

تقدير فعالية انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

تقدير فعالية انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

مسلم عباس عبد الشمري نادية احمد صالح الجبوري

جامعة تكريت - كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم الكيمياء

الخلاصة

هدفت الدراسة الى قياس فعالية أنزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز وبعض المتغيرات الكيموحيوية من امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة في مستشفى بعقوبة التعليمي، شملت الدراسة على (100) حالة مرضية لاشخاص مصابين بالتهاب المرارة من النساء. وكذلك شملت الدراسة على (50) عينة من الاشخاص الاصحاء (السيطرة) من النساء. حيث امكن الحصول على هذه العينات من وحدة الجراحية في مستشفى بعقوبة التعليمي للفترة (12-3-2015 الى 23-5-2015). لقد اظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في فعالية انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز عند المرضى بمستوى احتمالية $P \leq 0.01$ مقارنة مع السيطرة، حيث كان معدل فعالية انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز $(126.58 \pm 33.44 \text{ UI/L})$ في مصل مرضى التهاب المرارة و $(11.25 \pm 4.88 \text{ UI/L})$ في مجموعة السيطرة. وكذلك اظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في معدل فعالية انزيم AST و انزيم ALP في امصال المرضى مقارنة بالسيطرة. بينما بينت النتائج عدم وجود فرق معنوي في تركيز البروتين الكلي في امصال المرضى والسيطرة.

الكلمات المفتاحية: التهاب المرارة، انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز.

تقدير فعالية انزيم گاما-گلوٹامائل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

Estimate of gamma-glutamyl transferase enzyme activity and study of some biochemical changes in serum of patients with inflammation gallbladder(Cholecystitis)

Muslim Abbas Abd Al-Shammari

Nadia Ahmed Salih Al-Guburi

Tikrit University - College of Education for Pure Sciences - Chemistry Department

Received 13 December 2015 ; Accepted 3 January 2016

Abstract

The study aimed to measure the activity of gamma-glutamyl transferase enzyme and some biochemical parameters in serum of patients with inflammation gallbladder in Baqubah Teaching Hospital for the period (12-3-2015 to 23/05/2015). they study included 100 case patints with inflammation gallbladder of females. also it included a study on (50) samples of Healthy females (control) as comparison group. The results showed a significant increase in the enzyme gamma-glutamyl transferase activity in patients with level of probability $P \leq 0.01$ compared with the control, where the activity of the enzyme gamma-glutamyl transferase rate ($126.58 \pm 33.44 \text{ UI / L}$) in the serum of patients with inflammation gallbladder and ($11.25 \pm 4.88 \text{ UI / L}$) in the control group. the results showed a significant increase in the rate of AST and ALP enzymes activity in serum of patients compared to the control. While the results showed no significant difference in total protein concentration in the serum of patients and control. we can get these samples of blood from surgical unit in Baqubah Teaching Hospital.

Keywords: Cholecystitis, gamma-glutamyl transferase(GGT).

تقدير فعالية أنزيم غاما-كلوتامايل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

المقدمة

تعتبر امراض المرارة من المشاكل الصحية السائدة في المجتمع العربي، وهي واحدة من المشاكل الطبية الاكثر انتشاراً والتي تتطلب تدخلاً جراحياً للتخلص من المرض نهائياً. حصى المرارة هي المشكلة الصحية الاكثر شيوعاً في جميع انحاء العالم التي تؤثر على المرارة⁽¹⁾. تتشكل الحصى عندما تتشبع العصارة الصفراء اما بالكولسترول او بالبليروبين. وقليلاً ما تتسبب الحصى التي في المرارة اعراضاً لهذا النوع من المرض حيث تمر اغلب الحصى على طول النظام الصفراوي (biliary system) والتي تسبب اعراضاً لمرض حصى المرارة (Gallstones) والذي يصاحبه ألم شديد في الجهة اليمنى العليا من البطن. اذا اغلقت الحصى القناة المرارية فيمكن ان يؤدي ذلك الى التهاب المرارة (cholecystitis). على الرغم من ان جميع الاشخاص الذين لديهم حصى المرارة قد لا تظهر عليهم اعراض التهاب المرارة. اما اذا استقرت الحصى داخل النظام الصفراوي (biliary system) فانه يؤدي الى حصول اليرقان (jaundice). اما اذا اغلقت الحصى القناة البنكرياسية سوف يؤدي ذلك الى التهاب البنكرياس (pancreatitis)⁽²⁾. حصى المرارة يمكن ان تختلف في الحجم والشكل من صغيرة تشبه حبة الرمل الى كبيرة ابعادها اكبر من (2.5cm)⁽³⁾. ان التهاب المرارة يحدث بسبب انسداد القناة المرارية ووجود حصى في المرارة^(4,5). هذا الانسداد يسبب تراكم الصفراء في المرارة وازدياد الضغط داخل المرارة مما يسبب ألم في الجهة اليمنى العليا من البطن⁽⁵⁾. ان تركيز الصفراء المرتفع، والضغط، واحياناً العدوى البكتيرية تسبب تهيج واضرار لجدار المرارة، مما يسبب التهاب وتورم في المرارة⁽⁵⁾. ان هذا الالتهاب والتورم يمكن ان يقلل من تدفق الدم الطبيعي الى اجزاء المرارة، والتي يمكن ان تؤدي الى موت الخلايا بسبب عدم كفاية الاوكسجين⁽⁵⁾. عوامل خطر الاصابة بحصى المرارة والتهاب المرارة متشابهة وتشمل الاناث، التقدم في العمر، الحمل، وسائل منع الحمل عن طريق الفم، السمنة، السكري، فقدان الوزن السريع⁽⁵⁾. يتم تشخيص التهاب المرارة بناء على الاعراض المتضمنة ألم في الجهة العليا اليمنى من البطن، غثيان، تقيؤ، ارتفاع درجة حرارة الجسم، وكذلك الفحوصات المختبرية تبين ارتفاع عدد خلايا كريات الدم البيضاء⁽⁶⁾. وعادتها ما تستخدم الموجات فوق الصوتية للبطن ايضا في التشخيص⁽⁷⁾.

هدف الدراسة: قياس فعالية أنزيم غاما-كلوتامايل ترانسفيريز وبعض المتغيرات الكيموحيوية من امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة في مستشفى بعقوبة التعليمي.

تقدير فعالية انزيم گاما-گلوٹامایل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

المواد وطرائق العمل

1- المواد المستخدمة

تم استخدام المواد المبينة في الجدول (1) والمجهزة من منشأ عالمية مختلفة:

المواد المستعملة

المنشأ	اسم المادة الكيميائية او الصيغة الكيميائية	ت
Human-Germany	Gamm-Glutamyltransferase (Kit)	1
Bio Systems-Spain	Total Protein (Kit)	2
Bio Systems-Spain	Aspartate amino transferase (AST) (Kit)	3
Bio Systems-Spain	Alkaline Phosphatase (ALP) (Kit)	4

2- الاجهزة المستخدمة:

تم استخدام الاجهزة المبينة في الجدول (2) خلال تجارب البحث والمصنعة من منشأ عالمية مختلفة:

الاجهزة المستخدمة

الشركة والمنشأ	اسم الجهاز	ت
kokusan H-19f/ Germany	جهاز الطرد المركزي	1
SLAMED- Germany	Micropipettes ماصات مايكروية	2
France/CE-1011	جهاز المطيافية الضوئية CECIL	3
JARD- Germany	حاضنة Incubator	4

طرائق العمل

1- جمع العينات:

تم الحصول على عينات دم للمصابات بالتهاب المرارة من وحدة الجراحية في مستشفى بعقوبة التعليمي وكان عددها (100) عينة اناث، تراوحت اعمارهم بين (20-75) سنة، حيث تم التأكد من اصابتهم بمرض التهاب المرارة بالاستناد الى العلامات التشخيصية (الم في الجهة العليا اليمنى من البطن، غثيان، قيء، حمى) وكذلك الفحوصات المختبرية وفحص الموجات فوق الصوتية اضافة الى المعلومات المجموعة من الاخصائيين. وتم الحصول على (50) عينة دم من الاصحاء (السيطرة) من الاناث، من المراجعين لوحدة الباطنية في مستشفى بعقوبة التعليمي، وتم التأكد من عدم اصابتهم بالامراض

تقدير فعالية انزيم گاما-گلوٹاماميل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

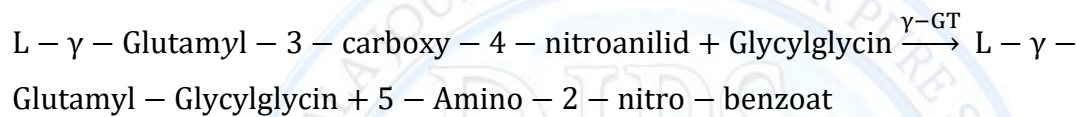
نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

التي تؤثر على مستوى الانزيم (من سيرتهم الذاتية والطبية)، حيث تم جمع العينات بسحب الدم من الوريد بواسطة انبوية زجاجية معقمة ومفرغة من الهواء (Vacuum Blood collection tube, Vacutainer, Needle Holder, Single) حجم (6mL)، بعد ذلك تم فصل الدم للحصول على المصل بعد وضعه في جهاز الطرد المركزي بسرعة (3000g) لمدة (10) دقائق حيث استخدم المصل لاجراء الفحوصات.

2- قياس فعالية أنزيم گاما-گلوٹاماميل ترانسفيريز :

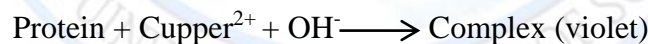
تم قياس فعالية الانزيم حسب الطريقة المعروفة لقياس فعالية انزيم GGT هي طريقة Szasz⁽⁸⁾، وتوضح معادلة تفاعل المعقد مع الانزيم على النحو الآتي:



حيث يتناسب نشاط GGT مع معدل تكوين 5-امينو-2-نايترو-بنزوات عند طول موجي (405nm).

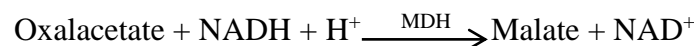
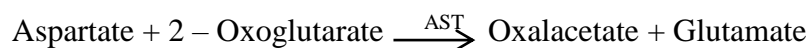
3- تقدير البروتين الكلي في مصل الدم:

تعتمد هذه الطريقة على تفاعل البروتين الموجود في عينة من المصل مع ايون النحاس (Cu^{2+}) في وسط قاعدي والذي يعرف بكشف البايوريت (Biuret Reagent) ليكون معقداً ذو لون بنفسجي تتناسب شدة امتصاصه مع عدد الاواصر الببتيدية الموجودة في المصل، تقاس شدة الامتصاص عند الطول الموجي (545nm)⁽⁹⁾.



4-تقدير فعالية انزيم اسبارتيت امينو ترانسفيريز في مصل الدم:

يحفز انزيم AST نقل مجموعة الامينو من الاسبارتيت الى 2-اوكسوكلوترت ليكون اوكز الواسيتيت وكلوٹاميت. يتم تحديد تركيز انزيم AST من معدل انخفاض نسبة NADH والذي يقاس عند طول موجي (340 nm) عن طريق مالميت ديهيدروجينيز (MDH)^(10,11,12)، وكما موضح في المعادلات الآتية:



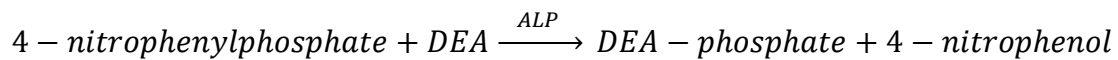
تقدير فعالية انزيم غاما-كلوتامايل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

5-تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القلوي في مصلى الدم

يُحضر الفوسفاتيز القلوي (ALP) في وسط قاعدي عملية نقل مجموعة الفوسفات من 4-نايتروفيل فوسفات الى داي ايثانول امين (DEA) ويحرر 4-نايتروفينول. يُحدد تركيز الفوسفاتيز القلوي من معدل تكوين 4-نايتروفينول والذي يقاس عند طول موجي 405nm^(14,13).



النتائج والمناقشة

1- قياس فعالية انزيم غاما-كلوتامايل ترانسفيريز

تضمنت النتائج القيم الاحصائية لفعالية انزيم GGT والمتغيرات الاخرى كما موضح في الجدول الاتي:

الجدول (3) يبين تركيز انزيم GGT وبعض المتغيرات الكيموحيوية في مصلى دم الاشخاص المصابين بالتهاب المرارة ومجموعة السيطرة.

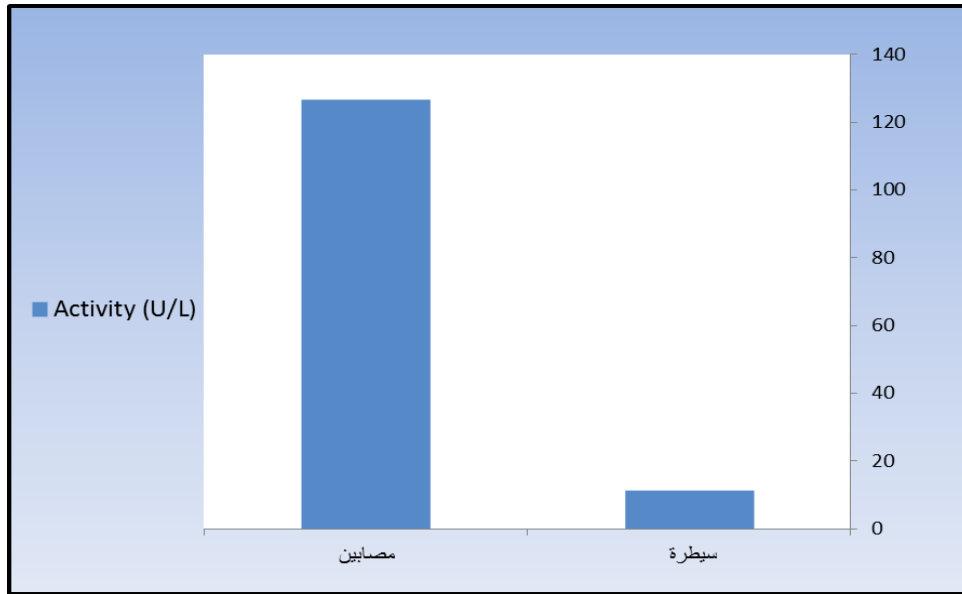
Parameter	Control Mean±S.D N=50	Patients Mean±S.D N=100	T test	P value
GGT(U/L)	11.25 ± 4.88	126.58 ± 33.44	15.23	≤ 0.01
Total Protein(g/L)	58.05±15.00	55.63±13.11	2.16	0.00
AST(U/L)	13.21 ± 3.51	30.01 ± 5.88	10.97	≤ 0.01
ALP(U/L)	68.38 ± 16.1	158.54 ± 23.58	14.12	≤ 0.01

اظهرت النتائج وجود ارتفاع فعالية انزيم GGT في مصلى دم المصابين بالتهاب المرارة، فعند اجراء مقارنة احصائية بين فعالية انزيم GGT في مصلى دم المرضى والسيطرة تبين وجود ارتفاع معنوي في فعالية الانزيم عند المرضى مقارنة مع الاصحاء بمستوى دلالة ($P \leq 0.01$) والموضح في جدول (3) والشكل (1).

تقدير فعالية انزيم غاما-جلوتاميل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري



الشكل (1) مستوى فعالية انزيم GGT عند مرضى التهاب المرارة مقارنة بالاصحاء.

أكدت البحوث السابقة ان الارتفاع في مستوى فعالية انزيم GGT الى عدة اضعاف (10-20 مرة) من الحالة الطبيعية يشير الى التهاب المرارة الحاد او انسداد الاقنية الصفراوية⁽¹⁵⁾، وكذلك يرتفع مستوى الانزيم في حالات الامراض القلبية⁽¹⁶⁾، ومرضى السكري (النوع الثاني)⁽¹⁷⁾، والتهاب البنكرياس⁽¹⁸⁾، والفشل الكلوي⁽¹⁹⁾، وامراض الكبد والمدمنين على استهلاك الكحول⁽²⁰⁾.

2- تقدير البروتين الكلي في مصل الدم:

تم قياس ومقارنة تركيز البروتين الكلي في مصل المرضى المصابين بالتهاب المرارة والاصحاء حسب الطريقة المذكورة في الفقرة (3). حيث بينت النتائج في الجدول (3) بعض المتغيرات الكيموحيوية ومن ضمنها تركيز البروتين الكلي حيث اظهرت النتائج الاحصائية عدم وجود فرق معنوي في تركيز البروتين الكلي في المرضى والاصحاء وهذا يتوافق مع ما توصلت اليه البحوث السابقة⁽²¹⁾.

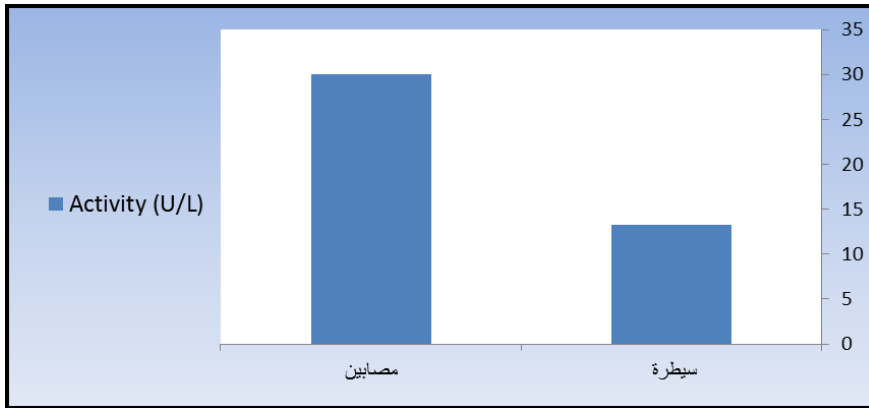
3- تقدير فعالية انزيم اسبارتيت امينو ترانسفيريز في مصل الدم:

اظهرت النتائج وجود ارتفاع في تركيز انزيم AST في مصل دم المصابين بالتهاب المرارة، فعند اجراء مقارنة احصائية بين تركيز انزيم AST في مصل دم المرضى والسيطرة تبين وجود ارتفاع معنوي في فعالية الانزيم عند المرضى مقارنة مع السيطرة بمستوى دلالة ($P \leq 0.01$) والموضح في جدول (3) والشكل (2).

تقدير فعالية انزيم غاما-كلوتامايل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

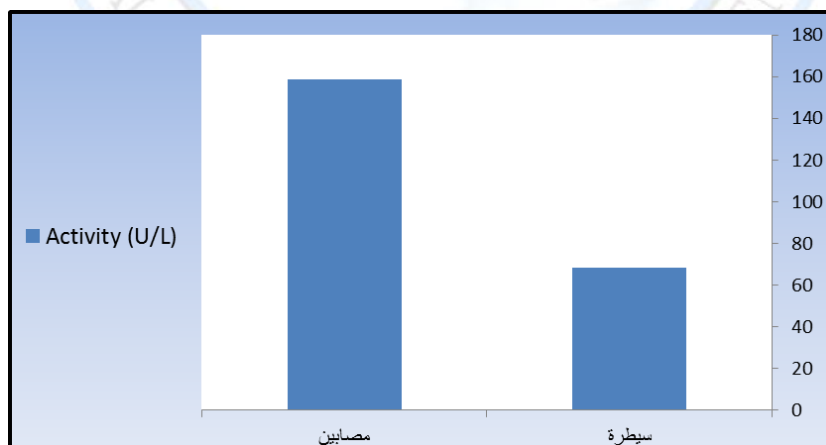


الشكل (2) مستوى فعالية AST عند مرضى التهاب المرارة مقارنة بالاصحاء.

أكد الباحثون ان ارتفاع مستوى فعالية AST عن الحالة الطبيعية (0-20U/L) يشير الى التهاب الكبد الفيروسي او انسداد الاقنية الصفراوية وكذلك يشير الى التهاب المرارة (الحاد والمُزمن)، كذلك يعتبر ارتفاع مستوى فعالية AST عامل تنبؤ لاحتماء عضلة القلب الحاد(22,23,24).

4- تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القلوي في مصل الدم:

بينت النتائج وجود ارتفاع في تركيز انزيم ALP في مصل دم المصابين بالتهاب المرارة ، فعند اجراء مقارنة احصائية بين تركيز انزيم ALP في مصل دم المرضى والسيطرة تبين وجود ارتفاع معنوي في فعالية الانزيم عند المرضى مقارنة مع السيطرة بمستوى دلالة ($P \leq 0.01$) والموضح في جدول (3) والشكل (3).



شكل (3) مستوى فعالية ALP عند مرضى التهاب المرارة مقارنة بالاصحاء.

تقدير فعالية انزيم گاما-گلو تامايل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

أكد الباحثون ان ارتفاع مستوى فعالية ALP عن الحالة الطبيعية (30-90U/L) يشير الى التهاب المرارة الحاد وانسداد الاقنية الصفراوية وكذلك يشير الى التهاب في الكبد، كذلك يعتبر مؤشرا على فشل القلب الاحتقاني (26,25,24).

المصادر

1. Baig, S. J., Biswas, S., Das, S., Basu, K., & Chattopadhyay, G. (2001). Histopathological changes in gallbladder mucosa in cholelithiasis: correlation with chemical composition of gallstones. *Tropical gastroenterology: official journal of the Digestive Diseases Foundation*, 23(1), 25-27.
2. Everhart, J. E., Khare, M., Hill, M., & Maurer, K. R. (1999). Prevalence and ethnic differences in gallbladder disease in the United States. *Gastroenterology*, 117(3), 632-639.
3. Sikkandar, S., Jayakumar, S., Gunasekaran, S., Renugadevi, T. S., & Alwar, B. (2011). Study on the analysis of human gallstones using Fourier transform infrared spectroscopic technique. *Int J ChemTech Res*, 3(1), 149-54.
4. Strasberg, S. M. (2008). Acute calculous cholecystitis. *New England Journal of Medicine*, 358(26), 2804-2811.
5. Greenberger NJ, Paumgartner G. (2008). Diseases of the gallbladder and bile ducts. In: Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longdo D, Jameson J, et al, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. Australia and New Zealand: McGraw Hill; p. 1991-2017.
6. Friedman, L. S. (2010). *Liver, Biliary Tract and Pancreas Disorders*. Mc Phee SJ, Papadakis MA, Gonzale R, Zeiger R. *Current Medical Diagnosis and Treatment*, 49th ed. Mc Graw Hill Lange, 598-648.
7. Demehri, F. R., & Alam, H. B. (2014). Evidence-Based Management of Common Gallstone-Related Emergencies. *Journal of intensive care medicine*, 0885066614554192.
8. Szasz, G. (1969). A kinetic photometric method for serum γ -glutamyl transpeptidase. *Clinical chemistry*, 15(2), 124-136.
9. Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem*, 177(2), 751-766.

تقدير فعالية انزيم گاما-گلوتاميل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

10. Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F., Féraud, G., Ferrero, C. A., Franck, P. F. H., ... & Schimmel, H. G. (2002). IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(7), 725-733.
11. Schumann, G., Canalias, F., Joergensen, P. J., Kang, D., Lessinger, J. M., & Klauke, R. (2010). IFCC reference procedures for measurement of the catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(5), 615-621.
12. Gella, F. J., Olivella, T., Pastor, M. C., Arenas, J., Moreno, R., Durban, R., & Gomez, J. A. (1985). A simple procedure for the routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clinica chimica acta*, 153(3), 241-247.
13. Keiding, R., Horder, M., & Gerhardt, W. (1974). The Committee on enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology (SCE). Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. *Scand J Clin Lab Invest*, 33, 291-306.
14. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (1970). Standardisierung von methoden zur bestimmung von enzymaktivitäten in biologischen flüssigkeiten. *Z Klin Chem Klin Biochem*; 8:658-660.
15. Peng, W. K., Sheikh, Z., Paterson-Brown, S., & Nixon, S. J. (2005). Role of liver function tests in predicting common bile duct stones in acute calculous cholecystitis. *British journal of surgery*, 92(10), 1241-1247.
16. Ruttman, E., Brant, L. J., Concin, H., Diem, G., Rapp, K., & Ulmer, H. (2005). γ -Glutamyltransferase as a Risk Factor for Cardiovascular Disease Mortality An Epidemiological Investigation in a Cohort of 163 944 Austrian Adults. *Circulation*, 112(14), 2130-2137.
17. Kim, C. H., Park, J. Y., Lee, K. U., Kim, J. H., & Kim, H. K. (2009). Association of serum γ -glutamyltransferase and alanine aminotransferase activities with risk of type 2 diabetes

تقدير فعالية انزيم گاما-گلوٹامائل ترانسفيريز ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال دم المرضى المصابين بالتهاب المرارة

نادية احمد صالح الجبوري

مسلم عباس عبد الشمري

- mellitus independent of fatty liver. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 25(1), 64-69.
18. Güngör, B., Çağlayan, K., Polat, C., Şeren, D., Erzurumlu, K., & Malazgirt, Z. (2010). The predictivity of serum biochemical markers in acute biliary pancreatitis. *ISRN gastroenterology*, vol 2011, 5 pages.
 19. Park, W. Y., Kim, S. H., Kim, Y. O., Jin, D. C., Song, H. C., Choi, E. J., ... & Kim, Y. K. (2015). Serum gamma-glutamyltransferase levels predict mortality in patients with peritoneal dialysis. *Medicine*, 94(31).
 20. Torkadi, P. P., Apte, I. C., & Bhute, A. K. (2014). Biochemical Evaluation of Patients of Alcoholic Liver Disease and Non-alcoholic Liver Disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(1), 79-83.
 21. Zajic, S., Damjanovic, Z., Stojanovic, M., Visnjic, M., Dencic, S., Ilic, D., & Sokolovic, D. (2007). Biochemical Markers In Patients With Extrahepatic Cholestasis. *Acta Medica Medianae*, 47(1), 5-12.
 22. Wang, C. H., Mo, L. R., Lin, R. C., Kuo, J. Y., & Chang, K. K. (2000). Rapid diagnosis of choledocholithiasis using biochemical tests in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Hepato-gastroenterology*, 48(39), 619-621.
 23. Nalpas, B., Vassault, A., Charpin, S., Lacour, B., & Berthelot, P. (1986). Serum mitochondrial aspartate aminotransferase as a marker of chronic alcoholism: diagnostic value and interpretation in a liver unit. *Hepatology*, 6(4), 608-614.
 24. Padda, M. S., Singh, S., Tang, S. J., & Rockey, D. C. (2009). Liver test patterns in patients with acute calculous cholecystitis and/or choledocholithiasis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 29(9), 1011-1018.
 25. Friedman, S. F., Martin, P., & Munoz, J. S. (2003). Laboratory evaluation of the patient with liver disease. *Hepatology, a textbook of liver disease*, 1, 661-709.
 26. Rosalki, S. B., & McIntyre, N. (1999). Biochemical investigations in the management of liver disease. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, ed, 2, 503-521.