



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

عزل وتنقية جزئية لأنزيم السيرين بروتيز وتقييم علاقته ببعض
المتغيرات الكيموحيوية في مرضى الفشل الكلوي في محافظة نينوى

عثمان خالد مجيد الصواف

رسالة ماجستير

الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف

المدرس الدكتور محمود أحمد محمد فخري

الخلاصة

تضمنت دراسة عزل وتنقية جزئية لأنزيم سيرين بروتيز في مصل دم مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة، ودراسة بعض المتغيرات الحياتية، إذ أجريت الدراسة على 160 عينة تراوحت أعمارهم بين (32-69) سنة مقسمة على 80 عينة من مرضى الفشل الكلوي، و(80) عينة من مجموعة السيطرة إذ قسمت الدراسة على جزأين:

الجزء الأول: تضمن تقدير فعالية أنزيم سيرين بروتيز في مصل دم أشخاص أصحاء ظاهريا مع مصابين بالفشل الكلوي، وأثبت النتائج أن القيمة الطبيعي لفعالية أنزيم سيرين بروتيز هو $(173.78 \pm 1.49 \text{ U/L})$ في مصل دم مجموعة السيطرة، في حين بلغ قيمة فعالية أنزيم سيرين بروتيز في مصل دم مرضى الفشل الكلوي $(274.38 \pm 1.55 \text{ U/L})$.

أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية عالية جدا في فعالية أنزيم سيرين بروتيز لدى مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة، كما لا يتأثر الأنزيم بالجنس والتدخين في حين يتأثر بالعمر ومؤشر كتلة الجسم في كل من مجموعة الفشل الكلوي ومجموعة السيطرة.

كما أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية عالية في فعالية كل من أنزيم لأكثيت ديهيدروجينيز وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي وأنزيم المايلوبيروكسيديز وأنزيم البيروكسيديز وأنزيم ناقل أمين الاسبارتيت وأنزيم ناقل أمين الالانين في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة، وانخفاض معنوي عالٍ جدا في فعالية أنزيم الكتاليز وأنزيم الأريل استيريز في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة.

بيّنت النتائج وجود انخفاض معنوي في تركيز كل من الكالسيوم والحديد والنحاس وانخفاض معنوي في تركيز البوتاسيوم في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة، وزيادة معنوية عالية جدا في تركيز الفوسفات والزنك والصوديوم في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة.

أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين والكليسيديدات الثلاثية والكوليستيرول وكوليستيرول البروتين الدهني الواطئ الكثافة وكوليستيرول البروتين الدهني الواطئ الكثافة جدا في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة، وزيادة معنوية في تركيز كل من اليوريا والكرياتينين والكلوكوز وكوليستيرول البروتين الدهني العالٍ الكثافة وزيادة معنوية في تركيز كل من الكلوبيولين وحامض اليوريك في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة.

كما تبين وجود علاقة ارتباط طردية وقيم معنوية مختلفة بين فعالية أنزيم سيرين بروتيز وكل من تركيز حامض اليوريك والكوليستيرول البروتين الدهني العالٍ الكثافة والكلوكوز والمغنيسيوم والفوسفات والبوتاسيوم وفعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي، وعلاقة ارتباط عكسية وقيم معنوية مختلفة بين فعالية أنزيم سيرين بروتيز وتركيز البروتين الكلي والكرياتينين في مجموعة السيطرة. بينما لوحظ وجود علاقة ارتباط طردية معنوية بين فعالية أنزيم سيرين بروتيز مع تركيز الكوليستيرول البروتين الدهني العالٍ الكثافة

وفعالية أنزيم ناقل أمين الاسبارتيت ، وعلاقة ارتباط عكسية معنوية بين فعالية أنزيم سيرين بروتيز وتركيز الحديد والكالسيوم في مجموعة مرضى الفشل الكلوي.

الجزء الثاني: تضمن عزل أنزيم سيرين بروتيز وتنقيته من بلازما الدم لشخص سليم ظاهرياً باستعمال التقنيات الحياتية المختلفة والتي تضمنت الترسيب بكبريتات الأمونيوم بتشبع (75%) والفرز الغشائي وكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام هلام سفاديكس (G-75) وتقنية الهجرة الكهربائية الحاوية على SDS (SDS-PAGE)، وقد وجدت ثلاث حزم بروتينية للمحلول المائي لراسب كبريتات الامونيوم بتشبع (75%) من بلازما الدم بتقنية الترشيح الهلامي، وتبين أن الحزمة البروتينية الأولى تمتلك فعالية لأنزيم سيرين بروتيز وبفعالية نوعية (0.9485 U/mg) وعدد مرات تنقية (44) .

كما حدّد الوزن الجزيئي التقريبي لأنزيم سيرين بروتيز المعزول والمنقى جزئياً من بلازما الدم وكان بحدود (82603 ± 1227 Da) باستخدام تقنية الترشيح الهلامي، و (80600 ± 1300 Da) باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية الحاوية على SDS .

Summary

Thesis included isolating and studying activity of serum serine protease in kidney failure patients compared to control group, also studying some biochemical variables. The study was conducted on 160 samples whose ages ranged between (32-69) years, divided into 80 samples for kidney failure patients, and (80 sample of control group, So as study was divided into two parts: -

The first part: It includes evaluation activity of serine protease in apparently healthy people and those suffering from kidney failure. The results showed that serine protease activity was (173.78 ± 1.49 U/L) in control group, While the activity of serine protease for patients with kidney failure reached (274.38 ± 1.55 U/L) for both genders.

The results showed a very high significant increament in activity of serine protease in kidney failure patients compared to control group. The enzyme is not affected by gender and smoking , while it is affected by age and body mass index in both kidney failure group and control group.

The results also showed a very high significant increase in activity of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, myeloperoxidase, peroxidase, and aspartate aminotransferase enzymes. A high significant increase in alanine aminotransferase enzyme in patients with kidney failure compared to control group, and a very high significant decrease in activity of catalase, and aryl esterase in kidney failure patients compared to control group.

The results showed a very significant decrease in concentration of calcium, iron, and copper, and a significant decrease in concentration of potassium concentration in patients with kidney failure compared to control group, and a very significant increase in concentration of phosphate, zinc, and sodium in patients with kidney failure compared to control group.

The results showed a very significant decrease in concentration of total protein, albumin, triglycerides, cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, and very low-density lipoprotein cholesterol in patients with kidney failure compared to control group, and a very significant increase in concentration of urea, creatinine, glucose, and lipoprotein cholesterol. High density lipoprotein cholesterol and a significant increase in concentration of both globulin and uric

Summary

acid in patients with kidney failure compared to control group. It was also shown that there is a direct correlation with different significant values between activity of serine protease and concentration of uric acid, high-density lipoprotein cholesterol, glucose, magnesium, phosphate potassium and activity of alkaline phosphatase, also an inverse correlation with different significant values between activity of serine protease and concentration of total protein and creatinine in control group.

While it was observed that there was a significant direct correlation between activity of serine protease with concentration of high-density lipoprotein cholesterol and activity of aspartate aminotransferase, and a significant inverse correlation between activity of serine protease and concentration of iron and calcium in group of kidney failure patients.

The second part: It included isolating serine protease and purifying it from serum of an apparently healthy person using various biochemical techniques, which included precipitation with ammonium sulfate (75%), Dialysis, gel filtration chromatography using Sephadex gel (G-75), and Electrophoresis technique containing SDS (SDS- PAGE).

Three protein bands were found in aqueous solution of ammonium sulfate precipitate, Saturation (75%) of plasma using gel filtration technique. It was found that first protein band has activity of serine protease, with a specific activity (0.9485 U/mg) and a number of purification times (44).

The approximate molecular weight of the serine protease isolated and partially purified from blood plasma was determined to be approximately (82603 ± 1227 Da) using the gel filtration technique, and (80600 ± 1300 Da) using electro migration technique containing SDS.

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



**Isolation and Partial Purification of Serine Protease
and Evaluation of Its Relationship with Some
Biochemical Variables In Patients with Renal
Failure In Nineveh Governorate**

Othman Khalid Mjied Al-Sawaf

M.Sc. Thesis

Chemistry /Biochemistry

Supervised by

Lect. Dr. Mahmoud Ahmad Mohammad Fakhri

1446 A.H.

2024 A.D.