جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

# ایزوآنزیم‌های سرمی آدنوزین د - آمیناز در بیماران مسلول و افراد شاهد

حیدر طویلانی [۱] - دکتر محمود جلالی [۲]

## چکیده

**مقدمه:** آنزیم آدنوزین د - آمیناز (ADA) یکی از آنزیم‌های هیدرولاز است که باعث تبدیل آدنوزین به اینوزین و آمونیاک می‌شود. فعالیت این آنزیم به طور گسترده‌ای در همه بافت‌های پستانداران وجود دارد. در سرم انسان سه ایزو آنزیم ADA وجود دارد. ADA1 با وزن مولکولی ۳۵ کیلودالتون، ADA1+CP متشکل از ترکیب دو ملکول ADA1 با پروتئین دیگر با وزن مولکولی ۲۸۰ کیلو دالتون و ADA2 با وزن ملکولی ۱۰۰ کیلو دالتون.

**مواد وروش:** ۲۰ فرد شاهد در محدوده سنی ۴۰-۲۰ سال و ۱۰ بیمار مسلول در محدوده سنی ۶۰-۳۵ سال انتخاب و فعالیت ایزوآنزیم‌های آنان به روش‌های ژل فیلتراسیون و کلریمتری اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** میانگین فعالیت ایزوآنزیم ADA1+CP در سرم افراد شاهد و بیماران مسلول (۶/۹۰۱/۷۸۴/۰۰۰/۷۹)، ADA2 (۱۲/۸۹۱/۸۰ و ۲۲/۵۰۴/۶۵) و ADA1 (۱/۵۶۰/۳۷ و ۱/۷۰۰/۳۳) واحد بر لیتر می‌باشد. میانگین فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA1+CP,ADA2 در افراد شاهد و بیماران مسلول اختلاف معنی داری را نشان داد.

**بحث:** به دلیل وجود ایزوآنزیم ADA2 در منوسیت‌ها، به احتمال ایزوآنزیم ADA2 سرمی از این سلول‌ها منشا می‌گیرد.

**گل واژگان:** آدنوزین د - آمیناز، ایزوآنزیم، منوسیت، بیماران مسلول

مجله پزشکی ارومیه، سال دوازدهم، شماره یک، ص ۳۷-۳۲ ، بهار ۱۳۸۰

---

۱ - مربی گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی همدان

۲ -دانشیار گروه تغذیه و بیوشیمی ،دانشکده بهداشت ،دانشکده علوم پزشکی تهران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



## مقدمه

آنزیم آدنوزین د - آمیناز (ADA) یکی از آنزیم‌های هیدرولاز است که با استفاده از یک ملکول آب باعث حذف آمونیاک از آدنوزین و دزوکسی آدنوزین شده و آنها را به ترتیب به اینوزین و دزوکسی اینوزین تبدیل می‌کند (۱). در انسان این آنزیم به طور گسترده‌ای در بافت‌های مختلف وجود دارد و در متابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی نقش مهمی را ایفا می‌کند. کمبود ADA باعث ایجاد نقص ایمنی شدید و مرکب SCID می‌شود (Sever combined immunodeficiency disease) (۲) که در طی آن، لنفوسیت‌های B و T تکامل نیافته و عمل طبیعی خود را انجام نمی‌دهند. (۳)

ژن ADA انسان روی بازوی دراز کروموزوم ۲۰ قرار دارد و طول تقریبی آن ۳۲kb می‌باشد. (۴)

در سرم انسان، سه ایزوآنزیم ADA وجود دارد (۵) ایزوآنزیم ADA1 با وزن مولکولی ۳۵ دالتون و در ترکیب غیر آنزیمی، دو مولکول ADA1 با پروتئین دیگری به نام combining protein ایجاد ایزوآنزیم ADA1+CP به وزن مولکولی ۲۸۰ دالتون را می‌دهد. ایزوآنزیم ADA2 نیز به وزن مولکولی ۱۰۰ دالتون در سرم انسان وجود دارد. ایزوآنزیم ADA2 نه تنها در خواص کیتینکی، بلکه در خواص ایمنوشیمیایی نیز با ایزوآنزیم‌های ADA1+CP, ADA2 تفاوت دارد. (۶)

جهت اندازه‌گیری ایزوآنزیم‌های ADA، روش‌های مختلفی شامل: کروماتوگرافی تعویض یونی (۶)، ژل فیلتراسیون (۷)، الکتروفورز(۸)، استفاده از ماده مهار کننده EHNA(erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine) که باعث مهار ایزوآنزیم‌های ADA1+CO,ADA1 شده ولی مهار کننده ایزوآنزیم‌ها ADA2 نمی‌باشد (۹) و همچنین از تفاوت ایزوآنزیم‌های ADA2,ADA1 در واکنش با آدنوزین و دزوکسی آدنوزین استفاده می‌شود (۱۰)

افزایش فعالیت ADA در مایع پلور بیماران مسلول گزارش شده است (۹). همچنین افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA1+CP,ADA1 در سرم بیماران هپاتیت ،منونوکلئوز عفونی، پنومونی، روماتوئید آرتریت و سل مشاهده شده است (۸).

## مواد و روش

جهت بررسی فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA، ۲۰ فرد شاهد (۸ زن و ۱۲ مرد) در محدوده سنی ۴۰-۲۰ سال و ۱۰ بیمار مسلول (مرد) در محدوده سنی ۶۰-۳۵ سال انتخاب و فعالیت ایزوآنزیم‌ها در آنها اندازه‌گیری شد. از روش ژل فیلتراسیون (۷) جهت اندازه‌گیری ایزوآنزیم‌های ADA استفاده شده است. در این روش، سرم را پس از رسوب دهی با سولفات آمونیوم ۴۵ درصد اشباع و با حل کردن رسوب در بافر فسفات با pH= ۶/۵ و غلظت ۰/۱ مولار در حجم ۲ میلی لیتر به ستونی به طول ۷۰ و قطر ۱/۶ سانتی متر که با ژل سفاکریل S-300HR پر شده و از قبل با مارکرهای با وزن ملکولی مابین دو میلیون تا ۱۳۵۵ دالتون استاندارد شده است، تزریق نمایند. سرعت جریان ۲۰ ml/hr و حجم فراکسیون‌ها ۲ میلی متر جمع آوری می‌شود. پس از جمع آوری فراکسیون‌ها، فعالیت هر ایزوآنزیم با استفاده از روش رنگ سنجی اندازه‌گیری می‌شود (۱۱).

در این روش آدنوزین تحت تاثیر ایزوآنزیم‌ها به آمونیاک و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



اینوزین تبدیل شده و سپس امونیاک حاصل با استفاده از روش برتوله اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت هر ایزوآنزیم ارتباط مستقیمی با مقدار تولید آمونیاک دارد.

## نتایج

ایزوآنزیم ADA1+CP با وزن ملکولی ۲۸۰ دالتون، اولین ایزوآنزیم خارج شده از ستون بوده که در فراکسیون‌های ۴۱ تا ۴۴ خارج می‌گردد. سپس ایزوآنزیم ADA2 با وزن مولکولی ۱۰۰ کیلو دالتون در فراکسیون‌های ۴۸ تا ۵۳ خارج شده و ایزوآنزیم ADA1 با وزن ۳۵ کیلو دالتون در فراکسیون‌های ۵۹ تا ۶۱ خارج شده است.

الف. افراد شاهد: میانگین فعالیت (meanSD) ایزوآنزیم ADA1+CP ۴/۰۰۰/۷۹، ADA1 ۱/۵۶۰/۳۷ وADA2 ۱۲/۸۹۱/۸۰ واحد بر لیتر می‌باشد.

همچنین در صد فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA1+CP ۲۱/۸۳/۶ ADA1 ۸/۱۲/۳ ADA2 ۷۰۳/۷درصد می‌باشد.

کمترین فعالیت مربوط به ایزوآنزیم ADA1 و بیشترین فعالیت مربوط به ADA2 می‌باشد. محدوده فعالیت ADA1 بین ۲-۱، ADA1+CP بین ۵/۴-۳و ADA2 بین ۱۵-۸ واحد بر لیتر بوده است. همچنین مجموع در صد فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA1+CP,ADA1 بین ۲۳/۶ تا ۳۶/۲ می‌باشد.

نمودار ۱ میانگین فعالیت هر سه ایزوآنزیم را با یکدیگر مقایسه می‌نماید.

ب. بیماران مسلول: میانگین فعالیت (meanSD) ایزوآنزیم ADA1+CP ADA1 ADA2 می‌باشد.

همچنین در صد فعالیت ایزوآنزیم ADA1+CP ADA1 ADA2 می‌باشد.

کمترین فعالیت مربوط به ایزوآنزیم ADA1 بین ۲-۱/۵، ADA1+CP بین ۸-۴ و ADA2 بین ۳۲-۱۸/۵ واحد بر لیتر می‌باشد. نمودار ۲ میانگین فعالیت هر سه ایزوآنزیم در بیماران مسلول را با یکدیگر مقایسه می‌نماید.

میانگین فعالیت ایزوآنزیمم ADA1+CP در گروه شاهد و بیماران مسلول با استفاده از (Students T Test) تست T، (P<0.001) معنی دار می‌باشد.

میانگین فعالیت ایزوآنزیم ADA1 در گروه شاهد و بیماران مسلول با استفاده از تست T اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد. همچنین فعالیت ایزوآنزیم ADA2 در گروه شاهد و بیماران مسلول با استفاده از تست (P<0.0001) اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد. جدول (۱) میانگین فعالیت ایزوآنزیم‌های افراد شاهد و بیماران مسلول را نشان می‌دهد.

## بحث

فعالیت هر سه ایزوآنزیم با روش ژل فیلتر اسیون با نتایج حاصل از کروماتوگرافی تعویض یونی که توسط Muraoka انجام شده (۶)، قابل مقایسه می‌باشد.

تعیین فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA در بافت‌ها و سلول‌های مختلف انجام گرفته است. در بافت کبد، ریه، طحال، عضله، پانکراس، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها، فعالیت ADA مربوط به ایزوآنزیم‌های ADA1+CP,ADA1 میباشد و ایزوآنزیم ADA2 فعالیتی را نشان نمی‌دهد. (۸)

در بافت کلیه، فعالیت ADA، ناشی از ایزوآنزیم ADA1+CP و در اریتروسیت‌ها ناشی ازایزوآنزیم ADA1 می‌باشد. (۸)

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق که فعالیت ADA2 سرمی را حدود ۷۰ درصد تعیین کرده است و همچنین فعالیت ADA2 فقط در منوسیت‌ها مشخص شده است، احتمالا فعالیت ADA2 سرمی از سلول‌های رده منوسیتی ناشی شده است و علت تفاوت درصد فعالیت‌های ADA2 در سرم (۷۰ درصد) و منوسیت‌ها (۱۸ درصد) ناشی از ترشح فعال ADA2 توسط منوسیت‌ها یا تفاوت طول عمر ADA2 در سرم و منوسیت‌ها می‌باشد. (۸)(۹)

روش ژل فیلتراسیون می‌تواند در بررسی فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA در مراکز تحقیقاتی مورد استفاده قرار گرفته و با توجه به اهمیت فعالیت ایزوآنزیم‌های ADA در سرم و مایع پلور در بیماریهای مختلف، می‌توان در تشخیص این بیماری‌ها به پزشک یاری رساند.

## Refrence:


1- Padia RH,Geiger JD,Nagy JI:Adenosine deaminase regulation of purine actions.In:Phillis JW Adenosine and adenine nucleotides as regulators of cellular function. Florida,CRC Press,1991:74,87.

2- Restu R, Thompson L : the role of adenosine deaminase deficiency . Immunol Today, 1997, 18(8): 371-374.

3- Franco R : Cell surface adenosine deaminase. Prog Neurobiol,1997,52:286-294.

4- Dan A: Complete sequence and structure of the gene for human adenosine deaminase. Biochem, 1986,25(25):8234-8244.

5- Wcyden MB, Kelley W: Human adenosine deaminase: distribution and properties. J Biol Chem, 1976,251:5448-5459.

6- Muraoka T, K atsuramaki T, Shiraishi H:Automated enzymatic measurment of adenosine deaminase isoenzyme activities in serum. Anal Biochem, 1990, 187:268-272.

7- Ratech H, Hirschhorn R: Serum adenosine deaminase in normals and in a patient with adenosine deaminase deficient sever combined immuno- deficiency. Clin Chem Acta, 1981, 115:341-347.

8- Ungerer J ,Bissbort S, Vermaak H:Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application . Clin Chem,1992,38(7):1322-1329.

9- Jacobus P, Ungerer M ,Heila M ,Johannes H: Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. Chest, 1994, 106(1):33,37.

10-Valdes L, San Jose E ,Alvarez D:Adenosine deaminase isoenzyme analysis in pleural effusions. Eur Respir J,1996,9:747-751.

11-Giusti G :Adenosine deaminase. Bergmeyer Hu, ed: Methods of enzymatic analysis. 3rd ed, Philadelphia, Faber, 1984:315-323.

*The Journal of Urmia University of Medical Sciences 12(1) Spring 2001*

# *SERUM ADENOSINE DEAMINASE ISOENZYMES IN NORMALS AND TUBERCULOSIS PATIENTS*

*H Tavilaei*[1] *, M.S.; M Jalali* [2] *, Ph.D.*

**Abstract:**

**Introduction:** *Adenosine deaminase (ADA), a hydrolase, converting adenosine to inosine and ammonia, can be found extensively in all mammalin tissue. In human, adenosine - deaminating activity is exhibited by therr enzymes of differing molecular weights , a monomeric 35KD cataiytic units combined with a non enzymatic 200KDa protein (ADA1+CP)and a 100KDa enzyme (ADA2).*

**Method & Material:** *20 cases as a control group with ages of 20-40 years old and 10 patients with tobexwlosis ages of 35-60 years old were selected and their isoenzymes were measured by gel filtration and colorimetry methods.*

**Results:** *The mean activity of the isozyme ADA1+CP in controis and tuberculosis patients (4.000.79and 6.901.78) ,ADA2 (12,891.80 AND 22.504.65) and ADA1 (1.560.37and 1.700.33) U/L The mean activity of ADA2and ADA1+CP in controls and tuberculosis patients sh owed*

---

1. Instructor of Biochemistry, Hamadan University of Medical Sciences

2. Associate Professor of Biochemistry, tehran University of Medical Sciences

*significant differences.*

**Discussion:** *Because ADA2 could be demon strated only in monocytes ,one might assume that the serum ADA2 originates from this cell type .*

**Key words :** *Adenosine deaminase(ADA),lsozyme ,Monocyte , Tuberculosis Patients.*

**Address:** *Department of Biochemistry, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

**Source:** *UMJ 2001; 12(1) 32-37 . ISSN: 1027-3727*