



جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة مستويات بعض المتغيرات الكيموحيوية وعزل انزيم
امينواسيليز من السائل الامنيوني لدى النساء الحوامل

أطروحة تقدمت بها
ايمان سالم محمود محمد الطائي

الى
مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه فلسفة في اختصاص
الكيمياء/ الكيمياء الحياتية

بإشراف
الأستاذ الدكتور لؤي عبد علي الهلالي

الخلاصة

تضمنت الاطروحة دراسة مستويات المتغيرات الكيموحيوية في السائل الأمنيوني للحوامل المترافقة مع فرط الضغط والولادة المبكرة والولادة المشوهة عن طريق قياس (25) متغيراً شملت بعض المعادن الثقيلة والاساسية والبروتينات والإنزيمات ومضادات الأكسدة الآتية: الرصاص، الكادميوم، الكروم، الالمنيوم، النيكل، المغنيسيوم، الكالسيوم، الخارصين، الحديد، النحاس والمنغنيز، البروتين C التفاعلي، ألفا-فيتو بروتين، السستاتين C، إنزيم أمينواسيليز-1، إنزيم لاكتيت ديهيدروجينيز، إنزيم اسبارتيت أمينوترانسفيريز، إنزيم الأنين أمينوترانسفيريز، فيتامين C، الكلوتاثايون، حامض اليوريك، المألوندايالديهيد، الكوليستيرول والكليسيريدات الثلاثية، إذ أجريت هذه الدراسة على (338) عينة من السائل الأمنيوني تراوحت أعمارهم بين (16-45) سنة وتوزعت اعداد العينات الى: (78) عينة من السائل الأمنيوني من النساء الحوامل غير مصابات بأمراض، (113) عينة من الحوامل لديهن فرط ضغط مترافق مع الحمل، (97) عينة من الحوامل ذوات الولادة المبكرة و(35) عينة من الحوامل ذوات الولادة المشوهة و(15) لغرض عزل إنزيم أمينواسيليز من الحوامل الاصحاء .

أشارت النتائج الى ان هناك ارتفاعاً معنوياً في مستويات المعادن في السائل الأمنيوني للحوامل المترافق مع فرط الضغط والولادة المبكرة والولادة المشوهة مقارنة مع مجموعة السيطرة لكل من: الرصاص، الكادميوم، الكروم، الالمنيوم والنيكل، وانخفاضاً معنوياً في مستويات المغنيسيوم، الكالسيوم والخارصين، أما الحديد والنحاس فقد لوحظ ان هناك ارتفاعاً معنوياً في مستوياتهم لدى الحوامل المترافق مع فرط الضغط وانخفاض مستوياتهم لدى الحوامل ذوات الولادة المبكرة والولادة المشوهة، أما بالنسبة للمغنيز فقد لوحظ فيه انخفاض معنوي في مستواه لدى الحوامل المترافق مع فرط الضغط والحوامل ذوات الولادة المشوهة.

كما اظهرت النتائج بأن هناك ارتفاعاً معنوياً في مستويات البروتينات لكل من البروتين C التفاعلي والفا-فيتوبروتين ولجميع المجاميع المدروسة، اما السستاتين C فقد اشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في مستوياته لدى الحوامل المترافق مع فرط الضغط والولادة المشوهة. من جانب اخر، أشارت نتائج قياسات الإنزيمات في السائل الأمنيوني إلى ان هناك انخفاضاً معنوياً في فعالية إنزيم الأمينواسيليز وزيادة معنوية لإنزيمات: لاكتيت ديهيدروجينيز، اسبارتيت أمينوترانسفيريز والأنين أمينوترانسفيريز في سائل الأمنيوني لكل المجاميع المدروسة وهذا يشير إلى تأثير وظائف الكبد.

فضلاً عن ذلك لوحظ بأن هناك حالة كرب تأكسدي عالٍ في السائل الأمنيوني لدى الحالات المرضية المدروسة مقارنة مع مجموعة السيطرة متمثلاً بالارتفاع المعنوي لمؤشر الأكسدة المألوندايالديهايد وإنخفاض معنوي في فيتامين C والكلوتاثايون، كما لوحظ ان هناك ارتفاعاً معنوياً لمستويات حامض اليوريك لدى الحوامل المترافقة مع فرط الضغط وفي الحوامل ذوات الولادة المشوهة. وفي دراسة مستويات الدهون أشارت النتائج الى أن هناك ارتفاعاً معنوياً في مستويات الكوليستيرول والكليسيريدات الثلاثية فضلاً عن هورمون الكورتيزول لدى الحوامل المترافق مع فرط الضغط والحوامل ذوات الولادة المبكرة وانخفاض مستوياتهم للحوامل ذوات الولادة المشوهة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

تضمنت الدراسة ايضاً عزلاً جزئياً لإنزيم أمينواسيليز-1 (ACY1) من السائل الأمنيوني للحوامل الاصحاء، إذ تم فصل حزمة رئيسة واحدة فقط ذات فعالية عالية بتقنية التبادل الايوني السالب نوع DEAE-cellulose للراسب البروتيني الناتج عن ترسيب البروتينات باستخدام كبريتات الامونيوم (65%) بعد عملية الفرز الغشائي وبعدد مرات تنقية وصلت 19 مرة، ومن ثم حقنت الحزمة الناتجة فيما بعد في عمود الترشيح الهلامي من نوع سيفادكس G-100 وظهر أن هناك حزمة واحدة ذات فعالية عالية للإنزيم اذ وصل عدد مرات التنقية للحزمة 38 مرة، تم ايجاد الوزن الجزيئي للقطعة ذات الفعالية العالية لإنزيم ACY1 والمعزولة من السائل الأمنيوني باستخدام تقنية كروماتوغرافي الترشيح الهلامي وكان بحدود 46698 دالتون .

البحث تضمن ايضاً دراسة تأثير إنزيم ACY1 المعزول من السائل الأمنيوني على الجرذان المصابين بحالة الكرب التأكسدي المستحدث بواسطة خلاات الرصاص بجرعة 40 ملغم /كغم من وزن الجسم ومقارنتها مع الجرذان الطبيعيين، وأظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في مستويات المألوندايالديهايد (MDA) وإنزيم أسبارتيت أمينوترانسفيريز (AST) وإنزيم ألانين أمينوترانسفيريز (ALT) وانخفاضها في مستوى الكلوتاثايون (GSH) مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما لوحظ ان هناك انخفاضاً معنوياً في مستويات (MDA و AST و ALT) وارتفاع مستوى GSH عند استخدام الإنزيم المعزول بجرع 4 ملغم /كغم من وزن الجرذان مع خلاات الرصاص بجرعة 40 ملغم /كغم. وأظهرت نتائج الفحص النسيجي وجود تغيرات مرضية عالية لأنسجة الكبد للجرذان المعاملة بخلاات الرصاص بجرعة 40 ملغم /كغم من وزن الجرذان عند مقارنتها مع الجرذان الطبيعيين، وحصول حالة تحسن لأنسجة الكبد والكلية عند استخدام الإنزيم المعزول بجرع 4 ملغم /كغم من وزن الجرذان مع خلاات الرصاص، وهذه النتائج تثبت دور الإنزيم المعزول في حماية الجسم من الكرب التأكسدي ومن ثم فاستخدام الإنزيم المفصول بإمكانه التقليل من حدة الأمراض المختلفة.

Abstract

The thesis included the study of the levels of biochemical variables in the amniotic fluid of pregnant women associated with hypertension, premature birth and deformed delivery by measuring (25) variables, including some heavy and basic metals, proteins, enzymes and antioxidants: Lead (Pb) , cadmium (Cd) , chromium (Cr) , aluminum (Al) , nickel (Ni) , magnesium (Mg), calcium (Ca) , zinc (Zn), iron (Fe) , copper (Cu) and manganese (Mn) , C-reactive protein CRP, alpha-fetoprotein (AFP), Cystatin C, aminohylase-1 (ACY1), Lactate-dihydrogenase (LDH) , aspartite aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), vitamin C, Glutathione(GSH),, Uric Acid, Malondialdehyde (MDA) , Cortisol , Cholesterol and Triglycerides (T.G). This study was conducted on (338) samples of amniotic fluid between the ages of (16-45) years. The samples were divided into: (78) samples of amniotic fluid from pregnant women without disease, (113) samples of pregnant women with hypertension associated with pregnancy, (97) samples of pregnant women with preterm birth and (35) samples of pregnant women with distorted births and (15) For the purpose of isolating the enzyme Aminoacylase from healthy pregnant women.

The results indicated that there was a significant increase in the levels of minerals in the amniotic fluid of pregnant women associated with hypertension, premature birth and deformed delivery compared with the control group for: lead, cadmium, chromium, Aluminum and nickel, and significant decrease in the levels of magnesium, calcium and zinc. As for iron and copper, it was noticed that there was a significant increase in their levels in pregnant women associated with hypertension and low levels in pregnant women with preterm birth and birth deformity, while

for manganese it was observed a significant decrease in its level in pregnant women with hypertension and pregnant women with distorted births. The results also showed that there was a significant increase in the levels of proteins for both C- reactive protein and alpha fetoprotein for all studied groups. Cystatin C showed a significant increase in the levels in pregnant women with hypertension and deformed delivery. On the other hand, the results of measurements of enzymes in the amniotic fluid indicated that there was a significant decrease in the activity of the Aminoacylase and a significant increase of enzymes: lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase and aspartate aminotransferase in the amniotic fluid of all studied groups and this indicates the effect of liver function.

Moreover, it was observed that there was a high oxidative stress in the amniotic fluid in the studied cases compared with the control group represented by the significant increase in the oxidation index of malondialdehyde and a significant decrease in vitamin C and clotathalon. It was also observed that there was a significant increase in uric acid levels in pregnant women associated with hypertension and in pregnant women with distorted births. In the study of lipid levels the results indicated that there was a significant increase in cholesterol and triglyceride levels as well as cortisol hormone in pregnant women associated with hypertension and preterm pregnant women and lower levels of distorted pregnant women compared with the control group.

The study also included a partial isolation of the aminoacylase-1 (ACY1) from the amniotic fluid of healthy pregnant women, Only one high-activity DEAE-cellulose-negative ion exchange was separated for the protein precipitate from the deposition of proteins using ammonium sulfate (65%) after dialysis process with 19 times purification, The

resulting beam was subsequently injected into the Cephadex 100-G gel filtration column and it appeared that there was only one high-effective enzyme packet. The purification was 38 times. Molecular weight of ACY1 high isolate was isolated from amniotic fluid using gel filtration chromatography technique and was about 46698 Dalton. The study also investigated the effect of ACY1 isolated from amniotic fluid on rats with oxidative stress caused by lead acetate at a dose of 40 mg / kg body weight and compared with normal rats. The results showed a significant increase in the levels of malondialdehyde (MDA), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) and a decrease in the level of Glutathione (GSH) compared with the control group, It was also observed that there was a significant decrease in the levels (MDA , AST, ALT) and high level of GSH when using the enzyme isolated in a dose of 4 mg / kg of rat weight with lead acetate at a dose of 40 mg kg. Lead at 40 mg / kg rat weight compared to normal rats, and liver and kidney tissue improvement when isolated enzyme is administered at 4 mg / kg rat weight with lead acetate. These results demonstrate the role of isolated enzyme in protecting the body from oxidative stress. Then using the separated enzyme can Reducing the severity of various diseases.

University of Mosul
College of science



Study of Some Biochemical Parameters levels and Isolation of Aminoacylase From Amniotic Fluid in Pregnant Women

Ph. D. Thesis Submitted By
Eman Salim Mahmood Mohammed Al-Taie

To

The Council of the College of Science / University of Mosul In Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy
In

Chemistry/ Biochemistry

Supervised By

Prof. Dr. Luay Abed Ali Al-Helaly

2019 A.D

1440 A.H