

دراسات حركية لمتناظرات الأنزيم 5'-نيوكليوتايديز (5'-NT) المنقاة جزئياً من امصال

دم المصابين بفقر الدم

اسراء اسماعيل ياسين¹ فراح غالي الصالحي¹ صباح حسين خورشيد²

¹ قسم الكيمياء كلية التربية للبنات جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

² قسم الكيمياء كلية العلوم جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص:

شمل هذا البحث الدراسات الحركية لمتناظرات انزيم 5'-نيوكليوتايديز (5'-NT) المفصولة والمنقاة جزئياً من امصال دم المصابين بفقر الدم متمثلة بتأثير درجات الحرارة المختلفة والاس الهيدروجيني pH باستخدام المحلول المنظم Tris-HCl على فعالية الأنزيم حيث بينت النتائج ان هناك درجة حرارة مثلى لعمل المتناظر I تتمثل ب (37 °م) ، اما المتناظران II و III فتبلغ سرعة التفاعل عند الدرجة الحرارية (22 °م) اقصاها. في حين بلغت قيمة ألـ pH المثلى للمتناظرات (7.2) .

واخيرا شملت الدراسة تأثير الايونات الفلزية (Mg^{+2} Mn^{+2} Zn^{+2}) على فعالية أنزيم 5'-NT ، إذ كان لايونات المغنيسيوم و المنغنيز تأثير تشبيطي على فعالية الأنزيم ، في حين اظهر ايون الخارصين تأثير تشبيطي .

المقدمة:

المرضى المصابين بمتلازمة العوز المناعي المكتسب AIDS مقارنة بالأصحاء⁽¹⁰⁾، وكذلك يزداد 5' - نيوكليوتايديز في بعض الامراض السرطانية Malignancy خصوصاً التي تؤدي إلى حدوث انسداد في القناة الصفراوية⁽¹¹⁾. فضلاً عن ذلك وجد ارتفاع مستوى فعالية الأنزيم في مصل دم المصابات بسرطان المبيض مقارنة بالأصحاء وأورام المبيض الحميدة⁽¹²⁾.

وفي سايوتوبلازم خلايا طحال الفئران المصابة بفقر الدم Anemic rats الناتج عن إعطائهم مادة الفينايل هيدرازين، لوحظ زيادة في فعالية أنزيم 5' - نيوكليوتايديز بمقدار ثلاثة أضعاف قيمتها الطبيعية⁽¹³⁾. في حين توصلنا بدراسة سابقة الى انخفاض فعالية انزيم 5' - نيوكليوتايديز في امصال دم مرضى فقر الدم مقارنة بالأصحاء⁽¹⁴⁾.

ولغرض ايجاد افضل الظروف لعمل متناظرات انزيم 5' - نيوكليوتايديز في الامراض المختلفة فقد ارتأينا ان تشمل دراستنا الحالية بعض الخواص الحركية لمتناظرات الانزيم المنقاة جزئياً من امصال دم مرضى فقر الدم وذلك للدور الرئيس الذي يلعبه هذا الانزيم في المحافظة على مستويات النيوكليوسيدات 5' - فوسفات داخل الخلايا وكذلك مستويات الادينوسين خارج الخلايا.

المواد وطرائق العمل :

العينات :

تم تنقية انزيم 5'-NT من امصال دم مرضى فقر الدم والتي جمعت من (54) عينة مرضية لحالات مختلفة من فقر الدم من مستشفى تكريت التعليمي بعد اجراء التشخيص من قبل اطباء اختصاصيين وشملت (22) ذكور و (32) اناث وتراوحت اعمارهم (7-85) سنة ومقارنتها مع الحالات الطبيعية التي شملت (56) عينة (31 ذكور و 25 اناث). تراوحت اعمارهم بين (18-62) سنة.

تحضير مصل الدم :

تم سحب الدم من الوريد ووضع في أنابيب بلاستيكية disposable tubes ثم حفظت العينة في درجة حرارة الغرفة لحين تخثر الدم بعدها تم وضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة

يعد انزيم 5' - نيوكليوتايديز (5'-NT) من أنزيمات الفوسفاتيز التي تعمل على النيوكليوسيدات 5' -احادية الفوسفات مثل الادينوسين 5' - احادي الفوسفات ، إذ يعمل على إزالة الفوسفات غير العضوي (Pi) المتأسر مع ذرة كاربون رقم (5') لسكر الرايبوز أو الديوكسي رايبوز لجزيئات النيوكليوتيد⁽¹⁾. ويعد أنزيم 5' -نيوكليوتايديز احد المتناظرات الأنزيمية Isoenzymes التي يمتلكها أنزيم النيوكليوتايديز المتخصص بإمتلاك عدد كبير من المتناظرات الأنزيمية المتباينة الخواص ، وهو بصورة عامة يقسم إلى نوعين من المتناظرات : المتناظر السايوتوبلازمي (ذائب في السايوتوبلازم) Cytoplasmic والمتناظر المرتبط بالجدار Membrane bound Isoenzyme ، وهذا التصنيف يستند إلى وجود الأنزيم ضمن الخلية⁽²⁾.

وفي عام 1968 اثبت وجود أنزيمين متناظرين لـ 5' - نيوكليوتايديز في كبد الفأر⁽³⁾. ووجدت عدة متناظرات للأنزيم في كلية الفأر بواسطة جهاز الهجرة الكهربائية، ولوحظ وجود خمسة متناظرات له في القنية القريبة الملتفة ، وخمس متناظرات في الجزء المستقيم من هذه القنية⁽⁴⁾. وقد تمكن Rabin وجماعته (1972)⁽⁵⁾ من عزل متناظرين للأنزيم المذكور بواسطة هلام الاكرلامايد من *Neurospora crassa* واستطاع الباحث خورشيد (1995)⁽⁶⁾ من عزل متناظرين للأنزيم من كبد الاغنام. في حين تمكنا بدراسة سابقة من فصل وتنقية ثلاث متناظرات لأنزيم 5' - نيوكليوتايديز من امصال دم المصابين بفقر الدم باستخدام تقنية كروماتوغرافيا التبادل الايوني DEAE-Cellulose A- (50)⁽⁷⁾.

لأنزيم 5' -نيوكليوتايديز استخدامات مهمة في المجالات الطبية فقد لوحظ ارتفاع مستوى الأنزيم في مصل الدم بأمراض الكبد المختلفة ، مثال ذلك مرض الكبد الصفراوي (اليرقان) وخصوصاً اليرقان الانسدادي ، وكان نشاطه مساوياً للنتائج المستحصلة من دراسة أنزيم الفوسفاتيز القاعدي . وأنزيم 5'-Nucleotidase لا يتأثر بأمراض العظام مثل مرض paget's وغيره أذ يبقى محافظاً على مستواه الطبيعي^(8,9). كما لوحظ انخفاض في فعالية أنزيم 5' - نيوكليوتايديز عند

تمت التجربة نفسها لقياس نشاط المتناظرات I و II و III وأضيف إليها (100µl) من المحلول كلوريد الخارصين الحاوي على أيون الخارصين بالتركيز (20 40 60 80 100) ملي مولار.

ب - أيون المنغنيز :

تم قياس نشاط متناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز بعد فصلها بإضافة تراكيز مختلفة من محلول كلوريد المنغنيز (5 ، 10 ، 15 ، 20) ملي مولار إلى خليط التفاعل ، وحسبت نسبة التحفيز التي تسببها تلك التراكيز من الأيون .

ج - أيون المغنيسيوم :

قيس نشاط متناظرات الأنزيم (I و II و III) ثم حسبت نسبة التحفيز التي تسببها الكميات المضافة من المغنيسيوم إذ أضيف إلى خليط تفاعل المتناظرات التراكيز (5 ، 10 ، 15 ، 20) ملي مولار من محلول كلوريد المغنيسيوم .

النتائج والمناقشة :

1. تأثير درجة الحرارة على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT ومتناظراته :

تؤثر درجة الحرارة في حالة تأين المجاميع الموجودة على سطح الأنزيم ومادته الأساس، حيث لمعظم الأنزيمات درجة حرارة مثلى (تساوي أو أعلى أو أقل بقليل) من درجة حرارة الخلية التي تحويها ، وهكذا تبين نتائج الدراسة ان هناك درجة حرارة مثلى لعمل أنزيم 5'-NT ومتناظراته فالشكل (1) و (2) يوضح ارتفاع سرعة التفاعل للأنزيم في مصلول الدم بارتفاع درجة الحرارة لحين الوصول الى سرعة التفاعل القصوى عند الدرجة (37 °م) ثم تبدأ سرعة التفاعل بالانخفاض وكذا الحال بالنسبة للمتناظر I ، اما المتناظران II و III فتبلغ سرعة التفاعل عند الدرجة الحرارية (22 °م) اقصاها كما مبين في الشكلين (3) و (4) على التوالي . وهذا مطابق لما توصل اليه الباحث احمد (1977) (19) بالنسبة للدرجة المثلى لعمل الأنزيم في مصلول الدم ومتناظراته ويطابق ماتوصل اليه خورشيد (1995) (6) بالنسبة لفعالية الأنزيم في كبد الاغنام.

2. تأثير الاس الهيدروجيني على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT ومتناظراته I و II و III :

ان درجة الاس الهيدروجيني (pH) تؤثر على الفعالية الانزيمية نتيجة لاختلاف طبيعة الأنزيم وتركيبه الكيميائي ، كذلك بما يحمله الأنزيم من مجاميع أيونية متعددة (20). إذ تبين عند رسم العلاقة بين درجات مختلفة من الاس الهيدروجيني (6.5 6.8 7 7.2 7.5) وسرع التفاعل الانزيمي لـ 5'-NT في مصلول الدم والمتناظرات I و II و III حدوث ارتفاع في سرعة التفاعل للأنزيم ومتناظراته الثلاث بارتفاع الاس الهيدروجيني الى حد الوصول الى السرعة القصوى عند الاس الهيدروجيني الامثل (7.2) بعدها انخفضت سرعة التفاعل مع ارتفاع الاس الهيدروجيني كما مبين في الاشكال (5) ، (6) ، (7) و (8) . وتطابق هذه النتائج مع ماتوصل اليه الطائي (2000) (21)، وكذلك Brouwer وجماعته (2005) (22) الذي استخدم Thio purine كمادة اساس.

3. تأثير الايونات الفلزية على متناظرات أنزيم 5'-NT :

لمدة خمس عشرة دقيقة ليتم فصل المصل ، وقد أجري قياس نشاط الأنزيم على مصلول الدم المفصول ، وعند الحاجة إلى الاحتفاظ بمصلول الدم فيفضل تجميده للمحافظة على فعالية الأنزيم .

طريقة قياس فعالية متناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز :

تم قياس نشاط متناظرات الأنزيم المفصولة والمنقاة جزئياً بدراستنا السابقة من امصال دم المصابين بفقر الدم (7)، بواسطة طريقة الكاشف Fisk and Subbarow (15) والمحورة من قبل Leloir and Cardini, 1957 (16) والتي تستند على تقدير عدد مايكرومولات الفوسفات اللاعضوي الناتجة من اختزال المادة الاساس 5'-AMP في وسط التفاعل ذو pH=7.2 ودرجة حرارة 37°م باستخدام الكاشف Fisk and Subbarow and المتكون من كبريتيت الصوديوم Na₂SO₃ وثايوكبريتيت الصوديوم Na₂S₂O₃.H₂O و 1-امينو-2-نفثول-4-حامض الكبريتوز، وقرأت الامتصاصية للمتناظرات الثلاث بعد ساعة عند الطول الموجي 660nm .

قياس تركيز البروتين لأنزيم 5'-نيوكليوتايداز المنقى جزئياً :

تم تقدير البروتين الكلي في مصلول الدم ومتناظرات الأنزيم المنقاة جزئياً باستخدام عدة التحليل الجاهز من شركة Biocon الألمانية المعتمدة على طريقة البايوريت التي تتضمن التفاعل بين البروتين في مصلول الدم ومحلول ترنارات بوتاسيوم النحاسيك القاعدية (ايونات Cu²⁺ في المحيط القاعدي) ، ليعطي معقد ذي لون بنفسجي شدته تعتمد على عدد الاواصر الببتيدية في البروتين والذي يمكن قياس شدة امتصاصه عند طول موجي (530nm) (17).

الخواص الحركية لمتناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز: (18)

1. تعيين درجة حرارة حضن التفاعل للمتناظرات I و II و III

تم استخدام طريقة قياس فعالية المتناظرات المذكورة اعلاه مع تغيير درجة حرارة التفاعل ، وشملت الدرجات التالية (15 ، 22 ، 30 ، 37 ، 45 ، 50) م وكان خليط التفاعل مكوناً من (100µl) من الجزء الناضج والحواي على متناظر الأنزيم و (780µl) من المحلول المنظم و (100µl) من المادة الأساس 5'-AMP .

2. تعيين درجة الاس الهيدروجيني الامثل للمتناظرات I و II و III

تمت دراسة الاس الهيدروجيني الامثل لعمل متناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز وذلك بتغيير درجة الاس الهيدروجيني للمحلول المنظم المستعمل وشملت درجات PH التالية: (6.5 6.8 7 7.2 7.5) وتم استخدام طريقة قياس الفعالية نفسها المذكورة اعلاه. إذ استعمل 5'-AMP بتركيز (40mM) كمادة أساس بوجود أيون المغنيسيوم (40mM).

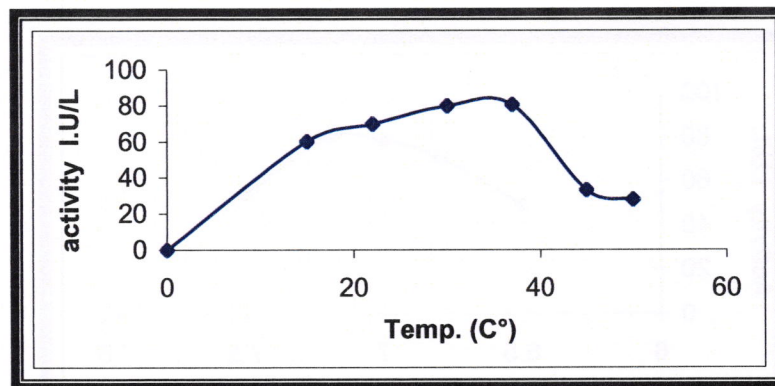
3. تأثير الايونات الفلزية على فعالية متناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز

تمت دراسة تأثير بعض الايونات الفلزية على فعالية متناظرات أنزيم 5'-نيوكليوتايداز وخصوصاً تلك التي لها تأثير تحفيزي أو تثبيطي كالمغنيسيوم والمنغنيز والخارصين ، وتم حساب النسب المئوية التي ينشط فيها المتناظر أو يحفز باستعمال تراكيز مختلفة من هذه الايونات .

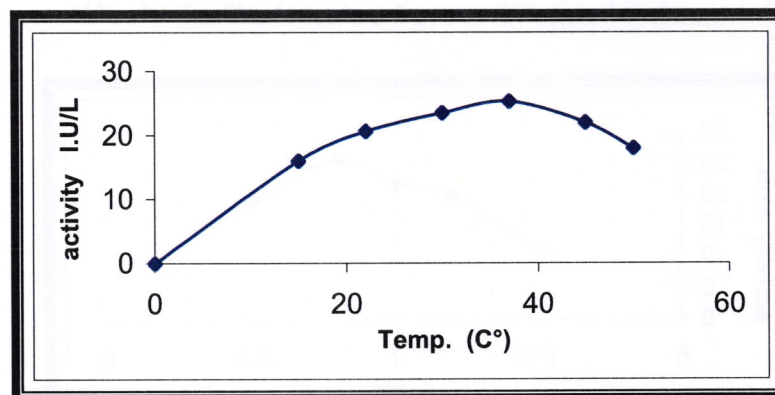
أ - أيون الخارصين :

كما تم دراسة تأثير تراكيز مختلفة من ايون الخارصين Zn^{+2} والذي يستخدم كمثبط لانزيم 5'-NT، ووضحت النتائج ان فعالية الانزيم تنشط في التراكيز المختلفة (20-100) ملي مولار من ايون Zn^{+2} والجدول (2) يبين نسبة التنشيط بالتراكيز اعلاه، وهذه النتائج تتطابق مع ماتوصل اليه Ahmed & Reis (1958) (26) Mallol & Bozal (1983) (27) و Grondal & Zimmerman (1987) (28). وتتعارض النتائج مع Grider وجماعته (1998) (29) التي تؤكد ان الخارصين ينشط فعالية انزيم 5'-N في الانسجة Acordermatitis enteropathica (AE) عند وضعها في وسط حاوي على تراكيز مختلفة من الخارصين.

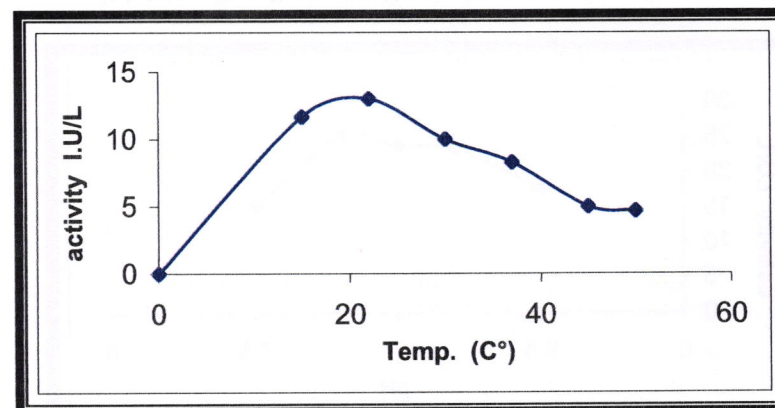
تعد الدراسات التنشيطية والتنشيطية بوساطة الايونات أنموذجا من الوسائل المستعملة في علم الانزيمات لمعرفة المراكز النشطة على سطح الانزيم، او كوسائل سيطرة على الخلية (23) وعلى هذا الاساس تمت دراسة تأثير الايونات الفلزية (المغنيسيوم، المنغنيز والخارصين) على فعالية المتناظرات الثلاث لانزيم 5'-NT فقد تم استخدام عدة تراكيز من ايوني Mg^{+2} و Mn^{+2} لغرض معرفة تأثيرها على متناظرات انزيم 5'-NT الثلاث ووجد ان لهذين الايونين تأثيرا تنشيطيا لغاية التراكيز (20mM) وكما موضح في الجدول (1). وهذه النتائج مطابقة لنتائج الدراسات السابقة احمد (1977) (19) Wood and William (1981) (24) والباحث Tietz (1987) (25) والطائي (2000) (21).



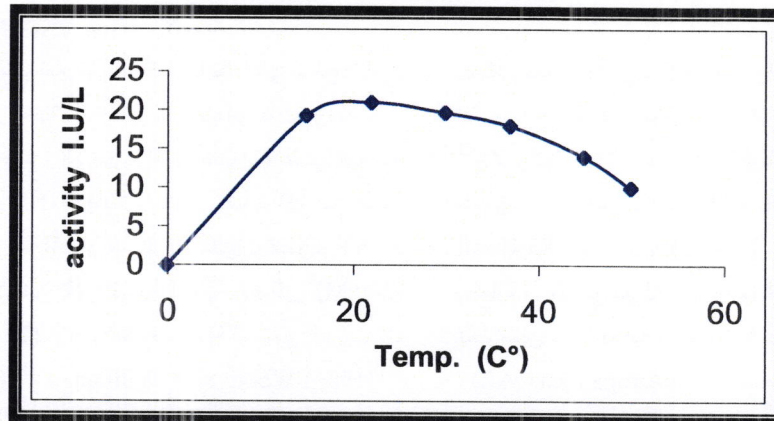
الشكل (1): تأثير درجة الحرارة على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT في مصـل الدم



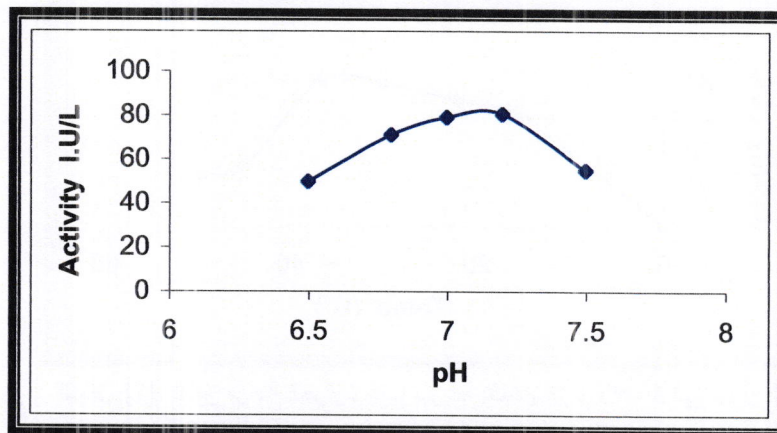
الشكل (2): تأثير درجة الحرارة على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT للمتناظر I



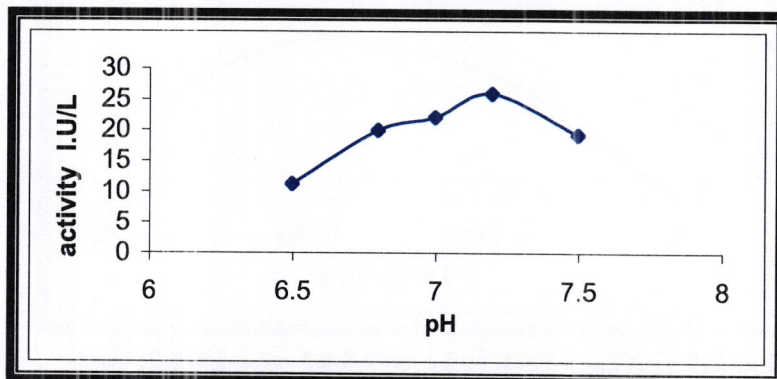
الشكل (3): تأثير درجة الحرارة على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT للمتناظر II



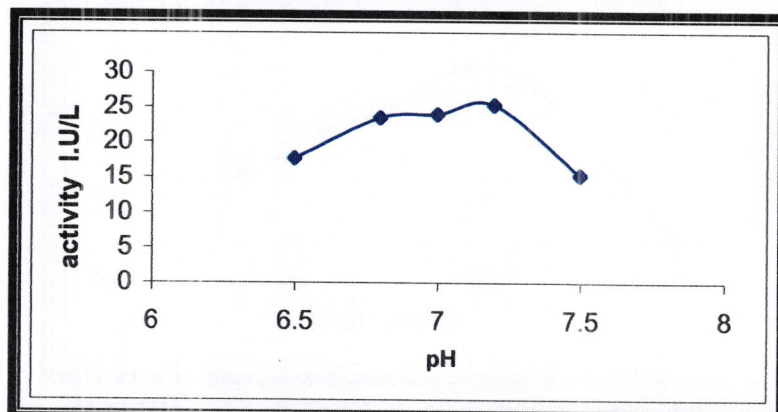
الشكل (4): تأثير درجة الحرارة على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT للمتناظر III



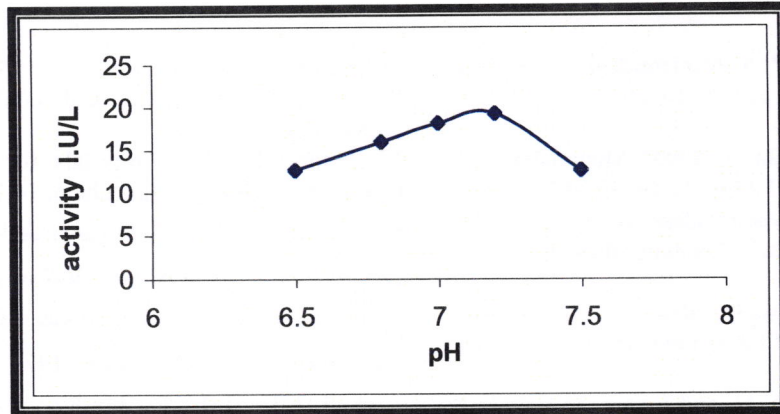
الشكل (5): تأثير الاس الهيدروجيني على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT في مصل الدم



الشكل (6): تأثير الاس الهيدروجيني على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT للمتناظر I



الشكل (7): تأثير الاس الهيدروجيني على سرعة تفاعل أنزيم 5'-NT للمتناظر II



الشكل (8): تأثير الاس الهيدروجيني على سرعة تفاعل انزيم 5'-NT للمتماظر III

الجدول (1) يبين نسبة تنشيط ايوني المنغنيز والمغنيسيوم للمتماظرات I و II و III

النسبة المئوية للتنشيط			التركيز (mM)	الايون المنشط
المتماظر III (%)	المتماظر II (%)	المتماظر I (%)		
0	0	0	0	Mn ⁺²
1.1	5	7.5	5	
1.5	13.6	11	10	
8.7	18.8	17.9	15	
13.1	25.1	20.5	20	
0	0	0	0	Mg ⁺²
4.9	6.4	6.6	5	
15.4	12.9	7.9	10	
22.7	17.2	11.6	15	
26.9	28.3	24	20	

الجدول (2) نسبة تثبيط ايون الخارصين للمتماظرات الانزيمية I و II و III

النسبة المئوية للتثبيط			تركيز Zn ⁺² (mM)
المتماظر III (%)	المتماظر II (%)	المتماظر I (%)	
0	0	0	0
4.8	5.9	17.3	20
6.5	19	20.4	40
8.6	25.1	26.7	60
17.6	45.7	29.3	80
24.2	50.4	44.5	100

المصادر:

1. Zimmermann, H. 1992 " 5'-Nucleotidase: molecular structure and functional aspects" . Biochem. J. 285:345-365.
2. Bianchi, V. and Spychala, J. 2003 " Mammalian 5'-Nucleotidase" Boil. Chem. J.278(47), 46195-46198.
3. Fritzson, P. 1968 "5'-Nucleotidase activities in the soluble fraction of rat liver" Biochem. Biophys. Acta. 151(3):716-8.
4. Hardonk, M.J. 1968 " 5'-nucleotidase. I. Distribution of 5'-nucleotidase in tissues of rat and mouse" Histochemie, 12(1):1-17.
5. Rabin, E.Z., Tenenhouse, H. and Fraser, M.J. 1972 " An exonuclease of *Neurospora crassa* specific for single-stranded nucleic acids" Biochem. Biophys. Acta. 259(1): 50-68.
6. خورشيد ، صباح حسين. 1995 "تنقية انزيم النيوكليوتايداز وانزيم الفوسفودايستريز النيوكليوتيدي الحلقي من كبد الاغنام "رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات.جامعة تكريت.
7. Al-Salihi, F. G., Yaseen, A. I. and Khorsheed, S. H. 2009 "Partial purification of 5'-nucleotidase isoenzymes from blood sera of anemic patients" Rafidain J. of science,20(1).
8. Dixon, T.F. and Purdon, M. 1952 " Serum 5-Nucleotidase" Nature, 170(4325):500-501.
9. Yonng, I.I. 1958 " Serum 5-Nucleotidase; characterization and evaluation in disease states" Ann.N.Y. Acad. Sci , 75(1):357-362.
10. Murry, J.L , Reuben, J.M. , Munn, C.G. , Mansell, P.W. , Newell, G.R. and Hersh, E.M. 1984 " Decreased 5'-Nucleotidase activity in lymphocytes from asymptomatic sexually active homosexual men and patients with the acquired immune deficiency syndrome" Blood, 64(5):1016-1021.
11. Kaplan, L.A. and Pesce, A.J. 1989 "Clinical Chemistry : Theory, analysis and correlation " 2nd ed. , Pub .C.V. Mosby company, U.S.A.
12. Pragathi, P., Bharath kumar, P.V., Amar kumar,P., Ramakanth Reddy, M., Sravani, V. ,Neeraja, J., Rebamary Eapen, Gopalakrishna, K. 2005 "Evaluation of serum Adenosine deaminase and 5'-Nucleotidase activities as probable markers in ovarian cancer", Indian Journal of clinical Biochemistry, 20(2): 195-197.
13. Hokari, S. and Sakagishi, Y. 1988 " Rat spleen cytoplasmic Nucleotidase: characterization and its physiological significance". Int. J. Biochem.,20(12): 1405-1410.
14. Yassen, A. I. , Al-Salihi, F. G. and Khorsheed, S. H. 2007 "The activity of 5'- Nucleotidase from sera of anemic patients " accepted in Tikrit J. of Pure Science.
15. Fisk, C. H. and Subbarow, K. 1925 "The colorimetric determination of phosphorouse". J. Biol. Chem. 66,375.
16. Leloir, L. and Cardini, C. 1957 "Characterized of phosphorous compound by acid lability" Meth enzymol , 3,840-850.
17. Peters, T. 1968."Proposals for standardization of total protein assays" Clin. Chem. 14,1147-1159.
18. الطائي، اسراء اسماعيل ياسين. 2006 "دراسة كيميائية حيوية لمتناظرات انزيم 5' - نيوكليوتايداز المنقاة جزئيا من امصال دم مرضى فقر الدم " ، رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات. جامعة تكريت.
19. احمد ، هيثم ناجي. 1977 " الظاهرة الالوستيرية ذات التعاون السالب ، وصفات حركية اخرى للمتناظرين I و II لـ 5'-NT النقيين من مصل الدم البشري الطبيعي " ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .
20. Cairryfa VR, Gill D, Parola AH. 1998 "Probing the active site of adenosine deaminase phresponsive fluorescent competitive inhibitor" Biophys chem. 70(1):41-56.
21. الطائي ، رعد ربيع سعدون. 2000 " دراسة فعالية انزيم 5' - نيوكليوتايداز في مصل دم الاشخاص الاصحاء وبعض الحالات المرضية " ،رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الموصل.
22. Brouwer C, Vogels-Mentink TM, Keizer-Garritsen JJ, Trijebels FJ, Bokkerink JP, Hoogerbrugge PM, Van wering ER, Veerman AJ, De Abreu RA. 2005 "Role of 5'-nucleotidase in thiopurine metabolism: enzyme kinetic profile and association with thio-GMP levels in patiets with acute lymphoblastic leukemia during 6 mercapto purine treatment " , Clin Chim Acta; 361(1-2):95-103.
23. Aboudi, V.S. 1976, M.Sc. Thesis, University of Baghdad.
24. Wood, R.J. and Williams, D.G. 1981." Colorimetric determination of serum 5'-nucleotidase without deproteinization ". Clin. Chem .,27(3): 464-465.
25. Tietz, N.W. 1987 "Text book of Clinical Chemistry". 3rd ed.: W.B saunders Co Canada,,: pp339-342.
26. Ahmed, Z. and Reis, J.L. 1958 " The activation and inhibition of 5'-nucleotidase " Biochem . J. 69(3) : 386 – 387.
27. Mallol, J. and Bozal, J. (1983) " Modification of 5'- nucleotidase activity by divalent cations and nucleotidase " J. Neurochem. 40(5): 1205-11.
28. Grondal, J.M. and Zimmermann, H.(1987)" Purification characterization and cellular localization of 5'-nucleotidase from torpedo electric organ", Biochem.J. 245,805-810.
29. Grider, A., Line, YF., Muga, SJ.(1998) "Differences in the cellular zinc content and 5'-nucleotidase activity of normal and acrodermatitis enteropathica (AE) fibroblasts", Biol. Trace Elem. Res., 61(1):1-8

Kinetic studies of 5'-Nucleotidase isoenzymes partially purified from blood sera of anemic patients

Asra'a Ismaeel Yaseen¹, Ferah Ghali Al-Salihi², Sabah Hussain Khorsheed²

¹ Chemistry Department , College of Education for Women , Tikrit University , Tikrit , Iraq

² Chemistry Department , College of Science , Tikrit University , Tikrit , Iraq

Abstract :

Kinetic studies of 5'-Nucleotidase (5'-NT) isoenzymes were carried out in this research, which included the effect of different temperatures and pH on the activity of 5'-NT isoenzymes partially purified from blood sera of anemic patients. The optimum pH was 7.2 ,while optimum temperature was 37 C for isoenzyme I and 22 C for isoenzyme II and III..

The effect of the metals ions as inhibitors or activators of 5'-NT activity was also studied , in which Mg^{+2} and Mn^{+2} ions showed activation effect . while Zn^{+2} ion showed inhibition effect on the activity of 5'-NT isoenzymes.