

# دراسة الصفات الحركية لمتناظرات أنزيم الألائين أمينو ببتايديز AAP I و II في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن

تغريد علوم العقبي

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

( تاريخ الاستلام: ١٩ / ١ / 2008 ، تاريخ القبول: ٢٢ / ٤ / 2008 )

## الملخص:

تضمن البحث الحالي دراسة الصفات الحركية لمتناظري أنزيم الألائين أمينو ببتايديز AAP I و II من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن، أوجد أن المتناظرين يخضعان لمعادلة ميكاليس- منتن، إذ كان التركيز الأمثل للمادة الأساس (الألائين -4- نابترو أنلايد) لكل من المتناظرين II و I ( $2 \times 10^6$  مول/لتر، كما وجد حدوث ارتفاع في سرعة تفاعل المتناظران الأثنان مع ارتفاع الأس الهيدروجيني الى أن يصل الى سرعة التفاعل القصوى عند الأس الهيدروجيني (٧,٨). وقد لوحظ أن المتناظرين يخضعان لمعادلة أرينوس حتى (37)° م وتم تعيين الثوابت Ea و Q10 لكل من المتناظرين بعد أن تم قياس فعالية الأنزيم في عينات ادرار مرضى العجز الكلوي المزمن وتتقيته وفصل متناظراته في دراسة سابقة.

## المقدمة:

بقية الأعضاء الأخر وبهذا نستطيع القول بان الكلية هي المصدر الرئيس للأنزيم<sup>[15]</sup>.

ويعد AAP مؤشراً حياتياً لتحديد الأذى الذي يصيب الكلية، إذ يتحسس هذا الأنزيم للتغير المفاجئ الذي يحصل عند الشخص الذي تمت له عملية الغرس الكلوي وهو بذلك يمكن أن يعطينا فكرة عن عدم استجابة الشخص المريض للغرس الكلوي وبذلك يعد تحديد نشاطه مهما بعد اجراء عملية الغرس الكلوي<sup>[16-17]</sup>. كذلك له فائدة خاصة في التعرف على التسمم الكلوي من جراء تعاطي بعض العقاقير<sup>[18]</sup>.

## المواد وطرائق العمل :

### جمع العينات:

تم الحصول على النماذج المرضية للمصابين بالعجز الكلوي المزمن، إذ جمعت (50) عينة مرضية أخذت من (21) ذكراً و(29) أنثى تتراوح أعمارهم بين (18-75) سنة، وتم التشخيص من قبل الأطباء الأخصائيين في مستشفى تكريت التعليمي. إذ جمع الأدرار المطروح من قبل المريض خلال مدة 24 ساعة في قنينة نظيفة وجافة، وتم قياس فعالية الأنزيم بعد أخذ العينة مباشرة.

١- قياس فعالية الأنزيم الألائين أمينو ببتايديز AAP في الأدرار:

تم قياس فعالية لأنزيم بالأدرار بالاعتماد على طريقة Jung and Scholz<sup>[19]</sup> (1980)<sup>[16]</sup>

إذ تعتمد هذه الطريقة على قياس كمية 4-Nitroanilide المتحررة بتأثير الأنزيم على المادة الأساس المستعملة Alanine-4-nitroanilide hydrochloride وذلك بعد مقارنة الأمتصاصية للعينة مع المنحني القياسي لتراكيز مختلفة من المادة 4-Nitroanilide<sup>[19]</sup>.

٢- فصل أنزيم AAP من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن :

تم فصل AAP من الأدرار بنفس الطريقة أعلاه وذلك لغرض تخليصه من المثبطات التي تحد من فعاليته ومن خلال استعمال خطوتين<sup>(6)</sup> :

أ- الترشيح الهلامي Gel- filtration :

يعد العجز الكلوي المزمن (CRF- Chronic Renal Failure) متلازمة تحصل نتيجة عمليات هدم متوالية وغير عكسية للوحدات الكلوية (النفرون)<sup>[1]</sup> وبالتالي فإن ذلك يؤدي الى فقدان القدرة التركيبية للكلية مع تكرار البول polyuria<sup>[2]</sup> وقد يتم تشخيص المرض صدفة عن طريق وجود البروتين في الأدرار أو فقر الدم أو ارتفاع ضغط الدم<sup>[3-4]</sup>، هذا فضلاً عن متابعة تراكيز الكرياتينين واليوريا في بلازما الدم الا أن هذه الفحوصات في أغلب الأحيان لا تكون دقيقة<sup>[4]</sup> لذا فقد أصبح للأنزيمات الموجودة في ادرار الإنسان أهمية كبيرة في تشخيص الكثير من أمراض الجهاز البولي وبالخاص العجز الكلوي، وتعد الظروف المرضية الجزء المهم والمسؤول عن الارتفاع الحاصل في نشاط بعض انزيمات الأدرار<sup>[5]</sup>.

وهناك مصادر عدة لأنزيمات الأدرار منها القادم من الكلى أو القنوات الموجودة في الجهاز البولي -التناسلي والمغطاة بالخلايا الظهارية<sup>[6]</sup> - أو مصطلح الدم أو كريات الدم أو الأحياء المجهرية<sup>[7]</sup>.

ينتمي أنزيم الألائين أمينو ببتايديز AAP الى مجموعة أنزيمات الأمينو ببتايديز التي تشطر حامض أميني منفرد من النهاية الأمينية للسلسلة الببتيدية ويوجد نوعان من هذا الأنزيم النوع الأول هو الذي يحمل التصنيف (EC 3.4.11.1) وله تخصص تجاه المادة الأساس L-Leucine amide لذا سمي Leucinamino peptidase (LAP)، أما الآخر فهو Microsomal (EC 3.4.11.2) الذي يعمل على الألائين وكذلك مشتقات 4-Nitroanilide و  $\beta$ -Naphthylamide للألائين كمواد أساس له لذا سمي Alanine aminopeptidase (AAP)<sup>[8]</sup>.

ينتشر أنزيم الألائين أمينو ببتايديز AAP أنتشاراً واسعاً في أنسجة الكلية<sup>[9]</sup>، هذا فضلاً عن وجوده في مصطلح الدم<sup>[10]</sup>، الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة<sup>[11]</sup>، الكبد، البنكرياس<sup>[11]</sup>، المشيمة والبروستات في الإنسان<sup>[12]</sup>، ولا يقتصر وجود الأنزيم على أعضاء جسم الانسان بل يوجد في أنسجة بعض الحيوانات أيضاً مثل أنسجة كلية الفأر، القشرة الخارجية لكلية الارنب<sup>[14]</sup>. أنسجة الكبد، الطحال، الكلية، القلب، البنكرياس، المعدة، الأمعاء الدقيقة والرئة لكل من الماشية، الخروف والخنزير. وتعد الكلية من أكثر المصادر الغنية بالأنزيم إذ يكون نشاطه في الكلية بحدود (١٠-١٥) مرة أكثر من

(60,50,37,20,10,5) م ° بوجود محلول Tris الدائري ذي الأس الهيدروجيني (7.8) ، والتركيز الأمثل (2) ملي مول/لتر من محلول المادة الأساس (الألنين-4-نايتروأنلايد).

هـ- تأثير درجة الحرارة في قيمة السرعة القصوى Vmax لمتناظرات الألنين أمينو بيتايديز II,I AAP :

درس تأثير درجة الحرارة في قيمة Vmax بأستعمال درجات حرارية مختلفة (60,50,37,20,10,5) م ° ، إذ حضنت الأنابيب لمدة (10) دقائق بوجود محلول Tris الدائري ذي الأس الهيدروجيني (7.8) وأستعمل تراكيز مختلفة من الألنين -4-نايتروأنلايد (2,0,9,0,5) ملي مول/لتر ولحساب قيمة Vmax تم الأعتداع على المعادلات ذات العلاقة.

#### النتائج والمناقشة:

لقد أوضحت نتائج الدراسة الحالية تأثير تركيز المادة الأساس (الألنين-4-نايتروأنلايد) في سرعة التفاعل الأنزيمي للمتناظرين II,I مع ارتفاع تركيز المادة الأساس حتى يصل الى السرعة القصوى عند التركيز (2) ملي مول/لتر، ومن ثم تبدأ سرعة التفاعل بالأخفاض عند التراكيز العالية من المادة الأساس نتيجة لحدوث التثبيط كما موضح في الشكل (1) و(3) و(5) و(7).

وتشير نتائج الدراسة الى أن قيم ثابت ميكاليس- منتن Km التي تم حسابها بالأعتداع على معادلة لينوفر-بيرك للمتناظر I في ادرار الأصحاء قد بلغت (10x10<sup>-3</sup> مول/لتر) كما موضح في الشكل (2) أما في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن فقد بلغت (25x10<sup>-3</sup> مول/لتر) كما موضح في الشكل (4).

أما قيم Km للمتناظر II فقد بلغت (20x10<sup>-3</sup> مول/لتر) في ادرار الأصحاء كما موضح في الشكل (6)، أما في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن فقد وجد أن قيمة الثابت Km للمتناظر II بلغت (5x10<sup>-3</sup> مول/لتر) وكما موضح في الشكل (8).

يشير الجدول رقم (1) الى وجود فرق واضح بين قيم Km لمتناظرات AAP في ادرار الاصحاء والمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن، فقد لوحظ أن قيمة Km للمتناظر I في ادرار الأصحاء أقل من قيمته في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن وهذا يدل على أن الفة متناظر الأنزيم I في ادرار الأصحاء لـ (الألنين أمينو بيتايديز) أعلى من الفة في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن، فيما نجد أن قيمة Km للمتناظر II في ادرار الأصحاء أكبر من قيمته في ادرار المرضى ولهذا فإن الفة المتناظر II في ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن لـ (الألنين أمينو بيتايديز) أعلى من الفة في ادرار الأصحاء . وهذا يعود الى الأختلاف في التركيب البنائي ومراكز الأرتباط في الحالة المرضية<sup>[١٠]</sup>.

تم تنقية الأنزيم من الأدرار بأستعمال عمود ترشيح هلام SephadexG-50 وبأضافة (25) مل من محلول Tris الدائري، تم جمع (6) أنابيب من الأجزاء الناضحة وبحجم (5) مل لكل جزء وبدرجة حرارة (4) م °.

ب- الفصل الغشائي Dialysis :

تم أستخدام كيس الفصل الغشائي الموضوع في محلول Tris الدائري لفصل وتنقية أنزيم الألنين أمينو بيتايديز المفصول من عمود الترشيح الهلامي .

٣- فصل وتنقية جزئية لمتناظرات AAP من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن<sup>[١٩]</sup> :

تم أستخدام عمود كروماتوغرافيا التبادل الأيوني السالب الراتنج (DEAE- SephadexA-50) لغرض فصل متناظرات الأنزيم المعزول من كيس الدليزة بالخطوة السابقة وتم الفصل بأستعمال (22) مل من محلول Tris الدائري ، جمعت (11) أنبوبة من الأجزاء الناضحة وبمعدل (2) مل لكل جزء ليتم بعدها الفصل بأستعمال محلول Tris الدائري الحاوي على تراكيز متدرجة من كلوريد الصوديوم (0.1-0.4) مول/لتر .

٤- دراسة الصفات الحركية لمتناظرات الألنين أمينو بيتايديز AAP (II,I) :

تمت دراسة الصفات الحركية لمتناظرات الأنزيم (II,I) في الأجزاء الناضحة التي تم فصلها وتنقيتها جزئياً في الفترتين (٢ و٣) كما يلي:

أ- تأثير تركيز المادة الأساس (الألنين-4-نايتروأنلايد):

درس تأثير التراكيز المختلفة للمادة الأساس (الألنين-4-نايتروأنلايد) على سرعة التفاعل لمتناظرات الأنزيم II,I بأستعمال تراكيز مختلفة من الألنين -4-نايتروأنلايد (2.5,2.2,2,1.5,0.9,0.7,0.5,0.3) ملي مول/لتر لحساب التركيز الأمثل لمتناظرات الأنزيم II,I .

ب- تعيين قيم ثابت ميكاليس- منتن (Km):

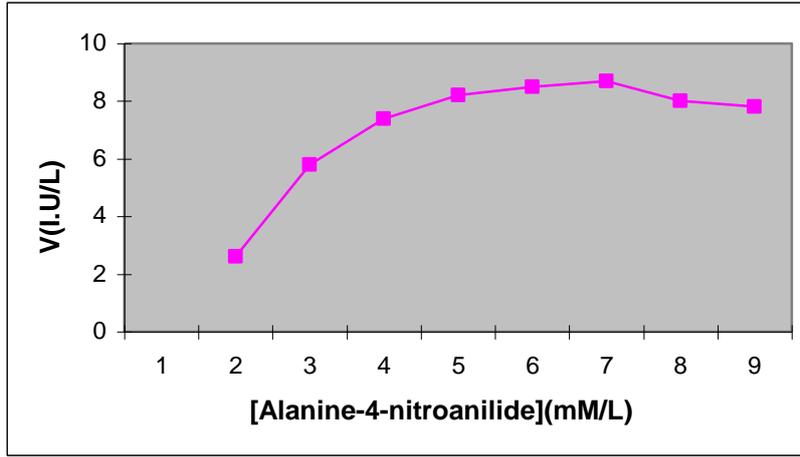
لتعيين قيم الثابت (Km) للمادة الأساس المستعملة (الألنين-4-نايتروأنلايد) أستعملت الطريقة نفسها المتبعة في الفقرة أعلاه وتم الحصول على قيم الثابت (Km) بأستعمال طريقة لينوفر-بيرك التي تربط بين القيم العكسية لكل من السرعة وتركيز المادة الأساس (1/v Vs. 1/[S]).

ج- تأثير الأس الهيدروجيني :

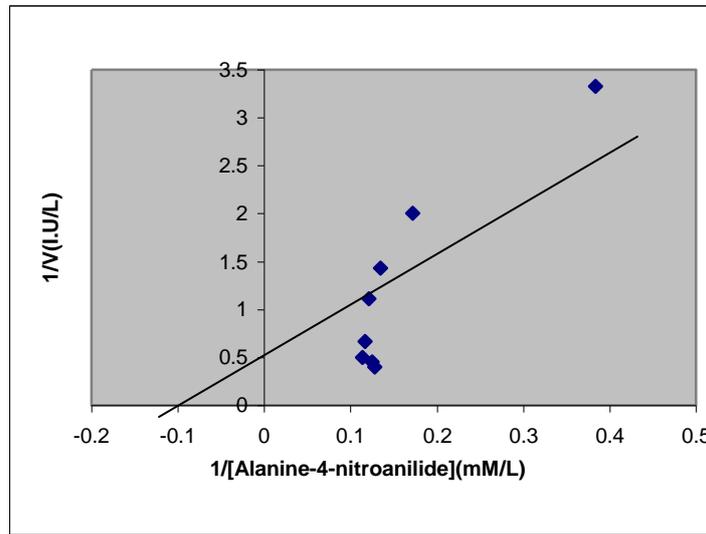
درس تأثير الأس الهيدروجيني على سرعة تفاعل المتناظرات II,I إذ تم أستعمل قيم مختلفة للأس الهيدروجيني لمحلول Tris الدائري (8.6,8.0,7.8,7.4,7.0,6.6) بوجود محلول المادة الأساس بتركيز (2) ملي مول/لتر وتم التفاعل في حمام مائي بدرجة حرارة (37) م ° ثم حضنت الأنابيب لمدة عشر دقائق .

د- تأثير درجة الحرارة:

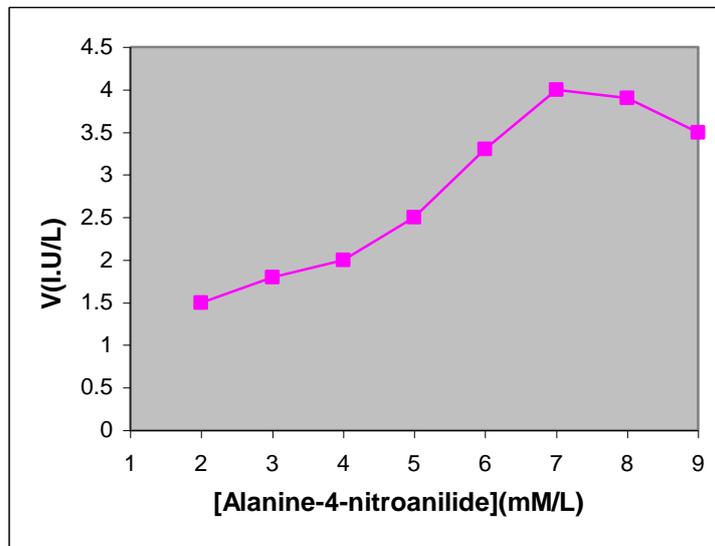
درس تأثير درجات الحرارة المختلفة في سرعة تفاعل متناظرات الأنزيم الألنين أمينو بيتايديز II,I إذ تم إجراء التفاعل في درجات حرارية مختلفة



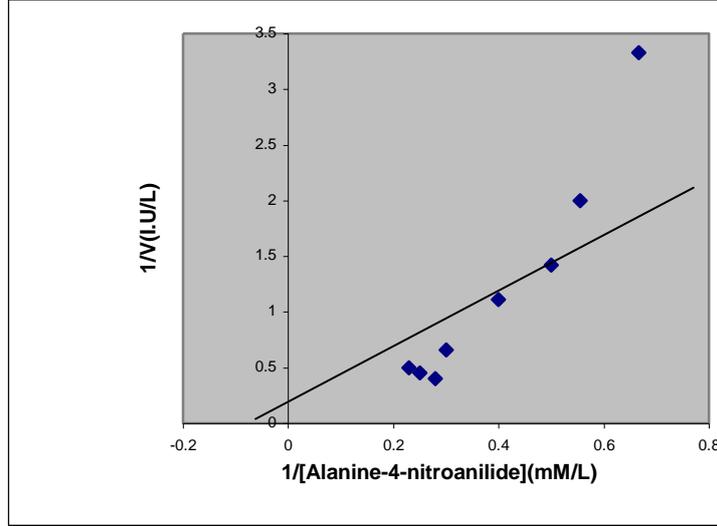
شكل رقم (1): العلاقة بين تراكيز مختلفة من المادة الأساس (الألنين -4-نايتروأنلايد) ملي مول/لتر وسرعة تفاعل المتناظر I المنقى من ادرار الأصحاء.



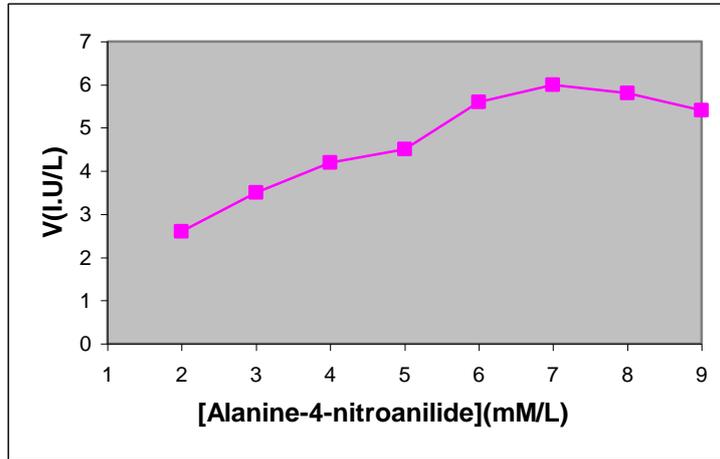
شكل رقم (2): رسم لينوفر-بيرك لحساب ثابت ميكاليس-منتن للمتناظر I المنقى من ادرار الأصحاء



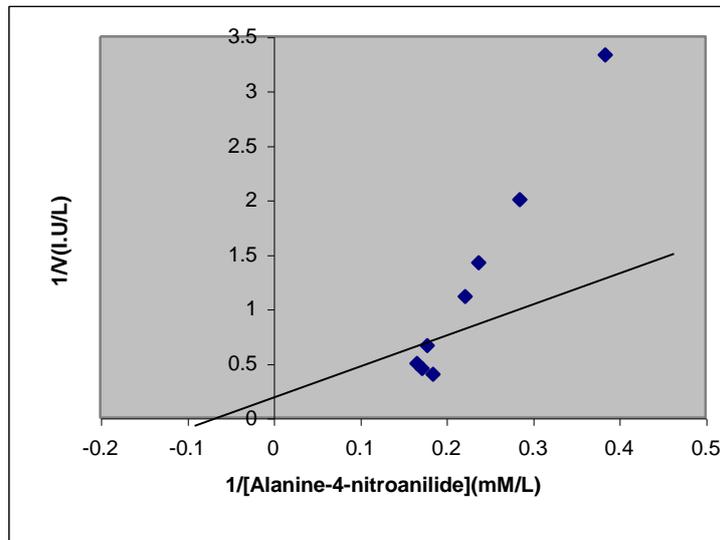
شكل رقم (3): العلاقة بين تراكيز مختلفة من المادة الأساس (الألنين -4-نايتروأنلايد) ملي مول/لتر وسرعة تفاعل المتناظر I المنقى من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.



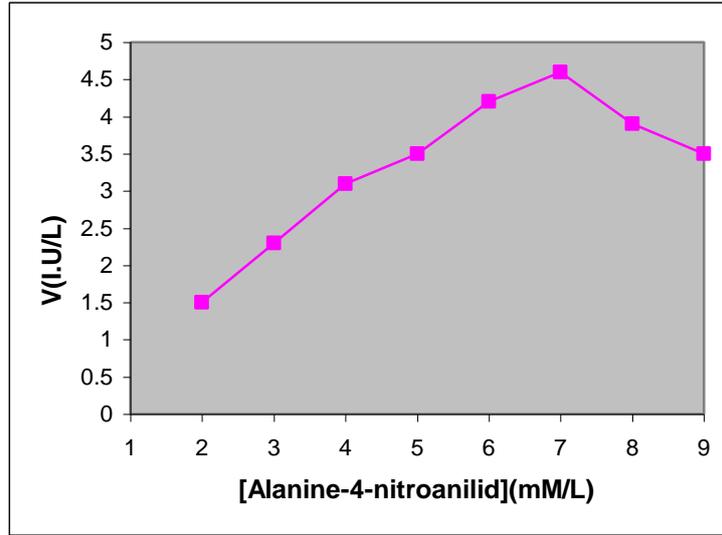
شكل رقم (4): رسم لينوفر-بيرك لحساب ثابت ميكاليس-منتن للمتناظر II المنقى من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.



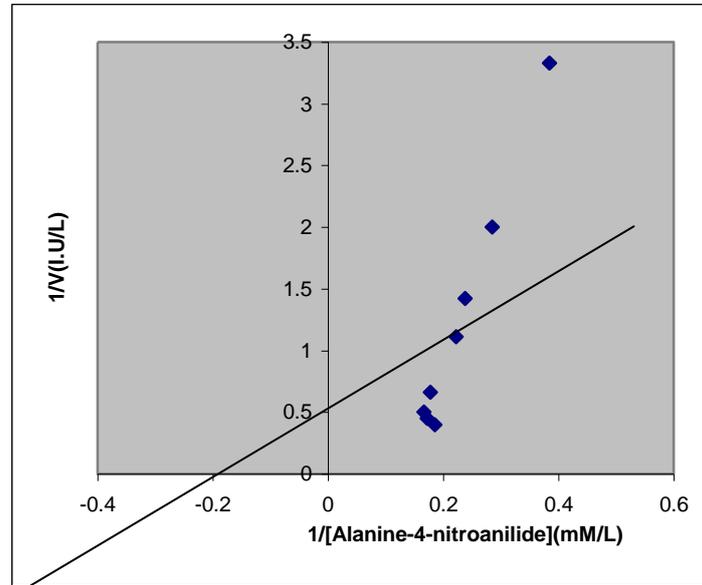
شكل رقم (5): العلاقة بين تراكيز مختلفة من (الأنين -4-نايتروأنلايد) ملي مول/لتر وسرعة تفاعل المتناظر II المنقى من ادرار الأصحاء.



شكل رقم (6): رسم لينوفر-بيرك لحساب ثابت ميكاليس-منتن للمتناظر II المنقى من ادرار الأصحاء.



شكل رقم(7):العلاقة بين تراكيز مختلفة من (الألنين -4-نايتروأنلايد) ملي مول/لتر وسرعة تفاعل المتناظر II المنقى من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.



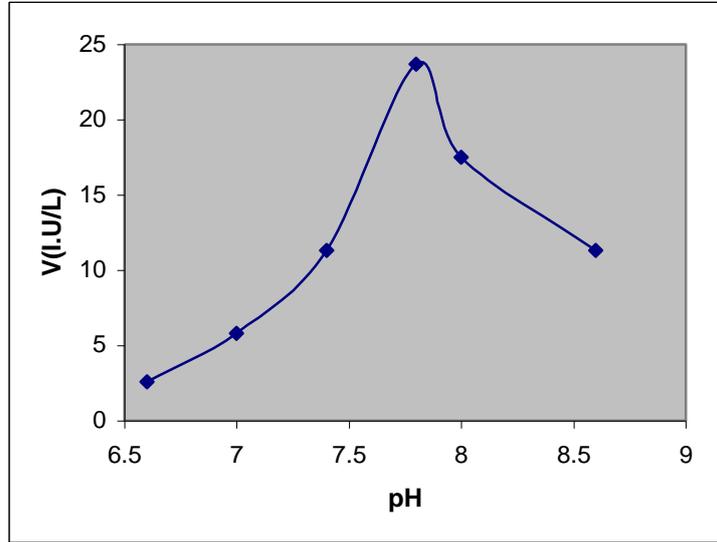
شكل رقم(8): رسم لينوفر-بيرك لحساب ثابت ميكاليس-منتن للمتناظر II المنقى من ادرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.

جدول رقم(1): يوضح قيم ثابت ميكاليس-منتن (km) لمتناظرات AAP I, II المنقاة جزئيا من ادرار الأصحاء والمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن بالاعتماد على معادلة لينوفر-بيرك.

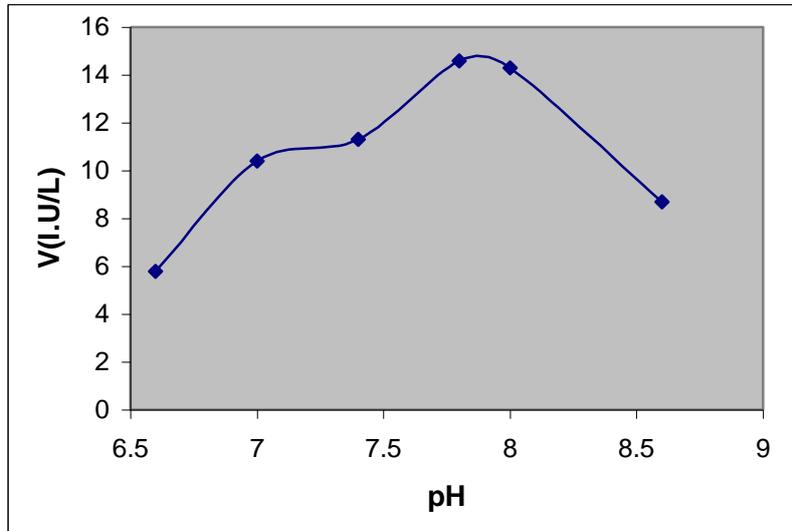
Enzyme	Substrate	Km(mole/liter)	
		1/v Vs. 1/[s]	
		Normal	C.R.F
Isoenzyme I	Alanine-4-nitroanilide	$10 \times 10^{-3}$	$25 \times 10^{-3}$
Isoenzyme II	Alanine-4-nitroanilide	$20 \times 10^{-3}$	$5 \times 10^{-3}$

هيدروجيني يتراوح (٤,٧-٨,٠) في حين أن الاس الهيدروجيني الامثل له يكون عند(٧,٨) بعدها تنخفض سرعة التفاعل مع ارتفاع الأس الهيدروجيني [١٦] وكما موضح في الشكل (9) و(10).

كما أوضحت نتائج الدراسة حدوث ارتفاع في سرعة تفاعل متناظرات II,I AAP مع ارتفاع الأس الهيدروجيني الى أن يصل الى سرعة التفاعل القصوى عند الأس الهيدروجيني (7.8) وللمتناظر II,I وهذا يتطابق مع دراسات سابقة إذ وجد ان الانزيم المنقى من ادرار الانسان يعمل في اس



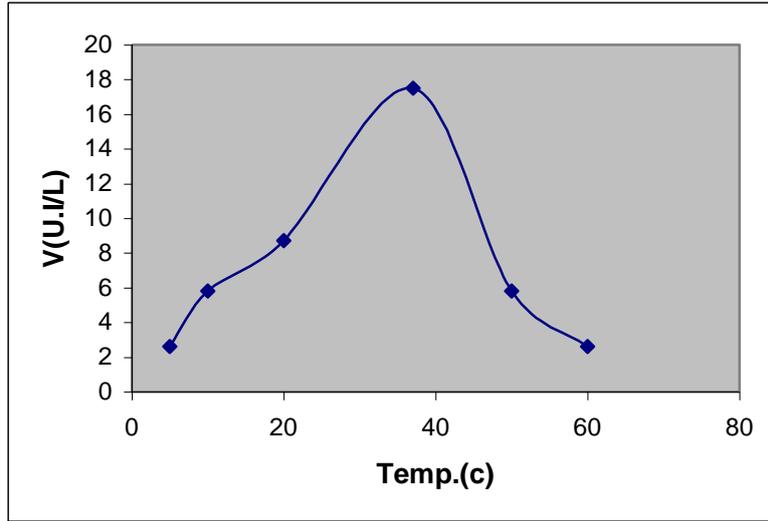
شكل رقم(9):تأثير الأس الهيدروجيني على سرعة تفاعل المتناظر I المنقى من أدرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.



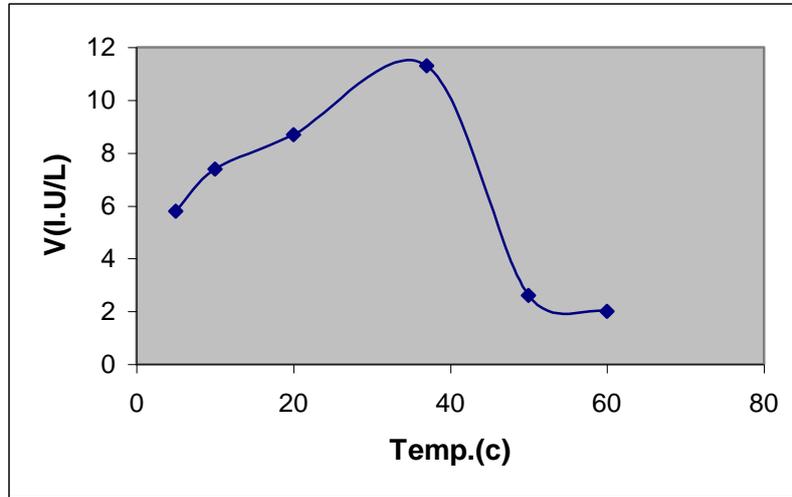
شكل رقم(10):تأثير الأس الهيدروجيني على سرعة تفاعل المتناظر II المنقى من أدرار المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن.

الحرارة الى حد الوصول الى سرعة التفاعلات القصوى عند الدرجة الحرارية (37)°م ومن ثم تبدأ سرعة التفاعل بالانخفاض.

كذلك أظهرت نتائج الدراسة تأثير درجة الحرارة في سرعة تفاعل متناظرات الألبين أمينو ببتيداز II,I وفي السرعة القصوى Vmax وكما موضح في الشكلين (11) و(12) إذ ترتفع سرعة التفاعل بارتفاع درجات



شكل رقم(11):تأثير درجات الحرارة على سرعة تفاعل المتناظر I.



شكل رقم(12):تأثير درجات الحرارة على سرعة تفاعل المتناظر II .

ويوضح الجدول رقم(2) قيم الطاقة المنشطة  $E_a$  وقيم  $Q_{10}$  للمتناظرين I,II وتم تعيين  $Q_{10}$  من خلال المعادلة الآتية:  
 $E_a = 2.3 RT_2 * T_1 \log Q_{10}/10$

حيث أن:

$E_a$ : طاقة التنشيط:

معامل درجة الحرارة:  $Q_{10}$

الثابت العام للغازات (1,987):  $R$ :

درجة الحرارة المطلقة:  $T$

ومن ملاحظة الجدول نجد أن قيمة  $Q_{10}$  تتطابق الحقيقة القائلة بأن قيم معامل درجة الحرارة  $Q_{10}$  للتفاعلات الأنزيمية تقع بين (1-2) أي تقع ضمن مدى التفاعلات الأنزيمية<sup>[12]</sup>.

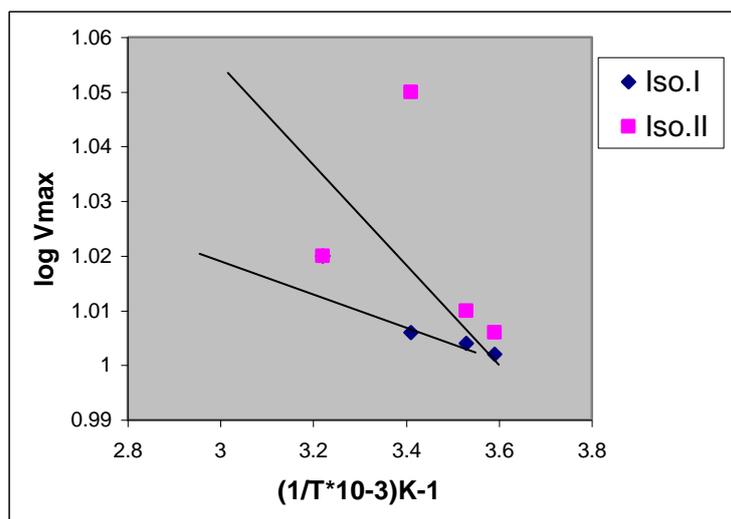
أما الشكل رقم (13) فيوضح العلاقة بين لوغاريتم السرعة القصوى  $V_{max}$  للمتناظرين I,II ضد مقلوب درجة الحرارة المطلقة التي تعطي خطأ مستقيماً والتي تتبع معادلة أرينيوس الآتية<sup>[13]</sup>:

$$\ln k = -E_a/RT + \text{constant}$$

وقد أظهرت النتائج بأن كلا المتناظرين I,II يخضعان لمعادلة أرينيوس حتى درجة (37)°م . كما تم حساب الطاقة المنشطة للتفاعل  $E_a$  وذلك من ميل الخط البياني للوغاريتم  $V_{max}$  ضد  $1/T * 10^3$  والمتمثل بالمعادلة الآتية:

$$\log k = -E_a/2.3R * 1/T + \log A$$

لذا فإن ميل الخط البياني =  $-E_a/2.3R$



شكل رقم(13):رسم أرينوس لتأثير مقلوب درجة الحرارة المطلقة على لوغاريتم السرعة القصوى لمتناظري الأنزيم II,I.

جدول رقم(2) :يوضح قيم (Ea) و (Q10) لمتناظرات أنزيم AAP II,I .

Enzyme	Ea(cal) طاقة التنشيط (سعره)	Q10
Iso.I	13923	1.0
Iso.II	4212	1.1

المصادر :

- 12-W.L.Starness., J. Szechinski., and F.J. Behal. .Eur .J Biochem, 124 .(1982);363-370.
- 13-W.Sidorowicz.,W.C.Hsia.,O.M.Zownir.,and F.J.Behal. Clin.Chim.Acta., 107.,(1980);245-256.
- 14-Hardwicks;Squire J.R.Clin.Scio.,14.(1955);509.
- 15-S.L.Lopponen.,and M. Makinen J. Ana. Biochem., 148 (1985); 50-53.
- 16-K.Jung.,and D. Scholz., "Anoptimized assay of alanine aminopeptidase activity in urine" Clin. Chem., 26(9). (1980);1251-1254.
- 17-K.Jung.,j.Diego.,V.Strobel,D.Scholz., and G.Schreeiber "Dignostic significance of some urinary enzyme for detectingacute rejection crises in renal transplant recipients". Clin. Chem., 32( 1807)., (1986); 1807-1811.
- 18-R.Gibey., J. L. Doupond., D. Alber., R. L., Floris., and JCH. Henry Clin.Chim.Acta.,116.(1981);25-34.
- 19-T.U. AL- Akabie .(2006) "Biochemical studies of Alanine aminopeptidase isoenzymes partially purified from patients urine having urinary tract cancer "Ph. D. thesis, College of Education, Tikrit university.
- 20- T.U. AL-Akabie (2000)"Biochemical studies of Asprtrate aminotransferase isoenzymes; isolation and partial purification from urine of patients with chronic renal failure"M.Sc.thesis,College of Edution for women, Tikrit university.
- 21-G. Wielend. and P. Molinof. life Sci.,29 (1981); 313.
- 22-S. Al- Mudaffer. Iraq Med. J. 24 (1976); 17.
- 1- K .J. Isselbacher., " Harrison's principle of internal medicine" 2.NewYork.,(1987).11th edition,pp1140-1158.
- 2- M. Verrelli., L. LMulloy., F. Talavra., Aronoff., R.. Jschmidt. and V. Batuman. "Medicine Encyclo. Chronic renal failure" (2005) p.2.
- 3-C.R.W.Edward.,"Davidson's principle and practice of medicine a text book for student doctors".British Goverment., (1991).16 th edition, pp 586-587.
- 4-L. Whitby.,A. Smith.and G. Beckett,G,"Lecture notes on clinical chemistry ".Black well Scientific Publications .,(1988). 4th edition, pp 108-169.
- 5-M. Youssef., H. wanibuchi., S. Mori., E.I. salim., S. Hayashi, and S. Fukushima., J. carcinogensis., 20 (7); (1999)., 1247-1352.
- 6-A. Kumar., H. N. Pandey., G.Sharma., D. N. Pandey., and B.K. Sur . J.Physiol.Pharmac.,31(1).(1987);13-17.
- 7-D. Maruhn., K. Wehling., and U. Metz., Clin. Chim Acta.160;(1986).119-122.
- 8-H. Mattenheimer., "Aminopeptidase in urine in animal clinical biochemistry"(Ed dJ Blok Mors)cambrige university Prees.(1988).pp 209-218.
- 9-G.Horpacsy.,W Dutz., G. May. ,J. Zinsmeyer., and M. Mebel., Zurol Nephrol.,66(5).,(1973);365-6.
- 10 Tsushima., H. Sumi., R. Ikeda., E. Yoshida., H. Mihara., and V. Hopsu-Haw. Biomed Biochim Acta., 49(5)., (1999);38-327.
- 11-H.J.Hutter.,J.Graving hoff, J., and I. Bohme. Z Med Lab Diagn.,21 (1).,(1980);9-17

# Study of kinetics Properties of Isoenzymes I,II in the Urine of Patients of Chronic Renal Failure

Tagreed U.AL-Akabic

*College of Education , Tikrit University , Tikrit , Iraq*  
(Received 19 / 1 / 2008 , Accepted 22 / 4 / 2008)

## **Abstract:**

In this research,The kinetic study of two isoenzymes of alanine aminopeptidase,which purified from the urine of chronic renal failure patients was studied.Both isoenzymes were obeyed Michaelis-Mentons equation.The optimum concentration of their substrate ( alanine-4- nitroanilide) was  $(2 \times 10^{-3})$  mole/liter. their Km values were determined. Both isoenzymes I,II have shown an optimum pH at 7.8.The two isoenzymes obeyed Arrhenius equation up to 37° C and their Ea and Q10 constant were determined,after measuring the activity of AAP of urine of chronic renal failure patients.The two isoenzymes I and II of (AAP) were separated and purified in preveaus study from urine of patients of chronic renal failure.

## **Key word :**

1-alanine aminopeptidase .

2-urie-alanine aminopeptidas .