



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

تقدير بعض المتغيرات الكيموحيوية ودراسة تثبيط فعالية انزيم
الكالكرين المنقى جزئياً من المرضى المصابين بتصلب الشرايين
ببعض مستخلصات ثمرة السنديان *Quercus* وتأثيرها على
نكور الجرذان المستحثة بتصلب الشرايين

انتصار غانم طه الصميدعي

اطروحة دكتوراه

الكيمياء

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور نشوان ابراهيم عبو الهبيبي

٢٠٢٣ م

١٤٤٤ هـ

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية أربعة أجزاء ، شمل الجزء الاول دراسة سريرية ل165 شخصا (ذكوراً وإناثاً) ، 50 من الأصحاء (مجموعة السيطرة) و 115 مريضاً مصاب بتصلب الشرايين تتراوحت أعمارهم بين 45-65 عاماً. تم تقدير فعالية الإنزيمات بلازما كالكيرين ، كاسبيز-3، اللايبواوكسجينز ،كتاليز،الانين ترانس امينز و الاسبارتيت ترانس امينز ، كما تم تقدير اصناف الدهون الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية ،كوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة ، كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة جدا وعامل تصلب الشرايين LDL-C / HDL-C ايضا تناولت الدراسة متغيرات اخرى براديكنين ، بيروكسي نترت، كلوتاثيون، والمالون ثنائي الالديهيد، والكلوكوز، واليوريا والكرياتينين ، وأخيراً قدرت العناصر وهي: الخارصين ، والنحاس ، والكوبالت ، والرصاص ، والمغنيسيوم ، والكالسيوم.

وجد من خلال النتائج زيادة معنوية عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ بمستوى فعالية بلازما كالكيرين ، كاسبيز-3، اللايبواوكسجينز وايضا بمستوى الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية ، كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة، كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة جدا ، عامل تصلب الشرايين ، كالسيوم ،بيروكسي نترت،المالون ثنائي الالديهيد واليوريا والكرياتينين في المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة الاصحاء. في حين وجد انخفاض معنوي عند $p \leq 0.05$ في المرضى مقارنةً بمجموع السيطرة. في مستويات كتاليز،كوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة ،المغنيسيوم والكلوتاثيون أظهرت المتغيرات زيادة غير معنوية في انزيمات ترانس امينيز، نحاس ، كوبلت ،الخارصين ، براديكنين و كلوكوز.

درس تأثير الجنس في المرضى على المتغيرات المقاسة وأظهرت زيادة معنوية $p \leq 0.05$ في بلازما كالكيرين ،كوليسترول ، كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة ، الرصاص مع انخفاض في مستويات مغنيسيوم في الذكور مقارنة بالإناث، بينما زادت فعالية اللايبواوكسجينز عند الإناث. أيضاً ، تمت دراسة تأثير العمر في المرضى إذ تم تقسيمهم إلى مجموعتين تراوحت أعمارهم بين 45-55 و 56-65 ووجد ارتفاع معنوي $p \leq 0.05$ بفعالية

بلازما كاليكرين ، كاسبيز-3، الكليسيريدات الثلاثية ، الرصاص والكرياتينين مع انخفاض معنوي في فعالية الكتاليز والمغنيسيوم مع تقدم العمر .

اشتمل الجزء الثاني من هذه الدراسة على تنقية إنزيم بلازما كاليكرين جزئياً من بلازما دم مريض بتصلب الشرايين بعدة تقنيات هي الترسيب بكبريتات الأمونيوم ، الفرز الغشائي ، كروماتوغرافيا التبادل الأيوني ، والترشيح الهلامي. تم الحصول على حزمة بروتين واحدة لأنزيم كاليكرين واحدة بفعالية نوعية (1.37 ، 5.82 ، 21.87 و 46.8 U/mg بروتين على التوالي). كما تم الحصول على حزمة واحدة عن طريق تطبيق تقنية الهجرة الكهربائية وكان الوزن الجزيئي KD 100.1، بينما كان بالترشيح الهلامي KD94 تقريباً.

أيضاً ، في هذا الجزء ، تم عزل المستخلصات الطبيعية مثل الزيوت والفلافونويد والصابونين من ثمرة نبات *Quercus* وتم تشخيصها بتقنيات CGC و HPLC على التوالي ووجد محتوى عالي من مركبات البوليفينول والأحماض الدهنية غير المشبعة في المستخلصات.

الجزء الثالث ركز على دراسة تأثير الزيوت المعزولة والفلافونويد والصابونين على فعالية PK عند 2000 و 6000 و 10000 ppm على التوالي ، وأظهرت النتائج تثبيط غير تنافسي بمستخلص الزيت والصابونين ولا تنافسي مع مستخلص متعدد الفينول.

تناول الجزء الرابع من الدراسة تأثير المستخلصات في فعالية إنزيم PK وبعض المتغيرات الكيموحيوية في الجرذان المصابة بتصلب الشرايين المستحدث (بـ 500 ملغم / كغم من الكوليسترول في زيت جوز الهند) خلال 15 يوماً، تم التأكد من الإصابة من خلال الدراسة النسيجية للأوعية الدموية والأوعية الدموية لقلب الجرذان واصناف الدهون في الدم وقد أظهرت صور أنسجة الحيوانات المعاملة بالكوليسترول حدوث تصلب للشرايين (تحديدا الشريان الأبهر) بشكل واضح. كانت الجرعة الفعالة من مستخلصات *Quercus* الخام 250 ملغم / كغم من وزن الجسم .

أخيراً، تمت دراسة تأثير المستخلص الخام ، الزيت ، البوليفينول ومستخلصات الصابونين في الجرذان المصابة بتصلب الشرايين عند 250 ، 7 ، 37.5 و 10 ملغم / كغم من وزن الجسم على التوالي، وأظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في فعالية كاليكرين وإنزيمات ترانس أميناز وكاسبيز-3 واصناف الدهون الكوليسترول و الكليسيريدات الثلاثية و كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة ، كوليسترول البروتين الدهني واطىء الكثافة جدا ، في حين

وجدت زيادة معنوية عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ في فعالية كتاليز و كوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة في الجرذان المصابة بتصلب الشرايين مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة في بلازما الدم.

أظهرت المستخلصات زيادة معنوية في مستوى كلوتاثيون وانخفاض معنوي في المالون ثنائي الالديهيد في نسيجي الكبد والكلى بعد 15 يوماً من المعاملة.

Abstract

This study included four parts, first of clinical study of 165 people, 50 healthy (control) and 115 atherosclerosis patients (males and females) with ages ranging between 45-65 years. The enzyme activity were estimated are plasma kallikrein, Caspase-3, lipoxygenase, catalase, transaminase. also lipid profile cholestrol, triglycerid, high density lipoprotein -cholestrol, low density lipoprotein -cholestrol , very low density lipoprotein -cholestrol and atherogenic factor LDL-c/HDL-c were estimated. Other parameters bradykinine, peroxy nitrate, glutathione , malondialdehyde, Glucose, urea, creatinine and finally Zn, Cu, Co, Pb, Mg and Ca were estimated.

The activity enzymes, are plasma kallikrein, Caspase-3, lipoxygenase, transaminase cholestrol, triglycerid, low density lipoprotein -cholestrol , very low density lipoprotein -cholestrol and atherogenic factor LDL-c/HDL-c , Ca peroxy nitrate, malondialdehyde, , urea and creatinine found a significantly increased $p \leq 0.05$ in patients compared to control. Whereas found a significant decrease $p \leq 0.05$ in the levels of Catalase, high density lipoprotein -cholesterol, Mg, and glutathion at in patients compared to control.

The parameters Cu, Co, bradykinine and glcuose showed a non-significant increase, only Zn metal decreased.

The effect of sex was studied on this parameter and showed a significant increase $p \leq 0.05$ in plasma kallikrein, cholestrol, low density lipoprotein -cholestrol, and Pb, with a decrease in Mg levels in males compared to females, while Lipoxygenase activity was increased in females. Also, patients divided into two groups aged 45-55 and 56-65 and found a significantly increased in plasma kallikrein, Caspase-3, Triglyceride, Pb and creatinine with a decrease in catlase and Mg as getting older.

The second part of this study included partially purified plasma kallikrein enzyme from the blood plasma of atherosclerosis patient by several techniques, including ammonium sulfate precipitate, dialysis, ion exchange chromatography and Gel filtration, one proteinous enzyme peak was obtained with specific activity (1.37, 5.82, 21.87 and 46.8)U/mg protein respectively. Sigle band also was obtained by applying the electrophoresis technique and the molecular weight of approximately 100.1Kd, while by Gel filtration was 94.2Kd.

Also, in this part, the natural compounds Oils, flavonoids and saponin from *Quercus* fruit were isolated and identified by CGC and HPLC techniques respectively and found a good content of polyphenol compounds and unsaturated fatty acids.

The third part was focused on the study of the effect of isolated Oils, flavonoids and saponin on PK activity at 2000, 6000 and 10000ppm respectively, the result showed non-competitive inhibition by Oil and Saponin but it was un-competitive by polyphenol extracts.

The fourth part deals study the effect of extracts on PK activity and some biochemical parameters in induced atherosclerosis (by 500mg/kg of cholesterol in coconut oil) in rats throw 15days and the infection was confirmed through the histological study of the blood vessels and the heart of the rats and in the blood lipid profile. The active dose of the crude *Quercus* extracts was 250mg/Kg body weight. Finally, the effect of crude extract, oil, polyphenol and saponin extracts were studied in normal and atherosclerosis rats at 250, 7, 37.5 and 10 mg/Kg body weight respectively. The results showed a significant decrease $p \leq 0.05$ in are plasma kallikrein, Caspase-3, lipoxygenase, transaminase activity, also lipid profile cholesterol, triglycerid, low density lipoprotein -cholesterol, very low density lipoprotein -cholesterol, peroxy nitrate, malondialdehyde, whereas a significant increase $p \leq 0.05$ the catalase activity, glutathione and HDL-c in atherosclerosis rats compared to healthy at in blood plasma.

Finally, the effect of extracts showed a significantly $p \leq 0.05$ increased in ,glutathione and a significant decrease in malondialdehyde in liver and kidney after 15 days of treatment with *Quercus* extracts.

**University of Mosul
College of Education
for Pure Science**



**Determination of some biochemical variables
and study Inhibition of partially purified
Kallikrein enzyme Activity from atherosclerotic
patients with some *Quercus* fruit extracts and its
effect on male rats induced atherosclerosis**

**Intisar Ghanim Taha Al-Sumaida'i
Ph.D thesis
Chemistry**

**Supervised by
Assist. Prof.
Dr. Nashwan Ibrahim Abo AL- Lehebe**

2023 A.D

1444 A.H