Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

خصائص انزيم الفوسفاتيز الحامضي في بعض الديدان الطفيلية

سعدية شهاب حمد[1] ، شهاب احمد محمد[2] ، حسين فاضل حسن[3]

[1،3]قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كركوك

[2] قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة تكريت

dc.sadia@yahoo.com[1] , shahab@yahoo.com[2] , hussainfadel@yahoo.com[3]

تاريخ استلام البحث: 27 / 11 / 2014 تاريخ قبول البحث: 13 / 4 / 2015

الملخص

تضمنت الدراسة الحالية قياس فعالية أنزيم الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية كالمتورقة الكبدية Fasciola hepatica والمونيزيا بندني Moniezia benedeni والدايروفلاريا أيميتس Dirofilaria immitis، وظهر ان الأنزيم موجود وبشكل فعال في مستخلصات هذه الطفيليات . دلت النتائج على ان فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في هذه الطفيليات مقاوم للتثبيط بالترترات ويختلف في قيم الرقم الهيدروجيني وكذلك في قيم ثابت ميكليس منتن للمادة الأساس . كما دلت النتائج على ان جزءاً من فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي تقع في الغشاء السطحي لهذه الطفيليات .

الكلمات الدالة: الفوسفاتيز الحامضي، المتورقة الكبدية، مونيزيا بندني، دايروفلاريا ايميتس.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

Properties of acid phosphatase from some parasitic helminthes

Sadia S.Hamad[1] , ShahabA.Mohamed[2] , Hussain F.Hassan[3]
[1,2]Department of Biology / College of Science / University of Kirkuk
[3]Department of Biology / College of Education / University of Tikrit
dc.sadia@yahoo.com[1] , shahab@yahoo.com[2] , hussainfadel@yahoo.com[3]

Received date : 27 / 11 / 2014 Accepted date : 13 / 4 / 2015

ABSTRACT

The activity of acid phosphatase has been estimated in parasitic helminthes, including Fasciola hepatica , Moniezia benedeni and Dirofilaria immitis. Acid phosphatase found to be active in extracts of all these parasites. The activity of acid phosphatase in these parasites was found to be inhibited by tartrate resistant and varified in response to pH and K_m values . The results suggests that the activity of acid phosphatase could be associated with the surface membrane of these parasites.

Keywords: *acid phosphatase Fasciola hepatica , Moniezia benedeni, Dirofilariaimmitis.*

1. المقدمة (Introduction)

يُعد انزيم الفوسفاتيز الحامضي (أورثوفوسفوريك أحادي الاستر فوسفوهايدروليز Orthophosphoric monoester phosphohydrolase (EC:3.1.3.2)) انزيماً غير متخصص حيث يعمل على التحلل المائي للعديد من أسترات حامض الفوسفوريك محررا الفوسفات اللاعضوية ويتفاوت تأثيره من أستر الى أخر.

لقد أشارت الدراسات العديدة الى وجود ثلاثة انواع من الفوسفاتيز الحامضي ، على اساس خصوصيته بالنسبة للوزن الجزيئي وتثبيطه بالترترات (tartrate) وهي انزيم الفوسفاتيز الحامضي ذو الوزن الجزيئي العالي [1] وانزيم الفوسفاتيز الحامضي ذو الوزن الجزيئي الواطئ [2] وانزيم الفوسفاتيز الحامضي خارج الخلايا [3]. تم تشخيص انزيم الفوسفاتيز الحامضي في العديد من الاوالي الطفيلية مثل Entamoeba histolytica Acanthamoeba [6−4] Leishmania

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

spp. [12-7] . الا ان اكثر المعلومات المتراكمة بهذا الخصوص كانت من خلال الدراسات المستفيضة التي اجريت على الطفيلي Leishmania [18-13] التي تشير الى وجود ثلاثة أنواع من الفوسفاتيز الحامضي في طفيليات اللشمانيا أحدهما ($ACP-P_1$) مرتبط بالغلاف الخارجي لغشاء البلازما ولا يتثبط بالترترات ووزنه الجزيئي حوالي 128 كيلو دالتون والنوعان الآخران($ACP-P_2$ $ACP-P_3$) يقعان في السايتوبلازم ويتثبطان بالترترات ووزنهما الجزيئي حوالي 132, 108 كيلو دالتون على التوالي. اما في الديدان الطفيلية فلا يعرف الا قدر قليل من المعلومات حول الفوسفاتيز الحامضي، ولقد جاءت الدلائل الرئيسية لوجود الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية من خلال استخدام طرق الكيمياء النسيجية والهجرة الكهربائية لإظهار النشاط الانزيمي ، ومع هذا يجب ان يلاحظ ان الرقم الهيدروجيني الامثل للفوسفاتيز الحامضي pH 6.5 في الديدان الورقية Clinostomum complantum [19]Echinochasmus renloroku [20]hepatica Fasciola , F.gigatica [21] Schistosoma mansoni [22] بينما (pH5-pH 6) في الديدان الشريطية pasqualte , Hymenolepis nana, Taenia hydatigena, Joyeuxiella [23] Taenia pisiformis[24] Moniezia expansa [25] و(pH5-pH5.5) في الدودة الخيطية Toxocara canis[23] و Dirofilari aimmitis [21] .

وتعد تنقية انزيم الفوسفاتيز الحامضي من الدودة الشريطية مونيزيا اكسبانسا باستخدام كروماتوغرافيا السليلوز والترشيح الهلامي على السيفادكس G-75 أول محاولة للتعرف على الخصائص الحركية لهذا الانزيم في الديدان الطفيلية [25] وتوحي الدلائل الأولية من تلك الدراسة [25] ان الفوسفاتيز الحامضي المنقى من المونيزيا عبارة عن بروتين سكري ذو وزن جزيئي حوالي 32 كيلو دالتون ومقاوم للتثبيط بالترترات . كما أظهرت الدراسات بالمجهر الالكتروني ان الفوسفاتيز الحامضي يوجد في الغشاء السطحي والخلايا البرنكيمية والخلايا المعوية في العديد من الديدان الطفيلية [26] ويعتقد بانه يؤدي دورا وظيفياً هاماً في تبادل المركبات الأيضية. والهدف من هذه الدراسة هو التعرف على بعض خصائص انزيم الفوسفاتيز الحامضي ودوره في الديدان الطفيلية كونه يعتبر احد مستضدات هذه الديدان الذي يمكن الاستفادة منه في العديد من التجارب المناعية وفي تحضير اللقاحات.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

2. المواد وطرائق العمل (Material &Methods)

الديدان الطفيلية المستخدمة قيد الدراسة :

تم اختيار عدد من الديدان الطفيلية التابعة لمجاميع تصنيفية مختلفة للتحري عن انزيم الفوسفاتيز الحامضي ويوضح الجدول (1) مصدر الطفيليات المستخدمة في هذه الدراسة الحالية .

جدول (1): مصدر الديدان الطفيلية المستخدمة في هذه الدراسة.

الديدان الطفيلية	مكان العزل	المصدر	الموقع في العائل
Fasciola hepatica	مجزرة كركوك	الأغنام	الكبد
Moniezia benedeni	مجزرة كركوك	الأبقار	الأمعاء الدقيقة
Dirofilaria immitis	كركوك	الكلاب	القلب

تحضير الأنزيم :

بعد عزل الديدان الطفيلية من الحيوانات الخمجة بعد ذبحها (الأغنام) أو قتلها (الكلاب)، ’غسلت في محلول ملحي متعادل Normal saline NaCl % (0.9) ومن ثم غُسلت في المحلول المنظم الترس HCl (Tris-HCl) بتركيز(50) ملي مولر وبرقم هيدروجيني pH (7.2) لإزالة ما علق بها من المواد التالفة ، ومن ثم ُقطعت الى أجزاء صغيرة بمقص وسحقت بعدها باستخدام المدقة والهاون الزجاجي (Mortar & Pestle)، وبواقع(1) غم لكل معاملة مع (5) مليلتر من محلول المنظم (Tris-HCl) بتركيز(50) ملي مولر وبرقم هيدروجيني pH (7.2) الحاوي على السكروز بتركيز(0.25) مولر والدايثايوثريتول Dithiothrietol بتركيز(0.1) ملي مولر ، وحُطمت باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية Ultrasonic disintegrator بتسليط 12000-16000 ذبذبة/ ثانية لمدة 30 ثانية لثلاث مرات وباستخدام حمام ثلجي تتخللها فترات توقف لمدة (20) ثانية لتحويلها الى كتلة متجانسة من المستخلص الخام (Crude Extract) Crude Homogenate بعد ذلك أُخذ المستخلص الخام وفُصل الراسب Pellet عن الراشح Supernatant بجهاز الطرد المركزي الفوقي المبرد بسرعة (10000) دورة / دقيقة لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة (4) مئوية ، تمت إذابة الراسب في

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

حجم من المحلول أعلاه مساوي الى حجم الراشح ، ولقد استخدم المستخلص الخام والراشح والراسب مصدرا للكشف عن فعالية الانزيم وحسب تصاميم التجارب.

الكشف عن فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي:

تم إتباع الطريقة الموصى بها من قبل[27] للكشف عن فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي المتضمنة حضن وسط التفاعل Assay mixture بحجم (0.4) مليلتر الحاوي على محلول خلات الصوديوم Sodium acetate وبتركيز (50) ملي مولر وبرقم هيدروجيني pH (5.0) والمادة الأساس بارانتروفنيل بايروفوسفيت P–nitro phenyl –pyrophosphate (PNPP) وبتركيز (5) ملي مولر في حمام مائي بدرجة حرارة (37) م لمدة (3) دقائق وقد بدأ التفاعل الانزيمي عند إضافة الانزيم (المستخلص الخام ،الراسب ، الراشح) وترك التفاعل عند درجة حرارة (37) م لمدة (30) دقيقة، بعد ذلك تم إيقاف التفاعل بإضافة (1) مليلتر من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بتركيز (0.1N) عياري، ومن ثم تم تقدير الامتصاصية باستخدام المطياف على الطول الموجي (410) نانوميتر، وتم التعبير عن فعالية الانزيم بأنها عدد نانومولات النيتروفينول nitrophenol الناتجة / وحدة الزمن (دقيقة) / ملغم بروتين باستخدام معامل الحيود المولاري (Molar (extinction coefficient $=14.3 \times 10^{-3}$ M^{-1} cm^{-1}

تم اتباع طريقة[28] لقياس تركيز البروتين في مستخلصات الطفيليات المستخدمة قيد الدراسة.

3. النتائج والمناقشـــــة (Results & Discussion)

تم تعيين مستوى فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في كل من المتجانس الخام homogenate والراسب pellet والراشح supernatant اذ لوحظ ان نشاط الأنزيم فعال في جميع هذه الطفيليات، وان أعلى فعالية للأنزيم كانت في المونيزيا بندني77% تلتها المتورقة الكبدية 73% ومن ثم الدايروفلاريا ايميتس60% الجدول (2) . ومما تجدر الإشارة إليه ان مستوى فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في جميع هذه الطفيليات يقع وبنسبة عالية في الجزء الراسب وهو الجزء الذي يحتوي على عضيات الخلايا وغشاء البلازما .

من الضروري دراسة هذا الانزيم بشيء من التفصيل بقصد تسليط الضوء على خواصه البيوكيميائية ودوره في الديدان الطفيلية لما لأنزيم الفوسفاتيز الحامضي الذي يعمل على تحلل المركبات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة من أهمية في تحرير

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

الفوسفات اللاعضوي بالإضافة الى تأثيره الفعال على تركيز أسترات الفوسفات في الخلايا [30].. لقد تمت دراسة انزيم الفوسفاتيز الحامضي بصورة مفصلة في جميع الأنظمة البيولوجية [32,31,2,1] وظهر وجود متناظرين للأنزيم على الأقل أحدهما مرتبط بالغشاء البلازمي والأخر في الجسيمات الحالة ، بالإضافة الى ذلك أشارت بعض الدراسات الى وجود انزيم الفوسفاتيز الحامضي على سطوح الأغشية الخارجية لبعض الأوالي الطفيلية مثل اللشمانيا [18,11] والتريبانوسوما [35,34,33] والديدان الطفيلية مثل هايمينوليبس ديمنيوتا [36] و المتورقة الكبدية [21] وفاشيولا جيجانتكا[23] .

تشير نتائج هذه الدراسة الى ان موقع انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية قيد الدراسة كالمتورقة الكبدية والمونيزيا بندني والدايروفلاريا أيميتس مشابه لمثيلاتها الموجودة في Schistosoma [37] وهايمينوليبس ديمنيوتا [36] والمونيزيا أكسبانسا [25] حيث يوجد في الغشاء السطحي والمادة البينية لهذه الخلايا . تشير الدراسات ان معظم الخلايا غير نفاذة لاسترات الفوسفات وكما يعتقد ان تغذية الطفيليات تتم من خلال وجبات الدم التي تحصل عليها من المضيف ، لذا فان الدور المحتمل المقترح لأنزيم الفوسفاتيز الحامضي في هذه الديدان الطفيلية هو تحلل أسترات الفوسفات اللاعضوي التي تعبر سطوح الأغشية الخارجية للطفيلي وتعاني من عمليات حياتية لتتحول فيما بعد الى مصادر الطاقة لأغراض النمو .

لقد تم دراسة تأثير الفترة الزمنية للتحضين (0–60) دقيقة المتاحة على حث الفعالية الانزيمية للفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية قيد الدراسة وأظهرت النتائج فعالية انزيمية خطية لمدة (30) دقيقة والتي سرعان ما تضاءلت تدريجياً بمرور الزمن وذلك ربما لاستنفاذ مادة الأساس. من المعلوم ان سرعة التفاعلات الانزيمية تزداد بارتفاع درجات الحرارة وذلك بسبب زيادة الطاقة الحركية لجزيئات المواد المشتركة في التفاعل مما يؤدي الى زيادة التصادمات بين جزيئات مواد التفاعل حتى يصل الانزيم الى أقصى فعالية له عند بلوغ درجة الحرارة المثلى لفعاليته، وعند زيادة درجة الحرارة عن هذا المستوى يبدأ الانزيم بفقد جزء من فعاليته مع ارتفاع درجة الحرارة الى ان يفقد الانزيم كامل فعاليته في درجات الحرارة العالية (أي حصول مسخ للأنزيم) .

وتشير النتائج المستحصلة من دراسة التفاعل الانزيمي للفوسفاتيز الحامضي وقياس نشاطها في درجات حرارية مختلفة (5–60) درجة مئوية ، ان مستوى الفعالية الانزيمية في جميع الديدان قيد الدراسة تزداد بارتفاع درجة الحرارة إذ بلغت

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

أقصى فعالية عند درجة الحرارة 37 مْ . كما دلت النتائج على ان الفعالية الانزيمية بدأت بالانخفاض مع ارتفاع درجة الحرارة حيث فقدت كامل فعاليتها عند درجة الحرارة 55–60 درجة مئوية كما في الاشكال(3,2,1).

بتطبيق الظروف المثالية المدروسة أنفاً تم حساب نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي لعدد من تراكيز المادة الأساس (20–0.125) ملي مولر وتم الحصول على ثابت ميكليس منتن (K_m) برسم لينوفر– بورك Lineweaver –Burk لسرعة التفاعل 1/ V مقابل تركيز المادة الأساس 1/S ، وقد دلت النتائج ان قيمة K_m للبارونيتروفنيل فوسفيت مساوي لـ (0.26) ملي مولر في المتورقة الكبدية (4 a) , 0.33 ملي مولر في المونيزيا بندني (4 b) , 0.5 ملي مولر في الدايروفلاريا ايميتس شكل (4 c) .

كما تم اختبار تأثير الرقم الهيدروجيني في مستوى فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية قيد الدراسة عند قيم الرقم الهيدروجيني (3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.8,6.5,6.0) لتعيين الرقم الهيدروجيني الأمثل للفعالية وقد بينت النتائج الموضحة ان الرقم الهيدروجيني الأمثل لفعالية الانزيم مساوي لـ 5.5 في المتورقة الكبدية الشكل (5) و 4.5 في المونيزيا بندني الشكل (6) و 5.0 في الدايروفلاريا ايميتس الشكل (7) .

لقد درس تأثير عدة تراكيز من ترترات الصوديوم sodium tartrate في نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية قيد الدراسة ، حيث تم حضن عينات معلومة من تحضيرات الانزيم بوجود الترترات لمدة 10 دقائق وبعدها تم التحري عن فعالية الانزيم . يلاحظ من الجدول (3) ان وجود الترترات حتى بالتراكيز العالية لم يؤدي الى حصول تثبيط معنوي في فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في المتورقة الكبدية والمونيزيا بندني والدايروفلاريا ايميتس .

على الرغم من انه لم يتم تنقية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الدراسة الحالية من المتورقة الكبدية والمونيزيا بندني والدايروفلاريا أيميتس ، إلا انه يمكن إستخدام النتائج التي تم الحصول عليها كدليل على مستويات الفعالية الانزيمية في خلايا هذه الديدان الطفيلية . مع ذلك تعد هذه الدراسة الحالية أول مسح عام للفوسفاتيز الحامضي في المونيزيا بندني . لقد أشارت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة الى وجود إختلاف في الفعالية الانزيمية بين هذه الديدان الطفيلية حيث تكاد ان تكون الفعالية الانزيمية ذات علاقة بنوع المضيف وموطن معيشة الطفيلي وكما هو موضح في الجدول (2) ان الفعالية الانزيمية للفوسفاتيز الحامضي في الدودة الخيطية دايروفلاريا ايميتس المتطفلة على الكلاب أقل مما هي عليه في الدودة الشريطية مونيزيا بندني والدودة الورقية المتورقة الكبدية المتطفلة على الأغنام والأبقار.

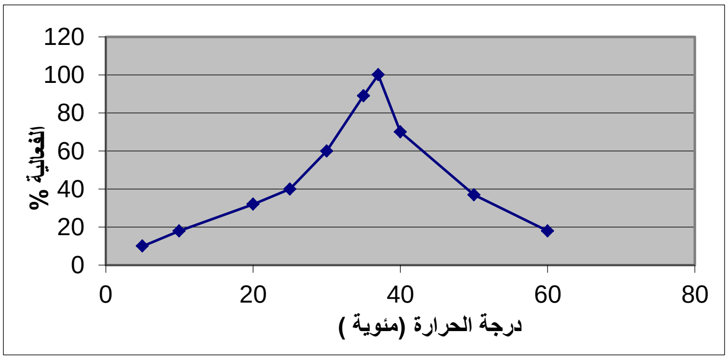
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

وقد سبق ان تم ملاحظة مثل هذا الاختلاف في عدد من الديدان الطفيلية[26,25,22,21] وقد يكون الأفتراض المحتمل لهذا الاختلاف ناجماً عن الظروف البيئية للطفيليات فضلاً عن ان فسلجة الديدان الطفيلية قد تختلف من كائن الى أخر الا ان الجواب المقنع يمكن الحصول عليه من تنقية الانزيم ودراسة خواصه بدقة وعلى المستوى الجزيئي من خلال إستخدام تقنيات الهجرة الكهربائية وكما يظهر من نتائج هذه الدراسة ان هناك إختلاف في الرقم الهيدروجيني الأمثل لفعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في هذه الديدان الطفيلية ، حيث تكاد ان تكون درجة الرقم الهيدروجيني مختلفة في الأنواع التي تعيش في بيئات مختلفة وقد سبق ان أُكتشف الأمر نفسه في ديدان طفيلية اخرى.[39,38,25,22,20,19] ومن المحتمل ان تكون الدرجة الحرارية المثلى لفعالية الفوسفاتيز الحامضي بمثابة تكييف الطفيلي للتبدل الذي قد يحصل في درجة الحرارة اثناء تحوله من الطور اليرقي الى الطور البالغ في المضيف ذات الحرارة الجسدية الثابتة .

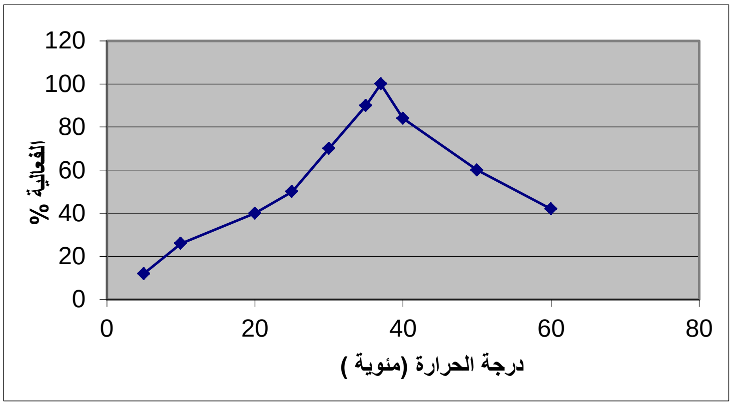
جدول (2) : فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في خلايا الديدان الطفيلية.

الديدان الطفيلية	*الفعالية الانزيمية	% الفعالية الانزيمية	
		الراسب	الراشح
Fasciola hepatica	588 ± 5	73	27
Moniezia benedeni	110±4	77	23
Dirofilaria immitis	46 ± 3	60	40

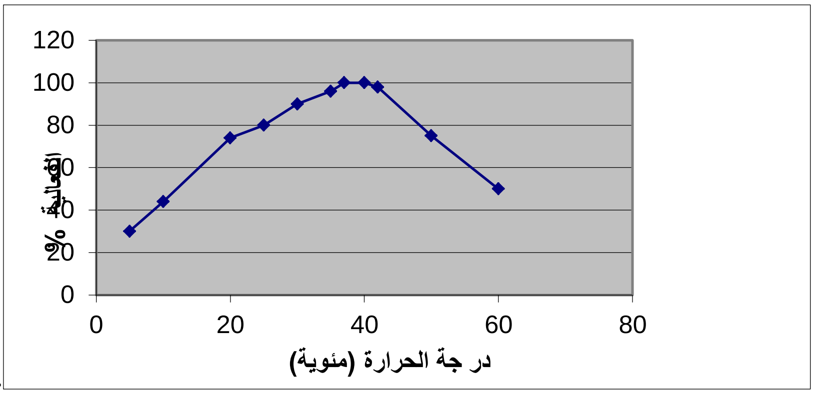
*** فعالية الانزيم تعني عدد نانومولات النيتروفنيل الناتجة من اختزال البارانيتروفنيل فوسفيت / دقيقة / ملغم بروتين من المستخلص الخام.**



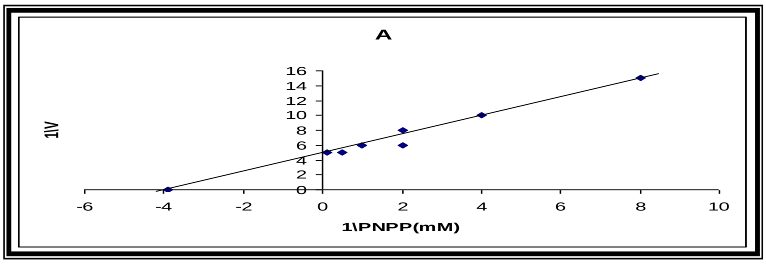
شكل (1): تأثير درجة الحرارة على فعالية أنزيم الفوسفاتيز الحامضي في المتورقة الكبدية F. hepatica

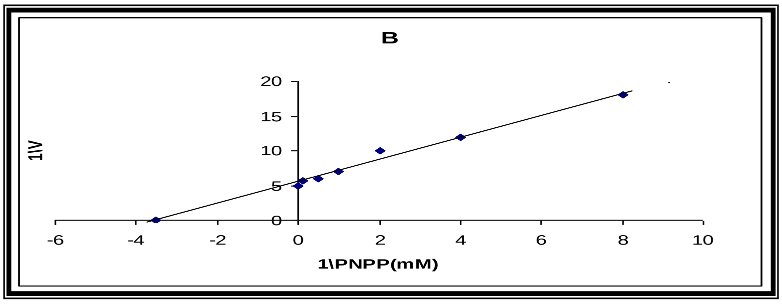


شكل (2): تأثير درجة الحرارة على فعالية أنزيم الفوسفاتيز الحامضي في المونيزيا بندني M. benedeni

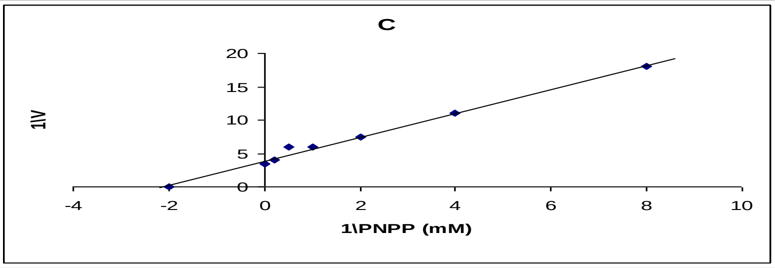


شكل(3): تأثير درجة الحرارة على فعالية أنزيم الفوسفاتيز الحامضي في الدايروفلاريا أيميتس D. immitis

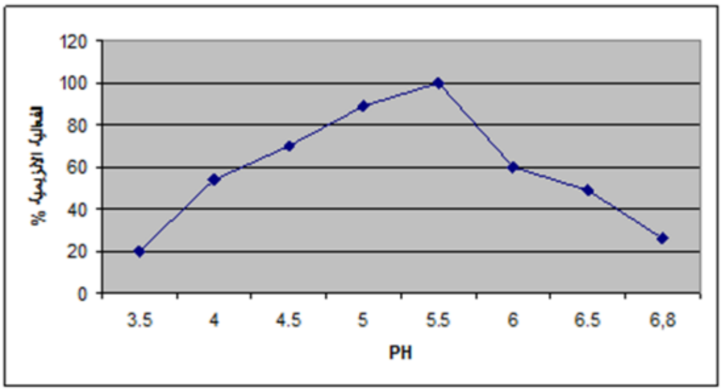




Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

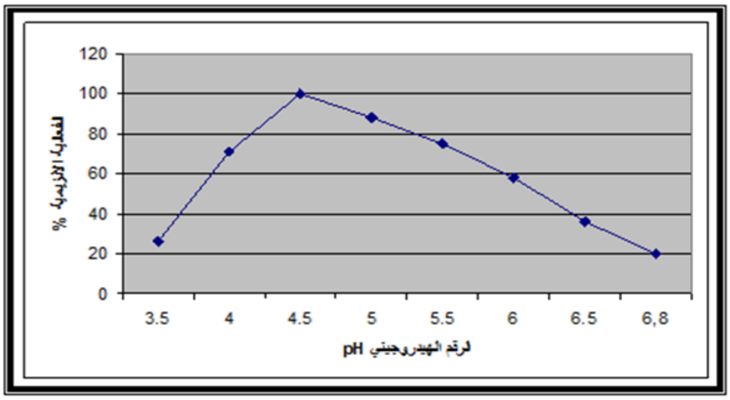


شكل(4): مخطط لينوفر بيرك لانزيم الفوسفاتيز الحامضي في المتورقة الكبدية (A) والمونيزيا بندني (B) والدايروفلاريا ايمتس (C) وسط التفاعل يحتوي على المحلول المنظم خلات الصوديوم بتركيز (50mM) وبرقم هيدروجيني pH=5.5 (المتورقة الكبدية) و pH=4.5 (المونيزيا) pH=5 (الدايروفلاريا) والمادة الاساس بارانايترو فنيل فوسفات (0.125-20mM).

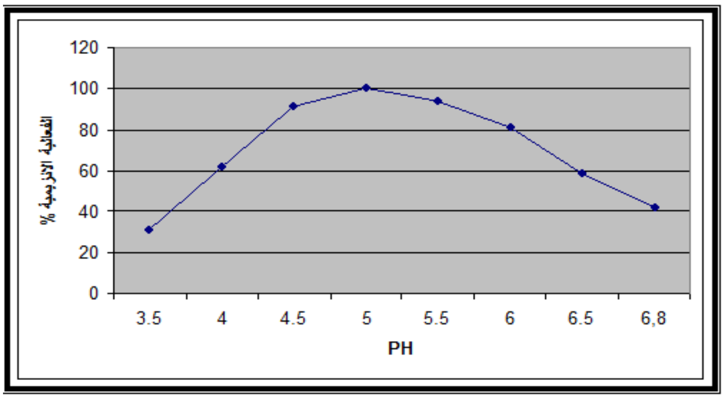


شكل (5): تأثير الرقم الهيدروجيني (pH) على نشاط انزيم الفوسفاتيـز الحامضي في المتورقة الكبدية F. hepatica والمحلول المنظم المستخدم هو خلات الصوديوم بتركيز 50 ملي مولر .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849



شكل (6): تأثير الرقم الهيدروجيني(pH) على نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي في المونيزيا بندني M. benedeni والمحلول المنظم المستخدم هو خلات الصوديوم بتركيز 50 ملي مولر .



شكل (7): تأثير الرقم الهيدروجيني (pH) على نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الدايروفلاريا ايميتس D. immitis والمحلول المنظم المستخدم هو خلات الصوديوم بتركيز 50 ملي مولر .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

جدول(3): تأثير ترترات الصوديوم على نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي في الديدان الطفيلية.

تركيز ترترات الصوديوم mM (ملي مولر)	% التثبيط		
	Fasciola hepatica	Moniezia benedeni	Dirofilaria immitis
0.01	NI	NI	NI
0.1	NI	NI	NI
1	1	NI	1
10	2	2	3

No Inhibition = NI

المصادر (References)

[1] A.Honig;L.Rieger;M.Kapp;M.Krockenberge;M.Eck;J.Dietl and U.Kammerer.(2006) *Increased tartrate –resistant Acid phosphatase (TRAP) expression in malignant breast, ovarian and melanoma tissue* :an investigational study. J. BMC .Canc.6,pp.(199-215).

[2] S.Sato and H.Kojima.(2004) Leukocyte acid phosphatase. J. Nippon- Rinsho . 62 (12), pp.(777 – 780) .

[3] L .Guimaraes ; H.Terenzi ; J.Jorge ; F.Leone and M.Polizeli . (2004), *Characterization and properties of acid Phosphatases with phytase activity produced by Aspergillus caespitosus* .J. Biotechnol. Appl .Biochem. 40 (pt 2) pp.(201 – 207) .

[4] H .Hassan and G .Coombs.(1986), *Purine metabolizing enzyme in Entamoeba histolytica* . J. Mol . Biochem . Parasitol. .19pp.(19 – 25) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

[5] M .Aquirre–Garcia ; M.Anava –Ruiz and P.Talamas–Rohana .(2003) ***Membrane–bound acid phosphatase (MA P)from Entamoeba histolytica has phospho tyrosine phosphatase activity and disrupts the actin cytoskeleton of host cells*** .J.Parasitol . 126 (3),pp.(195 – 202) .

[6]H.Hassan and G.Coombs.(1987)***Purine salvage b Acanthamoeb castellanii.***Int.J.Parasitol . 7: pp.(1267 – 1272).

[7] R .Glew; M .Czuczman ; W.Diven; R.Berens; M.Pope and D.Katsoulis.(1982)Partial ***Purification and Characterizationof particulate acid phosphatase of Leishmania donovani promastigote.***J.Com. Biochem. Physiol.72 B (4), ,pp.(581–590).

[8] D. ,Mallinson; H. ,Hassan; L. ,Tetley and G. ,Coombs (1988).***Acid phosphatase activities of Leishmania major promastigotes*** .J. Med . Sci .Res. 16: 521 – 522 .

[9] P.,Bates;I .,Hermes and D.,Dwyer.(1990).***Golgi– mediated post–Translational processing of secretory acid phosphatase by Leishmania donovani promastigotes.*** J.Mole . Biochem. 39 : 247 – 256.

[10] N.,Garcia ; K. ,Figarella; A.,Mendoza– Leon and A. ,Ponte– Sucre (2000).***Changes in the infectivity, pyruvate kinase activity Activity*** , ***acid phosphatase activity and P – Glycoprotein expression in glibenclamide– resistant Leishmania mexicana*** .J.Parasitol . 86 (11) : 899 – 904 .

[11] A.,Shakarian and D.,Dwyer (2000).*Structurally conserved soluble acid phosphatases* are synthesized &released by Leishmania major promastigotes.J.Exp.Parasito.95(2):79–84.

[12] M.,Aquirre- Garcia ; A.,Escalona–Montano; N.,Bakarlara; A.,Perez- Torres; L. , Gutierrez -Kobeh and I.,Becker.(2006). Leishmania major: detection of membrane – bound protein tyrosine phosphatase.J.Parasitol .32(pt 5):641- 649.

[13] M .,Gottieb and D.,Dwyer.(1982) . ***Identification and partial characterization of anextra cellular acid phosphatase activity of Leishmania donovani promastigotes***.J. Mole Cell .Biol. 2(1) : 76 – 81 .

[14] A.,Saha ; S.,Das ; R., Glew and M.,Gottlieb.(1985).***Resistance of Leishmanial phosphatases to inactivation by oxygen metabolites***. J.Clin.Micro, 22 (3): 329 – 332

[15] S.,Das; A.,Saha; A.,Remaley; R..Glew;J.Dowling; M.,Kajiyoshiand M.,Gottlieb, (1986).***Hydrolysis of phospho proteins and inositol phosphates by cell surface phosphatase of Leishmania donovani***.J.Mol.Biochem.Parasitol.20:1 43-153.

[16] R .,Glew; A. ,Saha; S.Das and A.,Remaley.(1988).***Biochemistry of the Leishmania species*** .J. Microbiol .Rev. 52(4) :412 – 432.

[17] J.Avila;D.,Hernandez-Morales;M.,Polegre and J.,Convit.(1989).***on the acid phosphatase isoenzyme existing in American Leishmania promastigotes*** . J . Comp. Biochem. Physiol. B. 94(2) : 335 – 342 .

[18] Hassan , H.F.(2006) .***membranels surface acid phosphatase an essential requirment for the survival of Leishmania macrophage***.J.Kirkuk.Univ.,1,40-49.

[19] A.,Siddiqui and ,W.,Nizami.(1982). ***Kinetic and electrophoretics studies on acid and alkaline phosphatase of the metacercaria of Clinostomum complanatum***.J. Helminthol. 56 : 17 – 22 .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(240-256)
ISSN 1992 – 0849

[20] S.,Gupta and , N., Sinha .(1981). ***Phosphatase activity in Echinochasmus reniovorus (trematoda)*** .Indian.J.Helminthol . 33 : 52 – 57 .

[21] بكر ، ميديا محمد وحسن ، حسين فاضل(2011) . ***ايض البريميدين في بعض الديدان الطفيلية*** . مجلة جامعة كركوك. 6, 803-815.

[22] I.,Cesari; D., Ballen; T.,perrone ;, O.,Oriol; J. ,Hoebeke;D., Bout.(2000).***Enzyme activities in Schistosoma mansoni soluble egg antigen***.J.Parasitol .86(5) :1137 – 1140 .

[23] S., Jawzaly (1992).***Purine and pyrimidine metabolism in parasitic helminthes*** . MSC. thesis . Salahaddin University .

[24] D.,Erasmus (1957). ***Studies on phosphatase system of cestodes I*** . Studies on Taenia pisiformis (cysticercus and adult) . J. Parasitol . 47(1-2) : 70 – 80 .

[25] عبد المجيد ،ندى فاضل.(1995). ***دراسة مقارنة لأنزيم الفوسفاتيز الحامضي في بعض الأوالي والديدان الطفيلية*** . رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت .

[26] M.,Azzaria ; W.,Henzen and J.,Mc Ghee.(1994) . ***Acarboxyl Esterase from the parasitic nematode Ascaris sum homologous to the intestinal – specific ges -1 esterase of Canorhabditis elegans*** . J. Com . Biochem. Physiol .109 B. (2 / 3) : 225-236.

[27] H.,Hassan and G. Coombs. (1987) .***Phosphomonoesterases of Leishmania mexicana***. J. Mol. Biochem. Parasitol. 23 :285 – 296 .

[28] O.,Lowrey; N.,Rosebrough; A.,farr and R. Randall .(1951).***Protien measurement with the folin reagent*** . J . Biol . Chem .193 : 265 – 275 .

[29] M ., Chatter and R . Shinde.(2005) ." *Text book of medical Biochemistry*" . Jaypee Borthers Medical Publishers . New delhi .

[30] M.,Bishop;E., Fody and H .,Schoeff .(2005)." *Clinical chemistry* " :Principles, procedures , correlations , 5th ed . Lippincott Williams & Wilkins Company .U.S.A.: 253 – 261.

[31] E.,Salminen;M . Ala–Houhala; J.,Korpela; M.,Varpula ; S.,Titinen ;J.,Halleen and K.,Vananen (2005). ***Serum tartrate– resistant acid phosphatase 5b (TRAcp b) as amarker of skeletal changes in prostate cancer*** . J. Acta. Oncol . 44(7) : 742 – 747.

[32] P.,Vihko ; I.,Quintero; A.,Ronka; A .,Herrala; P., Jantti; K., Porvari; Y.,Lindqvist; H.,Kaija ; A., Pulka and,J., Vuoristo. (2005).***Prostaticacid phosphatase (PAcP) is PI (3) P–phosphatase and its inactivation lead to chang of cell polarity and invasive prostate cancer***. J.Clin. Chem.26 : 1544 – 1547.

[33] M . Letelier; Y .,Repetto ;J ., Aldunate and A .,Morello.(1985) .***Acid and alkaline phosphatase activity in Trypnosoma cruzi epimastigote*** .J.Comp.Biochem. Physiol .81B (1) : 47 – 51.

[34] M .,Mc Conville ; K.,Mullin; S., Ilgoutz and , R., Teasdale.(2002). ***Secretory pathway of trypanosomatid parasites*** .J. Microbiol .Mol .Biol . Rev. 66 (1) :122 – 154

[35] M.,Engstler; F.,Weise; K.,Bopp; C.,Grunfelder; M.,Gunzel; N.,Heddergott and P.,overath (2005).***The membrane bound histidine acid phosphatase TbMBAP1is essential for endoc–ytosis and membrane recycling in Trypanosoma brucei***.J.Cell Sci.118:2105 – 2118 .

[36] P.,Pappas (1981).Hymenolepis diminuta : partial characterization of membrane bound nucleotidase activities in the isolatedbrush borde membrane.J.Exp.Parasitol.51:209–219.

[37] B.,Nechay; G.,Hillman and M.,Dotson.(1980).***Properties and drug Sensitivity of adenosine triphosphatase from Schistosoma mansoni*** . J. Parasitol . 66 : 596 – 600

[38] W.,Mero;S., Al–Zako and S., Zakaria.(1989).***Comparative studieson some enzyme activity in Fasciola hepatica ,Fasciola gigantica and bovine liver*** . J. Edu .Sci . 8 : 68 – 74 .

[39] S., Lee; K.,Song;J., Liu; M.,Kim; B.,park; K.,Cho and A.,Hasegawa.(2004). ***Comparison of the acid phosphatase staining and Polymerase chain reaction for detection of Dirofilaria repens Infection in dogs in Korea***.J.Vet.Med.Sci.66(9):1087–1090 .

المؤلف

سعدية شهاب حمد: بكالوريوس جامعة بغداد كلية ابن الهيثم 1992 ماجستير جامعة تكريت 1999 دكتوراه 2007 حصلت على مرتبة الاستاذ المساعد 2011 والان تدريسية في قسم علوم الحياة / كلية العلوم جامعة كركوك لدي خدمة 22 سنة في وزارة التعليم العالي وعدد البحوث في مجال التخصص 12 بحث الاهتمامات الاخرى المطالعة.