

فعالية انزيم الاديونوسين دي امينز في مصل دم الاشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي سالب المصل وفقر الدم التحللي وبيضاض الدم ومقارنتها مع المصل الطبيعي في محافظة صلاح الدين

وسن نزهان حسين علي العاصي

قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة تكريت، تكريت، جمهورية العراق

المخلص:

عالية في انسجة الغدد اللمفاوية وخاصة خلايا T اللمفاوية⁽¹⁾ ، ولوحظ ايضا زيادة في مستوى فعالية الانزيم في حالات مرتبطة مع الاختلال الوظيفي لخلايا الدم وخصوصا كريات الدم الحمر⁽²⁾ والخلايا اللمفاوية بانواعها وكريات الدم البيض⁽³⁾ ، ولوحظ ايضا زيادة في فعالية الانزيم وفي حالات الأمراض السرطان⁽⁴⁾ . كما تشير الدراسات الى ان النقص الولادي لهذا الانزيم في الانسان يؤدي الى مرض عوز لمناعة الشديد (Sever combined immunodeficiency)⁽⁵⁾ .

ان للقياس الكمي لفعالية انزيم الاديونوسين دي امينز فوائده من الناحية السريرية ، فهو مفيد لتشخيص العديد من الامراض ، ويعتقد انه من الانزيمات المستهدفة للمعالجة الكيماوية ، ففي عملية تكاثر الخلايا يؤدي تثبيط الانزيم الى ابطاء العملية ككل بسبب الاسترداد الجزئي للبيورينات لمسار الانقاذ ، وهكذا فان قلة الاديونوسين المنتج يؤدي الى عدم توفر هايپوزانثين لعملية تكوين النيوكليوسيدات بمسار الانقاذ وبالتالي يقل توفر النيوكليوتيدات او لا تتكون كمصدر للاحماض النووية في الخلايا ، وبدورها لا تنقسم الخلايا ، وهذه هي الالية المفروضة في معظم الخلايا بمنع انتشار خلايا الاورام السرطانية⁽⁶⁾ .

ان توفير المعلومات وخاصة القيم الطبيعية والقيم في الحالات المرضية وطرق الكشف عنه وتأثير المثبطات ربما يمكن الاستفادة منها كاداة مفيدة في تشخيص وعلاج العديد من الامراض. لذا يهدف البحث الحالي الى تحديد قيم فعالية الإنزيم في بعض الحالات المرضية وهي التهاب المفاصل سلب المصل Seronegative arthritis وفقر الدم التحللي وبيضاض الدم وإمكانية استخدام النتائج كدليل تشخيصي لهذه الأمراض.

المصل وجمع العينات

تم جمع مصل الدم من (٤٨) حالة مرضية اشتملت على (٢٠) حالة التهاب مفاصل سالب المصل (١٢ اناث و ٨ ذكور) و (١٥) حالة فقر دم تحللي (٨ ذكور و ٧ اناث) و (١٣) حالة ابيضاض الدم (٧ اناث و ٦ ذكور) للفترة (كانون الثاني ٢٠٠٤ الى نيسان ٢٠٠٤) ، جمعت من مستشفى تكريت التعليمي بالإضافة الى مختبرات التحليلات المرضية الأهلية وذلك بعد إجراء الفحوصات المختبرية والتشخيص السريري من قبل الأطباء الاختصاص . اما بالنسبة للحالات الطبيعية (مجموعة السيطرة) وهي (٣٠) حالة (١٨ ذكور و ١٢ اناث) فقد جمعت من طالبات وطلاب وموظفي جامعة تكريت وباعمار (١٨ - ٥٥) سنة ، ومن هذه العينات حضر امصال الدم من عينات الدم الوريدي وذلك بسحب ٥سم³ من الدم بواسطة محقنة طبية معقمة خالية من أي مادة مانعة للتخثر للحصول على المصل ، ووضعت عينة الدم في انبوبة الطرد المركزي (Centrifuge tube) وتركت بدرجة حرارة الغرفة (٢٥م) لحين تخثر الدم .

انزيم الاديونوسين دي امينز ADA (EC 3.5.4.4) احد الانزيمات الممينة التي تؤدي دور مهم في عملية تحويل الاديونوسين الى انوسين في عملية تقويض البيورينات .

تم دراسة فعالية انزيم الاديونوسين دي امينز في (٤٨) عينة من امصال الاشخاص المصابين ، حيث تم تقسيمهم الى ثلاث مجاميع ، المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي سالب المصل وفقر الدم التحللي وبيضاض الدم مقارنة مع (٣٠) عينة من امصال الاشخاص الطبيعيين .

اظهرت النتائج بان فعالية الانزيم معبرا عنها بوحدة عالمية / لتر من الاديونوسين المزال منه الامين في مجموعة الاشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي سالب المصل ($4 \pm 36,4$) وحدة عالمية / لتر ، اما الاشخاص المصابين بفقر الدم التحللي ($3,3 \pm 56,0$) وحدة عالمية / لتر ، بينما بلغت فعالية انزيم ADA في مجموعة المصابين ببيضاض الدم ($2,1 \pm 68,4$) وحدة عالمية / لتر مقارنة بفعالية الانزيم في الاشخاص الطبيعيين ، حيث بلغت ($2,1 \pm 13,4$) وحدة عالمية / لتر .

اظهرت النتائج بان هناك فروقات معنوية لقيم فعالية انزيم ADA في الحالات المرضية الثلاثة مقارنة بالحالة الطبيعية (مجموعة السيطرة) بغض النظر عن الجنس والعمر وفصيلة الدم .

المقدمة:

الاديونوسين دي امينز EC Adenosine Diaminohydrolases 3.5.4.4. ويختصر الى (ADA) يحفز الإزالة الأيمينية غير العكسية بتفاعل التحلل المائي للاديونوسين (المادة الاساس) ويحوله الى الانوسين او الديوكسي ادينوسين محررا الامونيا⁽¹⁾ . في مسار انقاذ النيوكليوسيدات البيورينية (Purine nucleoside salvage) فيعد ان يقوم انزيم ٥- نيوكليوتايديز بتحليل مجموعة فوسفات المركب ٥- ادينوسين احادي الفوسفات (الناتج من تكسر الاحماض النووية) مطلقا الاديونوسين عندها يعمل الانزيم (ADA) على تقويض الاديونوسين محولا اياه الى ادينوسين ومحررا الامونيا⁽²⁾ . في وسط مسار معقد يؤدي الى تكوين حامض اليوريك من نيوكليوتيدات البيورين⁽³⁾ . الاديونوسين دي امينز من الانزيمات واسعة الانتشار في العديد من انسجة وخلايا جسم الكائن الحي⁽⁴⁾ .

يعد الاديونوسين دي امينز ذو اهمية خاصة اذ يوجد هنالك عدد من الدلائل التي تدعم دوره في عملية التنظيم والتمايز والنمو الخلوي⁽⁵⁾ وبالأخص الدراسات السريرية والمختبرية ، اذ تتأثر فعاليته في حالات مرضية عديدة لذا تم الكشف عن فعاليته في انسجة الانسان المختلفة ووجدت اعلى فعالية له في الغشاء المخاطي المعوي وفي نسيج الاعور والطحال وادنى منها في الكبد والكلى والمصل بينما تكون فعاليته قليلة او تكاد تكون معدومة في العضلات الهيكلية والجلد والعظم⁽⁶⁾ ، كما وجد ان الانزيم ADA فعالية

ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة (10) دقائق لغرض الحصول على أكبر كمية من مصل خال من اثار كريات الدم الحمر .

قياس فعالية الاديونوسين دي امينز (ADA)

قيست فعالية الاديونوسين دي امينز في مصل دم الاشخاص الاصحاء والحالات المرضية باستخدام الطريقة اللونية المذكورة من قبل (Suga)⁽¹⁰⁾ اعتمادا على الطريقة المتبعة من قبل (Cuisti)⁽¹¹⁾. تعتمد هذه الطريقة على تحديد كمية الامونيا المتحررة من خليط التفاعل نتيجة لازالة الامين من الاديونوسين وتحوله الى الانوسين



اعتمد جدول الاضافة التالي جدول(1) في جميع التجارب التي اجريت في البحث، حيث تضمنت كل تجربة اربعة انابيب وقيست الحجوم بالميكروليتر وكما مبين :-

جدول (1) طريقة عمل قياس فعالية الانزيم ADA

ت	المادة بالميكروليتر	Test	Control	Standard	Blank
1.	منظم الفوسفات (50 M mol/L ; PH 6.5)	-	-	-	1,00
2.	محلول الاديونوسين (كمادة اساس) (4 M mol/L)	1,00	1,00	-	-
3.	محلول الامونيا القياسي (75μ mol/L)	-	-	1,00	-
4.	المصل	0,05	-	-	-
5.	ماء مقطر	-	-	0,05	0,05

مزجت محتويات الانابيب جيدا وحضنت لمدة (60) دقيقة في حمام مائي بدرجة (37) م.

ت	المادة سم ³	Test	Control	Standard	Blank
6.	محلول الفينول - نايترو بروسيد الصوديوم الفينول (106 M mol/L) نايتروبروسيد (0.17 M mol/L)	3,00	3,00	3,00	3,00
7.	المصل	-	0,05	-	-
8.	محلول هائيوكلورات الصوديومهايبوكلورات (11 M mol/L) هيدروكسيد الصوديوم (25Mmol /L)	3,00	3,00	3,00	3,00

مزجت الانابيب وحضنت لمدة (30) دقيقة في حمام مائي بدرجة (37) م ثم قرأت الامتصاصية على طول موجي (630) نانوميتر .

وتم التعبير عن وحدة انزيم ADA بانها كمية الانزيم الذي يحرر مايكرومول واحد من الامونيا في الدقيقة الواحدة من التفاعل .

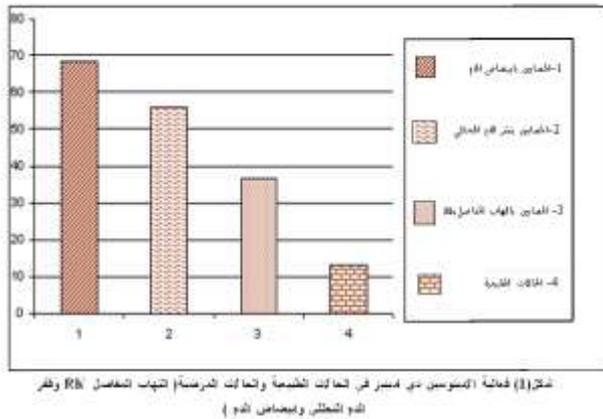
النتائج والمناقشة:

تم تحديد قيم فعالية الاديونوسين دي امينز في مصل (20) حالة إصابة التهاب مفاصل رثوي سالب المصل و (15) حالة إصابة فقر دم تحليبي و (13) حالة مصابة بابيضاض الدم و (30) عينة للحالات الطبيعية ، بمعدل قراءتين لكل نموذج (Duplicated readings) من المصل الطبيعي والمصل المصاب باستخدام الطريقة اللونية المذكورة في جدول (1) .

تظهر النتائج في جدول (2) شكل (1) بان هناك ارتفاعا ملحوظا في مستوى فعالية الإنزيم ADA في حالة المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي سالب المصل اذ تتراوح بين (36,4 ± 4) وحدة عالمية / لتر وتتراوح فعاليته بين (3,3 ± 56,0) وحدة عالمية / لتر في حالة المصابين بفقر الدم التحليبي كما وتتراوح فعاليته بين (2,1 ± 68,4) وحدة عالمية / لتر عند المصابين بابيضاض الدم مقارنة بمستواه في المصل الطبيعي اذ تتراوح فعاليته بين (2,1 ± 13,4) وحدة عالمية / لتر .

جدول (2) فعالية الإنزيم ADA في الحالات الطبيعية والحالات المرضية (التهاب المفاصل الرثوي Rh⁻ وفقر الدم التحليبي وابيضاض الدم)

ت	المجموع	الفعالية IU/L	المدى
1	الطبيعيين (مجموعة السيطرة)	13,4 ±	9,4 - 17,1
2	المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي سالب المصل Rh ⁻	36,4 ±	26,9 - 46,5
3	المصابين بفقر الدم التحليبي	56,0 ±	49,9 - 61,7
4	المصابين بابيضاض الدم	68,4 ±	59,5 - 75,3



ان دراسة فعالية الأنزيم ADA لها فائدتها القصى في متابعة العمليات الحيوية داخل الخلية ، اذ تعكس أنشطتها تطبيقات مهمة تنطوي تحتها عمليات التشخيص الطبي وخاصة في مجال أمراض الدم المختلفة⁽¹²⁾. والى جانب ذلك فقد أشارت البحوث الى وصف دقيق للأنزيم ADA خصوصا في الحالات المرضية بحيث ساهمت مثل هذه الدراسات في دعم علم الأنزيمات والتشخيص السريري⁽¹³⁾. اذ تتوافق نتائج الدراسة الحالية مع ما سبقها من الدراسات، من حيث ان معدل فعالية الأنزيم ADA في

وزيادة فعالية الانزيم ADA في مصلى دم المصابين بابيضاض الدم هو دليل على حدوث اضطرابات في النسيج المكون للدم خلال مراحل تكون الدم في نقي العظم ، مما يسبب زيادة ترشيح سوائل الدم مؤديا الى اختلاف وظائفه وزيادة في أنشطة أنزيماته التي هي مسؤولة عن تقويض المركبات البيورينية مما يؤخر عملية تنظيم ونمو وتطور كريات الدم الحمر في نقي العظم والطحال (٢٣) .

ومما تقدم يلاحظ ان نتائج هذه الدراسة تؤكد ان قيمة فعالية انزيم ADA في الحالات الطبيعية هي قيمة عامة وهذه ذات فائدة كبيرة من الناحية التطبيقية لما تعطيه من شمولية لقيمة الفعالية الانزيمية في دم الانسان بغض النظر عن جنسه وعمره وفصيلة دمه .

المصادر:

- 1- Franco , R. and Centelles , J.J, Adenosine deaminase inhibitors as therapeutic agents . *Drugs of Today* , 25 : 155-170 , (1989).
- 2- Chiba .S., Matsumoto H, Saitoh M, Kasahara M, Matsuya M,& Kashiwagi M, A correlation study between serum adenosine deaminase activities and peripheral lymphocyte subsets in parkinsons disease , *Journal of the Neurological Sciences* ; 132 : 170-173, (1995) .
- 3- Bergmeyer Hu, Bergmeyer J, Grab.I.M : Methods of enzymatic analysis vol.IV .Enzymes 2 : Esterases , Glycosidases , layases , ligases , 3rd .ed., federal republic of Germany : verlag chemie Gm bH . weinheim : 308 –323 .(1983).
- 4- Doni , M.G, Adenosine uptake and deamination by blood plateles in different mammalian species , *Heamostasis*, 10 : 69-88 (1981).
- 5- Al- samarra A.H. , Adenosine deaminase : 1sdation and activity evalution in *meningitis* , *Medical journal of Tikrit university* , (2000) .
- 6- Chechik BE Schrader WP Minowade J. An immunomorphological study of adenosine deaminase distribution in human thyman tissue , normal lymphocytes and hematopoietic cell line .*J.Immunol* ; 126 : 1003-1007 . (1981) .
- 7- Mikaeil M .H. and Al- Chalabi . K. Comparative study of properties and activity of adenosine deaminase from human serum and rythrocytes *Refidian* , J.SC, 11 : 32 –37, (2000) .
- 8- Kobayash , F. , Ikeda T. , Marum F. , and Sato C. Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease . *Am. Jastroenterol*, 88 (2) : 266 –271 (1993).
- 9- Gatis C., . Naitana A. ,Pirino , D. and Serru G. , Serum adenosine activity in HIV positive subjects A hypothesis on the significance of ADA2 .*Panminervamea* , . 31 :107-113 (1989) .
- ١٠- الجليبي قصي عبد القادر.، ميكائيل محمد حسين ، فعالية أنزيم الأدينوسين دي أميناز في مصلى الأشخاص المصابين بالحمى التيفوئيدية أو حمى مالطا أو الملاريا،مجلة علوم الرافدين، مجلد ١١، العدد ٤، الصفحة ٢١-١٤، (٢٠٠٠) .
- 11- Suga M. Ando M. Nishikaw H. and Arakiss . Adenosine deaminase activity and IL-2 receptor levels in serum from patients with Mycoplasma

المصول الطبيعية يقع ضمن معدلات أنشطته في المصول والأنسجة المختلفة والتي بحثتها الدراسات السابقة، وزيادة فعالية انزيم ADA في حالات الأمراض المختلفة عدا حالة العوز المناعي، اذ يلاحظ انخفاض في فعالية الأنزيم ADA مقارنة بفعاليتيه عند الطبيعيين (٢٤) .

وفي دراسة مشابه لميكائيل (٢٥) اذ وجد ان فعالية انزيم ADA في متحلل كريات الدم الحمر الطبيعي والمصل الطبيعي تبلغ ($74,44 \pm 7,7$) و ($15,5 \pm 1,5$) على التوالي . وفي دراسة للجوادى (٢٥) وجد ان فعالية انزيم ADA في البيتا - ثلاثيسما الكبيرة لمتحلل كريات الدم الحمراء والمصل تبلغ ($164,21 \pm 5,6$) و ($35,1 \pm 0,9$) على التوالي . وفي دراسة للعاصي (٢٦) وجد ان فعالية انزيم ADA في مصلى المصابين بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي موجب المصل والمصل الطبيعي تبلغ ($28,0 \pm 3,1$) و ($5,8 \pm 34,8$) و ($2,0 \pm 13,5$) على التوالي .

كما اظهرت الدراسات ان لانزيم ADA فعالية عالية في مرضى التهاب المفاصل الرثوي الايجابي ومرض السل الرثوي ، اذ تصل فعاليته الى ($3,7 \pm 42,9$) وحدة عالمية / لكل ، في حين تصل فعاليته في الشخص الطبيعي الى ($3,75 \pm 17,05$) وحدة عالمية / لتر (٢٧) .

يعود السبب في زيادة فعالية الى ان الاصابة بهذه الامراض تؤدي الى حدوث اضطرابات ايضية في اجهزة الجسم ولاسيما الكبد والطحال ونقي العظم ، مما يؤدي الى تخرر خلاياها وتسرب محتوياتها الى المصل ومن ضمنها انزيم ADA ، اذ تزداد فعاليته بشكل ملحوظ في الدم (٢٨) .

اذ لوحظ ارتفاع في مستوى فعالية ADA في التهاب المفاصل الرثوي سالب المصل ، وهذا يؤكد ان انزيم ADA لا يعتمد على العامل الرثوي وانما يرتبط معه في تشخيص الاصابة بالتهاب المفاصل الرثوي . ويعود السبب في ذلك الى ارتفاع انزيم ADA في امصال دم المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي الى السائل الزليلي حيث تقوم الخلايا المتضررة على افراز انزيم ADA الى السائل الزليلي الذي ينتشر فيما بعد عبر الاوعية للمفاوية الى الدم (٢٩) . كما تشير الدراسات الى حدوث انخفاض في نسبة تركيز الهيموكلوبين نتيجة لحدوث الالتهاب ونخر الانسجة (Tissue necrosis) كما لاحظ ارتفاع نسبة تركيز كريات الدم الحمر الذي يعد دليلا جيدا على الاصابة بامراض المفاصل المختلفة (٣٠) .

ومن نتائج هذه الدراسة وجد ان نسبة قليلة من حالات التهاب المفاصل الرثوي لم يلاحظ فيها زيادة في فعالية الانزيم ADA وربما يعود ذلك الى ان الاصابة في اطوارها الاولية ، بحيث اعطت نتيجة موجبة في الفحص السيرولوجي في حين لم يصل الضرر في الاعضاء المحتوية للانزيم الى الحد الذي يؤدي الى تسرب الانزيم الى المصل وبالتالي عدم حدوث زيادة في فعاليته، وما يدعم هذا التفسير هو ان الفترة الزمنية اللازمة لاعطاء نتيجة للفحص السيرولوجي تكون وبصورة عامة اقل من الفترة الزمنية اللازمة لظهور الاعراض المرضية (٣١) .

ولوحظ زيادة في فعالية انزيم ADA في مصلى دم المصابين بفقر الدم التحلي، اذ يعود ذلك الى زيادة تمثيل انزيم ADA في خلايا الدم الحمر ، كما ان نقص فعالية انزيم ADA ينتج من تراكم الذي اوكسي ادينوسين ثلاثي الفوسفات في خلايا الدم الحمر والبيض والذي يؤدي الى تسمم هذه الخلايا ومن ثم موت الخلايا الحمراء فينتج عن ذلك فقر دم تحلي (٣٢) .

- in pleural effusions : dianostic role , and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleuring . Eur Respir J ; 9(4) :747 –751. (1996) .
- 18- Cortran R .S. Kumar V. and Robbins's. " Robbins Pathologic bases of disease " , 5th ed .Sauders company , 124-125 (1994) .
 - 19- Yuksel H. Akoglu .T.F. Serum and Synovial fluid adenosine deaminase activity arthritis .Ann-Rheum –Dis, 47 (6) :492-5 (1998) .
 - 20- Pettersson T.Klockars M weber .TH. and von –Essen –R- Adenosine deaminase activity injolnt effusions , Scand. J. Rheumato ,17 (5): 365 –9 (2000) .
 - 21- Prescott H.Harey E. and Kelin F. " Microbiology " , 2th end .W.m . Brown Publishers, London (1993) .
 - 22- Chottiner EG.Ginsburge D.T. artaglia .AP. Mitchell .BS. Erythrocyte adenosine deaminase over production in hereditary hemolytic anemia blood , 74 (1) : 448 –53 (1999) .
 - 23- Shanon A. ,Levin S, Holtzman F, Brock-sinai F, Abn –said A combined familial adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase deficiencies Archives of Disease childhood, 65 : 821-211 (1998).
 - penumonia .Japanese .J. med ; 30: 108-112 (1991) .
 - 12- Guisti . G. and Galanti .G. Adenosine deaminase , In Methods of enzymology analysis vol 2nd Bergmeyer H.U.New york . Academic Press : 1092 –1099 (1999) .
 - 13- Al-Nify SM .Studies on adenosine deaminase isoenzymes in sera of Typhoid and other of related liver diseased patients . MSc. , Thesis .Univ of Baghdad , Iraq.(1980) .
 - 14- Luoc chen .J.Liao O. Yang.X. Influence of iron deficiency anemia on development of thymus and spleen and adenosine deaminase activity in rate . Hue .His . 1-Ko-Tahsueh –hsueh .Pao . , mar; 21 (1) : 63-6 (1996).
 - 15- Al- Jwadee A.W. Studying of some blood componete and it , enzymes in children with B-major thalasemia . M.Sc.thesis ,Univ. of Mosul .Iraq.(2000)
 - 16- Al-Assi W.N. , Evaluation of Adenosine Deaminase activity and Isolation of its Isoenzymes in normal & Patients with Anemia and Rheumatoid Arthritis Sera , M.Sc. thesis ,Univ. of Tikrit .Iraq. (2002) .
 - 17- Valdes L., San Jose E , Alvarez D,Valle JM . Adenosine Deaminase (ADA) isoenzyme analysis

Adinosine diaminase enzyme activity in serum for nevative Rheumatoid Arthritis and hemolysis comparing with normal serums in Salahaldeen.

Wasan N. Hussien Ali Al-A'ssi

Department of Chemistry, College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

Abstract:

Adenosine Deaminase (ADA) (E.C. 3.5.4.4) is one of the hydrolyases enzymes that play important for canverian adenosine to inosine in purins slavage evaluated . Adenosine Deaminase Activity in serum of patients with Sero negative arthritis , Hemolytic anrmia , Leukemia .

It reueals Adenosine Deaminase activity is studied in serum

of (48) samples of patients Sero negative arthritis (36.4 ± 4) IU/L , Hemolytic anemia (56.0 ± 3.3) IU/L and Leukemia (68.4 ± 2.1) IU/L , Comparing with normal individuals (control) (13.4 ± 3.4) IU/L .

Statistical test showed a significant differences between the enzymes activities of abnormal comparing with normal at individuals (Control) both at levels .