جامعة الموصل

كلية العلوم

دراسة كيموحيوية لإنزيم بيتا-هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز في مرضى الثلاسيميا الكبرى (نوع بيتا)

هبه نشوان سامي مصطفى العبيدي

رسالة ماجستير

علوم الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف

المدرس الدكتور محمود أَحمد محمد فخري

1443 هـ

2022 م

الخلاصة

تضمن البحث دراسة كيموحيوية لإنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز BHBDH، وبعض المتغيرات الحياتية في مصل الدم، وقسمت الدراسة إلى قسمين:

القسم الأول: دراسة كيموحيوية لإنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز في مصل دم أشخاص اصحاء ظاهرياً، اذ تبين أن المعدل الطبيعي لفعالية إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز في مجموعة السيطرة (125.3 U/L) لكلا الجنسين في الأعمار (1.5–47 سنة). فقد أظهرت النتائج أن فعالية إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز في مصل دم مجموعة السيطرة لم تتأثر بالجنس والحالة الاجتماعية والعمر ومؤشر كتلة الجسم.

أشارت النتائج إلى زيادة معنوية في فعالية إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز في مجموعة مرضى بيتا–الثلاسيميا (328.9 U/L) لكلا الجنسين في الأعمار (1.8– 50 سنة)، مقارنة مع مجموعة السيطرة، كذلك أظهرت النتائج أن فعالية الإنزيم في مصل مجموعة المرضى لا يتأثر بالجنس والحالة الاجتماعية والعمر ومؤشر كتلة الجسم.

كما أظهرت النتائج زيادة معنوية في فعالية إنزيم المايلوبيروكسيديز، وإنزيم ناقلة امين الالانين، وإنزيم ناقلة امين الاسبارتات، ومستوى الحديد، والخارصين والنحاس في مصل دم مرضى بيتا- الثلاسيميا مقارنة مع مجموعة السيطرة. وكذلك لوحظ انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي، والألبومين، والبروتين الدهني عالي الكثافة، والكوليسترول الكلي، والبروتين الدهني منخفض الكثافة، والهيموكلوبين ، وحجم خلايا الدم الحمراء المضغوطة، وإنزيم اريل استريز، وسعة ارتباط الحديد غير المشبع، وسعة ارتباط الحديد الكلي والكالسيوم في مصل دم مرضى بيتا- الثلاسيميا مقارنة مع مجموعة السيطرة.

وتبين وجود علاقة طردية معنوية بين فعالية إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز وإنزيم مايلوبيروكسيديز والكلوبيولين في مرضى بيتا–الثلاسيميا، في حين كانت هناك علاقة عكسية معنوية بين إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز والبروتين الدهني ذي الكثافة العالية للكوليسترول والكالسيوم .

القسم الثاني : أمكانية ومحاولة عزل إنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز وتنقيته من مصل دم شخص طبيعي باستخدام التقنيات الحياتية المختلفة التي تضمنت: الترسيب بكبريتات الأمونيوم بنسبة أشباع (75%)، والفرز الغشائي والترشيح الهلامي باستخدام هلام سفدكس G–100. إذ وجد أن الفعالية النوعية وعدد مرات التنقية للإنزيم كانت (0.0214 U/ml) و(51.7) على التوالي للإنزيم المنقى جزئياً من مصل الدم.

وتم تقدير الوزن الجزيئي التقريبي لإنزيم بيتا هيدروكسي بيوتريت ديهيدروجينيز المنقى جزئيًا (125.8 ± 0.5 KD) باستخدام كروموتوكرافيا الترشيح الهلامي. وكان الوزن الجزيئي التقريبي للوحدة

الفرعية للإنزيم المنقى جزئياً (32.1 ± 0.5 KD) باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية الحاوية على صوديوم دودسايل سلفيت .

وتبين أَنَّ الإنزيم يعمل بظروف مثلى لتحليل مادة الأساس بيتا–هيدروكسي بيوتريت عند الدقيقة الخامسة، واس هيدروجيني 8.2 باستخدام المحلول المنظم Tris HCl ودرجة حرارة 37 °C وتركيز مادة الأساس 26.6 mM ، إذ بلغت قيمة السرعة القصوى وثابت ميكيلس_منتن 0.288 U /L ، 6.623 mM على التوالي لتحليل مادة الأساس بيتا–هيدروكسي بيوتريت .

Summary:

The research included biochemical studying of serum β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase BHBDH and some biochemical parameters. The study was divided into two parts:

The first part: A biochemical study of beta-hydroxybutyrate dehydrogenase in serum of apparently healthy people, the results showed that the normal value of beta-hydroxybutyrate dehydrogenase activity was (125.3 U/L) , and enzyme activity was not affected by sex, marital status, age and body mass index.

The study also indicated a significant increase in serum beta-hydroxybutyrate dehydrogenase activity of beta-thalassemia patients group (328.9 U/L) for both sexes. In ages (1.8-50 years) comparison with control, and enzyme activity in serum of patients group was not affected by sex, marital status, age and body mass index.

The study also predicted a significant increase in level of myeloperoxidase, iron, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, zinc and copper levels, while a significant decrease in total protein, albumin, high-density lipoprotein, total cholesterol, Low-density lipoprotein, hemoglobin, Packed cell volume, aryl esterase, polyunsaturated iron binding capacity, total iron binding capacity , and calcium levels in serum of beta-thalassemia patients in comparison with control.

Correlation study was performed between the measured biochemical parameters and β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase activity in serum by linear correlation coefficient, the results also showed that there was a significant positive correlation between β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase activity and Myeloperoxidase, Globulin in β-Thalassemia patients, while there was a significant negative correlation between β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase activity and High Density lipoprotein and Calcium.

The second part : The research included the isolation of beta Hydroxybutyrate Dehydrogenase from normal human serum using different biochemical techniques, including:precipitation by ammonium sulfate, dialysis, gel filtration chromatography on sephadex G-100. The results predicted that specific activity and the number of fold of purification were (0.0214 U/ml) and (51.7) respectively for partially purified enzyme. Furthermore, the comparative molecular weight of the partially isolated beta Hydroxybutyrate Dehydrogenase was (125.8 ± 0.5 kDa) using gel filtration chromatography. The comparative molecular weight of subunit of partially isolated β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase was (32.1 ± 0.5 kD) using SDS – PAGE.

It was predicted that best enzyme functions analyzing on substrate beta-hydroxybutyrate at a pH 8.2 using Tris HCl buffer, a temperature of 37 °C, and a substrare concentration of 26.6 mM during the fifth minute. The maximal velocity and respectively, Michaels-Menten constant, were 0.288 U/L and 6.623 mM.

University of Mosul

College of Science

Biochemical Study of Beta Hydroxybutyrate Dehydrogenase in Beta- thalassemia Major Patients

Hiba Nashwan Sami Mustafa Al- Obide

M.Sc Thesis

Chemistry / Biochemistry

Supervised by

Lecturer Dr. Mahmoud Ahmad Mohammad Fakhri

1443 A. H

2022 A. D.