جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم الكيمياء

تقييم إنزيم داي أمين أوكسيديز لدى مرضى الصداع النصفي ودراسة بعض العوامل المؤثرة عليه مع عزله من مصل الدم والبازلاء الخضراء

ندى ادريس عبدالرزاق موسى الحديدي

رسالة ماجستير

الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور سكينة حسين رشيد علي

1446هـ
2025م

الخلاصة

تضمنت الدراسة جزئين أساسيين وهما كلاتي:

الجزء الاول:

تضـمن الجزء الاول قياس تركيز إنزيم داي أمين أوكسـيديز، بالاضـافة الى قياس مسـتويات بعض المتغيرات الكيموحيوية في مرضى الصداع النصفي، وكذلك مصل دم مجموعة السيطرة، إذ شملت الدراسة قياس (الكوليسـتيرول الكلي، والكليسـيريدات الثلاثية، وكوليسـتيرول البروتين الدهني عالي الكثافة، وإنزيم الانين ترانس أمينيز، وإنزيم إســـبارتيت ترانس أمينيز، والمغنيســـيوم، وفيتـامين B_{12}، والكلوتـاثايون، والسيرلوبلازمين وإنزيم إسيتايل كولين إستريز)، فضـلاً عن ذلك فقد تم دراسة تأثير عامل الجنس، العمر، وعدد نوبات الصـداع والعامل الوراثي على تركيز إنزيم داي أمين أوكسـيديز. وتم إجراء هذه الدراسـة في مدينة الموصل للفترة من تشرين الأول 2023 الى نهاية أذار سنة 2024 ، إذ تضمنت (122) شخصاً، وتم تقسيمهم إلى مجموعتين: الأولى تضمنت (62) مريضاً بالصداع النصفي و من كلا الجنسين تراوحت أعمارهم (9–63) سنة، أما المجموعة الثانية فتضـمنت (60) شـخصـاً من فئة السيطرة ومن كلا الجنسين أيضاً وتراوحت أعمارهم بين (11–60) سنة.

أشـارت النتائج أن هناك إنخفاضـا معنويا في تركيز إنزيم داي أمين أوكسـيديز بمجموعة مرضـى الصـداع النصـفي مقارنةً مع مجموعة السـيطرة ، أظهرت النتائج حصـول إنخفاض معنوي في تركيز إنزيم داي أمين أوكسيديز عند الاناث مقارنةً بالذكور في كلا مجموعتي المرضـى والسيطرة كما أظهرت النتائج وجود إرتفاعا معنويا في تركيز إنزيم داي أمين أوكســـيديز مع التقدم بالعمر، ألا أنه لا يوجد فرقا معنويا كبيراً بين الفئات العمرية المدروســة، وعند دراســة تأثير مؤشــر كتلة الجســم على تركيز إنزيم داي أمين أوكسـيديز إذ تبين بأنه لا يوجد فروق معنوية في تركيز إنزيم داي أمين أوكسـيديز بين الفئات المدروسـة، كما بينت النتائج إنخفاض في تركيز إنزيم DAO عند مرضـى الصـداع النصـفي الذين لديهم تاريخ عائلي للمرض وكلما زادت عدد النوبات خلال الشـــهر الواحد زاد معدل الإنخفاض في تركيز الإنزيم. وكذلك تم قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية التي من المحتمل أن يكون لها علاقة بالمرض، أظهرت النتائج وجود أرتفاعاً معنوياً في تركيز الكليسيريدات الثلاثية بمجموعة المرضى مقارنةً مع مجموعة السيطرة، الا أنه

كان هناك إنخفاضاً معنوياً في تركيز كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة والمغنيسيوم وفيتامين B12 والكلوتاثايون وإنزيم اسيتايل كولين إستريز في مجموعة المرضى مقارنةً مع السيطرة.

الجزء الثاني:

تضمن الجزء التقني والذي شمل على عزل إنزيم داي أمين أوكسيديز من مصل دم ذكر سليم ومن مستخلص البازلاء الخضراء وتنقيته جزئياً، وكذلك تعيين وزنه الجزيئي التقريبي باستخدام عدة تقانات مختلفة، إذ تم فصل المركبات البروتينية لمحلول راسب كبريتات الأمونيوم بنسبة تشبع 65% وبأستخدام تقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي سيفادكس(G-100). وقد حصلنا على حزمتين واضحتين، إذ تم أستبعاد الحزمة A ، لأن تركيز إنزيم داي أمين أوكسيديز فيها قليلة جدا مقارنة بالحزمة B التي تم الأعتماد عليها ، إذ بلغ التركيز النوعي لإنزيم داي أمين أوكسيديز في هذه الحزمة (61.38 ng/ml و78.34ng/ml) وإن عدد مرات التنقية هي (21 و 5) ونسبة الأستعادة هي (33% 56%) لكل من المصل ومستخلص البازلاء على التوالي. كذلك تم أستخدام تقنية الترشيح الهلامي بأستخدام الهلام من نوع G100 لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي لإنزيم داي أمين أوكسيديز التي بينت بأن الإنزيم ذو وزن جزيئي 112486.4 دالتون و 119646.5 دالتون تقريبا لكل من المصل ومستخلص البازلاء على التوالي، أما عند أستخدام دواء Zolmitriptan و دواء الصداع الشائع الأستعمال–البانادول(Acetaminophen) فقد وجد إن الاول يمتلك القابلية الاكبر على زيادة تركيز إنزيم داي أمين أوكسيديز من الثاني في حين إن خلات الرصاص يمتلك القابلية الاكبر في خفض تركيز الإنزيم مقارنة مع كلوريد البوتاسيوم الذي يعد مثبطا أقل حدة لتركيز إنزيم داي أمين أوكسيديز المعزول والمنقى من المصل ومستخلص البازلاء على حد سواء وبإختلافات طفيفة في النسب.

Abstract

The study included two main parts, they are as follows:

The first part:

The first part involved measuring the level of the enzyme diamine oxidase, along with assessing the levels of certain biochemical parameters in the serum of control individuals as well as migraine patients. The study included the measurement (total cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol, alanine transaminase, aspartate transaminase, magnesium, vitamin B_{12}, glutathione, ceruloplasmin, and acetylcholinesterase. Additionally, the impact of factors such as sex, age, the number of migraine attacks, and genetic factors on the level of diamine oxidase was studied.

This study was conducted in the city of Mosul from October 2023 to March 2024, involving (122) individuals divided into two groups: The first group consisted of (62) migraine patients of both sexes, aged between (9 - 63) years. The second group included (60) control individuals of both sexes, also aged between (11 - 60) years.

The results indicated a significant decrease in the level of diamine oxidase in the migraine group compared to the control group. the results showed a significant reduction in diamine oxidase level in females compared to males in both the patient and control groups. The findings also revealed a significant increase in enzyme level with advancing age, however, there was no significant difference among the age groups studied .Regarding the impact of BMI on the enzyme's level, there were no significant differences in diamine oxidase level among the different weight categories. The results also showed a decrease in the level of the DAO enzyme in migraine patients who have a family history of the disease. The greater the number of attacks during one month, the greater the rate of decrease in the enzyme level. Additionally, some biochemical parameters that may be related to the disease were measured. The results showed a significant increase in the levels of triglycerides in the patients group compared to the control group. Conversely, there was a significant decrease in the levels of high-density lipoprotein cholesterol, magnesium, vitamin B_{12}, glutathione and the enzyme acetylcholinesterase in the patient group compared to the control individuals.

The second part:

Included the technical part, which involved isolating diamine oxidase from the serum of a control male and from a pea extract, as well as partially purifying it and determining its approximate molecular weight using various techniques, including the separation of protein compounds from an ammonium sulfate precipitate at 65% saturation, employing gel filtration chromatography using SephadexG-100.

We obtained two distinct fractions, with fraction A being excluded due to its very low diamine oxidase level compared to fraction B, which was used for further analysis. The specific levels of diamine oxidase in this fraction were (61.38 ng/ml and 78.34 ng/ml), with purification factors of (21 times and 5 times), and recovery rates of (33% and 56%) for the serum and pea extract, respectively.

Gel filtration chromatography using G-100 gel was also employed to estimate the approximate molecular weight of diamine oxidase, revealing that the enzyme has a molecular weight of approximately 112486.4 Daltons and 119646.5 Daltons for the serum and pea extract, respectively. When using the medication Zolmitriptan and the commonly used headache medication Paracetamol, it was found that Zolmitriptan has a greater ability to enhance the level of diamine oxidase. In contrast, Lead acetate was found to significantly reduce the enzyme's level, while potassium Potassium chloride acted as a milder inhibitor of the isolated and purified diamine oxidase from both serum and pea extract, with slight variations in the inhibition rates.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
Mosul University / College of Science
Department of Chemistry

Evaluation of Diamine Oxidase in Migraine Patients and Study of Some Factors Affecting It, With Its Isolation from Blood Serum and Green Peas

Nada Idrees Abdulrazzaq Mousa Al-Hudeidi

M.Sc. Thesis

Chemistry / Biochemistry

Supervised by

Assistant Professor Dr. Sukayna Hussain Rashed Ali

1446 A.H. **2025 A.D.**