تقدير فعالية وعزل متناظرات انزيم الادينوسين ADA امينيز في مصل الأصحاء والمصابين بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي والمرضين معا

عبد المنعم حمد مجيد [١] ، جنان فاضل محمود [٢] ، وسن نزهان العاصي [١]

[١] *قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة تكريت، تكريت، جمهورية العراق*

[٢] *فرع الكيمياء الحياتية، كلية الطب، جامعة تكريت، تكريت، جمهورية العراق*

الملخص:

يعتبر أنزيم الادينوسين دي امينيز ADA أحد أهم الأنزيمات التي تقوم بعملية تقويض قواعد البيورين الناتجة من تفكك الأحماض النووية . ينتشر هذا الإنزيم في اغلب أنسجة الإنسان ، تتميز فعاليته في الأنسجة اللمفاوية وخاصة الخلايا اللمفاوية نوع T.

الهدف الأساسي هو تقدير فعالية وعزل متناظرات الإنزيم في مصل الدم للأشخاص الطبيعيين والمصابين بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي لغرض استخدامه كدليل تشخيصي إضافي لهذين المرضين

تم اخذ (١٨٥) عينة من مصل دم المرضى المصابون وقد تم تقسيمهم إلى ثلاثة مجا ميع عدا مجموعة السيطرة التي تضمنت (١٩٠) عينة ، كما تضمن البحث تقدير فعالية إنزيم أل ADA لمجموعتي المرضى والسيطرة باستخدام طريقة كاستي وكلانتي المعدلة.

وجد إن فعالية الإنزيم في المصل الطبيعي هو (١٣ ± ٢) وحدة عالمية / لتر ، بينما بلغت فعاليته في مصل المصابين بفقر الدم ،والتهاب المفاصل والاثنين معا هي (٢٨ ± ١ر٣) ، (٣٤ر٨ ± ٥ر٨) ، (٤٦ر٩ ± ٣ر٣) وحدة عالمية / لتر على التوالي .

لقد تم عزل متناظرات أنز يم ADA باستخدام طريقة كروموتوغرافيا العمود حيث استخدم الهلام نوع Cellulose - DEAE, Sephadex G-100 , Sephadex - G200 لعزل متناظرات الإنزيم في المصل الطبيعي ، بينما استخدم الهلام Sephadex - G100 ، لفصل متناظرات الإنزيم في الحالات المرضية لكون هذا النوع من الهلام يتميز بنتائج دقيقة ، كما تم تقدير فعالية كلا المتناظرين في الحالات الطبيعية والمرضية .

المقدمــة : Introduction

إن تقدير قيم المكونات المختلفة في الدم تزداد أهميتها عند تشخيص وعلاج الأمراض المختلفة حيث لا يعكس الدم طبيعة الايض الكلية في الأنسجة فقط ، بل ويمنح الإمكانية للوصول إلى عينات لمختلف سوائل الجسم [١] ، لذا كان الأمل يحدو بالباحثين إلى إيجاد اختبار تعتمد فيه مكونات الدم في تشخيص الأمراض التي تصيب الجسم البشري وعليه فقد اتسعت استخدامات قسم من هذه الدلائل وخاصة في مجال التشخيص السريري . وان دراسة الإنزيمات ومتابعة مستوياتها واحدة من الدلائل المستخدمة في تشخيص الأمراض [٢] .

يعتمد الكثير من الباحثين على قياس مستوى فعالية الإنزيمات في الحالتين الطبيعية والمرضية ويستفاد منها في تشخيص الأمراض ومعالجتها ففي حالات مرضية ومن خلال معرفة مقدار الانحراف عن الحد الطبيعي يمكن التكهن بالاتجاه المحتمل الذي يتخذه المرض [٣،٤] .

فالإنزيمات هي جزيئات حياتية بروتينية كبيرة ذات فعالية محفزة للتفاعلات الكيمياوية في الأنظمة البيولوجية حيث لها القدرة على تحفيز المادة الأساس الخاصة بكل إنزيم [٥،٦] .وإنها مسؤولة عن اغلب ألتفاعلات الكيمياوية في الجسم وموجودة في جميع الأنسجة [٧،٨] .

هناك ظروف ملائمة يمكن من خلالها قياس فعالية الإنزيم في السوائل الجسمية أو مستخلصات وإفرازات الأنسجة والتي تكون قيمتها ذات أهمية تشخيصية [٩]. إن اغلب اختبارات الإنزيمات المطلوبة لأغراض التشخيص تحددها فعاليات الإنزيمات في البلازما أو المصل [١].وفعالية اغلب الإنزيمات المحددة طبيعيا في المصل تبقى ثابتة في الفرد الطبيعي والتي يكون فيها معدل المواد المتحررة من الخلايا مساويا للمواد الداخلة أليها[١٠،١].

اصبح من المعروف إن الإنزيمات هي إحدى الأدوات التشخيصية المهمة للأمراض وان زيادة أو نقصان فعالية الإنزيم مقارنة بالمديات الطبيعية ربما تكون مؤشرا جيدا لعدد من الأمراض [١١،١٢] .

إن إنزيم الادينوسين دي امينيز ADA هو أحد المؤشرات المستخدمة في تشخيص الكثير من الحالات المرضية المختلفة لذا درست فعاليته في مختلف حالات الالتهابات [١١] واصبح من الإنزيمات التي تدرس بشيء من التفصيل[١٣] .

تم وصف أنماط مختلفة من متناظرات الإنزيم ADA في خلايا الدم الحمر وفي الأنسجة [١٤] وتحدث فعالية ADA أساسا في صيغتين من المتناظرات الإنزيمية وهي (ADA-S) و (ADA-L) وتوجد الصيغة الأصغر وهي ADA-S في الأعضاء الصلبة بينما الصيغة الكبرى ADA-L تمتصه خلايا T الليمفاوية عند تحفيزها [١٥] .

إن الغاية الأساسية من البحث الحالي تهدف إلى تحديد فعالية الإنزيم ADA في بعض الحالات المرضية مثل فقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي وامكانية استخدام النتائج كدليل عمل تشخيصي .

إن دراسة المركبات ذات الأوزان الجزيئية العالية كالإنزيمات ، وكذلك البحث في موضوع التغيرات في أنشطتها الحادثة في السوائل الحيوية للجسم اصبح بمرور الزمن على درجة من الأهمية كأداة تشخيصية تتجلى قيمتها من خلال النتائج الدقيقة التي تعطيها في دراسة الأمراض إلى جانب اختبار وظائف العضو المراد دراسته.

المـواد و طـرق العمـل :- Material & Methods

تـم اسـتخدام المـادة الأسـاس الادينوسـين مـن شـركة sigma.u.k. كمـا استخدمت المـواد فوسـفات الصـوديوم ثنائيـة الهيـدروجين وفوسـفات ثنائيـة الصـوديوم وكبريتـات الأمونيـوم مـن شـركة fluka الألمانيـة ،أمـا مـادة الفينـول وهـايبوكلورات الصـوديوم فقـد تـم الحصـول عليهـا مـن شـركة Riedel-De Haen ، أما بقيـة المـواد المستخدمة فكانت علـى درجـة عالية من النقاوة .

***جمـع العينـات وتحضـير نمـاذج الـدم* :- Collection and Preparation of Blood Samples**

تـم الحصـول علـى (١٨٥) حالـة مرضـية خـلال فتـرة البحـث مـن ٢٠٠٠/١١/١ ولغاية ٢٠٠١/٩/١ ، اشتملت علـى (٩٥) عينـة من حالـة فقر الدم و (٥٠) عينـة من حالـة التهاب المفاصل الرثوي و (٤٠) عينـة من حالـة فقر الـدم والتهـاب المفاصل معـا . حيث جمعت من مستشـفى صدام التعليمي فـي تكريت بالإضـافة إلـى مختبـرات التحليلات المرضـية الأهلية وذلك بعد إجراء الفحوصات المختبرية والتشخيص السريري من قبل الأطباء الاختصاص . أما بالنسبة للحالات الطبيعية (مجموعة السيطرة) وهي (١٩٠) حالة فقد جمعت من طلاب وطالبات وموظفي جامعة تكريت ، ومن ثم تم فصل مصل الدم بعد أن تم سحب(٤- ٥)مل من جميع العينات الطبيعية والمرضية وتمت تجزئته استنادا إلى نوع الفحص الذي اجري عليه التجارب المختلفة في البحث .

عزل ودراسة متنـاظرات الأنـزيم A DA فـي المصل الطبيعـي والمصل المصاب بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي :-

تنقية متنـاظرات الأنـزيم ADA باستخدام عمود التجزئـة الكروموتوغرافية :

استعملت طريقة عمـود الكروموتوغرافيا لفصل متنـاظرات الـ A DA من المصـل الطبيعـي والمصـاب اعتمـاداً علـى الـوزن الجزيئـي للأنـزيم والبـالغ (٣٥,٠٠٠) دالتون. فقد استخدمت ثلاثة أنواع من الهلام لغرض المقارنة والحصـول علـى أسلوب الفصـل الأمثـل ، وقـد تم اختبـار الفصـل للأعمدة الثلاثـة لاربـع مـرات مكـررة للحصـول علـى فصـل أدق و أوضـح لهـذه المتناظرات . اما المحاليل المستعملة

١- منظم الفوسفات

بتركيز (PH 6.0 ; ٠,٠٣M) يحضر باذابة (2 . 470gm) من مادة Na2HPO4 و (١,٩٥gm) مـن مـادة NaH2PO4.2H2O و(٢٩,٢gm) من NaCl و (0.1 ml) مـن مـادة 2-mercapto ethanol في (1000 ml) من الماء المقطر الخالي من الامونيا .

٢- عوالق اوساط الفصل :

تم اسـتخدام ثلاثـة انـواع مـن مـواد الهـلام المسـتخدمة فـي اعمـدة الفصـل لتحديـد افضـل نـوع منهـا فـي فصـل المتنـاظرات الانزيميـة للانـزيم ADA وان المواد المستخدمة للفصل هي Sephadex ، DEAE –celluose Sephadex G200 ، G100

فقد تم استخدام ثلاثة اعمدة باقطار (٢,٥) سم وطول (٥٠) سم لكل منه وتـم تعبئتهـا بـالعوالق ووفـق الطريقـة المبينـة ادنـاه واخضـع الفحـص لسـرعة سريان (Flow rate) مقدارها (١ ml) / دقيقة وجمعت الاجزاء الناضحة بواقع (١ ml) لكل جزء .

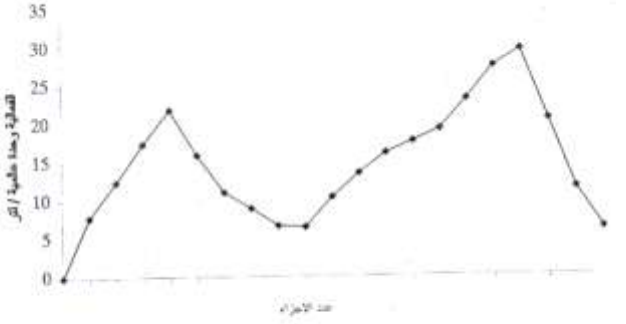
النتائـــج :- Results

قيـاس فعاليـة الإنـزيم ADA فـي المصـل الطبيعـي والمصـل المصـاب بفقـر الـدم والتهـاب المفاصـل الرثـوي باسـتخدام الطريقـة اللونيـة Giusti &Galanti . أخـذت قياسـات فعاليـة الإنـزيم ADA لـ (١٩٠) عينـة للحـالات الطبيعيـة و (١٨٥) عينـة للحـالات المرضـية بمعـدل قراءتين لكـل عينـة (duplicated reading) من المصل الطبيعي والمصل المصاب بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي كما في جدول (١).

جدول (١):- فعالية الإنزيم ADA في المصل الطبيعي والمصاب بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي وبالمرضين معا

ت	المجاميع	الفعالية IU/L	المدى
١-	الطبيعيين (مجموعة السيطرة)	٥,١٣ ± ٠,٢	٢,٩ – ٣,١٧
٢-	المصابين بفقر الدم	٠,٢٨ ± ١,٣	١,٢٠ – ٦,٣٣
٣-	المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي	٨,٣٤ ± ٨,٥	٢,٢٦ – ٩,٤٩
٤-	المصابين بفقر الدم والتهاب المفاصل معا	٩,٤٦ ± ٣,٣	٥,٣٩ – ٣,٥٥

تظهر النتائج في شكل (١) بأن هناك ارتفاعا ملحوظا في مستوى فعالية الإنـزيم ADA فـي حالـة المصـابين بفقـر الـدم حيـث تتـراوح بـين (٢٨ ± ١ر٣) وحدة عالمية / لتر، وفي حالة التهاب المفاصل الرثوي (٨ر٣٤ ± ٨ر٥) وحدة عالميـة / لتـر ، والمرضـين معـا (٩ر٤٦ ± ٣ر٣) وحدة عالميـة / لتـر مقارنـة بمستواه فـي المصـل الطبيعـي حيث تبلـغ (٥ر١٣ ± ٢) وحدة عالمية / لتر .

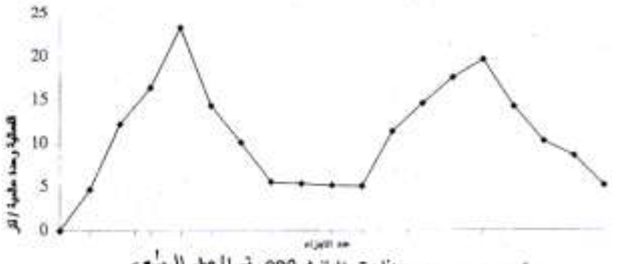


شكل رقم (1) فصل متناظرات الأنزيم ADA من المصل المصاب بفقر الدم بوساطة عمود التجزئة sephabex G00-

المتنــاظرات الإنزيميــة للأنــزيم ADA فــي المصــل الطبيعــي والمصــل المصاب بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي :-

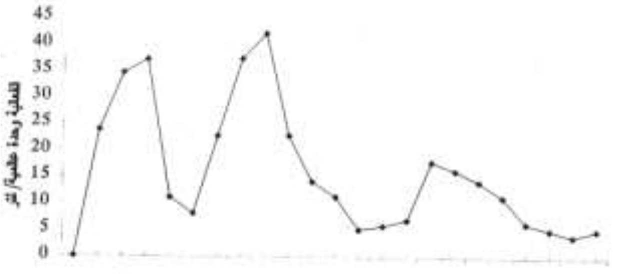
فصـل متنـاظرات الإنـزيم ADA مثـل (Sephadex - G100, DEAE Cellulose) وبأوسـاط مختلفـة الأشـكال (٤،٣،٢) . أمـا بالنسبة لعمـود الفصـل مـن نـوع Sephadex G100 كـان أدقهـا فصـلا للمتنـاظرات الإنزيميـة كمـا فـي شكل (٤) حيث تم الحصـول علـى متنـاظرين إنزيميين للأنزيم ADA وذلك من قياس فعالية الأجزاء الناضحة لهذا العمود قياس فعالية المتناظرات الإنزيمية ADA1, ADA2, ADA3 التي سبق فصلها . فبعد أن تم قياس فعالية الأجزاء الناضحة من عمود الفصل وتم

تحديد قمم المتناظرات الإنزيمية ، فقد جمعت الأجزاء الناضحة لكل قمة على حدة وتم قياس فعالية القمم الإنزيمية وباستخدام الادينوسين كمادة أساس حيث وجد إن للمتناظر الإنزيمي الأول فعالية أعلى من المتناظر الإنزيمي الثاني في المصل الطبيعي (شكل 1) كما وجد بان المتناظر الإنزيمي الثاني أعلى فعالية من المتناظر الإنزيمي الأول كما في الأشكال والجداول (4, 3, 2).

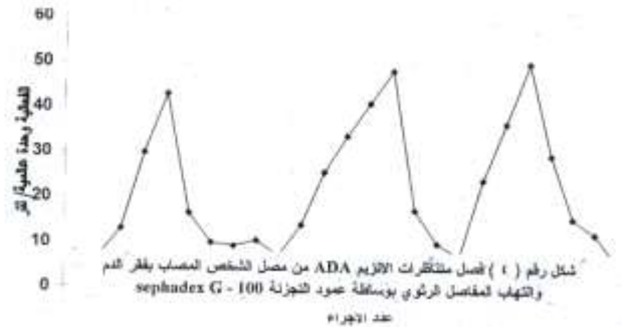


شكل (٢) : فصل متناظرات الانزيم ADA في المصل الطبيعي

ADA sephadex G-100



شكل رقم (٣) فصل متناظرات الانزيم ADA من مصل الشخص المصاب بالتهاب المفاصل الرثوي بوساطة عمود التجزئة sephadex G - 100



شكل رقم (٤) فصل متناظرات الانزيم ADA من مصل الشخص المصاب بفقر الدم والتهاب المفاصل الرثوي بوساطة عمود التجزئة sephadex G - 100

المناقشة: Discussion

الدراسات في دعم علم الأنزيمات والتشخيص السريري . لوحظ ارتفاع في فعالية الأنزيم ADA في خلايا الدم الحمر للأطفال المصابين بفقر الدم الماسي الأسود Diamond Black fan anemia حيث تظهر أعراضه المتعددة في وقت واحد [١٦] .(SCID) ، إن نقص إنزيم ADA ينتج من تراكم الدي اوكسي ادينوسين ثلاثي الفوسفات في خلايا الدم الحمراء والبيضاء والذي يؤدي إلى تسمم هذه الخلايا ومن ثم موت الخلايا الحمراء فينتج عن ذلك فقر دم تحللي [١٧] .

لقد بلغ معدل فعالية الأنزيم ADA في المصل الطبيعي (١٣,٥ ± ٢,٠) وحدة عالمية/ لتر وكما موضحة في شكل (٥) في حين بلغت فعاليته في مصول المصابين بفقر الدم (٢٨,٠ ± ٣,١) وحدة عالمية / لتر ، وبلغت فعاليته في مصول المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي (٣٤,٨ ± ٥,٨) وحدة عالمية / لتر . في حين تصل فعاليته في مصول المصابين بكلا المرضين (٤٦,٩ ± ٣,٣) وحدة عالمية / لتر ويلاحظ من الجدول (٢) . إن الدراسة الحالية جاءت نتائجها متفقة مع ما سبقها من حيث إن معدل فعالية الأنزيم ADA في المصول الطبيعية يقع ضمن معدلات أنشطته في المصول والأنسجة المختلفة والتي بحثتها الدراسات السابقة.

جدول (٢) : تأثير زيادة تركيز ايوني Cd^{+2} ، Co^{+2} على فعالية الانزيم ADA في المصل الطبيعي

تركيز ايوني Co^{+2} ، Cd^{+2} ملي مولر	ايون Co^{+2} ،		ايون Cd^{+2}	
	الفعالية In/L	% للفعالية المتبقية بعد التثبيط	الفعالية In/L	%للفعالية المتبقية بعد التثبيط
0.0	13.5	100	13.5	100
0.005	8.31	61.55	6.63	49.11
0.01	5.40	40.0	3.41	25.25
0.015	3.81	28.2	2.04	15.11
0.02	2.67	19.7	1.52	11.2
٠,٠٢٥	0.98	7.2	0.69	5.1

إن السبب وراء الزيادة في فعالية الأنزيم ADA في الأمراض المختلفة تشير إلى إن الإصابة بهذه الأمراض تؤدي إلى حدوث اضطراب ايضي في أجهزة الجسم ولاسيما الكبد والطحال مما يؤدي إلى تنخر خلاياها وتسرب محتوياتها إلى المصل ومن ضمنها أنزيم ADA حيث تزداد فعاليته بشكل ملحوظ في الدم[١٨] .

إن الارتفاع في فعالية الأنزيم ADA في فقر الدم هو دليل على حدوث اضطرابات في النسيج المكون للدم خلال مراحل تكون الدم في نقي العظم مما يسبب زيادة ترشيح سوائل الدم مؤدياً إلى اختلاف في وظائفه وزيادة في أنشطة أنزيماته التي هي مسؤولة عن تقويض المركبات البيورينة مما يربك عملية تنظيم نمو وتطور كريات الدم الحمراء [١٩] وفي فقر الدم التحللي تحدث زيادة في فعالية أنزيم ADA حيث إن هذه الزيادة ناتجة من زيادة تمثيل إنزيم ADA في خلايا الدم الحمر [٢٠] . كما ترتفع فعالية أنزيم ADA في فقر الدم نقص الحديد بسبب فشل تكوين خلايا الدم الحمراء وتسرب محتوياتها إلى المصل نتيجة لفقدان الحديد من الغذاء أو نتيجة زيادة الطلب عليه خلال فترة الحمل والولادة[٧] .

تمت دراسة فعالية أنزيم ADA في مصل الدم وفي سوائل بيولوجية أخرى عند المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي حيث أشارت الدراسات إلى حدوث ارتفاع فعالية الأنزيمADA في السائل الزلالي ومصل الدم عند المصابين بالمرض واعتباره دالة على الإصابة بالمرض وقد بينت هذه الدراسة إن مصدر ارتفاع فعالية الإنزيم هو من الخلايا الميتة أو المتضررة التي تنتقل إلى السائل الزلالي ومن ثم ينتشر إلى الدم [٢١] . كما ٠تتأثر العديد من البر وتينات عند الإصابة بالتهاب المفاصل الرثوي وخاصة تلك التي لها علاقة وظيفية بالمرض فقد أشارت الدراسات إلى حدوث انخفاض في نسبة تركيز الهيموكلوبين نتيجة لحدوث الالتهاب ونخر الأنسجة (Tissue necrosis) كما يلاحظ ارتفاع نسبة تركيد كريات الدم الحمراء الذي يعد دليلا جيدا على الإصابة بأمراض المفاصل المختلفة [٢٢] .

جدول (٣) : تأثير زيادة تركيز ايوني Cd^{+2} ، Co^{+2} على فعالية الانزيم ADA في مصل المصابين بفقر الدم

ايون Cd^{+2}		ايون ، Co^{+2}		تركيز ايوني ، Co^{+2} Cd^{+2} ملي مولر
% لفعالية المتبقية بعد التثبيط	الفعالية In/L	% لفعالية المتبقية بعد التثبيط	الفعالية In/L	
100	28.0	100	28.0	0.0
29.35	8.22	44.0	12.34	0.005
21.10	5.91	34.25	9.59	0.01
11.46	3.21	25.78	7.22	0.015
6.89	1.93	14.28	4.0	0.02
2.89	0.81	7.21	2.02	٠,٠٢٥

جدول (4) : تأثير زيادة تركيز ايوني Cd^{+2} ، Co^{+2} على فعالية الانزيم ADA في مصل المصابين بالتهاب المفاصل الرئوي

ايون Cd^{+2}		ايون ، Co^{+2}		تركيز ايوني ، Co^{+2} Cd^{+2} ملي مولر
% للفعالية المتبقية بعد التثبيط	الفعالية In/L	% لفعالية المتبقية بعد التثبيط	الفعالية In/L	
100	34.8	100	34.8	0.0
20.22	7.04	26.26	9.14	0.005
12.04	4.19	18.33	6.38	0.01
6.03	2.10	13.56	4.72	0.015
4.16	1.45	5.48	1.91	0.02
1.75	0.61	2.90	1.01	٠,٠٢٥

References :

1.Filanovskaia LI, Nikition DO. Togo AV, Blinov MM,and Gavrilova LV .The enzyme activity of purine nucleotide degradation and lymphoid cell subpopulation in children with the Diamond Blackfan syndrome. *Gematol—Trans fliziol* .1993 Jan, 38 (1) :19-22.

2.Koizumi. H,Tomizawa K, Tanaka H, Kumakiri M ,Ohkawara A.Clinical Significance of serum adenosine deamines activity in patients with mycosis Fungoides, *Journal of Dermatology1993;*20(7): 394 —399

3.Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Grab.! .M: Methods of enzymatic analysis Vol. IV.Enzymes 2: Esterases, Glycosidases, Layases. L1gases.~.eu., Fedral Republic of Germany: Verlag Chemie GmbH.Weinheim.1983: 308—323.

4. Venkatesh J , Kaur A , Zachariah A, Dommen A .Molecular Forms of adenosine deaminase do not aid the diagnosis of tuberculosis. *Transactions of the rayal Society of tropical medicine and hygiene.* 1996 ; 90: *652-653.*

5.Chiba S, Saitoh M, Kashiwagi M, Kobayashi N, Matsumoto H. Isozyme analysis of the high serum adenosine deaminase activity in patients with Myasthenia Gravis. *Internal medicine 1995* ; 34 (2): 81-84

6. Kaplen A.” Clinical chemistry, theory, analysis and correlation” 2 nd edition the C.V mosby company, 1989 ; P *.765.*

7. Macquarrie R, Buel E .physical and catalytic properties of the isozymes of adenosinc deaminase from human red blood cells .Mol cell Biochem 1992 ; 48(2) :121-6.

8. Ungerer JP , Burger HM, Bissbort SH , Vermaak WJ .Adenosine deaminase isoenzymes in typhoid Fever : *Eur J C/in Microbiol infect Dis* 1996; 15 (6): *510—2*

9. A1-Dahhan JF .Comparison Study of adenosine deaminase. and its isoenzymes in sera of normal and liver cancer patients Msc thesis Univ .of Tikrit .Iraq 1996.

10. Ohata M ,Masuda I , Nonaka K ,sugiura K Uchida H ,Mori T.serum adenosine deaminase and its isoenzayme activity in leukemia and MDS *.Rinsho Byori* 1990, 38(8) :917-22.

11. Yasine Hufihee Cancer 2’~ ,ed, Al-Kutub Baghdad. 1990

12. Al-Mudhaffar S. “Biochemistry” part(2) 2’~ ed — Oar ,Al-Hekmah. 1990; P.702

13. Muller 0 immune insufficiency in enzyme defect of purine metabolism *.Z GesamtelnnMed* 1983 ; 38 (3) : 83-9 .cited in Al-obaidi thesis Ref(1 19).

14. Cummings FJ , Crabtree OW , Wiemann MC ,Spremulli EN , parks RE calabresi P .Clinical pharmacologic , and immunologic effects of 2-deoxycoformycin .Clin phormacol ther 1988 ; 44(5) :501 —9.

15. Begleiter A ,Glazer Ri ,israels LO ,Pugh L Johnston JB .Induction of ADA strand breaks in chronic lymphocytic leukemia following treatment with 2 deoxycoformycin in vivo and vitro .cancer res 1997 ; 43(9) : 2498 —503.

16. 0 Deyer PJ ,Wagner B, Leyland Jones B ,Wittes RE ,cheson BD , Hoth DF .2-Deoxycoformycin (Pentostatin) for lymphoid malignancies Rational development of an active new drug .Ann iltern med 1988; 108(5) :733-43.

17. 0’ Connor L ,North 1W ,Aboshanab E,Panzica RP .Effects of chirality in 9-(2-Hydroxy —3-Nonyl) Aenine upon deoxyribonucleic acid Synthesis in herpes simplex virus *—Infected cell s .Biochemical pharmacology* 1983, 32(23)3541-3546.

18. Giusti.G.and Galanti.G .Adenosine deaminase .In : Bergmeyer HU ,ed Methods of enzymology analysis vol 2 .New York .Academic press ,1974 :1092-1099

19.Al-N ify SM .Studies on adenosine deaminase isoenzymesin sera of typhoid and other of related liver diseased patients .MSc ,Thesis .Univ of Baghdad, Iraq .1980.

20. Niedzwicki JG ,Lion 0 ,Abernethy DR .et al .Adenosine deaminase isoenzymes of the opossum Did elphis virginiana: initial chromatographic and kinetic studies .Comp Biochem Phsiol Biochem Mol Biol. 1995; 111(2):291-8.

The evaluation of activity and asymetrieal isolation of Adenosine Diaminase in the healthy patints with Anemia and Rheumatiod Arthritis serum and the both diseases

Abid-Almunam Hamad Majeed[1], Jinan Fadhil Mahmood[2] and Wasan N. Hussien Al-A'ssi[3]

1,3Department of Chemistry, College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

2 Department of Biochemistry, College of Medicine, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

Abstract: -

Adenosine deaminase is one of the important enzymes that catalysts the salvage purin base. The effect of divalent metals **(** Mn^{+2} ,Ca^{+2} ,Fe^{+2} ,Cu^{+2}, Co^{+2} , and Cd^{+2} **)** on activity concentration(O.O1M) was studied. The result showed the metals **(**Mn^{+2}, Ca^{+2} and Fe^{+2}) have activation effect to ADA while the (Cu^{+2}, Co^{+2} and Cd^{+2}) have an inhibition effect tothe enzyme in normal and abnormal seum in addition to ADA isoenzymes. The present study showed that (Cd^{+2}) is the potent inhibitor to ADA activity. ADA isoenzymes in normal and abnormal serum are isolated by using three types column chromatography (Sephadex G1OO, G200, Cellulose-DEAE).The result, there are two isoenzymes for normal, anemic and patient with Rheumatoid Arthritis serum (ADA1,ADA2) while there are three isoenzymes in serum in both.