امينوترانسفيريز (ALT)، إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP)، إنزيم الكرياتين كينيز (CK)، إنزيم لكتيت ديهيدروجينيز (LDH)، إنزيم سوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD)، حامض اليوريك (UA)، فيتامين D، البروتين الكلي (TP)، الألبومين (Alb)، السيرولوبلازمين (Cp) والمالوندايديهايد (MDA)، أجريت هذه الدراسة على (176) طفل مريض بالاستسقاء الدماغي (110) كانوا ذكوراً و(66) اناثاً و(67) طفلاً من الأصحاء (طفلاً من الأصحاء (39) كانوا ذكوراً و(28) اناثاً وتراوحت أعمارهم بين 1-14 شهراً.

أشارت النتائج الى ان هناك ارتفاع معنوي لدى الأطفال المصابين الأستسقاء الدماغي لكل من الانزيمات: AChE و PChE و MAOA و AST و ALT و ALP و CK و LDH في سائل النخاع الشوكي مقارنة مع الاصحاء ولكلا الجنسين، وهذا يدل بشكل واضح ان هناك تأثراً في وظائف جسم المريض بشكل عام.

بالإضافة الى ذلك، لوحظ ان هناك حالة كرب تأكسدي عالي لدى المرضى ولكلا الجنسين من خلال ملاحظة ان هناك ارتفاع معنوي في فعالية إنزيم SOD والبروتين الكلي والألبومين ومؤشر الاكسدة المالوندايديهايد ولكن هناك انخفاض معنوي في فيتامين D وحامض



اليوريك والسيرولوبلازمين في سائل النخاع الشوكي للمرضى مقارنة مع مجموعة الإصحاء
ولكلا الجنسين .

الكلمات الدالة: الاستسقاء الدماغى، الكرب التأكسدي، سائل النخاع الشوكي، انزيمات.

Studying of Oxidative Stress and Activity of Some Enzymes in Cerebrospinal Fluid from Children with Hydrocephalus Disease

***Luay Abed Al-Helaly**

Assit.Prof

Luayhelaly@yahoo.com

****Sayran Sattar Saleh**

Assit.Prof

Sayran_university@yah

***Lelas Farhan Bdaiwi**

Assit.Prof

Lelas77244@gmail.com



* Department of Chemistry / College of Science / Mosul University, Iraq

** Department of Chemistry / College of Science / Kirkuk University, Iraq

ABSTRACT

This research include studying the oxidative stress state and the activity of some enzymes in the cerebrospinal fluid (CSF) from children with hydrocephalus by the determination of (15) Biochemical parameters which include: Acetylcholinesterase (AChE), Pseudocholinesterase (PChE), Monoamin oxidase A (MAOA), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), Alkaline phosphatase (ALP), Creatinine kinase (CK), Lactate dehydrogenase (LDH), Superoxide dismutase (SOD), Uric acid (UA), Vitamin D, Total protein (Tp), Albumin (Alb), Ceruloplasmin (Cp), Malonodialdehyde (MDA), The study was done on (176) child with hydrocephalus (110) were male , (66) female and (67) healthy child as control group (39) were male and (28) female ,the age of children with hydrocephalus and control group ranged from 1-14 month for both sexes.

The results showed that there was a significant increase in the activity of AChE, PChE, MAOA, AST, ALT, ALP, CK and LDH in CSF for children with hydrocephalus compared with healthy group for both sexes, these result were indicated that these parameters may be good biochemical markers for this disease .

Beside of that, the results showed there was a highly oxidative stress in the patients for both sexes, so there was a significant increase in the activity of SOD, Tp, Alb and oxidant indicator of MDA, with a



significant decrease in vit. D, uric acid and Cp levels in CSF patients compared with healthy group for both sexes,

Keywords: Hydrocephalus, Cerebrospinal fluid, Oxidative stress, Enzymes

المقدمة

ان المستويات العالية لمركبات الاكسدة الفعالة التي تنتج داخل الجسم تكون مرتبطة بنقصان أو ضعف ميكانيكيات مضادات الأوكسدة وبالتالي يؤدي الى حدوث حالة الكرب التأكسدي والذي يعمل على تضرر المركبات الحيوية من البروتينات والدهون والأحماض النووية وخاصة الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) وما يتبعها من خلل في وظائف الخلايا الحيوية المختلفة [1]. والكرب التأكسدي يلعب دور مهم في مختلف انواع الأمراض العصبية وغير العصبية مثل الزهايمر، مرض هونتيناكن، التصلب المتعدد، مرض باركنسون،



تصلب الشرايين، التوحد، السرطان، عجز القلب، احتشاء عضلة القلب، كما يسبب الكرب التأكسدي دور مهم كمسبب وفي تفاقم الأمراض المزمنة [2] إضافة الى تلك الامراض فأن زيادة الاكسدة يمكن ان يؤثر على مرض الاستسقاء الدماغى Hydrocephalus الذي يعرف بأنه تجمع غير طبيعى لسائل النخاع الشوكى في البطينيات Ventricles وتحت العنكبوتية Subarachnoid في الدماغ والذي يكون غالباً مرتبط بزيادة الضغط داخل الدماغ، ويشخص بإفراز ودوران وامتصاص غير طبيعى لسائل النخاع الشوكى [3]. وسبب المرض هو قلة امتصاص سائل النخاع الشوكى أو زيادة انتاج سائل النخاع الشوكى وهذا النوع عادة يصيب الأطفال [3,4].

ان السائل النخاع الشوكى عبارة عن سائل صافى عديم اللون وهو احد سوائل الجسم الناقلة ويتم افرازه في البطينيات وتحت العنكبوتية ويحيط بالدماغ والحبل الشوكى، اذ له وظائف حيوية مهمة كالوظائف المناعية، وفيزيائية الميكانيكية والدفاعية وله دور مهم في التوازن الكيمياءى للجسم [5]، وقد تم استخدامه لمعرفة حالة الاكسدة ومضادات الاكسدة لدى مرضى الاستسقاء الدماغى في الأطفال لإعطاء الدقة في تحديد الحالة التأكسدية في اجسام المرضى فضلا عن معرفة حالة الانزيمات وتأثرها بالمرض، اذ تم قياس إنزيمات الكولين أستريز التي هي عبارة عن عائلة من الإنزيمات التي تحفز التحلل المائى للناقل العصبى الأستينيل كولين (ACh) الى كولين وحامض الأستيك وهذا التفاعل ضروري للسماح للخلايا العصبية للعودة الى حالة الأسترخاء بعد التحفيز، وتتضمن نوعين من الإنزيمات هي: إنزيم الأستينيل كولين أستريز (AChE) وإنزيم البسيديو كولين أستريز (PChE) [6]. وقدر ايضا إنزيم MAOA الذي له دور مهم في النظام الأدرينالين ولوحظ ان الإنزيم يكون مرتبط بالجانب العاطفي والفعالية العقلية للإنسان [7]، واستخدمت مثبطات الانزيم لعلاج العديد من الامراض العصبية مثل مرض باركنسون والزهايمر وغيرها وان المواد الاساس لهذا الإنزيم لها دور فعال في الأوعية الدموية [8]، كما وتلعب الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين (AST و ALT) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) والكرياتين كينيز (CK) وانزيم لاكتيت ديهيدروجينيز (LDH) ادوار مهمة في اداء العديد من الوظائف الحيوية للأعضاء المختلفة في الجسم وخاصة تقييم لوظائف الكبد والقلب والانسجة العضلية لدى مرضى الاستسقاء الدماغى في الأطفال [9].

بالإضافة الى ذلك لدراسة حالة الكرب التأكسدي لدى المرضى فقد استخدم قياس إنزيم SOD الذي له دور مهم في تنظيم مختلف التفاعلات الحيوية عن طريق اشتراكه بعملية الأكسدة



والاختزال وعند غياب هذا التنظيم سيؤدي ذلك الى العديد من الاعتلالات الايضية مثل خلل او تثبيط النفاذية الوعائية وتجمع الصفائح الدموية والالتهابات الوعائية واعادة تشكيل الاوعية او تغيير شكل الاوعية التي تشير الى منع تولد الاوعية بالإضافة الى العديد من الحالات المرضية الوعائية مثل تصلب الشرايين وضغط الدم [10,11]. واستخدم قياس فيتامين D الذي يحمي الاعصاب بعدة طرق مختلفة حيث انه يوجه في عملية التنظيم المناعي ومضاد للأكسدة والعوامل المضادة لفقر الدم الموضعي والعوامل التغذوية العصبية والنواقل العصبية مثل الأسيتايل كولين، كما يساعد فيتامين D على تخليص الجهاز العصبي من بيتيد بيتا- أميلويد β -Amyloid الذي له تأثير سمي على الاعصاب وأيضاً له دور في منع ارتفاع مستوى هرمونات الغدة الدرقية [12]. أن المستويات غير المنتظمة لحمض اليوريك لوحظت في بعض الامراض العصبية والنفسية على سبيل المثال سجلت مستويات مرتفعة من حامض اليوريك في مصل دم مرضى حالات الصرع، وامراض ثنائية الذهان Bipolar disorder بينما سجلت مستويات منخفضة عند مرضى باركنسون والتصلب المتعدد والزهايمر وانفصام الشخصية والتهاب الاعصاب البصرية Optic neuritis [13]. ويلعب السيرولوبلازمين دور مهم في توازن الحديد داخل الخلايا ويحمي الانسجة من الكرب التأكسدي، وقد تم ملاحظة نقصان واضح في مستويات السيرولوبلازمين في سائل النخاع الشوكي عند مرضى باركنسون [14]. وقد لوحظ في دراسات سابقة ان مستويات الـ MDA تكون عالية في الدماغ عند ازدياد التوتر نتيجة القيام بالفاعليات اليومية أو نتيجة قلة النوم بشكل كبير حيث ان الـ MDA احد أهم نواتج الاكسدة في الدماغ وتأثيره على فاعليات ووظائف الدماغ تأتي من قدرته على اضعاف الوظائف العصبية نتيجة تأثره بالكرب التأكسدي اذ يعمل على فقدان التوازن بين الخلايا العصبية المنشطة للتفاعلات الحيوية المختلفة وبين الخلايا المثبطة للتفاعلات الحيوية [15]. تهدف الدراسة الحالية الى دراسة الكرب التأكسدي في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغى ودراسة تأثير هذا المرض على فاعلية بعض الانزيمات في سائل النخاع الشوكي ومقارنتها مع قيمها في الأطفال الأصحاء وامكانية استخدام المتغيرات الحيوية المذكورة في الدراسة كمؤشرات حيوية لتتبع تفاقم وشدة المرض .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات:



جمعت عينات سائل النخاع الشوكي من المرضى والأصحاء تحت إشراف أطباء متخصصين في مستشفى اربيل التعليمي ومستشفى رابرين للأطفال محافظة اربيل ودونت جميع المعلومات المطلوبة، تضمنت العينات لمرضى الاستسقاء الدماغي بأعداد (176) عينة من سائل النخاع الشوكي والتي شملت (110) عينة من الذكور و(66) عينة من الاناث الذين تراوحت أعمارهم (1-14) شهر، وقد جمعت عينات من أطفال أصحاء بأعداد (67) عينة وشملت (39) عينة من الذكور و(28) عينة من الاناث ضمن نفس الفئة العمرية كمجموعة سيطرة، وتم جمع العينات من شهر ايار الى شهر تشرين الاول لسنة 2016 . تم الحصول على عينات سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي باشراف اطباء متخصصين اثناء اجراء عملية ادخال الصمام او ما يعرف بـ Shunt اما عينات مجموعة السيطرة فتم سحب سائل النخاع الشوكي بعد تعقيم المنطقة بين الفقرتين الثالثة والرابعة وادخال سرنجة خاصة في تلك المنطقة داخل القناة الشوكية ومن ثم سحب السائل وتسمى تلك الطريقة لعملية السحب بالبزل القطني Lumbar puncture [16]. بعد اخذ السائل يتم اجراء عملية طرد مركزي له عند سرعة (7000 x g) لمدة (5) دقائق وذلك للحصول على السائل بشكله الرائق واجراء بعض الفحوصات بشكل مباشر وحفظ ما تبقى من السائل فيما بعد بالتجميد عند درجة حرارة °C -20- لحين اجراء بقية الفحوصات الكيموحيوية عليه، اذ كان حجم سائل النخاع الشوكي لمرضى الاستسقاء الدماغي ما بين (5-8) مليلتر وبتحليل (5) مليلتر لمجموعة الأصحاء .

التحليل الإحصائي:

استخدام البرنامج الإحصائي SPSS 17 لتحديد المعدل Mean والانحراف القياسي للمعدل Standard Deviation (SD) ، وتم استخدام اختبار t (t-test) للمقارنة بين متغيرين وإيجاد الاختلاف بين القيم التي ظهرت من خلال قيمة الاحتمالية p-) p-value (والتي عُدت عند $(p \leq 0.05)$ اختلافاً معنوياً Significant وعند $(p > 0.05)$ اختلافاً غير معنوي [17].

طرائق قياس المتغيرات المقاسة في البحث :



إن المواد الكيميائية المستخدمة لعمليات القياس مجهزة من شركات عالمية مختلفة، كما استخدمت عدة قياسية جاهزة Standard kits من شركة BIOLABO الفرنسية لقياس المتغيرات: إنزيمات الترانس امينيز (ALT و AST) وفوسفاتيز القاعدي (ALP) والكرياتنين كاينيز (CK) ولاكتيت ديهيدروجينيز (LDH) وحامض اليوريك والألبومين كما استخدمت عدة قياسية جاهزة من شركة Randox الانكليزية لقياس البروتين الكلي اما بقية المتغيرات الأخرى فقد استخدمت طريق يدوية Manual methods لقياسها. إذ استخدمت طرائق قياس المتغيرات المحددة كما موضح ادناه:

تم قياس فعالية كل من انزيمي AChE و PChE حسب طريقة الباحث Ellman [18]، اما انزيم MAO فقيست فعاليته حسب طريق الباحثين Buffoni and Blaschko [19] ، وفعالية كل من انزيمي AST و ALT فتم قياسها حسب طريقة الباحثين Reitman and Frankel [20] ، اما انزيم ALP فقيست فعاليته حسب طريقة الباحثين Kind and King [21] ، وانزيم CK قيست فعاليته حسب طريقة الباحثين Sanhai and Christenson [22]، اما انزيم LDH فقيست فعاليته حسب طريقة الباحثين Klin and Klin [23]، وانزيم SOD قيست فعاليته حسب طريقة الباحثين Brown and Goldstein [24] ، وتم قياس مستويات فيتامين D حسب طريقة الباحث Heijboer [25]، اما حامض اليوريك فتم قياس مستوياته حسب طريقة الباحثين Burtis and Ashwood [9] اما مستويات البروتين الكلي فتم قياسها باستخدام طريقة الباحث Mazeikiene and Kaminskas [26] ومستويات الالبومين فتم قياسها حسب طريقة الباحث Dumas [27] ، ومستويات اليوروبلازمين فتم قياسها حسب طريقة الباحثين Sunderman and Nomato [28] اما مستويات المالنالديهيد فتم قياس مستوياته حسب طريقة الباحثين Guidet and Shah [29].

النتائج والمناقشة

مقارنة فعالية الإنزيمات في سائل النخاع الشوكي لمرضى الاستسقاء الدماغى ومقارنتها مع مجموعة الاصحاء لكلا الجنسين وحسب الفئات العمرية:

١- إنزيم الأسيتايل كولين أستريز (AChE):

اشارت النتائج الموضحة في الجدول (2) الى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) لفعالية إنزيم الأسيتايل كولين أستريز في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغى و لكلا الجنسين مقارنة مع الأطفال الأصحاء وظهرت لدى الذكور اعلى من الإناث واتفقت هذه



النتيجة مع دراسة سابقة للباحث Martins واخرين [30]، فضلا عن ذلك فإن النتيجة متفقة مع دراسات سابقة ايضا التي لوحظ فيها ارتفاع في فعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي لكل من الأطفال المصابين بالسحايا [31] ومرضى الزهايمر [32] وهذا الارتفاع يعود للدور الفعال للإنزيم في تكوين وانحلال الاعصاب وبالتالي دور مهم في مرض الزهايمر [33] وغيرها من الامراض العصبية.

حيث استخدمت مثبتات هذا الإنزيم على نطاق واسع في معالجة العديد من الامراض العصبية مثل مرض الزهايمر واعتلال الوهن العضلي Myasthenia ومرض باركنسون ومرض التوحد Autism [33]. ويعد الانزيم مؤشراً حيوياً لمتابعة تطور مرض الزهايمر ولمعرفة نسبة التسمم العصبي نتيجة التعرض للمبيدات الحشرية وللتأثير السمي للأدوية [34]. وأشارت العديد من الدراسات ان مستويات الإنزيم تزداد اثناء الموت المبرمج في مختلف انواع الخلايا حيث ان الكرب التأكسدي يحفز قشرة الغدة التوتية Thymus gland على افراز الإنزيم [33].

٢ - إنزيم البسيديو كولين أستريز (PChE):

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (٢) ان فعالية إنزيم البسيديو كولين أستريز قد ارتفعت ارتفاعا معنويا عاليا ($p \leq 0.001$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين مقارنة بالأصحاء وارتفاعه في الذكور اكثر من الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة للباحث Margalit [35] فضلا عن ذلك فقد كانت النتائج متفقة مع نتائج دراسات سابقة التي أشارت الى ارتفاع في فعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي في العديد من امراض الجهاز العصبي للأطفال [36] ان من اهم الميكانيكيات التي توضح سبب ارتفاع فعالية الإنزيم هي الالتهابات التي تصيب الجهاز العصبي المركزي والجهاز الأودي Parasympathetic حيث يعد ارتفاع فعالية هذا الإنزيم مؤشراً على حدوث الالتهاب [37]، على الرغم من ذلك لم توضح بالضبط آلية اطلاق وارتفاع الإنزيم، لكن قد يعود سبب الارتفاع الى التضرر الحاصل للخلايا وأطلاق محتويات الخلايا، أو الى الخلل الجيني الذي يكون سبب المرض والتي تؤثر على التعبير الجيني للإنزيم ويمكن ان تسبب زيادة مستوياته وبالتالي ارتفاعه.

٣- إنزيم المونوأمين أوكسيديز (MAOA):



أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٢) الى ارتفاع فعالية إنزيم المونوأمين أوكسيداز A ارتفاعا معنويا عاليا ($p \leq 0.001$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين، وان مستواه في الذكور اعلى من الإناث وقد يعود السبب في ذلك الى هورمون الأستروجين الذي يعمل على تقليل مستويات الإنزيم في مناطق مختلفة من الدماغ [38]. فضلا عن ذلك لوحظ ان النتائج متفقة مع نتائج دراسات سابقة التي أشارت الى ارتفاع فعالية الإنزيم في مصل دم مرضى الاختلال العقلي Psychosis [39]. توجد دراسات عديدة أشارت الى الدور العلاجي لمثبطات المونوأمين أوكسيداز في علاج مرض الزهايمر [40] حيث تعتمد الميكانيكية التي يعمل بها مثبطات إنزيم MAOA غير العكسية او التي تعرف بالانتحارية مثل Clorgyline or selegiline على ارتباط هذه المثبطات مع العامل المساعد المسمى الفلافين ادنين ثنائي النيوكليوتيد FAD هذا الارتباط يجعل الإنزيم مرتبط كمواد اساس مع المثبط وعندما يحدث هذا التفاعل يتكون مركب وسطي فعال الذي يتحلل بشكل لاعكسي وبذلك يمنع التفاعلات اللاحقة للإنزيم ويوقف عمله [38]، كما ان الفعالية العالية للإنزيم تؤدي الى تجمع ببتيد البيتا اميلويد ($A\beta$) الذي له تأثير سمي على الاعصاب والذي يسبب تشابك الالياف العصبية وتدمير الاعصاب وبالتالي حدوث الامراض العصبية المختلفة [41].

الجدول 2 : فعالية الإنزيمات أسيتايل كولين استريز وبسيدوكولين أستريز ومونوأمين أوكسيداز A في سائل النخاع الشوكي لمرضى الاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين.

تركيز الإنزيم في سائل النخاع الشوكي (المعدل + الانحراف القياسي)				فعالية الإنزيمات
الذكور		الإناث		
المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	
* 3.93 ±23	0.87 ±8.617	* 4.6 ± 21.88	±8.57	أسيتايل كولين أستريز



			0.72	(نانومول/ملييلتر/دقيقة)
25.8 ±141.4 **	8.7 ±66.89	19.6 ±123 **	±64.9 10.03	بسيديوكولين أستريز (نانومول/ملييلتر/دقيقة)
13.3 ± 129.2 **	8.7 ±39.3	15.7 ±118.4 **	±37.16 6.9	مونوأمين أوكسيديز A (وحدة عالمية / لتر)

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.001$.

٤- إنزيمات الترانس أمينيز (ALT-AST) :

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٣) الى ارتفاع فعاليات إنزيمي AST و ALT ارتفاعاً معنوياً ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي لكلا الجنسين وفي الذكور اعلى من الاناث وهذه النتائج كانت متفقة مع دراسات سابقة التي أشارت الى ارتفاع فعالية الإنزيم في مصل دم مرضى الجلطة الدماغية [42] ، وقد يعود سبب الارتفاع الى الخاصية الدفاعية لهذه الإنزيمات لحماية الجهاز العصبي اذ تعمل هذه الإنزيمات على أراحه الكلوتامين الذي له تأثير سمي على الاعصاب، حيث ترتبط التراكيز العالية من الكلوتامين في سائل النخاع الشوكي مع بعض الاضطرابات أو الامراض العصبية وتعد مؤشرا على تدهور حالة المريض، وفي الآونة الاخيرة ظهرت علاجات جديدة لمرضى الجلطة الدماغية تتضمن تحفيز إنزيمات الترانس أمينيز أو مزج جرع معينة من الأوكزالواستيت مع إنزيم كلوتاميت أوكزالواستيت ترانس امينز المهجن (rGOT) وتعمل هذه العلاجات على التقليل من تركيز الكلوتامين [43] .

٥- إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٣) الى ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين وان مستوى الإنزيم في الذكور اعلى من الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة للباحث Turan واخرين [44] من جانب اخر لوحظ ان هذه النتائج متفقة مع نتائج بحوث سابقة التي



أشارت الى ارتفاع مستويات الإنزيم في مصل مرضى الزهايمر [45] ومرضى الأوعية الدماغية الصغيرة [46].

يوجد إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في الدماغ وفي الخلايا الطلائية وفي جدران الاعصاب وفي الوصلات العصبية المتشابكة Synapses interlocking ويلعب دورا مهما في تعزيز المرونة Flexibility وفعاليات القشرة الدماغية Cerebral cortex واي تغير يحدث في فعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي يكون نتيجة لتضرر انسجة الدماغ وفقدان الاعصاب، وان ارتفاع مستويات الإنزيم أو فعاليته ترتبط عكسيا مع الفعاليات الادراكية Cognitive events [47].

٦- إنزيم الكرياتين كينيز (CK):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٣) ان فعالية إنزيم الكرياتين الكينيز قد ارتفعت وبشكل معنوي ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغية ولكلا الجنسين وفي الذكور اعلى من الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة [47]، ومن جانب اخر فقد وجد ان هذه النتائج متفقة مع نتائج سابقة التي أشارت الى ارتفاع فعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي لمرضى التلف الدماغية الولادي Congenital brain damage [48]، وكذلك في مرضى انعدام الدماغ الفيروسي Viral anencephaly ومرضى الالتهاب السحايا البكتيري Bacterial meningitis [49] وفي مصل دم المرضى الذين يعانون من الالام في العضلات [47]. ان الميكانيكية التي توضح المستويات العالية من الكرياتين كينيز هي ازدياد قابلية تحطم جدران الخلايا نتيجة انخفاض مستويات الكوليستيرول وتثبيط انتاج الايزوبرين الذي يعد الخطوة الاساسية لتكوين بروتينات اغلفة الخلايا ونضوب اليوبيكيون Ubiquinone والتي تؤدي الى فقدان المايتوكوندريا لوظائفها [47].

٧- إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز (LDH):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (3) الى ارتفاع معنوي ($p \leq 0.001$) لفعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغية ولكلا الجنسين وهذه النتائج كانت متفقة مع دراسة للأطفال حديثي الولادة المصابين بأمراض الجهاز العصبي الولادية مثل النزف البطيني الداخلي التلف الدماغية الاختناقي Postasphyxial encephalopathy [49].



يكتسب هذا الإنزيم الكثير من الاهتمام من قبل العلماء لما له من دور تشخيصي وعلاجي للكثير من الامراض اذ يستخدم في علاج مختلف انواع السرطانات والامراض العصبية [46] ويعود سبب زيادة فعالية الإنزيم في سائل النخاع الشوكي لمرضى الاضطرابات العصبية المختلفة اما الى زيادة انتاجه من قبل كريات الدم البيض [50] او نتيجة الخلل الحاصل لحاجز الدماغ - الدم (BBB) وبذلك يسمح لجزيئات اللاكتيت ديهيدروجينيز بالعبور من البلازما الى سائل النخاع الشوكي، حيث ان وظيفة هذا الحاجز هي الحفاظ على التوازن بين بيئة الجهاز العصبي وبيئة بقية الجسم الخارجية والخلل الذي يصيب هذا الحاجز يكون نتيجة الالتهابات المصاحبة للأمراض العصبية وبذلك يفقد وظيفته في الحفاظ على التوازن [51].

الجدول ٣ : فعالية الإنزيمات (AST و ALT و ALP و CK و LDH) في سائل النخاع الشوكي لمرضى الاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين.

تركيز الإنزيم في سائل النخاع الشوكي (المعدل ± الانحراف القياسي)				فعالية الإنزيمات (وحدة عالمية / لتر)
الذكور		الإناث		
المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	
* 1.6 ±16.4	* 1.2 ±8.1	* 2.4 ±14.8	1.2 ±7.8	إنزيم AST
* 1.5 ±9.0	1.8 ±4.5	* 2.1 ±8.0	1.2 ±4.2	إنزيم ALT
* 1.3 ±18.7	2.24 ±10.2	* 2.2 ± 15.9	1.8 ±9.88	إنزيم ALP
* 2.1 ±8.54	0.82 ±2.78	* 1.5 ±7.23	0.5 ±2.51	إنزيم CK
** 14.3 ±112.8	5.9 ±63.9	** 9.8 ±108.6	4.8 ±61.4	إنزيم LDH

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.001$.

مقارنة مستويات بعض مضادات الأكسدة في سائل النخاع الشوكي لمرضى الاستسقاء الدماغي لدى الأطفال مع الأصحاء ولكلا الجنسين:

١- إنزيم سوبر أوكسايد ديسميوتيز (SOD):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٤) وجود ارتفاع فعالية إنزيم سوبر أوكسايد ديسميوتيز وبشكل معنوي ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي ولكلا الجنسين مقارنة مع الأصحاء وان فعالية الإنزيم في الذكور اعلى منه في الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة للباحث Hisalkar واخرين [52] وقد يعود سبب ارتفاع فعالية



انزيم السوبر اوكسيد ديسموتيز الى الدور الوقائي لهورمون الاستروجين في الحماية من الكرب التأكسدي [53]. ومن جانب اخر فان هذه النتائج كانت متفقة مع دراسات سابقة التي أشارت الى ارتفاع مستويات هذا الإنزيم في سائل النخاع الشوكي لأمراض اخرى مثل مرضى التصلب الجانبي الضموري (ALS) Amyotrophic lateral sclerosis ومرضى الزهايمر (AD) اذ تشير المستويات العالية من الإنزيم الى التلف والتضرر في الاعصاب والالتهابات في الجهاز العصبي المركزي [54]، للكرب التأكسدي دور مهم في تفاقم العديد من الامراض العصبية مثل الصرع Epilepsy وغيرها [55]، وبما ان إنزيم SOD أحد أهم الانظمة الدفاعية في الجسم وله دور فسيولوجي مهم في الحفاظ على الخلايا من التلف ومقاومة السمية الناتجة عن التراكم العالية لمركبات الاكسدة فان مستوياته ترتفع في محاولة لمقاومة الضرر الناتج عن التراكم العالية من مركبات الأوكسجين الفعالة [54].

٢- فيتامين D:

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (٤) الى انخفاض في مستويات الفيتامين في سائل النخاع الشوكي وبشكل معنوي ($p \leq 0.05$) للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي وفي كلا الجنسين مقارنة مع الأصحاء وان مستويات الفيتامين في الذكور اقل من مستوياته في الإناث وهذا يتفق مع نتائج الباحث Yousefzadeh واخرين [56] حيث وجد ان مستويات فيتامين D المرتبط مع البروتين Vitamin D binding protein (DBP) في الإناث اعلى من الذكور وقد يعود سبب ذلك الى تأثير الهورمون الانثوي الاستروجين على الفيتامين المرتبط بالبروتين [56]. بالاضافة الى ذلك فان هذه النتائج متفقة مع نتائج دراسات لمرضى الزهايمر في سائل النخاع الشوكي ايضاً [12]، وارتبطت انخفاض مستويات فيتامين D ايضاً بالعديد من الامراض العصبية مثل الصرع وانفصام الشخصية والزهايمر ومرض باركنسون كما ارتبطت بزيادة مستويات الساييتوكينات المسببة للالتهاب ونقصان الساييتوكينات المضادة للالتهاب، وقد يعود الانخفاض الحاصل في مستويات فيتامين D الى الخلل الحاصل في مستقبلات فيتامين D Vitamin D receptors (VDR) التي هي عبارة عن بروتينات منتشرة في الدماغ اذ يظهر فيتامين D فعاليته البيولوجية بعد ارتباطه بهذه المستقبلات ومن ثم تحدث استجابة مناعية وبالتالي حدوث استجابة جينية [57].

٣- حامض اليوريك (UA):



أوضحت النتائج المشار لها في الجدول (4) ان مستويات حامض اليوريك قبل انخفاضت بشكل معنوي ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغى ولكلا الجنسين وان مستوياته فى الذكور اعلى من الإناث وهذا ما لوحظ فى بعض الدراسات الحديثة [58] ، ومن جانب اخر كانت هذه النتائج متفقة مع نتائج بحوث لمرضى الجلطة الدماغية الحادة Acute ischemic stroke التي قيس فيها مستوى حامض اليوريك فى السائل النخاع الشوكى [59].

تشير بعض دراسات الاخرى الى العلاقة العكسية بين مستويات حامض اليوريك وبين تفاقم أو تطور المرض [60] ولوحظ ايضا ان المستويات العالية من حامض اليوريك فى مصل دم النساء المصابات بالزهايمر تؤثر على المتغيرات الكيموحيوية فى سائل النخاع الشوكى . كما أشارت دراسات اخرى الى الدور العلاجى والوقائى لحامض اليوريك كونه مضاداً للأكسدة وله دور فى حماية الانسجة من التلف وذلك باستخدام مواد تعمل على تحفيز زيادة مستويات حامض اليوريك المستخدمة فى علاج العديد من الامراض العصبية مثل انفصام الشخصية Schizophrenia والاختلال العقلى الحاد Acute Psychosis [13]. إذ إن لحامض اليوريك القابلية على تثبيط عملية بيروكسيد الدهن، وذلك عن طريق ارتباطه مع الحديد او النحاس اللذين يمكن ان يشاركا فى تكوين الأكسدة عن طريق تفاعل فينتون، ومن ثم يثبط عملية تكوين الجذور الحرة [61] .

٤- البروتين الكلى (Tp) :

أشارت النتائج الموضحة فى الجدول (٤) الى ارتفاع مستويات البروتين الكلى فى سائل النخاع الشوكى للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغى ولكلا الجنسين وان مستواه فى الذكور اعلى من الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة للباحثين [62] وقد يعود سبب ذلك الى زيادة شدة المرض فى الذكور، فضلا عن ذلك اوضحت هذه النتائج انها متفقة مع دراسات سابقة التي أشارت الى ارتفاع مستويات البروتين الكلى فى سائل النخاع الشوكى لمرضى التصلب الجانبي الضمورى [54] وفى مختلف الامراض العصبية، والالتهابات والاصابات فى الجهاز العصبى المركزى حيث يعد ارتفاع مستويات البروتين الكلى دليلا على حدوث التهاب فى الجهاز العصبى المركزى وتضرر الاعصاب [63]، وربما يعد الانسداد الموجود فى البطينيات الدماغية والذي يعيق سريان سائل النخاع الشوكى سبباً فى زيادة مستويات البروتين الكلى [64].

٥- الألبومين (Alb):



أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (٤) الى ارتفاع مستويات الألبومين وبشكل معنوي ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغى وفي كلا الجنسين وان مستواه في الذكور اعلى من الإناث وهذا يتفق مع دراسة سابقة للباحث Weaving وآخرين [65] والذي قد يعود السبب الى الاختلاف في الهرمونات الجنسية بين الجنسين واختلاف تأثيراتها خلال مراحل النمو [66]. كما لوحظ ان هذه النتائج متفقة مع نتائج مرضى التصلب المتعدد Multiple sclerosis في سائل النخاع الشوكي [67] والمصابين بمرض باركنسون [68].

قد يعود سبب ارتفاع مستويات الألبومين الى الخلل الذي يصيب حاجز الدماغ - الدم (BBB) حيث تشير المستويات العالية من الألبومين في سائل النخاع الشوكي الى حدوث التهاب في الجهاز العصبي المركزي [69] أو يعود سبب الارتفاع الى زيادة بناءه في الجهاز العصبي المركزي ، أو الى فعل إنزيم البروتيز على الخلايا المناعية وأشارت دراسات اخرى الى ان التحكم بمستويات الألبومين قد يمنع حدوث الامراض العصبية وبهذا تعد طريقة علاجية [70]، اذ ان للألبومين دور حيوي مهم بوصفه مضادا للأكسدة حيث له القابلية على الارتباط بالمعادن مثل الحديد والنحاس وبذلك يقلل من فعاليتها والحد من الكرب التأكسدي [67].

الجدول 4: مستويات مضادات الاكسدة المختارة في سائل النخاع الشوكي لمرضى سرطان الدم الحاد من الإناث لمرضى الاستسقاء الدماغى ولكلا الجنسين.

مستويات مضادات الاكسدة (المعدل \pm الانحراف القياسي)				مضادات الأكسدة
الذكور		الإناث		
المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	
0.06 ± 0.8 *	0.05 ± 0.23	0.06 ± 0.75 *	± 0.21 0.069	إنزيم SOD (وحدة /مليتر)



* 0.63 ±9.8	0.86 ±14.5	* 1.02 ±10.8	±15.0 1.49	فيتامين D (نانومول/لتر)
* 0.11 ±0.19	0.15 ±0.3	0.051 ±0.14 *	±0.25 0.07	حامض اليوريك (ملي مول/لتر)
** 0.057 ±2.58	0.2 ±0.85	* 0.058 ±2.4	±0.83 0.09	البروتين الكلي (غرام/لتر)
* 0.18 ±1.79	0.16 ±0.79	* 0.26 ±1.75	±0.76 0.23	الألبومين (غرام/لتر)
* 0.017 ±0.087	0.18 ±0.17	* 0.02 ±0.09	±0.175 0.02	السيرولوبلازمين (غرام/لتر)
** 0.04 ±0.39	0.02 ±0.12	0.04 ±0.29 **	±0.11 0.02	المالوندايالديهيد(مايكرومو ل/لتر)

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.001$.

٦- السيرولوبلازمين (Cp):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٤) الى انخفاض معنوي في مستويات السيرولوبلازمين ($p \leq 0.05$) في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي وفي كلا الجنسين مقارنة مع الأصحاء مع الإشارة الى ان مستويات Cp في سائل النخاع الشوكي للذكور اقل من الإناث وهذا متفق مع دراسات سابقة اشارت الى ان التعبير الجيني للبروتينات المضادة للأكسدة في الإناث بشكل يتلائم ومقاومتها للكرب التأكسدي [71]. من جانب اخر لوحظ ان هذه النتائج كانت متفقة مع نتائج بحوث سابقة لأمراض اخرى التي اشارت الى انخفاض معنوي في مستويات السيرولوبلازمين في سائل النخاع الشوكي لمرضى باركنسون [14] وفي سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بداء الكيسات المذنبة العصبية [72].



قد يعود سبب الانخفاض في السيرولوبلازمين الى الكرب التأكسدي العالي الموجود في

سائل النخاع الشوكي المصاحب لمرض الاستسقاء الدماغي [14] ان قلة مستويات السيرولوبلازمين تؤدي الى فقدان فعاليته كفيرواكسيداز [73] وهذا يؤدي الى ترسب أو تجمع الحديد في الجهاز العصبي المركزي وبالتالي زيادة الكرب التأكسدي وزيادة تسمم الاعصاب وضعف الإشارات العصبية فضلا عن فقدان المايوتوكوندريا لوظائفها، حيث وجدت علاقة عكسية بين تراكيز الحديد في سائل النخاع الشوكي والبروتينات المرتبطة بالنحاس مثل السيرولوبلازمين [74]. وأشارت الدراسات الحديثة الى استخدام السيرولوبلازمين في معالجة العديد من الامراض العصبية بوصفه مضاداً للأكسدة ويحمي الانسجة من التلف [14].

٧- مستوى مؤشر عملية الاكسدة (المالوندايالديهيد(MDA)):

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (٤) الى ارتفاع معنوي عالي ($p \leq 0.001$) في مستويات المالوندايالديهيد في سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بالاستسقاء الدماغي و لكلا الجنسين واتفقت هذه النتيجة مع نتائج سابقة أشارت الى ارتفاعه في مصل دم وسائل النخاع الشوكي لمرضى التصلب المتعدد ومتلازمة كولين باري (Guillain–Barré (GBS) syndrome [75]، وكذلك اتفقت النتائج مع المالوندايالديهيد المقاس في عينة مصل دم لمرضى اصابات الدماغ البالغة [76] وفي سائل النخاع الشوكي للأطفال المصابين بمرض التهاب الاعصاب [72]. يعد المالوندايالديهيد أحد اهم مركبات الأكسدة السامة الذي ترتفع مستوياته بشكل كبير في مختلف الامراض العصبية حيث له القابلية على الارتباط مع القواعد النيتروجينية للأحماض النووية مسبباً حدوث طفرات وبالتالي حدوث العديد من الامراض المختلفة والعصبية منها [77]، والمالوندايالديهيد يؤثر على نفاذية اغشية الخلايا وعلى التركيب الحيوي لحاجز الدماغ - الدم وبالتالي حدوث خلل في وظيفة هذا الحاجز وهذا سبب تغيير تراكيز العديد من المتغيرات الحيوية الانفة الذكر .



المصادر References

- [1] Rajeshwari, U., Shobha, I., Raghunatha, R. , Andallu, B.(2013)
.Oxidative stress and antioxidant status in acute and chronic myeloid leukemia patients. Open Journal of Blood Diseases, 3: 17-22.
- [2] Udensi, U. K., Tchounwou P. B .(2014). *Dual effect of oxidative stress on leukemia cancer induction and treatment.* Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 33:106.
- [3] Tully ,H. M., Dobynos, W.B. (2014). **Infantile hydrocephalus :A review of epidemiology, classification and causes.** Eur J. Med. Genet., 57(8):359.



- [4] **Kinsman,S.L., Johnston ,M. V.(2016). Congenital anomalies of the central nervous system.Textbook of Pediatrics. 20thed. Philadelphia, PA: Elsevier :chap.591.**
- [5] **Jamalabadi,A., Keikha ,A. J. (2016) . Fluid -Solid Interaction Modeling of Cerebrospinal Fluid Absorption in Ara chnoid Villi Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 8(2):428-442.**
- [6] **Gupta, V. K., Pal, R. ,Siddiqi, N. J.,, Sharma, B. (2015). Acetylcholinesterase from Human Erythrocytes as a Surrogate Biomarker of Lead Induced Neurotoxicity. `Enzyme Research Vol. 2015 , Article ID 370705, 7 pages.**
- [7] **Li, J. , Yang, X.M., Wang, Y.H., Feng, M.X., Liu, X.J., Zhang ,Y.L., Huang, S. ,Wu, Z., Xue, F. , Qin, W. X., Gu, J. R., Xia, Q., Zhang, Z. G. (2014) Monoamine oxidase A suppresses hepatocellular carcinoma metastasis by inhibiting the adrenergic syste m and its transactivation of EGFR signal. J. Hepatology . 60(6):1225–1234.**
- [8] **Chaitidis, P., Billett ,E.E., Odonnell ,V.B. ,Fajardo ,A.B., Fitzgerald ,J., Kuban,R.J., Ungethuem ,U. , Kuhn ,H. (2016).Th2 Response of human peripheral monocytes involves Isoforms-specific induction of mono. Journal of Immunology ,2016.**
- [9] **Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D.E. (2015). Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics . By Saunders, an imprint of Elsevier Inc. USA. pp.356, 368.**
- [10] **Rujito ,L. , Mulatsih ,S., Sofro ,A.S. (2015) . Status of super oxide dismutase in transfusion dependent thalassaemia. North American Journal of Medical Sciences 7(5) :198-8.**



- [11] Fukai, T., Fukai, M. U. (2011). **Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases.** *Antioxid Redox Signal.* 15(6):1583–1606.
- [12] Johansson ,P., Almqvist , E.G., Johansson, J.O., Maltsson ,N., Andreasson ,U. , Hansson ,O.(2013). **Cerebrospinal fluid (CSF) 25-Hydroxy vitamin D concentration and CSF acetylcholinesterase activity are reduced in patients with AL Zheimers disease.** *PLoS ONE* ,8(11):e81989.
- [13] Nasar ,M.A., Subhani ,T.F., Gupta,R.P., Naseer ,A., Subhan ,A. (2015). **Uric acid levels in serum in the assessment of some psychiatric disorder in India.** *Journal of Medicine Radiology Pathology Surgery* ,1(1):9-12.
- [14] Barbariga, M., Curnis, F., Andolfo, A. , Zanardi, A., Lazzaro, M., Conti, A.(2015). **Ceruloplasmin functional changes in Parkinson’s disease-cerebrospinal fluid.** *Molecular Neurodegeneration.*10:59.
- [15] Fangxu , L. ,Yang , Z., Lu ,Y, Wei , Y. ,Wang ,J., Yin. (2010). **Malondialdehyde suppresses cerebral function by breaking homeostasis between excitation and inhibition in Turtle Trachemys Scripta .***PLoS ONE* ,5(12):e15325.
- [16] *Matata, C., Michael, B., Garner, V., Solomon, T. (2012). Lumbar puncture: diagnosing acute central nervous system infections". Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain): 1987). 27 (8): 49–56.*
- [17] Hinton, P. R. (2004). **Statistics explained.** 2nd Edition by Routledge. printed in the USA and Canada. p.85,125.
- [18] Ellman G.L., Courtney, K.D., Andrews, Vjr, Featherstone R.M.(1961): **A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.** *Biochem Pharmacol*, 7:88-95.



- [19] Buffoni, F., Blaschko, H. (1964). **Enzymatic assay of plasma amine oxidase (EC 1.4.3.6)**. Proc. Roy. Soc. B161, 153.
- [20] Reitman, S., Frankel, S. (1957). **A colorimetric method for the determination of serum GOT and GPT**. Amer. J. Clin. Path, 28, 56-63.
- [21] Kind, P. R., King, E. J. (1954). **Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino-antipyrine**. Journal Clin. Path., 7:322-326.
- [22] Sanhai, W.R., Christenson, R.H. (2003). **Cardiac and muscle disease. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation**, 4th Ed., Kaplan, L.A, Pesce, A.J., Kazmierczak, S.C., (Mosby Inc. eds St. Louis USA), 566 and appendix.
- [23] Klin, Z., Klin, U. (1972). **Enzymatic reaction for determination of lactic dehydrogenase**. Biochemistry J., 10:182-187.
- [24] Brown, M.S., Goldstein, J.L. (1983). **Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis** Annu. Rev. Biochem. 52, 223-261
- [25] Heijboer, A.C., Blankenstein, M.A., Kema, J.P. (2012). **Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration**. Clin Chem, 58:543-548.
- [26] Mazeikiene, A., Kaminskas, A. (2012). **Biochemistry laboratory manual** arvyol as Kaminskas, Asta, Mazeikiene, Vilnius University, pp.28, 1, 11, 34, 30, 32.
- [27] Dumas, B. T., Watson, W. A., Biggs, H. G. (1971). **Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green**. Clin. Chem. Acta. 31: 87-96.



- [28] Sunderman, F. W., Nomato, S. (1970). **Measurement of human serum ceruloplasmin by its para phenyldiamine oxidase activity.** Clin. Chem. 16(11): 903-910.
- [29] Guidet, B., Shah, S. V. (1989). Am. J. Physiol. 257 (26). F440 cited by Muslih, R. K., Al-Nimer, M.S, Al-Zamely, O.Y. 2002. **The level of malondialdehyde after activation with H₂O₂ and CuSO₄ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute myocardial infraction.** Nat. J. chem. 5:139-148.
- [30] Martins, D.B., Mazzanti, C.M., França, R.T., Pagnoncelli, M., Costa, M. M., De Souza, E. M., Gonçalves, J., Spanevello, R. (2012). **17-β estradiol in the acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain and blood of ovariectomized adult and middle-aged rats.** Life Sciences .90 :351–359.
- [31] AlNoori, M. K.J.(2011). **Cerebrospinal fluid cholinesterase activity in children with meningitis.** Irq J Pharm Vol.11,No.2:70-76.
- [32] García-Ayllón, M.S., Riba-Llena, I., Serra-Basante, C., Alom, J., Boopathy, R., Sáez-Valero, J. (2010) **Altered levels of acetylcholinesterase in Alzheimer plasma.** PLoS ONE 5(1):e8701.
- [33] Xi, H. J., Wu, R. P., Liu, J. J., Zhang, L. J., Li, Z. S. (2015). **Role of acetyl cholinesterase in lung cancer.** Thorac Cancer 6(4):390-398.
- [34] Kumar, M. S., Gopalkrishnan, S. (2014). **Evaluation, partial characterization and purification of acetylcholine esterase enzyme and antiangiogenic activity from marine sponges.** Journal of Coastal Life Medicine, 2(11): 849-854.
- [35] Margalit, R. C., Adler, B., Abramson, J. H., Gofin, J., Kark, J. D. (2006). **Butyrylcholinesterase activity, cardiovascular risk factors, and mortality in middle-aged and elderly men and women in**



Jerusalem. DOI: 10.1373/clinchem.2005. 059857 Published April 2006.

- [36] Mikecin, L., Križmarić, M., Giljević, J. S., Gjurašin, M., Kern J., Krleža, J. L., Popović, L.(2013). **Pseudocholinesterase activity in cerebrospinal fluid as a biomarker of solid central nervous system tumors in children.** *Brian and Mental Health. Croat Med J.* 54:429-35.
- [37] Shenhar-Tsarfaty, S., Berliner, S., Bornstein, N.M., Soreq, H.(2014). **Cholinesterases as biomarkers for parasympathetic dysfunction and inflammation-related disease.** *J Mol Neurosci.*,53(3):298-305.
- [38] Mousseau, D.D., Baker, G.B.(2012). **Recent developments in the reduction of mono amine oxidase form and function :Is the current model restricting our understanding of the breadth of contribution mono amine oxidase to brain (dus) function?.** *Current Topics in Medicinal Chemistry* ,12:2163-2176.
- [39] Andreou, D., Söderman, E., Axelsson, T., Sedvall, G. C., Terenius, L., Agartz, I., Jönsson, E. G. (2015). **Cerebrospinal fluid monoamine metabolite concentrations as intermediate phenotypes between glutamate-related genes and psychosis.** *Psychiatry Research* , 229 (1-2): 497-504.
- [40] Cai, Z.(2014). **Monoamine oxidase inhibitors: Promising therapeutic agents for Alzheimer's disease (Review).** *Molecular Medicine Reports.* 9(5): 1533-1541.
- [41] Gordon, R.R., Wu, M., Hung, C.Y., Harris, W.P., Sim, H.G., Lucas, J.M., Coleman, I., Higano, C.S(2014). **Chemotherapy -induced mono amine oxidase expressin in prostate carocinoma fuctions as a cytoprotective Resistance Enzyme and Associates With Clinical Outcomes.** *PLOS ONE* ,9(9): elo4271.



- [42] Jiang, X., Chang, H., Zhou, Y. (2015). **Expression, purification, and preliminary crystallographic studies of human glutamate oxaloacetate transaminase GOT1**. *Protein Expr. Purif.* 113:102–6.
- [43] Mato, M. P., Ramos-Cabrera P., Sobrino, T., Blanco, M., Ruban, A., Mirelman, D., Menendez, P., Castillo, J., Campos, F. (2014). **Human recombinant glutamate oxaloacetate transaminase 1 (GOT1) supplemented with oxaloacetate induces a protective effect after cerebral ischemia**. *Cell Death and Disease* 5, e992,
- [44] Turan, S., Topcu, B., Gökçe, I., Güran, T., Atay, Z., Omar, A., Akçay T., Bereket, A. (2012). **Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets**. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 3(1):7–11.
- [45] Serrano, Á. S., de Diego-García, L., Martínez-Frailes, C., Ávila, J., H. Zimmermann, Millán, J. L., Miras-Portugal, M. T., Díaz-Hernández, M. (2015). **Tissue-nonspecific alkaline phosphatase regulates purinergic transmission in the central nervous system during development and disease**. *Comput Struct Biotechnol J.*, 13: 95–100.
- [46] Lee, H.B., Kim, J., Kim, S.H., Kim, S., Kim, O.J., Oh, S.H. (2015). **Association between serum alkaline phosphatase level and cerebral small vessel disease**. *PLoS ONE* 10(11): e0143355.
- [47] Kia, S. M., Oddis, C. V., Aggarwal, R. (2016). **Approach to asymptomatic creatine kinase elevation**. *Cleve Clin J Med.*, 83(1): 37–42.
- [48] Bersani, I., Cinzia, A., Ronchetti, M.P., Prencipe, G., Gazzolo, D., Dotta, A. (2015). **Use of early biomarkers in neonatal brain damage and sepsis: state of the art and future perspectives**. *Bio. Med. Research. International.*



- [49] Rajeswari, S., Dhananjayan, R., Swaminathan, S.(2014). **Role of biochemical tests in daignosis of CNS disroders**. IJAPBC – Vol. 3(3):2277 - 4688.
- [50] Nussinovitch, M., Prais, D. Finkelstein, Y., Harel, D., Amir, J., Volovitz, B.(2002). **Lactic dehydrogenase isoenzymes in cerebrospinal fluid of children with Guillain–Barré syndrome**. Arch Dis Child,87:255–257.
- [51] Dash , P.Ch., Patro, D.(2014). **Role of CSF CK, LDH, GGTP enzyme levels in diagnostic and prognostic evaluation of meningitis**.J.Clin Diagn Res.8(7):19-22.
- [52] Hisalkar, P.J., Patne, A.B. , Fawade, M.M. , Karnik, A.C. (2012). **Evaluation of plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase in type 2 diabetic patients** Biology and Medicine, 4 (2): 65-72.
- [53] Kander, M. C., Cui, Y. , Liu, Z.(2016) . **Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases** .J. Cell. Mol. Med. Vol XX, No X, 2016 :1-9.
- [54] Winer, L. B.A. ,Srinivasan, D. B.A. ,Chun, S. B.A., Lacomis, D., Jaffa, M. B.A., Fagan, A., Holtzman, D. M. (2014). **Cerebrospinal fluid defines SOD1 as a pharmacodynamic marker for antisense oligonucleotide therapy**. JAMA Neurol., 70(2): 10.1001.
- [55] Aguiar, C.C. T. , Almeida, A. B., Araújo, P. V. P. , Cavalcante de Abreu, R. N. D. , Chaves, E. M. C., do Vale, O. C. , Macêdo, D. S. , Woods, D.J.(2012). **Oxidative Stress and Epilepsy: Literature Review**. Oxidative Medicine and Cellular Longevity .Vol.2012 , Article. ID 795259, 12 pages.
- [56] Yousefzadeh, P., Shapses, S. A., Wang ,X.(2014) .**Vitamin D binding protein impact on 25-hydroxyvitamin D levels under**



- different physiologic and pathologic conditions. Internat. J. Endocrinology Volume 2014 , Article ID 981581, 6 pages**
- [57] Hall ,A. C., Juckett, M. B.(2013). **The Role of vitamin D in hematologic disease and stem cell transplantation.** Nutrients, 5:2206-2221.
- [58] Chen, L. H. , Zhong, C. , Xu, T. ,Xu, T., Peng, Y. ,Wang, A., Wang, J. , Peng ,H., Li , ,Ju, Z., Geng ,D., Zhang, J. , Li ,Y., Zhang, Y. , He, J. (2016). **Sex-specific association between uric acid and outcomes after acute ischemic stroke: A Prospective study from CATIS Trial.** Scientific Reports 6, Article number: 38351 .doi:10.1038/srep38351.
- [59] Oreshnikov, E., Oreshnikova, S.,(2014). **Dynamics of uric acid in the cerebrospinal fluid and the level of consciousness in acute cerebral stroke: 7AP3-3.**European Journal of Anaesthesiology Vol.31,Issuep114.
- [60] Friberg ,W.(2015).**Uric acid :A Biomar to predict clinical progression of Parkinson disease.** School of Physicine Assistant Studies ,Paper 522:1-26.
- [61] Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (2000). **Free radicals and antioxidant in the year 2000 . A historical look to the future .** Ann. NY. Acad. Sci. pp. 899:136-147.
- [62] Pandey, P. Reddy, N. V., Rao, V. Saxena, A., Chaudhary, C.P. (2015). **Estimation of salivary flow rate, pH, buffer capacity, calcium, total protein content and total antioxidant capacity in relation to dental caries severity, age and gender.** Contemp Clin Dent [serial online] 2015,6.
- [63] Griggs, R.C., Jozefowicz, R.F., Aminoff ,M.J.(2016). **Approach to the patient with neurologic disease.** In: Goldman L, Schafer AI,



- eds. Goldman-Cecil Medicine. 25th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2016:chap 396.
- [64] Kahle ,K.,T. ,Kulkarni ,A.V2., Limbrick D.D., Warf ,C.(2016). **Hydrocephalus in children. Lancet. 387(10020):788-99.**
- [65] Weaving, G., Batstone, G. F., Jones, R. G. (2016). **Age , sex variation in serum albumin concentration: an observational study. SAGE Journals 53: 1.**
- [66] Farage, M.A., Miller, K.W., Zouboulis, C.C., Piérard, G.E., Maibach, H.I. (2012) **Gender differences in skin aging and the changing profile of the sex hormones with age. J Steroids Horm Sci 3:109.**
- [67] LeVine, S. M.(2016). **Albumin and multiple sclerosis. BMC Neurol., 16: 47.**
- [68] Pisani, V. , Stefani, A.,Pierantozzi, M., Natoli, S., Stanzione, P., Franciotta, D. Pisani, A. (2012). **Increased blood-cerebrospinal fluid transfer of albumin in advanced Parkinson’s disease . J Neuro inflammation. 2012, 9: 188.**
- [69] Akaishi ,T., Narikaw ,K., Suzuki, Y., Mitsuzawa ,S.,Tsukita ,K., Kuroda, H. ,Nakashima ,I. ,Fujihara, K. ,Aoki, M. (2015). **Importance of the quotient of albumin, quotient of immunoglobulin G and Reibergram in inflammatory neurological disorders with disease-specific patterns of blood–brain barrier permeability. Neurology and clinical Neuroscience 3(3):94-100.**
- [70] Vodret, S. Bortolussi, G.a, Schreuder, A. B ,Jašprová ,J. , Vitek ,L., Verkade ,H. J. , Muro, A. F (2015).**Albumin administration prevents neurological damage and death in a mouse model of severe neonatal hyperbilirubinemia. Sci. Rep. 5, 16203, doi: 10.1038/srep16203 (2015).**



- [71] Badr el-din, N. K. , Noaman, E. Abdel Fattah, S. M ,M. Ghoneum (2010). **Reversal of age-associated oxidative stress in rats by MRN-100, a hydro-ferrate Fluid** . the 19th International Congress of Nutrition. Bangkok, Thailand, October 4-9, 2009. Abstract in: Annals of Nutrition & Metabolism 55(1),
- [72] Prasad, R., A., Mishra, O.P., Mishra S.P., Upadhyay R.S., Singh, T.B. (2012). **Oxidative stress in children with neurocysticercosis**. *Pediatr Infect Dis J.* ,31(10):1012-5.
- [73] Groff, J. L., Gropper, S. S. (2000). **Advanced nutrition and human metabolism**. 3rd ed. W.B. Saunders Company, USA.
- [74] Manto, M. (2014). **Abnormal copper homeostasis mechanisms and roles in neurodegeneration** .*Toxics* 2:327-345.
- [75] Ghabae, M. Jbedari, B. N., Al-E-Eshagh, M.Ghaffarpour, F. Asadi. (2010). **Serum and cerebrospinal fluid antioxidant activity and lipid peroxidation in guillain–barre syndrome and multiple sclerosis patients**. *International Journal of Neuroscience*, 120, 301–304.
- [76] Mengdong, L., Peng, L., Zhanjiang, W., Zhou, F.(2014). **Changes of serum Tau, GFAP, TNF- α and malonaldehyde after blast-related traumatic brain injury**. *Chinese Journal of Traumatology*,17(6):317-322.
- [77] Madhura ,T.K. (2015). **Role of oxidative stress in the pathogenesis of OCD**. *Biochem Anal Biochem* 4:217.