خواص وفعالية إنزيمي السايتوسين والسايتدين دي أمينيز في دم الأصحاء والمرضى

قصي عبد القـــادر الجلبي و زهراء محمد علي حمودات

قسم علوم الحياة/كلية العلوم قسم الكيمياء/كلية العلوم

جامعة الموصل

تاريخ الاستلام 2006/6/28 تاريخ القبول 2006/10/3

Abstract

The study concerned with determination of some properties of cytosine deaminase activity in serum and erythrocytes haemolysate in normal human individuals, by spectral method. The study also included the determination of optimum conditions for enzyme activity and the normal values of specific enzyme activity. It included also, measuring the values of specific enzyme activity for cases of serum patients covering: patients with Leukemia Diabetes, and Thalassemia. Moreover, the present study determined the specific activity of cytidine deaminase in serum and erythrocytes haemolysate using the same optimum conditions for cytosine deaminase in normal individuals and cases of Diabetes .

The result of the study showed that maximum activity of cytosine deaminase in serum and erythrocytes hemolysate was obtained using (250 μM) and (150 μM) of buffer solution (Tris-HCl) for serum and erythrocytes respectively at pH(7.5) and (3 μM) cytosine as a substrate as well as (100 μL) and (50 μL) for serum and erythrocytes respectively as a source of enzyme for (2 min.) at (30 ºC) . The results of the study also showed that the enzyme was active towards the substrate 5-Methyl cytosine, while in active towards Deoxy cytidine mono phosphate and cytidine triphophate. Also the presence of some metal salts such as $MgCl_2$, $CoCl_2$, $HgCl_2$, KCl, $CuCl_2$ in the reaction solution led to inhibited of the enzyme inhibited the activity.

The analysis also indicated the non-existence of any significant difference of values of cytosine deaminase activity in Diabetic, Leukemia and normal individuals. However, the enzyme activity was higher in Thalassemia patients by (1.5) folds than in normal cases.

Finally, the statistical results of cytidine deaminase showed that a significant difference between normal and Diabetes.

الملخص

تضمنت الدراسة التعرف الى عدد من خواص انزيم السايتوسين دي امينيز في مصل ومتحلل كريات الدم الحمر بوساطة الطريقة الطيفية ، اذ تناولت الدراسة تحديد الظروف المثلى لعمل الانزيم في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر وايجاد القيم الطبيعية للفعالية النوعية للانزيم تحت الظروف المثلى ، كما حددت قيم الفعالية النوعية للانزيم في مصل مرضى مصابين بابيضاض الدم ومرضى داء السكر ومرضى فقر دم البحر المتوسط ،فضلا عن تحديد قيم الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل ومتحلل كريات الدم الحمر تحت الظروف المثلى لعمل انزيم السايتوسين دي امينيز للاشخاص الاصحاء ومقارنتها بمصل مرضى مصابين بداء السكر.

بينت النتائج ان اعلى فعالية للسايتوسين دي امينيز كانت عند استخدام تركيزي (250) و(150) مايكرومولار للمحلول المنظم الترس (Tris-HCl) للمصل ومتحلل كريات الدم الحمر على التوالي وعند دالة حامضية (7.5) ودرجة حرارة (30 ºC) ومدة تحضين (2) دقيقة وتركيز (3) مايكرومولار من مادة الاساس السايتوسين وكمية الانزيم التي تتواجد في (100) و(50) مايكروليتر من المصل ومتحلل كريات الدم الحمر على التوالي. كذلك اظهرت النتائج ان الانزيم يعمل على مادة الاساس 5-مثيل سايتوسين ولا يعمل على مادتي الاساس ديوكسي سايتدين احادي الفوسفات وسايتدين ثلاثي الفوسفات ، كما ان وجود عدد من الاملاح المعدنية مثل $CuCl_2$ و KCl و $HgCl_2$ و $CoCl_2$ و $MgCl_2$ في محلول التفاعل ادى الى تثبيطه وباستخدام الطرائق الاحصائية وجد ان الفعالية النوعية لانزيمي السايتوسين والسايتدين دي امينيز في متحلل كريات الدم الحمر اعلى مما هو في المصل ، كما اشارت النتائج الى عدم وجود فرق معنوي لقيم فعالية انزيم السايتوسين دي امينيز في مرضى السكري وابيضاض الدم مقارنة بمستواها عند الاصحاء ، في حين ظهر ارتفاع في فعالية الانزيم لدى مرضى فقر دم البحر المتوسط ب (1.5) مرة مما في الحالات الطبيعية اما بشان انزيم السايتدين دي امينيز ، فقد اشارت النتائج الاحصائية الى ظهور ارتفاع فعالية الانزيم وبفرق معنوي عند مرضى داء السكر .

المقدمة

وجدت انزيمات متخصصة في الكائنات الحية تعمل على ازالة الامين من القواعد النتروجينية والنيوكليوسيدات والنيوكليوتيدات ولكن وجودها وانتشارها في الطبيعة غير منتظمين ولم يدرسا تفصيلياً وتسمى هذه الانزيمـات بالمزيلـة للاميـن (Deaminases) ومنها انزيم السايتوسين دي امينيز والسايتديـن دي امينيـز[1-3] حيـث ان انزيمي

السايتوسين دي امينيز (EC3.5.4.1) والسايتدين دي امينـيز (EC3.5.4.5) من اكثر الانزيمات المزيلة للامـين[5,4] وهما يحفزان الازالة الامينية للسايتوسين و السايتدين ويحولانه الـى يوراسل ويوردين علـى التوالي بتفاعل التحلل المائي (Hydrolytic[6,5] Deamination).

ان اول من اكتشف تحول السايتوسين الى اليوراسل هما Hahn وSchafer في عام 1925 في المستخلص الخلوي لبكتريا القولون والخميرة (Yeast)[6]، وقد وجد من خلال الدراسات المختلفة عن هذا الانزيم انه يختلف باختلاف مصدر الانزيم من ناحية التخصص نحو مادة الاساس والوزن الجزيئي وفي الثباتية تجاه الحرارة ، كما لوحظ وجود عدد الاختلافات الاخرى في الخواص الحركية اذ وجد ان الانزيم السايتوسين دي امينيز القـدرة علـى ازالـة مجموعة الامين ليس من السايتوسين فحسب بل انه يعـمل على ازالة مجموعة الامين بتفاعل التحلل المائي لـ 5-مثيـل سايتوسـين(5-methyl cytosine) ويحـولها الـى الثايميـ ـن في كل مـ ن بكتريا القولون والسيدوموناس *Pseudomonase Aareofaciens* والخميرة[10-7].

كما اظهرت بعض الدراسات حول خصائص الانزيم بانه هناك نوعان من انزيم السايتوسـين دي امـينيز في البكـتريا الاول ثابـت بالحـرارة، والثانـي غير ثابت بالحرارة[12,11].

كما وجد ان الايسوسايتوسين (Isocytosine) يعمل كمثبط لهذا الانزيم وان هذا الانزيم لا يعمل على ازالة الامين منه[10].

ويهدف البحث الى تثبيت الظروف المثلى لعمل انزيم السايتوسين دي امينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر بوساطة الطريقة الطيفية ، وكذلك تحديد القيم الطبيعية (Normal values) لفعالية الانزيم ومقارنته مع بعض الحالات المرضية ، وتعد هذه الدراسات ذات اهمية بالغة في علم الانزيمات الطبية وذات تطبيقات عملية بالمختبرات السريرية.

المواد وطرائق العمل

تضمنت الدراسة قياس الفعالية النوعية لانزيم السايتوسين دي امينيز في مصل ومتحلل كريات الدم الحمر لاشخاص اصحاء ، وبلغ عدد الحالات الطبيعية (60) حالة شملت كلا الجنسين (36 ذكراً،24 انثى) تراوحت اعمارهم بين (14-67) سنة ،وبلغ عدد الحالات

الطبيعية لقياس الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز (20) حالة شملت كلا الجنسين (15 ذكراً،5 اناث) تراوحت اعمارهم بين (10-61) سنة.

كما قيست الفعالية النوعية لانزيم السايتوسين دي امينيز في مصل دم المرضى ومقارنته بالاصحاء اذ بلغ عدد الحالات المرضية (61) حالة ، تضمنت (29) حالة اصابة بابيضاض الدم الحاد في اثناء المعالجة اشتملت علـى (21) حالة اصابـة بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد(Acute Lymphocytic Leukemia) (ALL) و(8) حالة اصابة بابيضاض الدم النقوي الحاد) (Acute Myelocytic Leukemia)(AML) و(20) حالة من مرضى داء السكـر غيـر المعتمـديـن علـى الانسوليـن (النـوع الثانـي) (NIDDM) (Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus) و(12) حالة فقر دم البحر المتوسط (الثلاسيمياء) (Thalassemia)، وذلك بعد التشخيص الدقيق من الاختصاصيين.

وقيست كذلك الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل المرضى المصابين بداء السكر (النوع الثاني)، وبلغ عدد الحالات المرضية (15) حالة.

تضمنت الدراسة:

1. تحضير مصل الدم:

تم جمع الدم الوريدي في أنابيب نظيفة وجافة وخالية من موانع التخثر وفصل مـصل الدم، وحفظ في درجة حرارة (-20ºC) في المجمدة الى حين إجراء القياسات ، وأهملت عينة الدم المتحللة في الفحوصات جميعاً ولا سيما قياس فعالية الأنزيمات[13].

2. فصل كريات الدم الحمر:

استخدم دم غير متخثر بحجم (4-5) مليلتر لفصل كريات الدم الحمر بإتباع طريقـة Beulter وجماعته [14] ، ثم حضر منها متحال كريات الدم الحمر بإتبـاع طريقـة Price و Steven [15].

3. قياس فعالية أنزيم السايتوسين دي أمنيز:

قيست فعالية أنزيم السايتوسين دي أمنيز في مصل الدم ومتحال كريات الـدم الحمـر استناداً إلى طريقة Sakai وجماعته[11] والمعتمدة على الاختلاف في الامتـصاص الـضوئي للسايتوسين وتحوله الى اليوراسل عند الطول الموجي (290) نانوميتر ، وعبر عن الفعاليـة النوعية للسايتوسين دي امينيز بمايكرومول من السايتوسين المزال منه الامين /دقيقـة/ملغـم بروتين. وفي حالة قياس فعالية انزيم السايتدين دي امينيز استخدمت الطريقة نفسها في اعـلاه وباحلال المادة الاساس السايتدين بدلاً عن السايتوسين ، وقدرت الفعالية النوعية للانزيم علـى انها كمية السايتدين المزال منه الامين بالمايكرومول/دقيقة/ملغم بروتين.

4. قياس البروتين الكلي

قدر البروتين الكلي باستخدام طريقة بايوريت[16].

5. قياس كمية الكلوكوز في الدم

قدر الكلوكوز بالطريقـة اللونيـة وباسـتخدام عـدة التحليـل (Kit) مـن شـركة (RANDOX).

6. التحليل الاحصائي

حللت نتائج الدراسة احصائياً باستخدام تحليل التباين (Anova) لبيان الاختلاف بـين مجموعتين او اكثر وكان مستوى التمييز الاحصائي المقبول عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) ، وكذلك استخدم اختبار دنكن (Duncan) لتحديد الاختلافات الخاصة بين المجموعات[17].

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج الأولية تحت الظروف التمهيدية وجود فعاليـة للأنـزيم فـي مـصل ومتحلل كريات الدم الحمر ، وكانت الفعالية النوعية في مصل الدم ومتحلل كريات الدم الحمر على التوالي هي (0.91 ± 2.2) و (1.5 ± 7.5) على التـوالي، ولغـرض التوصـل إلـى الظروف المثلى لقياس فعالية الأنزيم في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر أجري عدد مـن التجارب المتتابعة لتحديد هذه الظروف.

إذ يتضح من الشكل (1) وجود زيادة في فعالية الأنزيم بزيادة مدة التحـضين بـصورة خطية إلى(2) دقيقة لكل من المصل ومتحلل كريات الدم الحمر على التوالي،وهذا يتفق مع من Sakai وجماعته[11]، اذ أن التناسب الخطي لفعالية الأنزيم مع مدة التحضين دليل علـى أن الإزالة الامينية من السايتوسين هي إزالة أنزيمية ، ويوضح الشكل (2) ان سـرعة التفاعـل تزداد بزيادة كمية الأنزيم (البروتين) للوصول إلى أقصى قيمة (50 μL) (1.9 mg) بروتين لمتحلل كريات الدم الحمر و (100 μL) (7.5 mg) بروتين للمصل ، وتعطي النتائج دلـيلاً اخر على أن الإزالة الأنزيمية للسايتوسين هي نتيجة الأنزيم (البروتين) الموجود في المـصل ومتحلل كريات الدم الحمر، اذ ان التناسب الخطي لفعالية الأنزيم مـع المحتـوى البروتينـي للأنزيم دليل على ان الإزالة الامينية من السايتوسين هي ازالة أنزيمية.كما استخدم المحلـول المنظم الترس (Tris-HCl) وباس هيدروجيني (7.4).يتضح من الشكل (3) ان أعلى فعاليـة للأنزيم في المصل تم الحصول عليها عند تركيز (250) مايكرومولار في حين ان التركيـز الامثل للمحلول المنظم لأنزيم متحلل كريات الدم الحمر هو (150) مايكرومولار ، وهذا يتفق مع Sakai وجماعته[11] لذا استخدم هذان التركيزان التجارب اللاحقة جميعاً ويبدو واضحاً من

الشكل (4) ان الدالة الحامضية المثلى للأنزيم في المصل ومتحلل كريات الـدم الحمـر هـي (7.5) في المحلول المنظم[11,7] لذا استخدمت هذه الدالة الحامضية فـي التجـارب اللاحقـة جميعاً.ويبين الشكل (5) ان الارتفاع التدريجي في درجات الحرارة يعمل على رفـع نـشاط الأنزيم للوصول إلى درجة حرارة (30 ºC) ثم تنخفض فعالية الأنزيم ، لذا اسـتخدمت هـذه الدرجة الحرارية في التجارب اللاحقة جميعاً[9].ويتضح من الشكل (6) ان زيادة تركيز مـادة الأساس السايتوسين تعمل على زيادة فعالية الأنزيم حتى تصل إلى قيمة (3) مايكرومولار في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر اذ تكون سرعة التفاعل ثابتـة تقريبـاً لا تتغيـر بزيـادة التركيز.

وبهذا يمكن تحديد تركيز مادة الأساس اللازمة لحصول السرعة القصوى ، وباستخدام رسم لاينويفر-برك والموضح في الشكل (7) ، اذ وجد ان قيمة السرعة القـصوى (Vmax) لأنزيم السايتوسين دي أمنيـز تـساوي (5.774 μM/min./mg) وقيمة ثابت ميكليس منتن (km) تساوي (1.120×10^{-3}M) للمصل ، في حين أن السرعة القصوى لأنـزيم الـسايتدين دي أمنيــز تــساوي (15.840 μM/min./mg) وثابــت ميكــيلس منــتن هــو (1.5×10^{-3}M) لمتحلل كريات الدم الحمر[11,9]. ويوضح الجدول (1) الظروف المثلى التي تم التوصل إليها خلال هذه الدراسة لقياس فعالية أنزيم السايتوسين دي امنيز من مصل ومتحلـل كريات الدم الحمربالطريقة الطيفية (الـ U.V.).

الجدول(1): مكونات مزيج التفاعل المثالية لقياس الفعالية النوعية للسايتوسين دي أمينيز في مصل ومتحلل كريات الدم الحمر للإنسان بطريقة الـ U.V.

مصدر الإنزيم	تركيز المحلول المنظم (μM)	الأس الهيدروجيني (pH)	سايتوسين (μM)	الإنزيم (μL)	درجة الحرارة (ºC)	فترة التحضين (min.)
مصل	250	7.5	3	100	30	2
متحلل كريات الدم الحمر	150	7.5	3	50	30	2

وكانت الفعالية النوعية للسايتوسين دي أمينيز تحت الظروف المثلى في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر هي (8.9±1.7) و (13.7±4.6) على التوالي.

خصوصية الانزيم لمادة الاساس

اختيرت المواد 5-مثيل سايتوسين (5MC) وديوكسي سايتدين احادي الفوسفيت (dCMP) والسايتدين ثلاثي الفوسفيت (CTP) بوصفها مواداً اساساً بديلة لفعالية الانزيم وبالتركيز نفسه ($3\mu M$) كمادة اساس بديلة عن السايتوسين. اذ اظهرت النتائج وكما موضح بالجدول (2) ان مادة الـ (5MC) تعمل كمادة اساس بديلة لفعالية انزيم السايتوسين دي امينيز وقد يعود السبب في هذه الفعالية ربما تعود لانزيم واحد يعمل على المادتين الاساسيتين في آن واحد والمتوافقة مع ما اشار اليـه ;Kutsuragi;Ipata &Cercignani,; Kream&Chargaff] يونس][18,10,7,6] من ان الـ (5MC) هي مادة اساس بديلة جيدة لانزيم السايتوسين دي امينيز المستخلص من خميرة الخبز.

اما المواد الاخرى الـ(dCMP) والـ(CTP) فلم تلحظ لها اي فعالية تذكر ، مما اعطى دلالة على ان الانزيم متخصص للقاعدة النتروجينية السايتوسين فقط.

الجدول (2):فعالية إنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر تجاه المواد الأساس

المادة الأساس	النسبة المئوية لفعالية الإنزيم * في متحلل كريات الدم الحمر	النسبة المئوية لفعالية * الإنزيم في المصل
سايتوسين	100	100
5-مثيل سايتوسين	70	85
ديوكسي سايتدين أحادي الفوسفات	0.0	0.0
سايتدين ثلاثي الفوسفات	0.0	0.0

* احتسبت نسبة الفعالية (لثلاثة مكررات) على أساس ان الفعالية للمـادة الأسـاس الـسايتوسين هي 100%.

تأثير الأملاح المعدنية في فعالية الأنزيم:

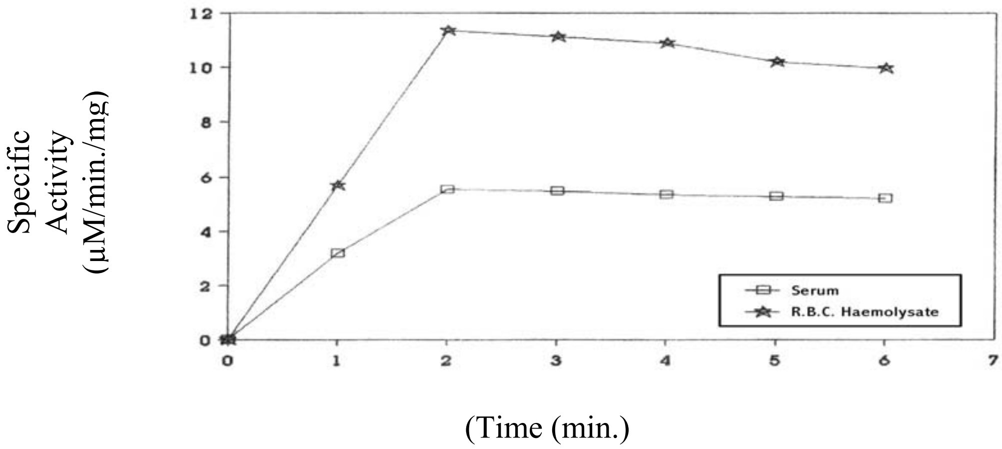
نظراً لأهمية معرفة العوامل المساعدة وتأثيرها في فعالية الأنزيم مثل المعادن واحتياج الأنزيم إليها ، استخدمت الظروف المثلى لتفاعل الأنزيم التي حددت سابقاً ، وأضـيفت إليهـا الأملاح المعدنية وبالتركيزين (0.1 و 1) ملي مولار ، يوضح الجدول (3) تـأثير الأمـلاح

المعدنية في فعالية الأنزيم ويتضح من نتائج الجدول (2) ان كلوريد المغنيسيوم $MgCl_2$ لـه تاثير تثبيطي واضح في فعاليـة الأنـزيم فـي المـصل ومتحلـل كريـات الـدم الحمـر وكذلك فيما يخص كلوريد الكوبلت $CoCl_2$ وكلوريد البوتاسيوم KCl وكلوريد النحاس وفـي كلا التركيزين (0.1 و 1) ملي مولار [19,18,9,8] ، ويعزى السبب في تثبـيط فعاليـة أنـزيم السايتدين دي امنيز وعدد من الأنزيمات الأخرى الى تفاعل هذه الأملاح المعدنية مع مجموعة الثايول (SH-) الموجودة في الأنزيم مما يؤدي إلى تثبيطه[20].

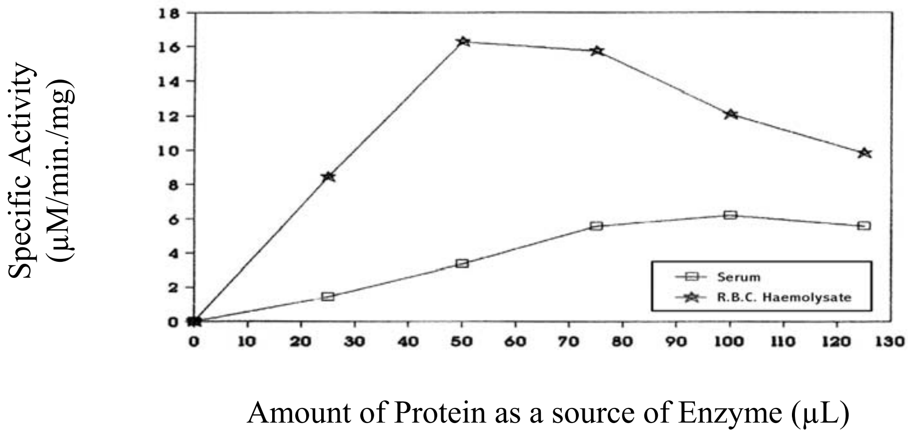
الجدول (3): تأثير الأملاح المعدنية في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر

الأيون المعدني	النسبة المئوية للفعالية في متحلل كريات الدم الحمراء *		النسبة المئوية للفعالية في المصل *	
	0.1 mM	**1 mM**	**0.1 mM**	**1 mM**
السيطرة	100	100	100	100
$MgCl_2$	20	59	23	57
$CoCl_2$	26	59	20	54
$HgCl_2$	0.0	11	0.0	0.0
KCl	46	55	96	6.0
$CuCl_2$	100	96	100	77

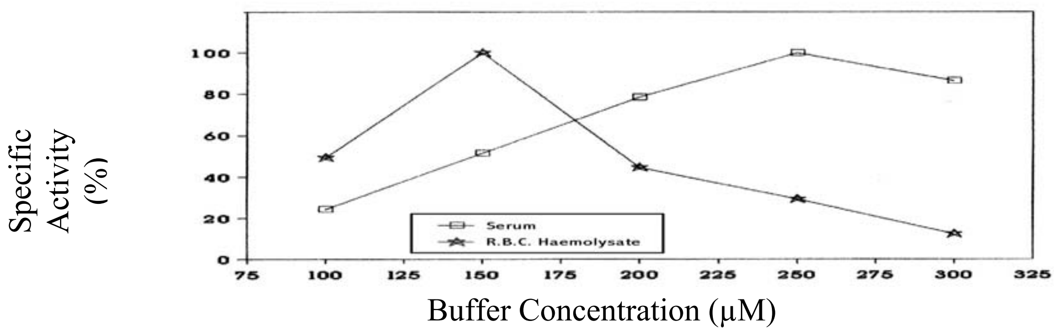
- اعتمدت الفعالية النسبية للانزيم (لثلاث مكررات)، من دون إضافة الأيـون المعـدني على أنها عينة السيطرة (الضابط) واعتبرت الفعالية 100% ثم احتسبت فعالية الإنزيم المضاف إليه الأيون المعدني نسبة إلى عينة السيطرة.



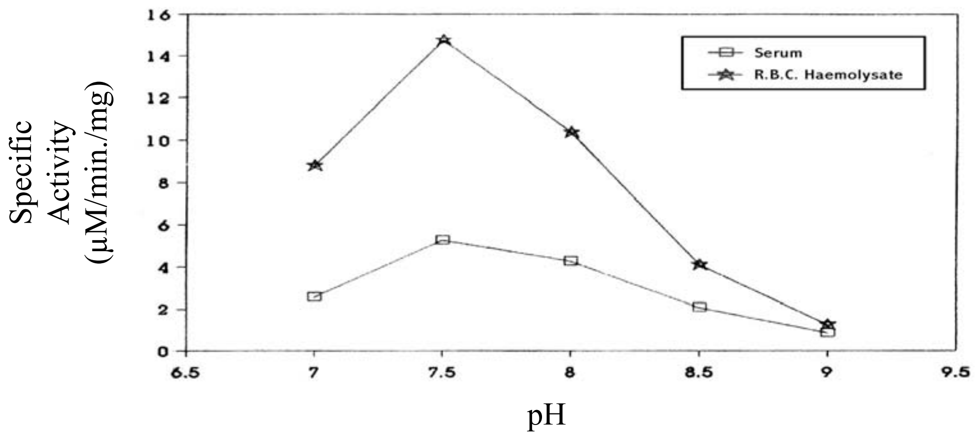
الشكل (1) العلاقة بين الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز ومدد التحضين المختلفة(بالدقيقة) في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



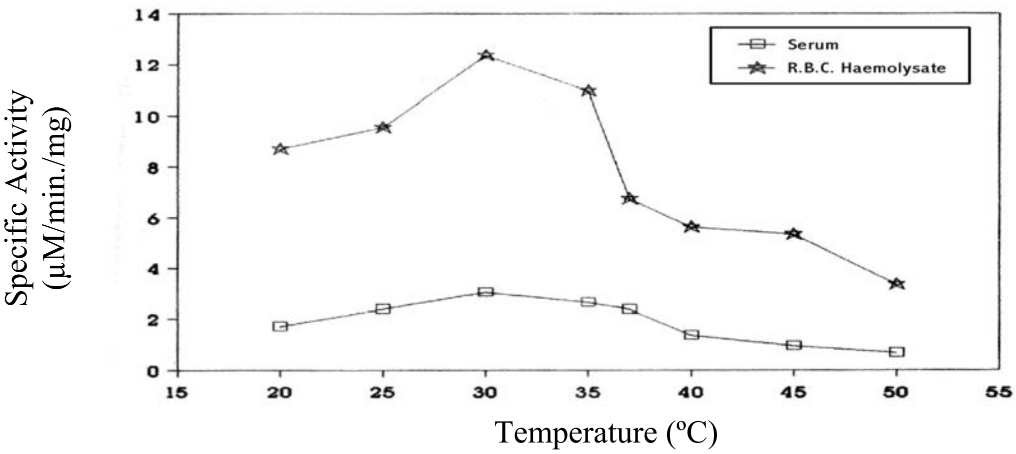
الشكل(2): تأثير الكميات المختلفة من الإنزيم (البروتين) في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



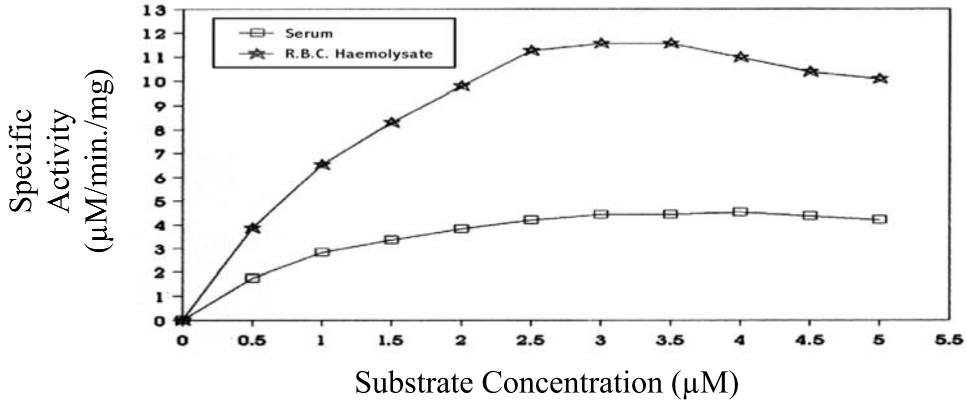
الشكل (3): تأثير تركيز المحلول المنظم (Tris-HCl) في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



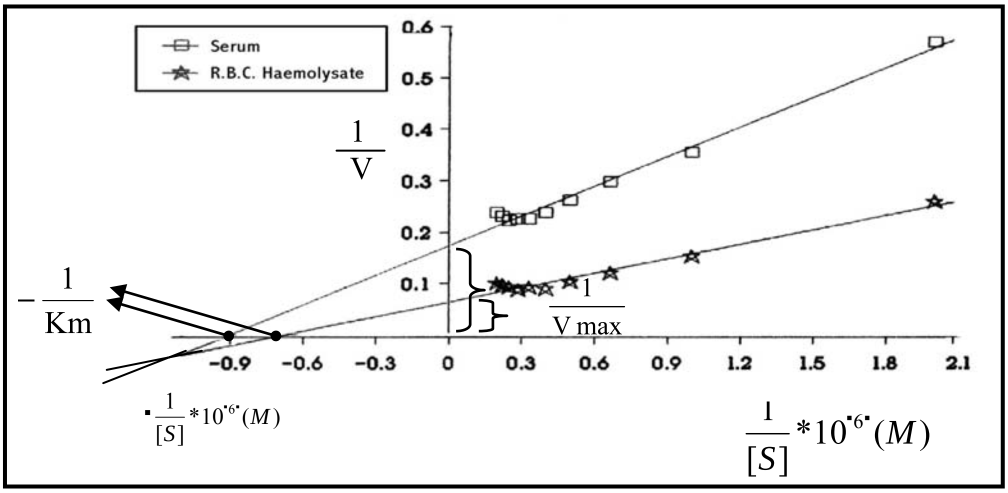
الشكل (4): تاثير الدالة الحامضية في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



الشكل (5): تأثير درجة الحرارة في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



الشكل (6) : تأثير تركيز المادة الأساس السايتوسين في الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر



الشكل (7): رسم لاينويفر – برك لتوضيح قيمة ثابت ميكلس – منتن للمادة الأساس السايتوسين وقيمة السرعة القصوى لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في المصل ومتحال كريات الدم الحمر

ويبين الجدول (4) قيم الفعالية النوعية لانزيم السايتوسين دي امينيز للاشخاص الاصحاء في المصل ومتحال كريات الدم ذلك ان نتائج الدراسة الاحصائية اظهرت ان فعالية انزيم السايتوسين دي امينيز في متحال كريات الدم الحمر اعلى مما في المصل وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P<0.0001$) .

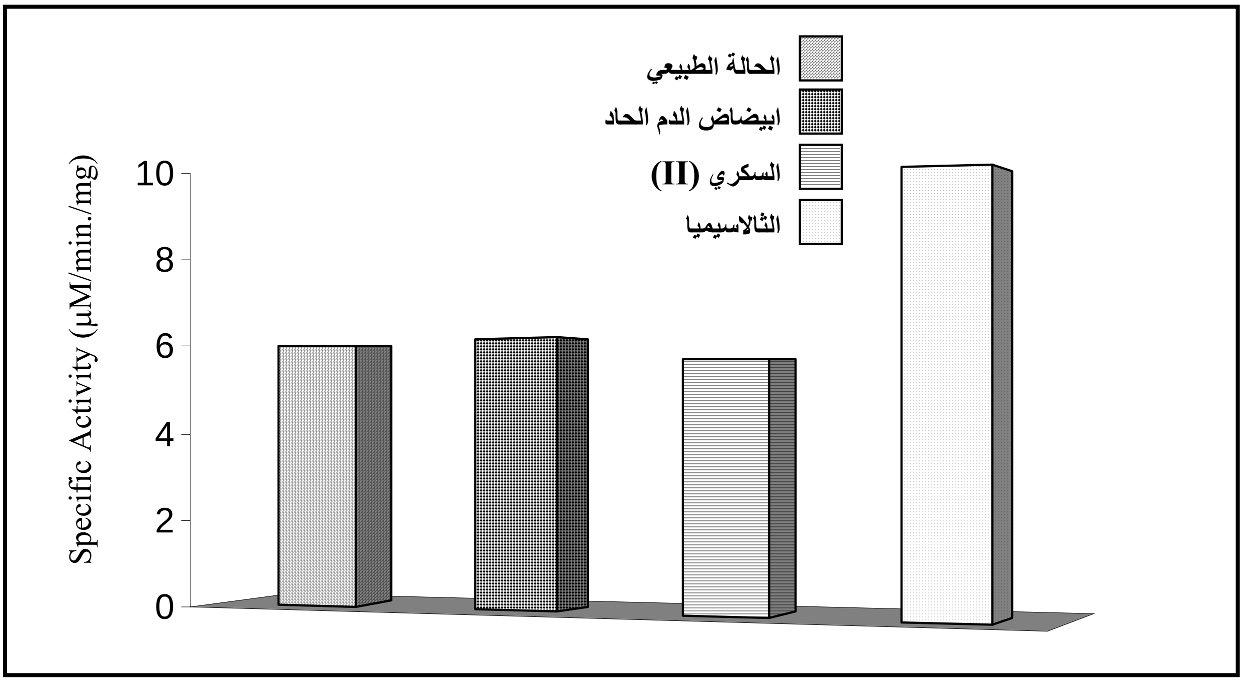
الجدول (4): الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في مصل ومتحال كريات الدم الحمر لدى الأشخاص الأصحاء

مصدر الإنزيم	* الفعالية النوعية للإنزيم في المصل المعدل ± الانحراف القياسي	** قيمة P
المصل	6.03 ± 2.03	0.0001
متحال كريات الدم الحمر	14.55 ± 4.82	

* الفعالية النوعية : مايكرومول من السايتوسين المزال منه الأمين مدة دقيقـة لكـل ملغـرام بروتين.

** معنوي ($P<0.05$).

واشارت النتائج الاحصائية كذلك وكما مبين في الشكل (8) الى عـدم وجـود فـرق معنوي في مصل المصابين بابيضاض الدم مقارنة بمصل الاصحاء ، كما اشارت الـى عـدم وجود فرق معنوي بين ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) وابيضاض الدم النقوي الحـاد (AML) ، كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي في الفعالية النوعية للسايتوسين دي امينيز فـي مصل المصابين بداء السكر (النوع الثاني II) مقارنة بمصل الاصحاء. كما تبين ان الفعاليـة النوعية لانزيم السايتوسين دي امينيز لمصل دم المصابين بمرض فقر دم البحـر المتوسـط (الثلاسيمياء) Thalassemia اعلى مما في مصل الاشخاص الاصحاء وبفرق معنـوي عنـد مستوى الاحتمالية (P=0.0001) ، اذ يتضح وجود زيادة في الفعالية النوعية للانـزيم وقـد يعزى السبب في الزيادة في فعالية الانزيم الى الزيادة في معدل سرعة تحلـل كريـات الـدم الحمر غير المكتملة العمر مما يؤدي الى تسرب محتوياتها من الانزيمات الى المصل ثم الـى زيادة فعالية الانزيم في المصل ، ومن الممكن عد قياس فعالية انزيم السايتوسين دي امينيـز مؤشراً على تشخيص المرضى في حالات الثلاسيمياء



الشكل (8): المقارنة بين الفعالية النوعية لإنزيم السايتوسين دي أمينيز في مصل الدم للحالة الطبيعية والحالات المرضية (ابيضاض الدم الحاد ، داء السكر (II) ، الثالاسيمياء)

كما حددت القيم الطبيعية للفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز تحت الظروف المثلى المثبتة لقياس فعالية انزيم السايتوسين دي امينيز والمبينة في الجدول (5) بوساطة الطريقة الطيفية.

الجدول (5):الفعالية النوعية لإنزيم السايتدين دي أمينيز في مصل ومتحلل كريات الدم الحمر لدى الأشخاص الأصحاء

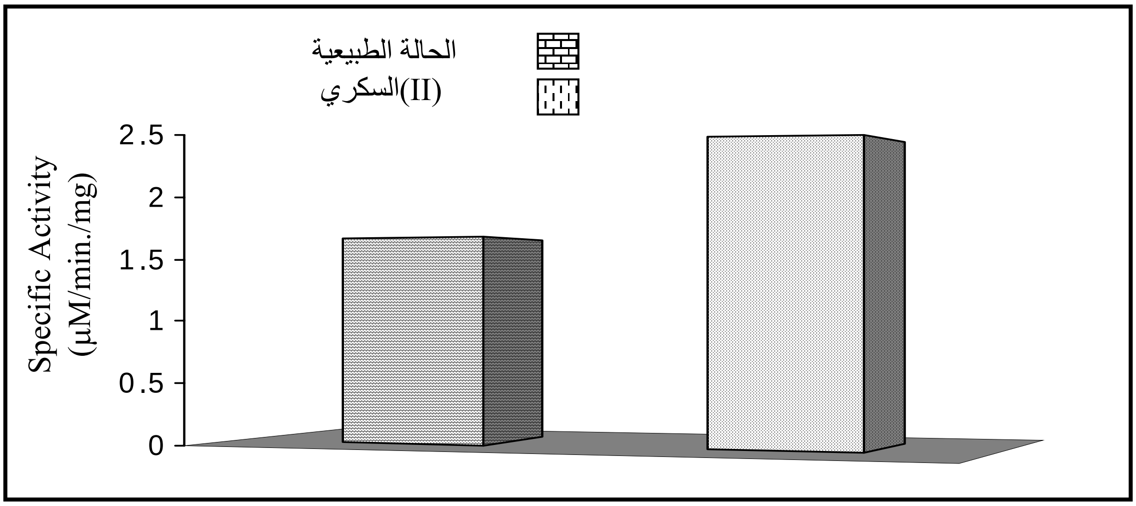
مصدر الإنزيم	* الفعالية النوعية للإنزيم	** قيمة P
	الانحراف القياسي ± المعدل	
المصل	1.68 ± 0.91	0.0001
متحلل كريات الدم الحمر	3.65 ± 0.87	

* الفعالية النوعية : مايكرومول من السايتدين المزال منه الأمين لمدة دقيقة لكل ملغرام بروتين.

** معنوي عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$)

اذ تشير النتائج الاحصائية الى ان الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز من متحلل كريات الدم الحمر اعلى مما في المصل ، وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P=0.0001$) .

وتشير النتائج الاحصائية كذلك الى وجود ارتفاع في فعالية الانزيم النوعية للسايتدين دي امينيز في مصل المصابين بداء السكر (النوع الثاني) وكما موضح بالشكل (9) مقارنة بالاشخاص الاصحاء وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.037$) ، وان السبب في الزيادة مجهول في الوقت الحاضر .



الشكل (9):المقارنة بين الفعالية النوعية لإنزيم السايتدين دي أمينيز في مصل الدم للحالة الطبيعية والحالة المرضية (داء السكر (II))

ويمكن ان نستنتج تواجد انزيم السايتوسين دي امينيز في المصل ومتحلل كريات الدم الحمر مع ايجاد الظروف المثلى لعمل الانزيم ، وكذلك من الممكن استخدام مـادة 5-مثيـل سايتوسين بوصفها مادة اساساً بديلة جيدة عن السايتوسين ويتثبط الانـزيم بوجـود الامـلاح المعدنية في محلول التفاعل ، وتزداد فعالية انزيم السايتوسين دي امينيز في مرضى فقـر دم البحر المتوسط مقارنة بالاصحاء و من الممكن استخدامها كدليلاً تشخيـصياً فـي التحلـيلات المرضية.

المصادر

1. Eda, H; Ura, M; Ouchi, K. F. Tanaka, Y.; Miwa, M. and Ishitsuka, H., Cancer-Res. 58, 1165-1169. (1998).

2. الجلبي ، قصي عبد القادر ، "الأحماض النووية" ، دار الكتب للطباعـة والنشر ، مطبعة جامعة الموصل / الموصل (1991).

3.Henderson,J. F.; Paterson,A.R.P.“Nucleotide Metabolism Antiroduction”. Academic Press. (1973).

4. Porter, D. J. and Austin, E. A. ,J. Biol.-Chem. 286, (32): 24005-11. (Abstract). (1993).

5. Zubay, G. “Biochemistry”. 3th ed., W. C. Brown communications, Inc., USA. (1993).

6. Ipata, P. L. and Cercignani, G., J. Vol. LI: 394-401 Pub. Academic Press, Inc. USA. (1978).

7. Katsuragi, T., Sonoda, T. Matsumoto, K. Sakai, T. and Tonomura, K., Agric. Biol. Chem., 53: (5), 1313-1319.(1989).

8. Yu, T. S., Sakai, T. and Omata, S.,Agric. Biol. Chem., 40: (3), 543-549. (1976, a).

9. Yu, T. S.; Sakai, T. and Omata, S. ,Agric. Biol. Chem., 40(3), 551-557. (1976, b).

10. Kream, J. P. and Chargaff, E. ,On the cytosine deaminase of yeast. J. Am. Chem. Soci., 74: 5157-5160. (1952).

11. Sakai, T.; Yu, T. S.; Tabe, H. and Omata, S., Agric. Biol. Chem., 39: (8), 1623-1629.(1975, a)

12. Sakai, T., Yu., T. S.; Taniguchi, K., and Omata, S., Agric. Biol. Chem., 39: (10), 2105-2020. (1975, b).

13. Tietz, N. W. “Textbook of Clinical Chemistry”. W. B. Saunders company, USA. (1986).

14. Beulter, E.; Biame, K.G.; Valentine Kaplan, J.C.; Loka,G.W.; Ramot, B. and Valentine W. N., J. Haematol. (35): 331-340.(1977).

15. Price, N.C. and Stevens, L.In "Fundamentals of Enzymology", 2nd . Oxford University press.(1989).

16. Burits,C. A. and Ashwood, E. R. "Tietz textbook of clinical chemistry". 3rd ed. W. B. Saunders company, USA, PP: 482, 523. (1999).

17. Armitage,P. "Statistical methods in Medical Rescarch",3rd ed., Blackwell scientific publications,U.K.:116,72.(1974).

18. يونس ، دعاء عبد المنعم ،رسالة ماجستير ، كلية العلوم ،جامعة الموصـل ، العـراق، ص39، (1995).

19. Katsuragi, T., Sakai, T.; Matsumoto, K. and Tonomura, K. ,Agric. Biol. Chem., 50: (7), 1721-1730. (1986).

20. Boyer, P.D., "The Enzyme" Vol.I, 2nd Ed.,ed. By Boyer, P.D.;Lardy, H. and Myrbäck, K.,Academic press, New York.511.(1959).