



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

دراسة إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز وبعض المتغيرات
الكيموحيوية لدى مرضى الغده الدرقية

مروة أحمد جمعة عبد الله البدراني

رسالة ماجستير
الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف
الأستاذ الدكتور لؤي عبد علي الهلالي

الملخص

تضمنت الرسالة جزئين رئيسيين : الجزء الأول ، دراسة سريرية لمستوى إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز (MAT) وبعض المتغيرات الكيموحيوية الإنزيمية وغير الإنزيمية لدى مرضى فرط وقصور نشاط الغدة الدرقية، إذ شملت المتغيرات الإنزيمية: إنزيمات مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز ، المثنونين سلفوكسايد رديكتيز A، والثايوردوكسين، والكتاليز، والميلوبيروكسيديز، واللاكوتوبريكسيديز، والزانتين أوكسيديز، والكلوتاثايون S-ترانسفيريز، وبروتين علامة الشيخوخة-30 و المتغيرات غير الإنزيمية الكلوتاثايون، وحامض اليوريك، والالبومين، والمالوندايالديهايد، والبيروكسي نيتريت. أجريت الدراسة في مدينة الموصل على (250) أنموذجاً (مجموعة السيطرة (85) ومجموعة المرضى(165) ولكلا الجنسين تراوحت اعمارهم 20-70 عام

أشارت النتائج عند مقارنة مرضى فرط وقصور نشاط الغدة الدرقية مع الإصحاء إلى أن هناك ارتفاع معنوي للمتغيرات الإنزيمية مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز، والكتاليز، والزانتين أوكسيديز والكلوتاثايون S-ترانسفيريز، أما الثايوردوكسين، واللاكوتوبريكسيديز فظهر ارتفاعها فقط في فرط نشاط الغدة الدرقية، إلى جانب ذلك لوحظ انخفاض معنوي لبروتين علامة الشيخوخة-30. من جانب آخر ظهر ارتفاع معنوي لكل من المتغيرات غير الإنزيمية من مالوندايالديهايد، والبيروكسي نيتريت وأنخفاض في الالبومين، وحامض اليوريك، والكلوتاثايون أما بقية المتغيرات لم نلاحظ أية اختلافات معنوية.

لوحظ أن هناك علاقة طردية بين إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز وعدد من المتغيرات الكيموحيوية (بروتين علامة الشيخوخة -30، والالبومين، وحامض اليوريك، والمثنونين سلفوكسايد رديكتيز A، والميلوبيروكسيديز) في كلا المرضين بمعنى زيادة تراكيز هذه المتغيرات يشير أيضا إلى زيادة فعالية إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز وإن قلة فعاليته قد تشير أيضا إلى زيادة فعالية إنزيمات الكتاليز والزانتين أوكسيديز وقلة مستويات الكلوتاثايون كونها وجدت أن العلاقة بينهم هي علاقة عكسية مع الإنزيم.

أظهرت النتائج أن فعالية الإنزيمات قد تأثرت بشكل ملحوظ مع زيادة فترة الإصابة لكل المرضى ، إذ لوحظ أن هناك ارتفاع في فعالية إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز الذي يشير إلى تحفيز مستمر لإنزيمات الأيض مع تقدم الإصابة، من جانب آخر لوحظ أن إنزيمات الكتاليز والزانتين أوكسيديز والثايوردوكسين انخفضوا في فعاليتهم إلى جانب ارتفاع في مستوى المالوندايالديهايد.

وبينت النتائج أيضا أن زيادة الوزن حسب قيمة مؤشر كتلة الجسم لها تأثير على فعالية إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز لدى مرضى قصور الغدة الدرقية إذ بزيادة مؤشر كتلة الجسم لوحظ أن هنالك انخفاض في نشاط إنزيم مثنونين ادينوسيل ترانسفيريز بشكل تدريجي وعلى العكس

من ذلك، فقد لوحظ أن هنالك ارتفاعاً في نشاط إنزيمات اللاكتوبيروسيديز والمثيونين سلفوكسايد رديكتيز A ومستوى بيروكسي نيتريت. أما في مرضى نشاط الغدة الدرقية فلم يسجل لفعالية إنزيم مثيونين ادينوسيل ترانسفيريز تأثير معنوي ولكن كان هناك انخفاضاً معنوياً في نشاط إنزيم اللاكتوبيروكسيداز لذوي الأوزان العالية وانخفاضاً أيضاً في نشاط إنزيمي الكتاليز والكلوتاثيون S- ترانسفيريز.

أما الجزء الثاني فتضمن تنقية إنزيم مثيونين ادينوسيل ترانسفيريز جزئياً من بلازما دم لشخص سليم ظاهرياً، بعمر 35 سنة ، وقد تمت عملية العزل باستعمال التقانات الحياتية المختلفة التي شملت كلاً من الإزاحة الملحية، وعملية الفصل باستخدام عمودين بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي (سيفادكس G-50 وسيفادكس G-100) وبينت النتائج وجود حزمة واحدة تمتلك أعلى فعالية لإنزيم MAT وأن عدد مرات تنقية الإنزيم وصلت إلى (14) مرة والفعالية النوعية ازدادت إلى (12.239 وحدة إنزيم/ملغم بروتين) ونسبة استعادة (15.9 %) ، وأن الوزن الجزيئي التقريبي للإنزيم المعزول من مصل الدم بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي (سيفادكس G-100) هو (49119) دالتون تقريباً وباستخدام تقنية الهجرة الكهربائية كان بحدود (50914 دالتون).

حددت الظروف المثلى للإنزيم المعزول باستعمال تركيز الإنزيم 10 مايكروغرام / مل و المحلول المنظم نوع ترس-حامض الهيدروكلوريك وبتركيز (100 ملي مول /لتر) عند أس هيدروجيني (7) وزمن تفاعل (45 دقيقة) ودرجة حرارة (45°م) باستعمال تركيز (25 ملي مول / لتر) من مادة الأساس (ادينوسين ثلاثي الفوسفات) وباستعمال رسم لاينويفر - برك وُجدَ أن قيمة السرعة القصوى وثابت مكيليس للإنزيم كانت مساوية لـ 135.135 وحدة إنزيم/لتر و 1.053 ملي مول/لتر على التوالي.

لوحظ أيضاً أن هناك العديد من المركبات الدوائية وخاصة الأدوية الخاصة بمرضى فرط نشاط وقصور الغدة الدرقية لها تأثير تثبيطي أو تنشيطي في مستوى فعالية الإنزيم المعزول وكان أعلى تثبيط عند استخدام دواء نوع فينكريستين كبريتات وكان بحدود 78.946 % - أما أعلى تنشيط فكان للدواء نوع ريميديسفير الذي اعطى 64.502 % +.

Abstract

The thesis included two main parts, the **first part** was a clinical study of methionine adenosyl transferase levels and some enzymatic and non-enzymatic biochemical variables in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism, as the enzymatic variables included: methionine sulfoxide reductase A, thioredoxin, catalase, myeloperoxidase, lactoperoxidase, xanthine oxidase, glutathione S-transferase, and senescence marker protein-30. The non-enzymatic variables included glutathione, uric acid, albumin, malondialdehyde, and peroxynitrite. The study was conducted in Mosul city and included (250) samples (control group (n=85) and patient group (n=165)) for both sexes and same ages.

Comparing hyperthyroidism and hypothyroidism patients with healthy controls, the results indicated a significant increase in all enzyme variables, including methionine adenosyl transferase, catalase, xanthine oxidase, and glutathione S-transferase. Thioredoxin and lactoperoxidase were elevated only in hyperthyroidism. Furthermore, a significant decrease in the senescence marker protein-30 was observed. On other hand showed Significant increases were also observed in non-enzymatic levels of malondialdehyde and peroxynitrite, while albumin, uric acid, and glutathione were decreased. No significant changes were observed in the remaining variables. Increased oxidants indicators and decreased antioxidant levels indicate oxidative stress in patients, and these levels were higher in hyperthyroidism patients than in hypothyroidism patients. It was observed that there is a direct relationship between the methionine adenosyl transferase and a number of biochemical variables (senescence marker protein-30, albumin, uric acid, methionine sulfoxide reductase A, and myeloperoxidase) in both diseases. This means that increased concentrations of these variables also indicate increased activity of methionine adenosyl transferase, and its decreased activity may also indicate increased activity of the enzymes catalase and xanthine oxidase and decreased levels of glutathione, as it was found that the relationship between them is an inverse relationship with the enzyme.

The results showed that some enzymes were significantly affected as the duration of infection increased for both patients. An increase in the activity of the methionine adenosyl transferase was observed, indicating a continuous stimulation of metabolic enzymes as the infection progresses. On the other hand, the activity of the enzymes catalase, xanthine oxidase, and thioredoxin was observed to decrease, along with an increase in the level of malondialdehyde.

It was observed that weight gain, as measured by BMI, affected the activity of the enzyme methionine adenosyl transferase (MAT) in patients with hypothyroidism. As BMI increased, a gradual decrease was observed in MAT activity. Conversely, an increase was observed in the activity of

the enzymes lactoperoxidase, methionine sulfoxide reductase A, and peroxynitrite levels. In patients with hyperthyroidism, no significant effect was recorded on MAT activity, but there was a significant decrease in the activity of the enzyme lactobiooxidase in overweight individuals. The activity of the enzymes catalase and glutathione S-transferase also decreased.

The study also concluded that there is a close relationship between the activity of the enzyme methionine adenosyl transferase and the oxidative status of the body in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism, as well as the occurrence of an imbalance in metabolic balance and cellular antioxidant defenses.

The **second part** included the partial purification of the methionine adenosyl transferase enzyme from the blood plasma of a seemingly healthy person, aged 35 years. The isolation process was carried out using different biotechnologies that included both salt displacement, and then the separation process was carried out using two columns using the gel filtration chromatography technique (Sephadex G-50 and Sephadex G-100). It was found that there was one band that had the highest activity of the MAT enzyme and the number of times the enzyme was purified reached (14) times and the specific activity increased to (12.239) with a recovery rate of (15.9%). It was found that the approximate molecular weight of the enzyme isolated from blood serum using the gel filtration chromatography technique (Sephadex G-100) is approximately 49119.1 Daltons and using the electrophoresis technique it was about (50914 Daltons).

The optimum conditions for the isolated enzyme were determined using Tris-HCl buffer solution with a concentration of 100 mmol/L at pH (7), reaction time (45 min) and temperature (45°C) using a concentration of (2.5) of the substrate (Adenosine triphosphate). Using the Lineweaver-Burke diagram, it was found that the maximum velocity value and Michaelis constant of the enzyme were equal to 135.135 enzyme units/L and 1.053 mmol/L, respectively.

It was noted that many pharmaceutical compounds, especially those used for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism, have an inhibitory or stimulating effect on the activity level of the isolated enzyme. The highest inhibition was with the use of the drug vincristin sulfate, which was approximately -78.946%. The highest activation was with the drug remdesivir, which gave +64.502%.

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



Study of Methionine Adenosyltransferase and Some Biochemical Parameters in Patients with Thyroidism

Marwa Ahmed Jumaa Abdulla Al-Badrany

M.Sc. Thesis

Chemistry/ Biochemistry

Supervised by

Prof. Dr. Luay Abed Ali Al-Helaly

2025 A.D

1447 A.H