CC BY

College of Basic Education Research Journal

www.berj.mosuljournals.com

Evaluating the role of arginine deaminase and its relationship with the development of diabetes in patients with non-alcoholic fatty liver disease

Haala T. Abdullah[1] and Sukayna H. Rashed[2*]

[1] Head of Chemists, Nineveh Health Department, Ibn Sina Teaching Hospital, Mosul, Iraq.

[2] Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Article Information

Article history:

Received:

Reviewer:

Accepted:

Key words : NAFLD, Total Cholesterol, ADI4, HbA1c%.

Correspondence:

Abstract

The study included the results obtained from examining (160) samples of blood serum for two groups: control group, which included (80) samples, and group of patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which included (80) samples. groups were divided according to age into two age groups that included (less than 45) and (More than 45 years) , according to body mass index into obese (BMI greater than 25) and non-obese (BMI between 18 and 25) and according to gender into females and males. In addition to classifying patients into two groups: a group of treated patients and a group of newly diagnosed and untreated NAFLD patients, the study included estimating activity of the enzyme arginine deaminase type 4 (ADI4) and levels of some biochemical variables, which included total cholesterol T.C., triglycerides TG, and high-density lipoprotein cholesterol HDL-C, low-density LDL-C, very low-density VLDL-C, and glycated hemoglobin HbA1c.

It was observed that there was a significant decrease in activity rates of ADI4 in the serum of NAFLD patients compared to control group. When studying effect of the duration of infection to determine efficiency of treatment and its relationship to effectiveness of enzyme, it was found that there was an increase in activity rates of ADI4 enzyme in group of patients who were diagnosed and treated for more than a year compared to the group of patients for less than a year, for both sexes. Increasing age does not affect effectiveness of ADI4 enzyme in control group and for both sexes, while a significant decrease in ADI4 activity was observed in the group older than 45 years compared to younger age and for both sexes.

The study recorded a significantly increase ($p<0.05$) in ADI4 activity in males compared to females and for both control and patients. The results also showed a significant increase in rates of HbA1c, T.C, TG, LDL-C, and VLDL-C concentrations, and a significant decrease in rates of HDL-C in NAFLD group compared with control one. The results showed that obese people with a BMI more than 25 have a decreased effectiveness of the studied enzyme. It was noted that majority of NAFLD patients suffer from obesity.

Results indicated an inverse relationship between activity of ADI4 and HbA1c

ISSN: 1992 – 7452

المقدمة:

الكبد عضو مهم في جسم الإنسان وهو مسؤول عن مجموعة من الوظائف التي تساعد في دعم عملية التمثيل الغذائي، والمناعة، والهضم، وإزالة السموم، وتخزين الفيتامينات من بين وظائف أخرى. ويشكل حوالي 2% من وزن جسم الشخص البالغ [1]. الكبد الدهني غير الكحولي NAFLD هو مرض أيضي ناجم عن عدة عوامل (باستثناء الكحول) مثل التمثيل الغذائي، والتعبير الجيني، والتلوث البيئي. لقد زاد معدل الإصابة بـ NAFLD في العديد من البلدان النامية[2].يحدث في حوالي 24% من البالغين في جميع أنحاء العالم. ومع ذلك، غالبًا ما يتم التقليل من هذه القيمة بسبب قيود طريقة الكشف[3] . يشمل NAFLD الكبد الدهني البسيط والتهاب الكبد الدهني غير الكحولي (NASH)، والذي يمكن أن يتطور إلى تليف الكبد وتشمع الكبد، مما يزيد من خطر الإصابة بسرطان الخلايا الكبدية (Hepatocellular carcinoma). ويرتبط NAFLD ارتباطًا وثيقًا بالعديد من الأمراض الأيضية، بما في ذلك السمنة ومقاومة الأنسولين والسكري من النوع 2 واضطراب شحوم الدم[4] وباستثناء تدخلات نمط الحياة وفقدان الوزن، لا توجد علاجات واضحة وفعالة [5] لذلك فإن استكشاف التسبب في المرض قد توفر رؤى جديدة في العلاجات السريرية [6].

تركز جهود معظم الباحثين تحديد طرق تشخيص غير الجراحية المناسبة والعلاجات الفعالة والعثور على مؤشرات حيوية تشخيصية وإنذارية دقيقة غير جراحية، لتطوير علاجات فعالة للأفراد الذين يعانون من (NASH Nonalcoholic Steatohepatitis) المتقدم، نظرًا للعبء العالمي المتزايد سريعًا لـ NAFLD و NASH [7] .

إن إنزيمات ببتيديل أرجينين دي امينيز(PADIs) (EC 3.5.3.15) هي الإنزيمات المعتمدة على الكالسيوم Ca^{2+} [8], وهي من انزيمات دورة اليوريا، حيث تحول الببتيديل أرجينين إلى الببتيديل سيترولين وامونيا NH_3 [9] . يمكن اعتباره تفاعل ازالة الامين deimination، ينتج حامضًا أمينيًا منزوع الأمين، تسمى هذه العملية (Citrullination)[10] .

يلعب السيترولينيشن أدوارًا فسيولوجية مهمة،على سبيل المثال، في الجهاز العصبي المركزي[11] ، وفي الجلد (Rogers *et al.,*1997)، وفي تنظيم الجينات [12] ، ويلعب أيضًا دورًا فعالا عن طريق تحفيز إنتاج

الأجسام المضادة في التهاب المفاصل الروماتويدي [13] وأنواع مختلفة من السرطان[14] .

يعتبر الكبد العضو الرئيسي المسؤول عن إزالة النيتروجين من الدم لتصنيع اليوريا ليتم إخراجها من الجسم [15] كما انخفاض تخليق اليوريا الناجم عن خلل في إنزيمات دورة اليوريا يؤدي إلى فرط أمونيا الدم [16]. . عندما لا تتم إزالة الأمونيا بنجاح من الجسم، يؤدي الى تطور NAFLD بشكل رئيسي من خلال تنشيط الخلايا النجمية الكبدية(خلايا كوبفر)[15] . قد تولد الأمونيا زيادة في إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) التي يمكن أن تعزز في النهاية إصابة الكبد عن طريق التوسط في العمليات الالتهابية وموت الخلايا والتليف [17].

إن الافتقار إلى علاجات فعالة لمرض الكبد الدهني غير الكحولي(NAFLD) ، يقودنا إلى الاعتقاد بأنه لا تزال هناك آليات مسببة للأمراض غير معروفة، مثل الأمونيا، والتي يمكن أن تؤثر على تطور المرض، بصرف النظر عن التدخلات في نمط الحياة[18] .

نظراً لزيادة حالات الاصابة بأمراض الكبد وخاصة الكبد الدهني غير الكحولي في السنوات الاخيرة ولغرض ايجاد متغيرات كيموحيوية ممكن استعمالها كمؤشرات حيوية مستقبلية لمرضى الكبد الدهني غير الكحولي فقد تم إختيار بعض المتغيرات الكيموحيوية ودراستها في مصل دم المرضى والتي تضمنت:

- تقدير مستويات ببتايدايل ارجنين دي امنيز 4 (PADI4) عند المرضى ومقارنتها مع الاصحاء.
- تقدير تراكيز معلمات الدهون في مصل الدم ومقارنتها مع الاصحاء.
- تقييم تأثير العمر والجنس ومؤشر كتلة الجسم ومدة الاصابة بالمرض ونوع العلاج.
- دراسة معاملات الارتباط بين ببتايدايل ارجنين دي امنيز4 مع المتغيرات الكيموحيوية التي تضمنتها الدراسة وخاصة HbA1c.

المواد وطرق العمل Materials and Methods

المواد المُستعملة Materials used

استعملت في هذه الدراسة عدة التحليل الجاهزة (Standard Kits) من شركة (Biolabo) الفرنسية لقياس الكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة والدهون الثلاثية ، وبالنسبة لانزيم الارجنين دي امينيز النوع الرابع فقد تم قياسه باستعمال عدة التحاليل الجاهزة للقياس بتقنية الاليزا والمجهزة من شركة (Bioassay Technology Laboratory (BT LAB الصينية.

ولتقدير السكر التراكمي فقد تم استعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة (Roche) الالمانية ليتم قياسه بجهاز كوباس(cobass111).

النماذج المدروسة Studied Specimens

تضمنت الدراسة جمع 160 عينة دم لأشخاص بالغين من المصابين بالكبد الدهني غير الكحولي واصحاء لغرض المقارنة للفترة من الاول من تشرين الثاني 2023 الى الثلاثون من كانون الثاني 2024،حيث تم الحصول على كتاب تسهيل مهمة من مركز التدريب والتنمية البشرية \دائرة صحة نينوى \وزارة الصحة والبيئة والموافقة على اجراء البحث، ذلك بعد موافقة لجنة البحوث العلمية والاخلاقية بجلستها المرقمة (250) والمنعقدة في دائرة صحة نينوى بتاريخ 2023/12/6 على اجراء بحثنا المرقم (2023231) وتزويدنا بالمعلومات والعينات المطلوبة، دونت المعلومات وقسمت العينات الى مجموعتين:

1.مجموعة مرضى الكبد الدهني غير الكحولي: Nonalcoholic fatty liver group

تم جمع (80) عينة دم لأشخاص مصابين بمرض الكبد الدهني غير الكحولي من محافظة نينوى، شخصت حالتهم من قبل اطباء مختصين في مستشفى ابن سينا التعليمي ومستشفى السلام التعليمي والعيادات الخارجية المرخصة من قبل وزارة الصحة، تتراوح اعمارهم بين (25–65) سنة من الصائمين لمدة (12–14) ساعة من كلا الجنسين (41) من الذكور و(39) من الاناث.

2.مجموعة الاصحاء: Control group

تم جمع (80) عينة دم لأشخاص اصحاء ظاهريا من محافظة نينوى، تتراوح اعمارهم بين (25–65) سنة من الصائمين لمدة (12–14) ساعة من كلا الجنسين (40) من الذكور و(40) من الاناث.

جمع نماذج الدم: Blood sample collection

تم سحب (8–10) مليلتر من الدم الوريدي بواسطة محاقن طبية خاصة ذات الاستخدام الواحد، وتم توزيع نماذج الدم على النحو التالي:

1– الدم الكامل:

تم اخذ (2) مليلتر من الدم الوريدي من مرضى الكبد الدهني غير الكحولي لغرض اجراء فحص السكر التراكمي (HbA1c) ووضعه في انابيب تحتوي على مادة مانعة للتخثر EDTA مع التحريك بلطف ويستخدم في نفس اليوم [19] .

2– مصل الدم:

تم وضع (8) مليلتر من الدم المتبقي في انابيب نظيفة وجافة حاوية على الهلام (Gel tube)، وتم تركه لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة، وبعدها تم اجراء الطرد المركزي وبسرعة3000 rpm

لمدة 15 دقيقة، وتم فصل المصل باستخدام ماصة مايكروية Micro pipette ووضعه في انابيب بلاستيكية نظيفة،وتجميده عند درجة حرارة $20C^{o}-$ لحين استخدامه في اجراء الفحوصات [20].

تقدير ببتايتل ارجنين دي امينيز النوع 4 (PADI4) في امصال مرضى الكبد الدهني غير الكحولي ومجموعة الاصحاء:

قدرت فعالية الانزيم بوساطة عدة تحليل الجاهزة وتستند على مبدأ الاليزا- ساندويتش من شركة Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) الصينية

تقدير مستوى السكر التراكمي في الدم (HbA1c):

يتم تقدير السكر التراكمي كميا باستخدام عدة التحاليل القياسية الجاهزة من شركة Roche الالمانية بواسطة جهاز كوباس (cobass111)

المعدل الطبيعي لل HbA1c = % (5.9 – 4.8) كما جاء في[21].

تقدير معلمات الدهون lipid profile في مصل الدم:

استعملت عدة التحليل الجاهزة (Standard Kits) من شركة (Biolabo) الفرنسية لقياس الكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة والدهون الثلاثية بالطرق اللونية.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

شملت الدراسة النتائج التي حصلنا عليها من إجراء الفحوصات الكيميائية السريرية على 160 عينة مقسمة على شكل 80 عينة إصابة بالكبد الدهني غير الكحولي و80 عينة من الأَصحَّاء ظاهريا كمجموعة سيطرة، إذ تم تقدير فعالية انزيم ارجنين دي امينيز4 في مصل الدم فضلا عن دراسةُ بعض المتغيرات الكيموحيوية باستخدام عدد التحاليل الجاهزة (Kits) من شركات عالمية رصينة مقيمة من وزارة الصحة العراقية وتم وضع جداول المقارنة على أَساس مرضى NAFLD ومقارنتها مع الأَصحَّاء وكما تم أَيضًا المقارنة حسب تأثير العمر والجنس ومؤشر كتلة الجسم وفترة الاصابة بالمرض وغيرها.

قسمت المجاميع حسب العمر الى فئتين عمريتين: (اقل من 45) و(اكثر من 45) سنة، كما مبين في الجدول(1) كذلك قسمت المجاميع حسب الجنس الى اناث وذكور ، كما في الجدول (2) وكانت الاعداد موزعة بنسب مئوية متقاربة لمجموعة المرضى ومجموعة السيطرة.

الجدول (1) توزيع عينات الدراسة حسب العمر

مجموعة السيطرة		مجموعة المرضى	
اقل من45	اكبر من 45	اقل من 45	اكبر من 45
n=60	n=20	n=43	n=37
%80	20%	%53.7	%46.3

الجدول (2) توزيع العينات حسب الجنس

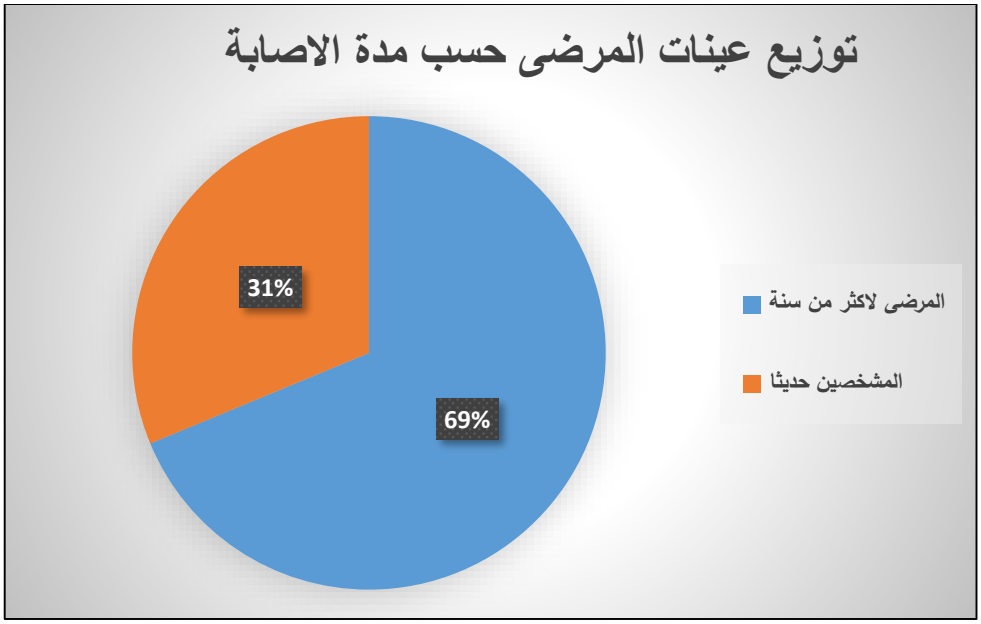
مجموعة السيطرة n = 80		مجموعة المرضى n= 80	
ذكور	إناث	ذكور	إناث
n=41	n=39	n=40	n=40
51.25%	48.75%	50%	50%

فضلا عن تصنيف المرضى حسب مؤشر كتلة الجسم BMI الى مجموعتين: اكبر من 25 وبين (18–25) وبنسب توزيع مبينة في الجدول (3) ادناه:

الجدول (3) توزيع عينات الدراسة حسب مؤشر كتلة الجسم

مجموعة السيطرة n=80		مجموعة مرضى الكبد الدهني غيرالكحولي n = 80	
25BMI>	BMI(18–25)	BMI>25	BMI(18–25)
n=38	n=42	n=74	n=6
%47.5	%52.5	%92.5	%7.5

شملت الدراسة كذلك تأثير فترة الاصابة بالمرض حيث تم توزيع المرضى على مجموعتين الاولى ضمت المرضى المشخصين حديثا وعددهم 25 اما المجموعة الثانية فقد شملت مرضى الكبد الدهني غير الكحولي لفترة اكثر من السنة الواحدة وعددهم 55 كما مبين في الشكل (1):



الشكل (1) توزيع عينات المرضى حسب مدة الاصابة

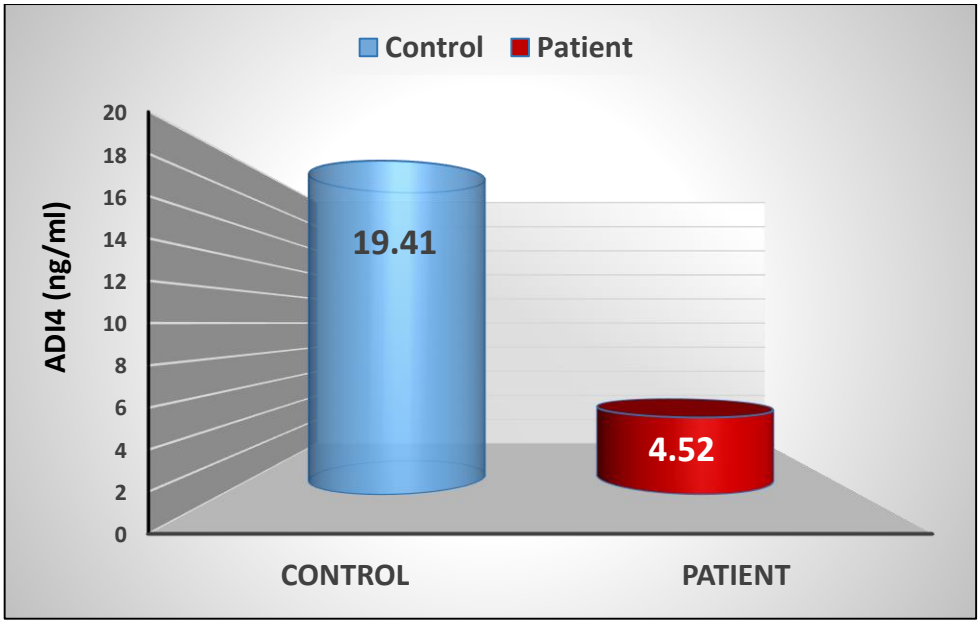
يوضح الجدول(4) نتائج فعالية انزيم ارجنين دي امينيز 4 (ng/ml) في أمصال دم المرضى المصابين بالكبد الدهني غير الكحولي مقارنة مع مجموعة السيطرة. اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P \leq 7.8814 \times 10^{-47}$) في فعالية الانزيم لدى مجموعة المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة كما موضح في الشكل (2)

الجدول (4): فعالية انزيم ADI4 في أمصال مرضى NAFLD مقارنة مع مجموعة السيطرة

Groups	N	Mean	SD	SEM	P-value
"ADI4 - Control"	80	19.40875	6.07264	0.67894	7.8814×10^{-47}
"ADI4 - Patient"	80	4.5175	2.13712	0.23894	

القيم معبر عنها بوحدة (**ng/ml**)

تمثل **N** عدد العينات، **SD** الانحراف القياسي، **SE** الخطأ القياسي



الشكل (2) معدلات انزيم ADI 4 في امصال مرضى الكبد الدهني ومجموعة السيطرة

إن انخفاض مستويات ADI 4 في مصل دم المرضى يكون بسبب تراكم الأحماض الدهنية الحرة في الكبد، فإنها اما تتأكسد بواسطة الميتوكوندريا [22] أو تستخدم لتكوين الدهون الثلاثية والكوليسترول. إذا تجاوزت كمية الأحماض الدهنية الحرة قدرة أكسدة الميتوكوندريا، يحدث تراكم الدهون الثلاثية في الكبد وبالتالي انخفاض تخليق اليوريا الناجم عن خلل في إنزيمات دورة اليوريا وانخفاض مستويات ADI 4 هذا يؤدي إلى فرط أمونيا الدم[16].

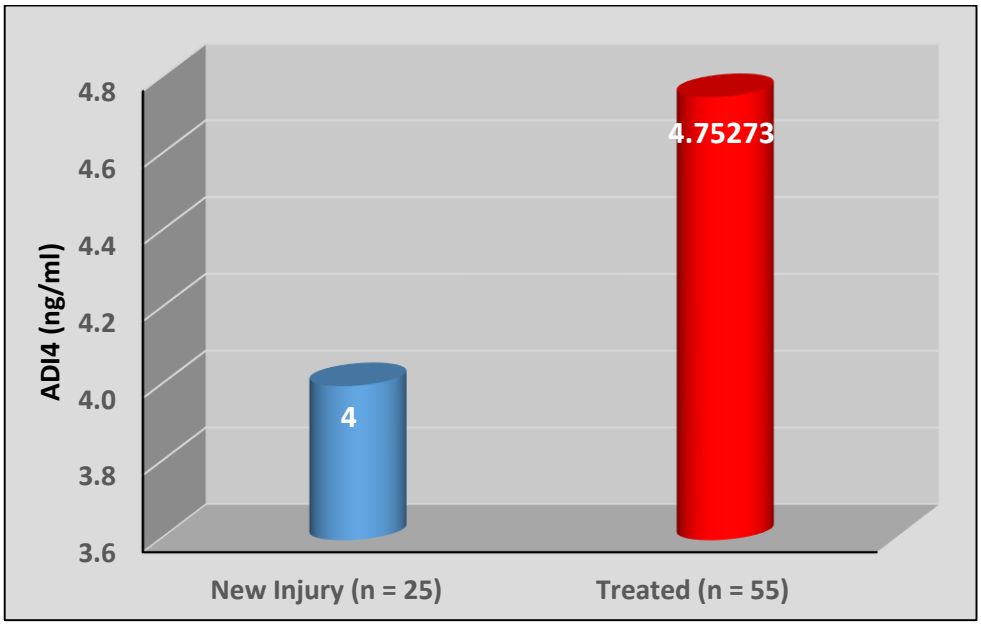
كما تشير الدراسة إلى عدم وجود تأثير لمدة الاصابة على معدلات ADI 4، كما مبين في الجدول (5) والشكل (3) قد يعزى السبب الى ان فعالية الانزيم منخفضة بالاساس عند المرضى وذلك لكون الانزيم يلعب دورا مهما في ازالة السمية من الكبد سواء الشخص مصاب حديثا او انه يعاني من الكبد الدهني لفترة اطول حيث يلاحظ ان المعالجين تبدا فعالية الانزيم بالارتفاع التدريجي غير المحسوس احصائيا مما قد يشير الى الفائدة من استخدام العلاج (Liveramin)

الجدول (5): تأثير مدة الاصابة بمرض الكبد الدهني على فعالية انزيم ADI 4

Groups	N	Mean	SD	SE	p value
New Injury	25	4	1.84662	0.36932	0.14533 **
Treatment	55	4.75273	2.23291	0.30109	

** **تشير الى عدم وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة اقل من 0.05 (p < 0.05).**

تمثل **N** عدد العينات، **SD** الانحراف القياسي، **SE** الخطأ القياسي



الشكل (3): تأثير مدة الاصابة بمرض الكبد الدهني على فعالية انزيم ADI 4

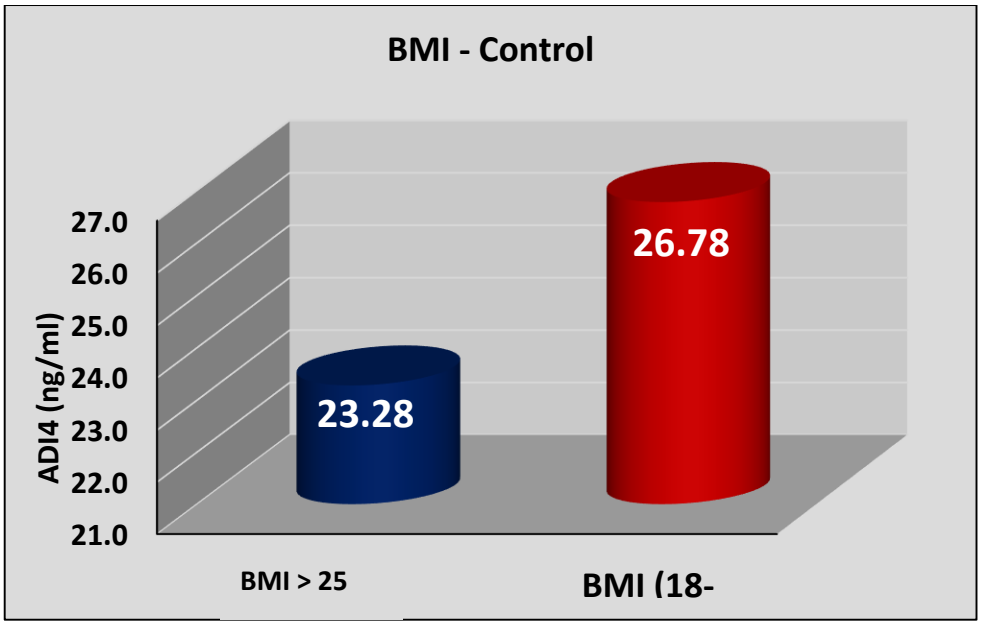
وقد يعود السبب في ذلك الى أن التمارين الرياضية تنشط عملية إعادة البرمجة الأيضية في العديد من أنواع الخلايا [23] منها خلايا كوبفر التى تفضل النمط المضاد للالتهابات [24] وكما تعمل على تحسين الإدراك عن طريق تحسين تحلل السكر المتزايد في الخلايا البلعمية (macrophages) في الجهاز العصبي المركزي [25] وهناك بعض الأدلة على تكيف المايتوكوندريا في الكبد بوساطة التمرينات الرياضية [26]. بينت دراسة سابقة ان التمارين الرياضية لمدة 3 أشهر أدت إلى انخفاض

نسبة الدهون في كبد الأشخاص الذين يعانون من ال NAFLD وتحسين عمل خلايا الكبد، ولكن لا توجد تغييرات في ATP الكبدية.[27]

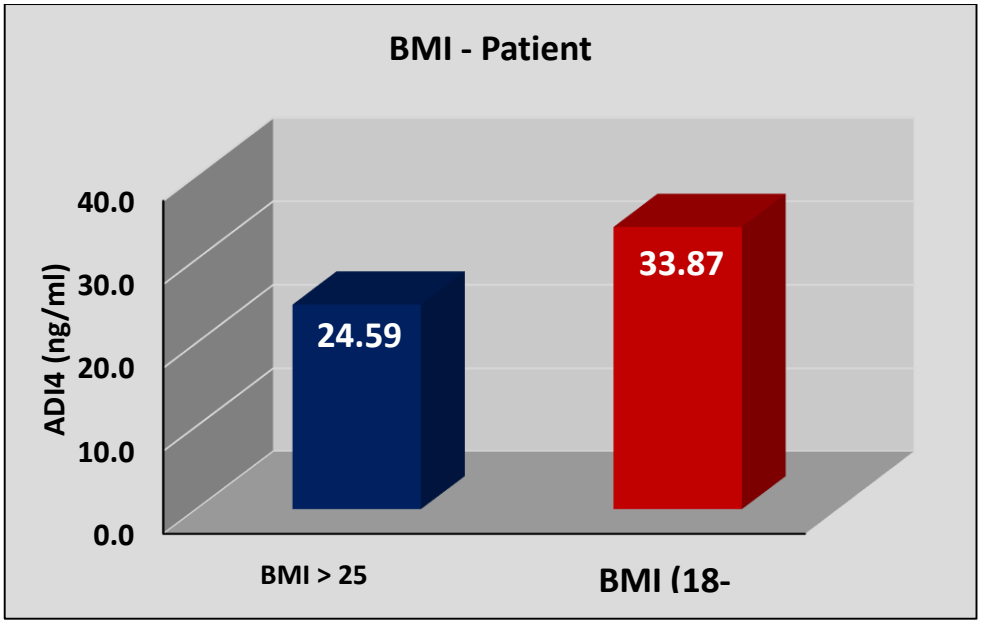
استخدام العلاج (Liveramin) مع فيتامين E الموصوف من قبل الطبيب للمرضى له تأثيراته الطبية العلاجية المفيدة بتحسين وظائف الكبد وتعديل فعالية الانزيمات المدروسة لاحتوائه على المادة الفعالة السيليمارين (Silymarin) وهوغير قابل للذوبان في الماء, حيث يقوم بتجديد خلايا الكبد وعمل مضاد للالتهابات وخفض انزيمات الكبد وتحسين في معايير الدهون [28]

وكما لم يلاحظ وجود اي فروقات معنوية او تاثر للمتغيرات المدروسة بنوع العلاج.

توضح النتائج المبينة في الشكلين (4و5) حصول انخفاض معنوي في فعاليات ADI4 بزيادة نسبة مؤشر كتلة الجسم اي ان العلاقة عكسية بين الانزيم وBMI ولكلا المجموعتين (السيطرة والمرضى) على التوالي.



الشكل (4) علاقة فعاليات الانزيم مع BMI عند مجموعة السيطرة



الشكل (5) علاقة فعالية الانزيم مع BMI عند مجموعة المرضى

اشارت الدراسات الى الزيادة في الوزن لمرضى الكبد الدهني سببها تراكم الدهون الثلاثية(Triglyceride) في خلايا الكبد [29].

ان الدور الرئيسي للمايتوكوندريا الكبدية هو إنتاج الطاقة، عن طريق أكسدة الأحماض الأمينية، والأحماض الدهنية. يتم ضبط الاقتران الوثيق بين أكسدة المواد وتوليدATP بدقة، بواسطة الخلايا الكبدية [30]

يؤدي تراكم الدهون إلى كبد دهني ناتج من ضعف في اكسدة الاحماض الدهنية في الميتوكوندريا وقلة فعالية انزيم ADI4، ولكنها قد تنتج أيضًا عن آليات أخرى، على سبيل المثال. تنشيط تكوين الدهون وتقليل إفراز البروتين الدهني منخفض الكثافة[31].

بالنظر إلى الدور الرئيسي للميتوكوندريا في استقلاب الأحماض الدهنية وتوليد الطاقة، يُعتقد أن ضعف وظيفة المايتوكوندريا هو السمة المميزة لحالة NAFLD [32].

عند دراسة تأثير العمر على مرضى الكبد الدهني غير الكحولي، بينت النتائج في الدراسة الحالية حدوث انخفاض فعالية ADI4 عند المرضى ومجموعة السيطرة في الفئة العمرية الاكبر (اكبر من 45 سنة) مقارنة مع الفئات العمرية الاصغر، كما موضح في الجدول (6) لمجموعة المرضى والجدول (7) لمجموعة السيطرة، قد يعود السبب في ذلك الى قلة في بناء البروتين (عمليات البناء تقل بتقدم العمر) ولهذا فان فعالية ال ADI4 تقل [33].

الجدول(6):تأثير العمر على فعالية انزيم 4 ADI في أمصال مجموعة مرضى الكبد الدهني غير الكحولي

Groups	N	Mean	SD	SEM	P-value
"ADI4 -Patient (<45)"	43	4.94884	2.3902	0.3645	*00.0
"ADI4 -Patient (>45)"	37	4.01622	1.69616	0.27885	

***تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة اقل من 0.05 (p < 0.05).**

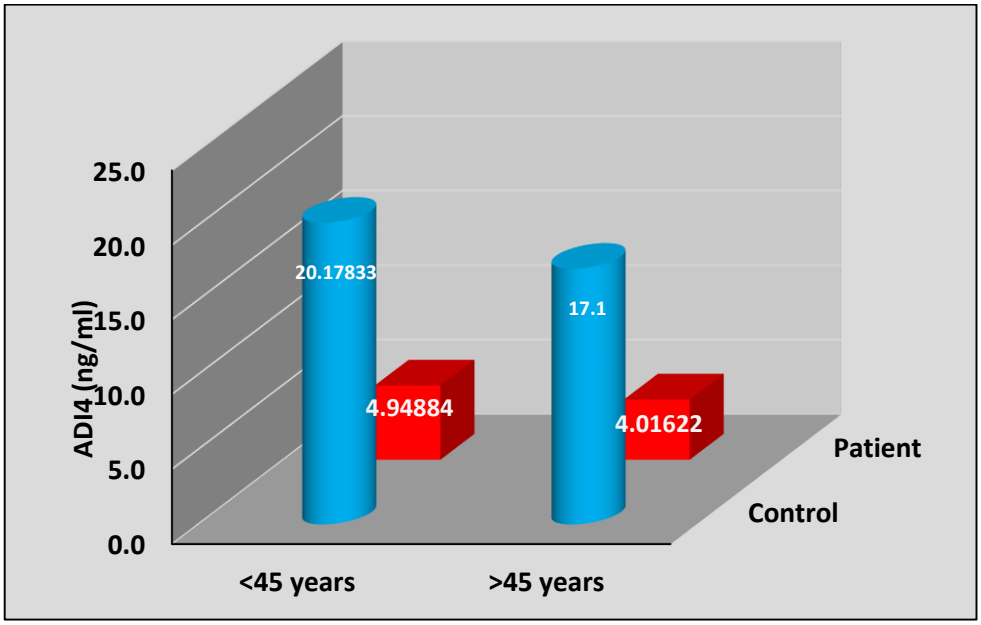
تمثل **N** عدد العينات، **SD** الانحراف القياسي، **SE** الخطأ القياسي

الجدول (7): تأثير العمر على فعالية انزيم 4 ADI في أمصال مجموعة السيطرة

Groups	N	Mean	SD	SEM	P-value
"ADI4 -Control (<45)"	60	20.17833	6.11691	0.78969	*00.0
"ADI4 -Control (>45)"	20	17.1	5.4462	1.21781	

***تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة اقل من 0.05 (p < 0.05).**

تمثل **N** عدد العينات، **SD** الانحراف القياسي، **SE** الخطأ القياسي

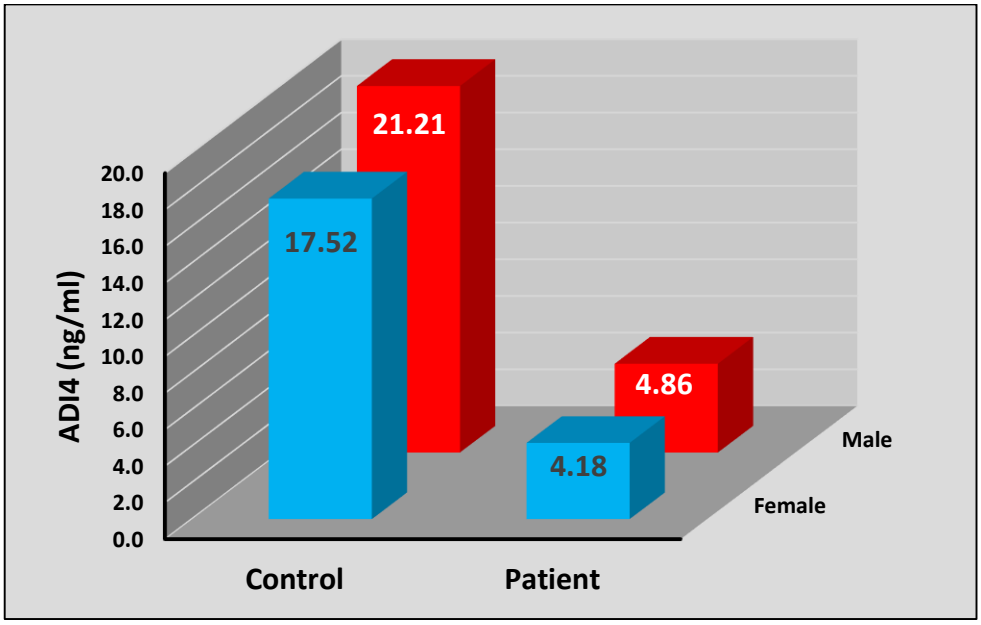


الشكل (6) دراسة تاثير العمر على فعالية انزيم ADI4

تبين النتائج الموضحة في الشكل (7) دراسة تاثير الجنس على فعالية انزيم ADI4,ان فعالية الانزيم تكون اعلى عند الذكور مقارنة بالاناث ولكلا المجموعتين (المرضى و الاصحاء)

4.86ng/ml للذكور مقارنة مع 4.18 ng/ml عند الاناث (في مجموعة المرضى)

21.21 ng/ml للذكور مقارنة مع 17.52 ng/ml عند الاناث (في مجموعة السيطرة)



الشكل (7) تاثير الجنس على فعالية انزيم ADI 4 في أمصال مجموعتي مرضى NAFLD والسيطرة

بشكل عام، الكبد الدهني أكثر انتشارًا عند الرجال منه عند النساء تعزى إلى الاختلافات في تركيب الكروموسومات ومستويات الهرمونات الجنسية وكذلك إلى اختلافات في نمط الحياة. متوسط انتشار الكبد الدهني لدى الرجال 26%، وهو ضعف نظيره لدى النساء (13%)[34]

اما فعالية الانزيم تكون اعلى عند الذكور مقارنة بالاناث قد يعود السبب في ذلك الى حدوث بعض التغيرات الهورمونية عند الاناث، نقص هرمون الاستروجين يقلل من فعالية انزيم ADI4 وخاصة لدى النساء المصابات بمتلازمة المبيض المتعدد الكيسات، يمكن أن يغير البروجستيرون نشاط ADI4، حيث يثبط نشاط الانزيم ويزيد من الكالسيوم داخل الخلايا، مما يسمح لـ ADI4 بالانتقال إلى النواة[35]

.

اشارت النتائج في الجدول (8) الى حدوث ارتفاع ملحوظ ($P<0.05$) في مستويات TC و TAG، LDL، VLDL وانخفاض مستويات HDL-C في مصل دم الاشخاص المصابين بالكبد الدهني مقارنةً مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج قد جاءت متفقة مع دراسة سابقة لدراستنا[36].

إن الزيادة في مستويات الكولستيرول لدى المرضى قد تكون بسبب فشل الوظيفة الطبيعية للخلايا الكبدية مما يؤدي الى إضعاف عملية التمثيل الغذائي للدهون داخل الخلية[37].

ممكن أن تكون زيادة الكولستيرول وفرط شحوم الدم ناتج عن تثبيط انزيم لايبيز البروتين الدهني (Lipoprotein lipase) ، حيث يتم هضم الدهون في الامعاء الدقيقة بواسطة انزيم لايبيز البروتين الدهني الذي يثبطه الأنسولين، الأشخاص الذين يعانون من مقاومة الأنسولين لديهم ارتفاع في مستوى الأنسولين في الدم وارتفاع امتصاص خلايا الكبد للاحماض الدهنية الحرة [38].

بينت النتائج عدم وجود علاقة (طردية او عكسية) بين فعالية الانزيم المدروس وبين معدلات تراكيز دلائل الدهون في مصل الدم لمجموعة المرضى.

الجدول (8): الدهون المقاسة والمدروسة لدى مجموعتي السيطرة ومرضى NAFLD

Parameters	Control				Patients			
	Mean	SD	SE	P value	Mean	SD	SE	P value
T.C (mg/dl)	168.263	22.671	2.535	<0.05 *	195.325	40.107	4.484	<0.05 *
TG (mg/dl)	94.225	22.251	2.488	<0.05 *	212.788	102.207	11.427	<0.05 *
HDL-C (mg/dl)	51.538	9.551	1.068	<0.05 *	39.438	9.258	1.035	<0.05 *
LDL-C (mg/dl)	97.880	26.215	2.931	<0.05 *	113.330	42.116	4.709	0.006 *
VLDL-C (mg/dl)	18.845	4.450	0.498	0.50 **	21.518	2.561	0.286	<0.05 *

***تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة اقل من 0.05 (p < 0.05).**

**** تشير الى عدم وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة اقل من 0.05 (p < 0.05).**

تمثل **N** عدد العينات، **SD** الانحراف القياسي، **SE** الخطأ القياسي

فرط دهون الدم وارتفاع مستويات الكليسيريدات الثلاثية في الدم تعود الى تكوينً غير طبيعي للكليسيريدات الثلاثية [39] وخلل في التمثيل الغذائي لها وفي كيفية ازالتها التي ترتبط بالبروتين الدهني VLDL وانخفاض أكسدة الأحماض الدهنية [40].

إن المستويات العالية من الدهون الثلاثية تعطي فكرة عن شدة وتفاقم مرض الكبد الدهني[41].

إن الملامح غير الطبيعية للبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا في مرضى الكبد الدهني، قد يعود الى زيادة البناء الحيوي الداخلي للبروتينات الدهنية وخصوصاً البروتين الدهني VLDL، وانخفاض فعالية انزيم لايبيز البروتين الدهني (Lipoprotein lipase) المسؤول عن تحليل الكليسيريدات الثلاثية، وقد يكون سبب انخفاض فعالية هذا الإنزيم بالاضافة الى الانسولين،كما ذكر سابقا، هو وجود التراكيز العالية من مركبات الأوكسجين الفعالة والمركبات المؤكسدة، وبالتالي زيادة عمليات الكرب التأكسدي المصاحبة للمرض[41] .فضلا عن ذلك تؤثر العوامل الغذائية ونمط الحياة مثل التدخين والسمنة وقلة النشاط البدني والنظام الغذائي عالي الكليسيريدات/ واطئ الألياف أيضًا على تركيزات الكليسيريدات والبروتينات الدهنية بشكل سلبي[42] .

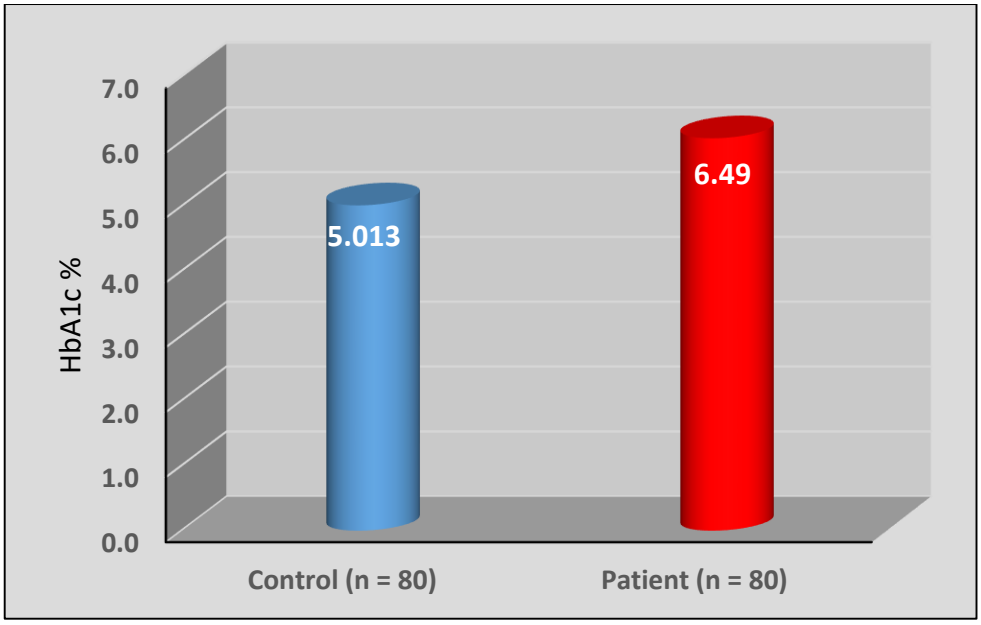
يمكن ان يكون الانخفاض الحاصل في البروتين الدهني عالي الكثافة بسبب الدور الوقائي لهذا البروتين الدهني والخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات[43].

تعد المسارات الالتهابية التي تنشطها العوامل المناعية جزءًا من الآليات التي تؤدي إلى تفاقم مرض الكبدالدهني حيث ينخفض مستوى HDL في الدم وتزداد الدهون الثلاثية [44].

4- تقدير مستويات HbA1c في مصل الدم لدى مجموعة مرضى NAFLD ومجموعة السيطرة:

اشارت النتائج في الشكل (8) الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى السكر التراكمي (HbA1c) في مصل دم الاشخاص المصابين بالكبد الدهني غير الكحولي مقارنةً مع المجموعة الضابطة وهو مؤشر للسكري لمدة 3 اشهر. وهذه النتائج قد جاءت متفقة مع دراسة سابقة لدراستنا [45].

تلعب مستويات HbA1c دورًا مهمًا في التنبؤ بمخاطر NAFLD، حيث تشير كل وحدة زيادة إلى زيادة خطر الإصابة بـ NAFLD بمقدار الضعف تقريبًا [46].



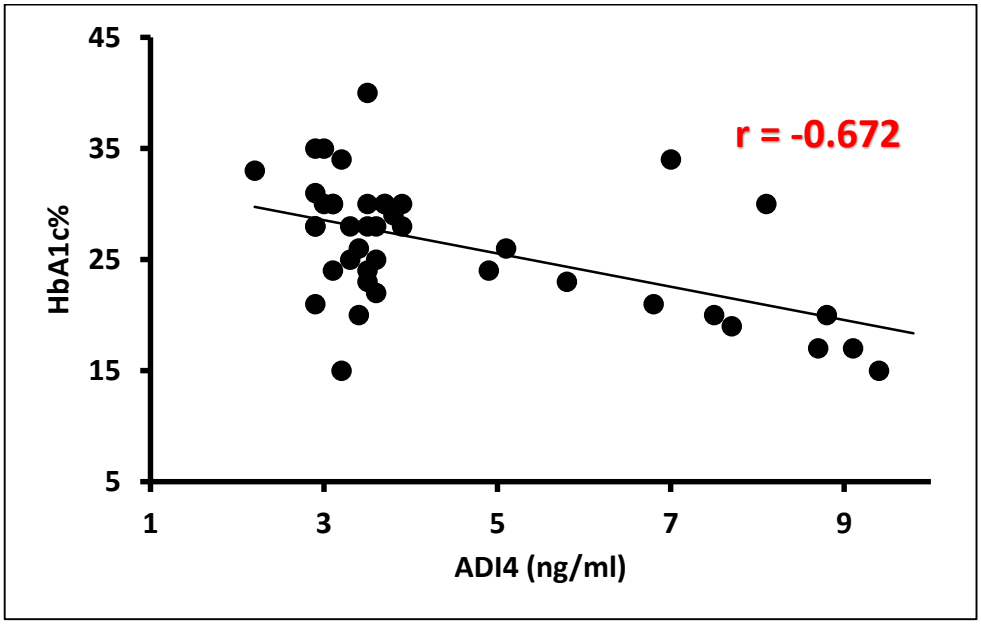
الشكل (4-8) مستويات HbA1c في دم مجموعة مرضى الكبد الدهني ومجموعة السيطرة

يؤثر وجود الكبد الدهني، وخاصة مرض الكبد الدهني غير الكحولي (NAFLD)، على استقلاب الكلوكوز ومستويات HbA1c بشكل مختلف لدى الأفراد المصابين بداء السكري وغير المصابين به. في الأفراد الذين لا يعانون من مرض السكري، ترتبط مستويات HbA1c بشكل مستقل مع تطور NAFLD، علاوة على ذلك، يرتبط محتوى الدهون في الكبد لدى مرضى داء السكري من النوع 2 (T2DM) بشكل إيجابي مع الاضطرابات الأيضية، مما يشير إلى وجود صلة بين شدة NAFLD وايض الكاربوهيدرات ومستويات HbA1c لدى الأفراد المصابين بداء السكري وغير المصابين به [47].

العلاقة الاحصائية بين انزيم ADI4 والمتغيرات الكيموحيوية المقاسة:

لايجاد العلاقة بين المتغيرات الكيموحيوية المدروسة لدى مرضى الكبد الدهني غير الكحولي فقد تم ايجاد معامل الارتباط الخطي بين انزيم ADI4 والمتغيرات الكيموحيوية المقاسة لدى مجموعة المرضى من خلال حساب (Correlation Coefficient r) إذ تدل الاشارة السالبة على وجود علاقة عكسية بين المتغيرات الكيموحيوية، وتدل الاشارة الموجبة على وجود العلاقة الطردية. وكلما اقتربت قيمة معامل الارتباط من الواحد الصحيح زادت شدة العلاقة بين المتغيرين.

اشارت النتائج الموضحة في الشكل (9) الى وجود علاقة عكسية ومعنوية بين فعالية انزيم ADI4 وHbA1c ($r=-0.672$, $p=0.001$).



الشكل (9) العلاقة العكسية بين انزيم ارجنين دي امينيز 4 وHbA1c%

الاستنتاجات Conclusions

من خلال نتائج الدراسة البحثية على مرضى الكبد الدهني غير الكحولي تم الوصول الى عدد من الاستنتاجات المهمة:

1- يمكن اعتبار انزيم ارجنين دي امنيز النوع الرابع مؤشرا تشخيصيا جيدا عند مرضى الكبد الدهني غير الكحولي للتنبؤ بشدة المرض.

2- لا يؤثر العمر على مستويات الأنزيم في مجموعة السيطرة ولكلا الجنسين في حين لوحظ انخفاض معنوي في معدلات فعالية الانزيم ADI4 في الفئة العمرية الاكبر من 45 سنة مقارنة مع الفئة العمرية الاصغر في مجموعة مرضى الكبد الدهني ولكلا الجنسين.

3- لوحظ انخفاض في فعاليات الانزيم ADI4 عند مجموعة مرضى NAFLD مقارنة مع مجموعة السيطرة.

4- لوحظ حصول ارتفاع في الكوليستيرول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وLDL-C وVLDL-C في مجموعة NAFLD مقارنة مع مجموعة السيطرة.

5- لوحظ ان معظم مرضى الكبد الدهني غير الكحولي لديهم مؤشر كتلة الجسم مرتفع.

6- اشارت النتائج الى وجود علاقة عكسية و معنوية بين الانزيم ADI4 و HbA1c% .

المصادر References

[1] Kalra A., Yetiskul E., Wehrle C.J. et al. Physiology, Liver. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; 2023 Jan-. Available from:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/

[2] Idalsoaga F., Kulkarni A.V., Mousa O.Y., Arrese M., Arab J.P. Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Alcohol-Related Liver Disease: Two Intertwined Entities. *Front Med (Lausanne)*. 2020 Aug 20;7:448. doi: 10.3389/fmed.2020.00448. PMID: 32974366; PMCID: PMC7468507.

[3] Le , M., Le , D.M., Baez, T., et al. (2022). Global incidence of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. Hepatology.;76:S850.

[4] Vetrano E., Rinaldi L., Mormone A., Giorgione C., Galiero R., Caturano A., Nevola R., Marfella R., Sasso F.C. Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), Type 2 Diabetes, and Non-viral Hepatocarcinoma: Pathophysiological Mechanisms and New Therapeutic Strategies. *Biomedicines*. 2023 Feb 6;11(2):468. doi:

10.3390/biomedicines11020468. PMID: 36831004; PMCID: PMC9953066.

[5] Pouwels S., Sakran N., GrahamY., et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. BMC Endocr Disord. 2022 ;22(1):63.

[6] Ferro D., Baratta F., Pastori D., Cocomello N., Colantoni A., Angelico F., Del Ben M. New Insights into the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Gut-Derived Lipopolysaccharides and Oxidative Stress. *Nutrients*. 2020 Sep 10;12(9):2762. doi: 10.3390/nu12092762. PMID: 32927776; PMCID: PMC7551294.

[7] Younossi Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol*. 2019 Mar;70(3):531-544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30414863.

[8] Wang, S., and Wang, Y. (2013) Peptidylarginine deiminases in citrullination, gene regulation, health and pathogenesis. Biochim Biophys Acta 1829(10):1126-1135.

[9] Martín Monreal M.T., Rebak A.S., Massarenti L., Mondal. S., Šenolt L., Ødum N., Nielsen M.L., Thompson P.R., Nielsen C.H., and Damgaard D. Applicability of Small-Molecule Inhibitors in the Study of Peptidyl Arginine Deiminase 2 (PAD2) and PAD4. *Front Immunol.* 2021 Oct 19;12:716250.

doi: 10.3389/fimmu.2021.716250. PMID: 34737738; PMCID: PMC8560728.

[10] Alghamdi, M., Alasmari, D., Assiri, A., Mattar, E., Aljaddawi, A.A., Alattas, S.G., and Redwan, E.M. (2019). An Overview of the Intrinsic Role of Citrullination in Autoimmune Disorders. J Immunol Res. Nov 25;2019:7592851. doi: 10.1155/2019/7592851. PMID: 31886309; PMCID: PMC6899306.

[11] Moscarello , M.A., Wood, D.D., Ackerley, C., Boulias, C. (1994). Myelin in Multiple Sclerosis Is Developmentally Immature. J Clin Invest, 94(1):146–54. doi: 10.1172/JCI117300.

[12] Christophorou, M.A., Castelo-Branco, G., Halley-Stott, R.P., Oliveira, C.S., Loos, R., Radzisheuskaya, A., et al.(2014). Citrullination Regulates Pluripotency and Histone H1 Binding to Chromatin. Nature 507(7490):104–8. doi: 10.1038/ nature12942.

[13] Schellekens, G.A., Visser, H., De Jong, B.A.W., Van Den Hoogen, F.H.J., Hazes, J.M.W., Breedveld, F.C., et al. (2000). The Diagnostic Properties of Rheumatoid Arthritis Antibodies Recognizing a Cyclic

Citrullinated Peptide. Arthritis Rheum, 43(1):155–63. doi: 10.1002/1529-0131(200001)43:1<155::AIDANR20>3.0.CO;2-3.

[14] Bording-Weeks, A.N., Tognoli, M.L., Jones, K., Markelc, B., Konietzny, R., et al. (2018). Colorectal Cancer Liver Metastatic Growth Depends on PAD4-Driven Citrullination of the Extracellular Matrix. Nat Commun 9(1):4783. doi: 10.1038/s41467-018-07306-7.

[15] De Chiara F. et al. Ammonia scavenging prevents progression of fibrosis in experimental nonalcoholic fatty liver disease. 2020. Hepatology **71**(3), 874–892 .

[16] Thomsen K.L., Eriksen P.L., Kerbert A.J., De Chiara F., Jalan R., and Vilstrup H. Role of ammonia in NAFLD: An unusual suspect. *JHEP Rep*. 2023 Apr 25;5(7):100780. doi: 10.1016/j.jhepr.2023.100780. PMID: 37425212; PMCID: PMC10326708.

[17] Bessone F., Razori M. V. and Roma M. G. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. 2019. Cell Mol Life Sci. **76**(1), 99–128.

[18] Romero-Gómez, M., Zelber-Sagi, S. and Trenell, M. (2017). Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. J Hepatol. **67**(4), 829–846.

[19] Shatanawi, A., and Momani, M. S. (2017). Plasma arginase activity is elevated in type 2 diabetic patients. Biomed Res, 28(9), 4102-6.

[20] Ali N., Rahman S., Islam S., Haque T., Molla N. H., Sumon A. H., and Ahmed S. The relationship between serum uric acid and lipid profile in Bangladeshi adults. *BMC cardiovascular disorders.* 2019, 19(1), 1-7.

[21] Junge, W., Wilke, B., Halabi, A., et al. (2003). Determination of reference levels in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation EUROMEDLAB, Barcelona.

[22] Hong S., Gordon D., Stec D.E. and Hinds T.D. Bilirubin: A Ligand of the PPARα Nuclear Receptor. In Nuclear Receptors: The Art and Science of Modulator Design and Discovery (Badr, M.Z., ed.), pp. 2021. 463–482, pringer International Publishing, Cham, https://doi.org/10.1007/978-3-030-78315-0˙17.

[23] Koelwyn, G.J., Quail, D.F., Zhang, X., White, R.M. and Jones, L.W. (2017). Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment. Nature reviews. Cancer 17, 620–632.

[24] Zhang H., Chen T., Ren J., Xia Y., Onuma A., Wang Y., He J., Wu, J., Wang H., Hamad A., Shen C., Zhang J., Asara J.M., Behbehani G.K., Wen H., Deng M., Tsung A., Huang H. Pre-operative exercise therapy triggers anti-inflammatory trained immunity of Kupffer cells through

metabolic reprogramming. *Nat Metab*. 2021 Jun;3(6):843-858. doi: 10.1038/s42255-021-00402-x. Epub 2021 Jun 14. PMID: 34127858; PMCID: PMC8462058.

[25] Mela V., et al. Exercise-induced re-programming of age-related metabolic changes in microglia is accompanied by a reduction in senescent cells. Brain Behav Immun.2020, 87, 413–428.

[26] Stevanovic J., Beleza J., Coxito P., Ascensão A., and Magalhães J. Physical exercise and liver "fitness": role of mitochondrial function and epigeneticsrelated mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab*; 2020 ,32:1-14.

[27] Brouwers, B., Schrauwen-Hinderling, V.B., Jelenik, T., Gemmink, A., Sparks, L.M., Havekes, B., et al.(2018). Exercise training reduces intrahepatic lipid content in people with and people without nonalcoholic fatty liver. Am J Physiol Endocrinol Metab 2018;314:E165–E173.

[28] Romano A., and Curcio A. The Association of Silymarin, Vitamin C, Vitamin E, Coenzyme Q10 and Selenomethionine for the Treatment of Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *J. Gastrointest*. 2019, Dig. Syst. , *9*, 1000589.

[29] Tiniakos, D.G.; Vos, M.B.; Brunt, E.M. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease: Pathology and pathogenesis. Annu. Rev. Pathol. 2010, 5, 145–171.

[30] Schirrmacher V. Mitochondria at work: new insights into regulation and dysregulation of cellular energy supply and metabolism. *Biomedicines*; 2020, 8:526.

[31] Cano R., Pérez J.L., Dávila L.A., Ortega Á., Gómez Y., Valero-Cedeño N.J., et al. Role of endocrine-disrupting chemicals in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: a comprehensive review. 2021, Int J Mol Sci;22:4807.

[32] Garcia-Ruiz, C., Baulies, A., Marí, M., García-Rovés, P.M., and Fernándezcheca, J.C. (2013). Mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: Cause or consequence? Free. Radic. Res. 2013, 47, 854–868.

[33] Ling Z.N., Jiang Y.F., Ru J.N. et al. Amino acid metabolism in health and disease. Sig Transduct Target Ther; 2023, 8, 345. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01569-3.

[34] Nagral A., Bangar M., Menezes S., Bhatia S., Butt N., Ghosh J., Manchanayake J.H., Mahtab M.A., and Singh S.P. Gender Differences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2022

Jul;12(Suppl 1):S19-S25. doi: 10.5005/jp-journals-10018-1370. PMID: 36466099; PMCID: PMC9681575.

[35] Christensen A.O., Li G., Young C.H., Snow B., Khan S.A., DeVore S.B., Edwards S., Bouma G.J., Navratil A.M., Cherrington B.D., and Rothfuss H.M. Peptidylarginine deiminase enzymes and citrullinated proteins in female reproductive physiology and associated diseases†. *Biol Reprod*. 2022, Dec 10;107(6):1395-1410. doi: 10.1093/biolre/ioac173. PMID: 36087287; PMCID: PMC10248218.

[36] Sun , D.Q., Liu, W.Y., Wu, S.J., Zhu, G.Q., Braddock, M., Zhang, D.C., Shi, K.Q., Song, D., and Zheng, M.H. (2016). Increased levels of low-density lipoprotein cholesterol within the normal range as a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease. Oncotarget. Feb 2;7(5):5728-37. doi: 10.18632/oncotarget.6799. PMID: 26735337; PMCID: PMC4868717.

[37] Pandeya, D. R., Rajbhandari, A., Nepal, M., Abdalhabib, E. K., Bhatta, M., Malla, S. S., Upadhyay, L. and Saiem Al Dahr, M. H. (2018). Comparative Study Of Serum Lipid Profiles In Nepalese Cancer Patients Attending A Tertiary Care Hospital. Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention: APJCP. 19(2): 491-495.

[38] Yang, D., Lan, J., Cen, J., Han, Y., Hu, H. (2023). Association Between Hypertension and New-Onset Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Chinese Non-Obese People: A Longitudinal Cohort Study. Diabetes Metab Syndr Obes. 2023 Feb 8;16:345-363. doi: 10.2147/DMSO.S396011. PMID: 36788988; PMCID: PMC9922508.

[39] Sonowal R. and Gupta V. Severe Hyperlipidemia In A Case Of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Indian Journal Of Cancer*. 2019, 56(2): 180.

[40] MogensenP. R., Grell K.; Schmiegelow K., Overgaard U. M., Wolthers B. O., Mogensen S. S., Vaag A. and Frandsen T. L. Dyslipidemia At Diagnosis Of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Plos One. 2020, 15(4),: E0231209.

[41] Tomizawa, M., Kawanabe, Y., Shinozaki, F., Sato, S., Motoyoshi, Y., Sugiyama, T., Yamamoto, S., Sueishi, M. (2014). Triglyceride is strongly associated with nonalcoholic fatty liver disease among markers of hyperlipidemia and diabetes. Biomed Rep. Sep;2(5):633-636. doi: 10.3892/br.2014.309. Epub 2014 Jul 1. PMID: 25054002; PMCID: PMC4106613.

[42] Fernández, L. P., Gomez De Cedron, M. and Ramírez De Molina, A. (2020). Alterations Of Lipid Metabolism In Cancer: Implications In Prognosis And Treatment. Frontiers In Oncology. 10: 577420.

[43] Negre-Salvayre, A., Dousset, N., Ferretti, G., Bacchetti, T., Curatola, G., and Salvayre, R. (2006). Antioxidant And Cytoprotective Properties Of High-Density Lipoproteins In Vascular Cells. Free Radical Biology & Medicine, 41(7), 1031-1040.

[44] Feingold, K.R., and Grunfeld, C. (2022). The Effect of Inflammation and Infection on Lipids and Lipoproteins. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326741/.

[45] Akhtar, A., Ijaz, H., Waseem, M., Khan, M.I., Saif, Y., Iqbal, H., Batool, S.A., Kumari, U., Surani, S., and Khan, A. (2024). The interplay between diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study from Pakistan. Ann Med Surg (Lond). Feb 28;86(4):1929-1932. doi: 10.1097/MS9.0000000000001875. PMID: 38576946; PMCID: PMC10990318.

[46] Cureus, A. (2022). Association of Metabolic-Associated Fatty Liver Disease With Various Anthropometric Parameters in Pre-diabetes in Comparison With Diabetes and Control: A Single Tertiary Care Center Study. doi: 10.7759/cureus.27130.

[47] Wei-Wei, Ren., Yunlu, Feng., Youzhen, Feng., Jia-Ying, Li., Chuang-Biao, Zhang., Lie, Feng., Lijuan, Cui., Jianmin, Ran. (2023). Relationship of liver fat content with systemic metabolism and chronic complications in patients with type 2 diabetes mellitus. Lipids in Health and Disease, doi: 10.1186/s12944-023-01775-6.