



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

وبائيات فيروس كوفيد-19 والمصحوب بمرض السكري وعوامل
الخطورة (الجنس، العمر، السمنة، عدد الإصابات، نوعية
اللقاحات) ودراسة علاقته بإنزيم اللاكتوبيروكسيديز المعزول من
مصل الدم

أحمد عبيد جاسم محمد العبيدي

رسالة ماجستير

الكيمياء/ الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ الدكتور لؤي عبد علي الهلالي

الخلاصة

شهد العالم في أواخر العام 2019 من انتشار جائحة فيروس كورونا ومازال العالم يعاني من آثار هذه الجائحة؛ لذا تَصُمِّنت الرسالة جزأين رئيسيين كان الجزء الأول دراسة سريرية لمستويات بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم لمرضى كوفيد-19 عن طريق قياس (18) متغيراً من متغيرات الإنزيمات، ومضادات الأكسدة والعناصر المعدنية وغيرها التي تَصُمِّنت: إنزيم اللاكتوبيروكسيديز (LP)، واللاكتيت ديهيدروجينيز (LDH)، وإنزيمات الكبد (ALT و AST)، كذلك الانترليوكين -6 (IL-6)، والكلوتاثيون (GSH) والبيروكسي نيتريت (-ONOO) والمالوندايديهايد (MDA)، اليوريا والكرياتينين، وحامض اليوريك، والكوليستيرول، والالبومين والبيليروبين الكلي والمباشر وغير المباشر، والكالسيوم، والحديد، وعوامل الخطورة وشملت: (العمر، والجنس، والسمنة، والتدخين كما تَصُمِّنت الدراسة على مرضى كوفيد-19 الذين لديهم أمراض مزمنة مثل داء السكر ومرضى كوفيد ممن لديهم أكثر من إصابة، ومن غير الملقحين ومن أخذوا اللقاح فايزر وسينوفارم كونهم الأكثر استخداماً في العراق)، وأما الجزء الثاني من الدراسة فتصمّن تنقية جزئية ودراسة لإنزيم LP من مصل الدم للأصحاء لما له أهمية دفاعية ضد الميكروبات والفيروسات، إذ أجريت الدراسة على 200 أنموذجاً مقسمة إلى 100 أنموذج لمرضى كوفيد-19 و50 أنموذجاً لمجموعة الأصحاء، و50 أنموذجاً خاصاً لجزء عزل الإنزيم من الاصحاء.

وأشارت النتائج بوجود ارتفاع معنوي في الإنزيمات (LP و LDH و AST و ALT) و IL-6 والارتفاع المعنوي في نواتج الأكسدة (-ONOO و MDA) (وما يرافقها من ازدياد مستويات الكرب التأكسدي)، كذلك لوحظ ارتفاعاً معنوياً في المتغيرات الكيموحيوية (حامض اليوريك، والبيليروبين الكلي والمباشر وغير المباشر والكوليستيرول واليوريا والكرياتينين والكالسيوم والحديد) وانخفاضاً معنوياً واضحاً لمضادات الأكسدة وشملت (GSH) و (Alb) لدى مرضى كوفيد-19 وهذا يدل على أنّ فيروس كوفيد-19 على الرغم من استهدافه الأساسي للرئة والجهاز التنفسي إلا أنّ آثاره الوخيمة تشمل كافة أعضاء الجسم.

كما كان لعوامل الخطورة تأثيرات مختلفة على مرضى كوفيد-19، فقد لوحظ أنّه كلّما تقدّم بالعمر ينعكس سلباً على شدة المرض حسب ما أظهرته النتائج، وكذلك أنّ نوع الجنس له تأثير إذ لوحظ في الذكور تكون شدة المرض والوفيات أكثر ممّا عليه في الإناث حسب المعطيات، أمّا السمنة والتدخين فهم من أكثر عوامل الخطورة ذات التأثير الواضح على حالة مرضى كوفيد-19، فزيادة السمنة أو زيادة التدخين لدى المرضى يزيد من التأثيرات السلبية المختلفة على وظائف أعضاء الجسم من الكلية أو الكبد أو من زيادة حالة الكرب التأكسدي.

إنَّ المرضى كوفيد-19 والذين يعانون أيضاً من داء السكر كانت شدة المرض أكثر وطأة وقلة فرص النجاة من الإصابة بفيروس كوفيد، وأمّا بالنسبة لتكرار الإصابة فالنتائج أظهرت أنَّ الإصابة الثانية والثالثة تكون أقل حدة من الإصابة الأولى فيما إذا كانت الإصابة بنفس الفيروس غير المتحور؛ إذ لوحظ أنَّ الإصابة الأولى بفايروس كوفيد هي أكثر شدة على وظائف وأعضاء جسم المريض، وأمّا اللقاءات فهي على العموم تقلل احتمالية تكرار الإصابة وتحسن من مستويات المتغيرات الكيموحيوية المقاسة بشكل عام مقارنة بالمرضى غير الملقحين وإن حدثت الإصابة ففي أغلب الأحيان لاتستدعي دخول المستشفى؛ إذ أثبتت النتائج أيضاً تفوق لقاح فايزر على سينوفارم في الفعاليّة بملاحظتنا للنتائج التي ظهرت لدينا.

كما تضمّن الجزء الثاني من الدراسة تنقية جزئية لإنزيم LP عن طريق التقانات (الترسيب بالإزاحة الملحية كبريتات الامونيوم 65% ، وكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي نوع سيفادكس G-50 وكذلك نوع G-100 اذ ظهرت هناك حزمة ذات فعالية عالية لإنزيم LP في كلا العمودين ووصلت عدد مرات التنقية للحزمة الأخيرة الناتجة من عمود G-100 بحدود (50) مرة ليتم بعد ذلك إيجاد وزنه الجزيئي التقريبي الذي وصل بحدود (78750) دالتون ، ودراسة الظروف المثلى لعمل الإنزيم التي كانت بوجود (120) مايكروغرام/مل من تركيز الإنزيم وعند (0.1) ملي مول/لتر من تركيز محلول المنظم فوسفات ثنائي-احادي البوتاسيوم لها أس هيدروجيني (7.5)، وزمن تفاعل (40) ثانية عند درجة حرارة (37.5)°م وقيمة ثابت ميكليس K_m والسرعة القصوى V_{max} وصلت (0.714) ملي مول/لتر و(25) وحدة إنزيم/مل على التوالي.

كذلك شملت الدراسة معرفة تأثير بعض المركبات الكيميائية ومعرفة نسب تثبيطها وتنشيطها لفعالية الإنزيم LP، فضلاً على ذلك تم دراسة تأثير بعض المركبات الدوائية والمستخدم قسم منها في معالجة حالة مرضى كوفيد-19 لمعرفة نسب تثبيطها أو تنشيطها لفعالية الإنزيم وكان أعلى تثبيط للإنزيم عند استخدام كلوريد الكوبلت وأعلى تنشيط كان لمركب الدوائي ريمديسفير، ممّا يوضّح أنَّ للإنزيم LP دوراً مميزاً في مقاومة فيروس كوفيد-19 وخصوصاً بوجود المركبات الدوائية التي تنشط فعالية الإنزيم مثال عليها عقار الريميديسفير .

Abstract

In view of what the world witnessed in late 2019 from the spread of the Corona virus pandemic, and the world is still suffering from the effects of this pandemic, so it was of our interest that the study address some of the developments that accompany this pandemic in what affects humans, so the thesis included two main parts. The first part was a clinical study of the levels of some Biochemical parameters in the blood serum of COVID-19 patients by measuring (18) parameters of enzymes, antioxidants, mineral elements, and others, which included: lactoperoxidase (LP), lactate dehydrogenase (LDH), liver enzymes (ALT and AST), as well as interleukins. -6 (IL-6), glutathione (GSH), peroxynitrite (ONOO-), malondialdehyde (MDA), urea, creatinine, uric acid, cholesterol, albumin, total, direct and indirect bilirubin, calcium, & iron, and study risk factors which included (age, gender, obesity, smoking), The study also included Covid patients who have chronic diseases such as diabetes mellitus (DM) , and Covid patients who have more infection The second part of the study included partial purification and study of the LP enzyme from the blood serum of healthy people because of its defensive importance against microbes and viruses as the study was conducted on 200 samples divided into 100 samples for Covid-19 patients, 50 samples for the healthy group, and 50 samples for the enzyme isolation part.

The results indicated that there was a significant increase in enzymes (LP, LDH, AST, ALT) and IL-6, and a significant increase in oxidation products (ONOO- and MDA) (and the accompanying increase in oxidative stress levels), and increase in biochemical parameters (uric acid, total, direct and indirect bilirubin, cholesterol, urea, creatinine, Calcium and iron) and a clear significant decrease for antioxidants, including glutathione and albumin, for patients with Covid-19, and this indicates that the COVID-19 virus, despite its primary targeting of the lung and respiratory system, its severe effects include all organs of the body.

The risk factors also had different effects on COVID-19 patients, as it was noted that the, getting oldere more severe the disease, as shown by the results. As for obesity and smoking, they are among the most significant risk factors that have a clear impact on the condition of COVID-19 patients. also the gender has an effect, as it was observed in males that the severity of disease and mortality is more than in females, according to the data By increasing obesity or increasing smoking

in patients, it increases the various negative effects on the functions of the body's organs such as the kidneys or liver, or increases the state of oxidative stress.

COVID patients and those who also suffer from diabetes, the severity of the disease was more severe and the chances of survival were less from infection with the Corona virus. The first infection with the Corona virus is more severe on the functions and organs of the patient's body, as for vaccines, in general, they reduce the possibility of recurrence of infection and improve the levels of biochemical variables measured in general compared to unvaccinated patients. Sinopharm in effectiveness through our observation of the results that appeared to us.

The second part of the study also included partial purification of the LP enzyme by techniques (precipitation by salt displacement ammonium sulfate 65%, and gel filtration chromatography type Sephadex G-50 as well as G-100 appear one band for LP in both columns and the purification number for G-100 reached up to (50) times, to then find its approximate molecular weight, which reached about (78750) Daltons, and to study the optimal conditions for the enzyme to work, which were in the presence of (120) $\mu\text{g} / \text{ml}$ of the enzyme concentration and at (0.1) $\text{mmol} / \text{liter}$ of the concentration of the enzyme solution. The phosphate regulator has a pH of (7.5), a reaction time of (40) seconds at (37.5) $^{\circ}\text{C}$ temperature, the value of Michaelis constant (K_m), and the maximum Velocity (V_{max}) reached (0.714) mmol/L and (25) units/ml , respectively.

The study also included knowing the effect of some mineral chemical compounds and knowing the percentages of their inhibition and activation of the LP enzyme activity. In addition, the effect of some pharmaceutical compounds used in the treatment of patients with Covid-19 was studied to know the percentages of their inhibition or activation of the effectiveness of the enzyme, and the highest inhibition of the enzyme was when using Cobalt chloride and the highest activation was for the drug compound remdesivir, which indicates that the enzyme LP has an important role in resisting the Covid-19 virus, especially in the presence of drug compounds that activate the activity of the enzyme, an example of which is the drug remdesivir.

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



**Epidemiology of COVID-19 virus with diabetes
disease, and risk factors (Gender, age, Obesity,
number of infection, type of vaccines) and study
of its relationship the lactoperoxidase isolated
from blood serum**

Ahmed Obed Jasim Mohammed Al-Obaedy

M.Sc.

Chemistry/ Biochemistry

Supervised By

Prof. Dr. Luay Abed Ali Al-Helaly

2023 A.D

1444 A.H