

دراسة فعالية أنزيم نازع الأمين من الاديونوسين (ADA) لدى الأطفال المصابين بالحمى السوداء Kala-azar في مدينة العامرية - محافظة الأنبار

بان محمد عباس وجيه يونس العاني مثنى محمد عواد
جامعة الأنبار - كلية العلوم

الخلاصة:

تم قياس فعالية أنزيم نازع الأمين من الاديونوسين (ADA) adenosine deaminase في مصل الدم لمجموعة الأطفال المصابين بالحمى السوداء Kala-azar وكذلك لمجموعة من الأطفال الأصحاء في مدينة العامرية / محافظة الأنبار، اجريت الدراسة على ٩٠ عينة من الذكور والإناث تراوحت أعمارهم من ٣ أشهر - ٨ سنوات في مستشفى العامرية العام والمركز الصحي في مدينة العامرية تم جمع النماذج للفترة من شهر تشرين الثاني ٢٠١١ ولغاية نهاية شهر أيار ٢٠١٢ توزعت النتائج على مجموعتين الأولى مجموعة المرضى (٦٠ عينة) والثانية مجموعة السيطرة (٣٠ عينة)، وقسمت عينات الدراسة الى أربع فئات عمرية وهي الأولى (أقل من سنة)، الثانية (١-٢ سنة)، الثالثة (٣-٤ سنة)، والرابعة (أكبر من خمس سنوات). أوضحت نتائج الدراسة وجود ارتفاع معنوي في فعالية أنزيم نازع الأمين من الاديونوسين في مصل الأطفال المصابين مقارنة بمستواه لدى الأطفال الأصحاء عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). وعند دراسة تأثير الجنس على فعالية هذا الأنزيم لدى الأطفال المصابين لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين الذكور والإناث المصابة عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). وعند دراسة تأثير العمر على فعالية هذا الأنزيم لوحظ وجود فروق معنوية بين الفئات العمرية للأطفال المصابين عند نفس مستوى الاحتمالية، كما بينت نتائج الدراسة وجود علاقة ارتباط طردية معنوية بين أنزيم نازع الأمين من الاديونوسين والوزن للأطفال المصابة عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).

كلمات مفتاحية: فعالية، أنزيم نازع الأمين من الاديونوسين، حمى سوداء

المقدمة:

العالم ويعد مسؤولاً عن وفاة حوالي نصف مليون انسان في العالم سنويا (٥).

انزيم نازع الأمين من الاديونوسين (adenosine deaminase) يسمى كذلك (Adenosine amino hydrolase) ويختصر بـ(ADA) يحفز الازالة الامينية غير العكسية بتفاعل التحلل المائي للمادة الاساس الاديونوسين ويحوله إلى الانوسين مع تحرر الامونيا (٦)، (٧) يقع هذا الانزيم ضمن الصنف الثالث من اصناف الانزيمات الستة حسب التصنيف العالمي الذي اقرته لجنة الاتحاد العالمي للكيميائيين الحيويين (٨) وتحفز انزيمات الصنف الثالث Hydrolyases تفاعلات التحلل المائي .

يعد الاديونوسين دي اميناز ذا اهمية خاصة حيث يوجد هناك دلائل التي تدعم دوره في عملية التنظيم والتمايز الخلوي والسيطرة على مستوى نيوكليوسيد الاديونوسين ذات الفعاليات البايولوجية المختلفة فلهذه وظيفة رئيسية في عملية هدم واعداد بناء الاحماض النووية في النواة. فهو المسؤول عن تحويل احدى مواد البناء المذكورة والسماة - ادينوسين - الى مرحلة اخرى، وسطية، تسمى بالـ "اينوسين". من الممكن ان يتحلل

يعرف مرض اللشمانية الأحتشائية في العراق بالحمى السوداء ويعد هذا المرض من الأمراض المستوطنة في قطرنا وخاصة في ضواحي المدن والقرى والأرياف وعادة ما يصيب الأطفال من كلا الجنسين دون السابعة (١)، وهو مرض جهاززي مزمن يسببه طفيلي Leishmania donovani وهو أحد أفراد مجموعة الطفيليات المعروفة بأسم اللشمانيات Leishmaniasis (٢)، تكيف هذا الطفيلي للعيش والتكاثر داخل الخلايا البلعمية احادية النواة Mononuclear phagocytic cells (٣)، وتنتقل عدوى الإصابة الى الإنسان على نحو موسمي بواسطة الناقل البايولوجي انثى ذباب الرمل Phlebotomine sand fly من المضيفات الخازنة التي تتمثل بالكلاب والثعالب وبنات آوى والقوارض في بؤر الإصابة (٤). وتتركز إصابة المرض على الجملة الشبكية البطانية للأحشاء خاصة الكبد والطحال ونخاع العظم إضافة الى الغدد اللعابية ، مؤدية لفرط تصنع خلوي شديد محدثة تغيرات نسجية ودموية وكيميائية فيها ، ويأتي هذا الداء في المرتبة الثانية بعد الملاريا في تصنيف الأمراض الطفيلية القاتلة في

الالتهابية البكتيرية ، إذ ظهر أنه يزداد معنويا في الحالات الالتهابية اللاهوائية مقارنة بالحالات الالتهابية الهوائية ومريضات السيطرة (٢٣).

طرائق العمل:

جمع النماذج :

تم جمع الدم الوريدي من الأطفال المصابين بالحمى السوداء في مدينة العامرية للفترة من شهر تشرين الثاني ٢٠١١ ولغاية نهاية شهر أيار ٢٠١٢ (المرضى ٦٠ عينة ٤٠ ذكر و ٢٠ انثى) والاطفال الاصحاء (السيطرة ٣٠ عينة ١٥ ذكر و ١٥ انثى)، حيث تم سحب ٣ مليلتر لعينات المرضى والسيطرة تراوحت اعمارهم بين ٣ اشهر الى ٨ سنوات، وصنفوا الى اربع فئات عمرية ،الفئة العمرية الاولى اقل من سنة والفئة العمرية الثانية ١-٢ سنة والفئة العمرية الثالثة ٣-٤ سنة والفئة العمرية الرابعة اكبر من ٥ سنوات، وضعت النماذج في أنبوب بلاستيكية نظيفة ذات أغطية محكمة (White tube) فهي جافة وخالية من مانع التخثر لغرض فصل مصل الدم (Serum)

قياس فعالية الانزيم:

تم تحضير المحاليل المستعملة لقياس فعالية إنزيم Adenosine deaminase حسب الطريقة التي جاء بها Giusti (١٩٨١) (٢٤).

التحليل الاحصائي

تم استخدام اختبار T-Test لتحليل النتائج وإيجاد الفروقات والعلاقات المعنوية بين المجموع باستعمال برنامج SPSS v.17 ، وعدت الفروقات مهمة احصائيا وعالية المعنوية عند مستوى $(P \leq 0.05)$ ، ثم تم إيجاد معامل الارتباط الخطي ("r" Correlation coefficient) بالنسبة لمجموعة المرضى ، واستعمل برنامج Microsoft Excel لرسم الاشكال البيانية .

النتائج والمناقشة:

الجدول (١) يوضح حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية $(P < 0.05)$ في معدل تركيز انزيم الاديونوسين دي امينيز لدى مرضى الحمى السوداء مقارنة مع مجموعة السيطرة، اذا بلغ معدل تركيز الاديونوسين دي امينيز للأطفال المصابين (29.62 ± 60.48) وحدة دولية/لتر بينما كان في مجموعة السيطرة (13.42 ± 29.17) وحدة دولية/لتر. وقد لوحظ ان تركيز هذا الانزيم يرتفع في العديد من الامراض البكتيرية والطفيلية وكذلك في حالات الاختلال الوظيفي لكريات الدم الحمر (١٩) . وقد يعزى سبب ارتفاع مستوى انزيم ADA للأطفال المصابين بالحمى السوداء هو ان المسبب للمرض طفيلي داخل خلوي intracellular

الايونوسين، بحيث يتم افرازه عبر البول بصيغة (حامض اليوريك - Uric Acid)، او قد يتم استغلاله لإعادة بناء الاحماض النووية الجديدة. فهذا الانزيم متواجد في كل خلايا الجسم وجميع انسجة اللبائن، حيث ترتفع فعاليته في الاعضاء للمفاوية الاولى ولاسيما التوتة Thymus والاعضاء للمفاوية الثانوية وخاصة الطحال Spleen (٧)،(٩)، أن التعرف على فعالية هذا الانزيم والقياس الكمي لهذه الفعالية في الخلايا المختلفة له فوائد من الناحية السريرية ، فهو مفيد لتشخيص العديد من الامراض ، وانه من الانزيمات المستهدفة في المعالجة الكيماوية (٩) .

كما ان للانزيم دور فيسيولوجي كبير ومهم فضلا عن دوره في ايض البيورينات (١٠)،(١١) (١٢) (١٣). يساهم أنزيم الاديونوسين نازع الأمين الموجود في الخلايا للمفوية في الأشخاص الطبيعيين في عملية تكاثر تلك الخلايا ويشارك في أداء وظيفتها ، كما يعمل على إزالة سمية الاديونوسين في الخلايا للمفوية المتضررة (١٤) . إن حصول طفرة في الجين الذي يعبر عن هذا الأنزيم يؤدي الى الإصابة بالعوز المناعي الشديد والذي ينتج عنه إزالة شبكة كاملة من الخلايا للمفاوية التائية وانخفاض متغابر في الخلايا للمفاوية البائية B (١٥) . وبخصوص ذلك فقد لاحظ كل من Seemiller و Carson (1976) أن انقسام الخلايا للمفاوية يتحدد أو يقل بشكل ملحوظ بعد عملية تنشيط مثبطات ADA بواسطة العمليات الحيوية غير المعروفة ، وقد ذكر أن السبب في ذلك يكون مرتبطاً بتحويل الاديونوسين منقوص الأوكسجين الى أدنوسين ثلاثي الفوسفات منقوص الأوكسجين الذي سوف يتجمع انتقائياً في الخلايا للمفاوية ويسبب تحطمه تثبط عملية بناء المادة الوراثية

DNA (١٦) ، كما لاحظ Paris وجماعته (1978) من خلال عدة دراسات حدوث زيادة في مستوى الأنزيم المناعي في المصل لمختلف الأمراض وخلال الاستجابة المستضدية للخلايا للمفاوية (١٧). حيث ترتفع فعاليته في العديد من الامراض البكتيرية والطفيلية وكذلك في حالات الاختلال الوظيفي لكريات الدم الحمر (١٨) .

بعد قياس ADA في المصل من الفحوصات الجيدة للتعرف على المرض وتطوره إذ لوحظ ارتفاع فعاليته لدى النساء المصابات بداء المقوسات (١٩) وكذلك لدى المصابين باللسمانيا الجلدية (٢٠)، بينما تضاعلت فعالية الأنزيم لدى مرضى العجز الكلوي (٢١) ولدى المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتزمي مقارنة مع مجموعة السيطرة (٢٢) كما استنتجت دراسة قامت بها الحمداني (٢٠٠٩) أن فعالية الإنزيم المناعي ADA يمكن الاستفادة منها في التفريق بين الحالات

الخلوية ولاسيما في الامراض التي تتصف بتكاثر ونضج الخلايا للمفاوية (٢٦). ويعد قياس ADA في المصل من الفحوصات الجيدة للتعرف على المرض وتطوره ، وهذه النتائج تتفق مع بعض الباحثين منهم (١٩)، (٢٠)

parasite (٢٥) وهذا بدوره يؤدي الى تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية Cellular immune system مما يسبب ارتفاعاً في مستوى الانزيم المناعي ADA الذي له دور مهم في تولد ونضج الخلايا للمفاوية اذ يعد مؤشراً لتقدير المناعة

جدول (١) قيم معدلات فعالية انزيم نازع الأمين من الاديونوسين لمجموعة المرضى ومجموعة السيطرة

العينات	معدل فعالية ADA (IU/L) ± الانحراف المعياري SD	Level of signification (P-value)
الأطفال المصابين	٢٩.٦٢ ± ٦٠.٤٨	0.000
الأطفال لأصحاء (السيطرة)	١٣.٤٢ ± ٢٩.١٧	

الاستجابة المناعية الخلوية Cellular immune system لكلا الجنسين مما يسبب ارتفاعاً في مستوى هذا الانزيم المناعي لهما دون حدوث فرق معنوي بينهما.

كما ويتضح من الجدول (٢) ان مستويات الأنزيم لا تختلف باختلاف الجنس بالنسبة للأطفال المصابين إذ لم تسجل وجود فروق معنوية بين الذكور المصابة والإناث المصابة عند مستوى احتمالية (p < ٠.٠٥). وقد يعزى سبب ذلك الى تشابه

جدول (٢) قيم معدلات انزيم نازع الأمين من الاديونوسين لعينات المرضى موزعة حسب الجنس

المتغير المدروس	قيم معدلات عينات المرضى ± الانحراف المعياري
(I.U/L) ADA	ذكور (٤٠)
	اناث (٢٠)
	٣٠.٩٧٨ ± ٦٣.٩٧٧ a
	٢٦.٠١٩ ± ٥٣.٤٨٥ a

• الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين الذكور والإناث

العمرية الرابعة. وقد يعزى سبب ذلك الى قلة الاستجابة المناعية الخلوية Cellular immune system للفئة العمرية الثانية مقارنة مع الفئة العمرية الثالثة والرابعة مما يسبب انخفاض في مستوى الانزيم المناعي ADA لها مقارنة مع بقية الفئات للأطفال المصابين بالحمى السوداء.

تم دراسة تأثير العمر على قيم معدلات انزيم نازع الأمين من الاديونوسين لعينات المرضى حيث بينت نتائج التحليل الإحصائي وكما يظهر في الجدول (٣) وجود فرق معنوي (p < ٠.٠٥) في معدل تركيز ADA بين الفئة العمرية الثانية مع الفئة العمرية الثالثة ، وبين الفئة العمرية الثانية مع الفئة

جدول (٣) قيم معدلات انزيم نازع الأمين من الاديونوسين لعينات المرضى موزعة حسب العمر

المتغير المدروس	قيم معدلات عينات المرضى ± الانحراف المعياري			
ADA (I.U/L)	الفئة العمرية الاولى اقل من سنة (٢٤)	الفئة العمرية الثانية ١-٢ سنة (٢٠)	الفئة العمرية الثالثة ٣-٤ سنة (١١)	الفئة العمرية الرابعة اكثر من ٥ سنوات (٥)
	٢٦.٣٥ ± ٥٨.٦٨	30.22 ± 50.49	٢٢.٤١ ± ٧٢.٥٦	٤٢.٧٠ ± ٨٢.٥٢
	ab	a	b	cb

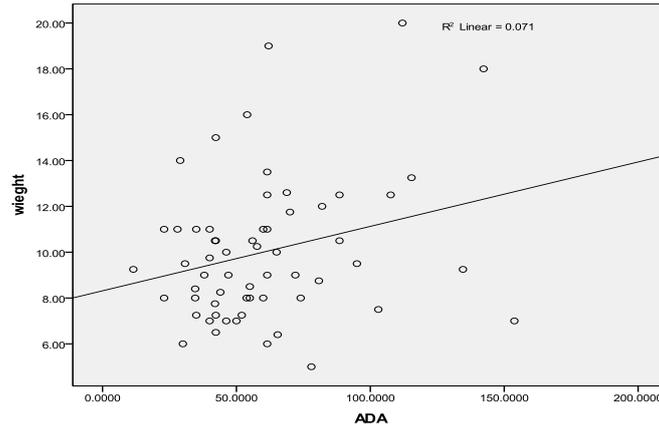
• الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P < 0.05) بين الفئات العمرية للمرضى.

• الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P < 0.05) بين الفئات العمرية للمرضى.

محافظة الانبار، وان مستويات الانزيم لا تختلف باختلاف الجنس بالنسبة للأطفال المصابين الذكور مقارنة مع الإناث المصابة، ووجود انخفاض في مستوى انزيم ADA للفئة العمرية الثانية (١-٢ سنة) مقارنة مع الفئة العمرية الثالثة (٣-٤ سنة) والفئة العمرية الرابعة (اكثر من ٥ سنوات) للأطفال المصابين بالحمى السوداء، واخيراً وجود علاقة ارتباط معنوية بين انزيم ADA والوزن للأطفال المصابين بالحمى السوداء.

أما عن دراسة العلاقة بين الانزيم المدروس ووزن الأطفال المصابة بالحمى السوداء فوجد ان هناك علاقة ارتباط معنوية طردية (R2=0.071) بينه وبين الوزن لدى الأطفال المصابة بالحمى السوداء وهذا يعني ان زيادة الاستجابة المناعية الخلوية المتمثلة بأنزيم ADA ترتفع نسبياً الى حد ما بزيادة كتلة الجسم وكما مبين في الشكل (١).

نستنتج من هذه الدراسة وجود ارتفاع معنوي في فعالية انزيم نازع الامين من الاديونوسين للأطفال المصابين بالحمى السوداء مقارنة مع مجموعة السيطرة في مدينة العامرية /



الشكل (١) العلاقة بين ADA والوزن لمجموعة المصابين بالحمى السوداء

10. Gaitanati , C. and Beis,I.:Cestod international Journal of parasitology. Vol. 15(6): 651-654. (1985).
11. Agawal,R.P., Sagar, S.M.,Parks, R.E.: Pharmacology. Vol.24: 693-701.(1975).
12. Smillie, R.M." The breakdown of the adenosine phosphatase by brain tissue" . Arch, Brochem . Biophy. Vol. 67: 213-244. (1957).
13. Yasuda,J.,Tanabe,T.,Hashimoto,A. and dToo,k:Br.Vet.J.Vol.152 (4): 485-488.(1996).
14. Smyth, J.F. and Harrap, K.R.: Biochem Pharmacol . Vol. 27: 2371-2374. (1977).
15. علي، اسماء عبد العزيز. "فعالية انزيم ادينوسين دي امينيز في المصل ،وغدة التوتة ونخاع العظم للفئران البيض المصابة بالبروسيات الأولية للمشوكات الحبيبية المعرضة لتيار كهربائي مستمر". مجلة جامعة الموصل ، كلية التربية – قسم علوم الحياة (٢٠٠٩).
16. Carson,A.and Seemiller,E. " Effect of adenosine deaminas inhibition upon human lymphocyte blastogenesis". J.Clin. Invest. Vol.57: 247-282. (1976).
17. Paris,M.A.,Gakis, C.,Brudauri, M.and Pndereoni, G."Adenosine deaminase activity in pleural effusions . an aid to differential diagnosis" . Br.Med.J. Vol.2: 1751-1752. (1978).
18. Franco, R., Valenzuela, A., Lluís, C. and Blanco, J. "Enzymatic and extraenzymatic role of ecto-adenosine deaminase in lymphocytes". J. Immuno. Rev. Vol: 161: 27-42. (1998).
19. مروة شكيب ذنون أحمد الراوي، " المتغيرات الفسلجية والمناعية في دم النساء المصابات بداء المقوسات في

المصادر :

1. Sukkar, F."Epidemiology and control of Visceral Leishmaniasis in Iraq".Bull.End.Dis.,26:13-27. (1985).
2. Gillespie, S.H. and Pearson, R.D ."Principles and practice of clinical parasitology". John wily & Sons Ltd, England.PP:287.(2001).
- 3.Chapel,H.;Haeney,M.;Misbah ,S.and Snowden,N."Essentials of Clinical Immunology".5thed.Blackwell.PP:50. (2006).
4. Kayser,F.H.; Bienz, K.A.; Eckert, J. and Zinkernagel, R.M."Medical microbiology". 11th ed. Thieme Stuttgart. New York.PP:493.(2005).
5. Kliegman ,R.M; Behrmand,R.E; Jenson,H.B; Stanton,B.F."Nelson Text Book of pediatrics".18thed.saunders,Elsevier.P P:1468.(2007).
6. Franco, R. and Centelles, J.J." Adenosine deaminase inhibitors as therapeutic agents". Drugs of today. 25: 155-170. (1989).
٧. الجلي، قصي عبد القادر. ميكائيل ، محمد حسين. "فعالية الادينوسين دي امينيز في مصل الاشخاص المصابين بالحمى التيفوئيدية او حمى مالطا اوالمالاريا".٧ مجلة علوم الراقدين ، المجلد ١١ ، العدد ٤ ، ص ١٤ – ٢١ . (٢٠٠٠).
8. Dixon, M. and Weeb, E.C. In "Tools of Biochemistry", Edited by coperol, T.G., Jhon Wiley, and sons. Pub. Academic press, Inc. New York. (1961).
٩. الداغستاني، أنعام أحمد حمزة حسين. "دراسة لفعالية وخواص انزيم ادينوسين دي امينيز في خميرة Candida albicans ومقارنته ببعض الخلايا حقيقية النواة". رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة الموصل (٢٠٠٥).

23. الحمداني، هبة الله عادل يوسف. "دراسة دور البكتيريا الهوائية واللاهوائية في إحداث المضاعفات بعد العمليات الجراحية". رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة الأنبار (٢٠٠٩).
24. Giusti, G."Adenosine deaminase .In Methods of Enzyme Analysis".2ed.Edited by: H.U. Bergmeyer. Academic Press.pp:1022-1099. (1981).
25. Karaman,U.; Beytur,L.; Kiran,T.R. and Cemil,C."Adenosin Deaminase level in the Serum of patients Toxoplasma gondii Seropositive and Giardia intestinalis".African J. of Microbiology Research. Vol..3(10):654-657.(2009).
26. Gakis,G.;Calia,M.;Naitana, A.G.;Orto, A.N. and AContu: Chest. Vol.99:1555-1556. (1991).
- مدينة الرمادي". رسالة ماجستير ،كلية العلوم ، جامعة الأنبار (٢٠١٠).
20. Erel,O.; Kocyigit,A.; Gurel,M.S.; Bulut,V.; Seyrelc ,A.and ozdemir ,y. "Adenosine deaminase activities in sera, lymphocytes and Granulocytes in patients with cutaneous leishmaniasis".Mem Inst Oswaldo cruz,Rio de janeiro, vol.93(4):491-494 .(1998).
21. Kadhim,S.H.; Mahdi,S.A.; Gazally,M.E." Study of some purine Metabolic Enzymens in Sera of Patients with Renal Failure". Medican Journal of Babylon .vol.7No.1-2 (2010).
22. Al-Marsomi,H.Th." Adenosine Deaminase (ADA) in Rheumatonl Arthritis in Patients(RA)". J.Fac.Med.Baghdad.,Vol.51,No.2,(2009).

Study of Adenosine Deaminase(ADA)Enzyme Activity of Children Patients With Kala-azar in Ameria City/AL-Anbar Governorate

Ban M.Abbas

Wajeeh Y.AL-Ani

Muthanna M.Awad

E.mail : dean_collscience@uoanbar.edu.iq

Abstract:

A study of the Activity Adenosine Deaminase of the infected children with kala-azar in ameria City/AL-Anbar Governorate, this study is conducted on a sample of 90 male and female children (the range of them between 3 months to 8 years) in the General Ameria hospital and healthy center in AL-Ameria (the period between November 2011 to the end of May 2012) distributed in two groups: the first group includes those who are kala-azar patients (60 subjects) while the second one includes the control group (30 subjects) , then both groups are subdivided according to four types concerning their age: the first one is less than one year; the second ranges from 1 to 2 years; the third ranges from 3 to 4 years; the fourth includes those who are more than five years. The findings of the study show a significant increase in the activity of (ADA) in the serum of the infected children compared to control group at the probability level ($p < 0.05$) concerning effect of sex variable on the activity of (ADA), the study shows no significant difference between male and female infected children at the probability level ($p < 0.05$). As regarded age variable on the activity of (ADA), the study shows significant difference between the different types of infected children at probability level ($p < 0.05$). It also shows positive correlation relationship between (ADA) Enzyme and weight of the infected children at the probability level ($p < 0.05$).