جامعة الموصل

كلية العلوم

عزل ودراسة إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي من مصل دم مرضى سرطان البروستات

وسن نافع صالح صليبي الطائي

رسالة ماجستير

علوم الكيمياء/ الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة ليلى عبد الله مصطفى عبدالله عبدال

1442هـ **2021م**

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل ودراسة إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي في مصل دم مرضى سرطان البروستات ، كما تم قياس المستضد الخاص بالبروستات بالاضافة الى قياس مستوى الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد.

إذ تم جمع 50 عينة دم من المرضى المراجعين لمستشفى الأورام والطب الذري في مدينة الموصل للفترة من شهر تشرين الاول ولغاية شهر اذار من عام 2019 ، تراوحت أعمارهم 50 سنة فما فوق ، كما جمعت 50 عينة دم لاشخاص أصحاء ظاهريا كمجموعة سيطرة وبنفس الاعمار.

بينت النتائج وجود زيادة معنوية في فعالية إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي في مصل دم المرضى المصابين بسرطان البروستات اذ بلغت 31.41±2.25 وحدة دولية/ لتر مقارنة بمجموعة السيطرة 5.55±0.24 وحدة دولية /لتر وعند مستوى احتمالية $p\leq0.05$.

تم عزل إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي باستخدام التقانات الحياتية المختلفة إذ تم فصل حزمتين بروتينيتين بتقانة الترشيح الهلامي للراسب البروتيني الناتج من عملية الترسيب بكبريتات الأمونيوم، وأظهرت الحزمة A فعالية عالية لإنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي، وقدر الوزن الجزيئي باستخدام الترشيح الهلامي وكان بحدود 98400 دالتون.

كما تضمنت الدراسة إيجاد الظروف المثلى لفعالية إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي وكانت الفعالية القصوى كالآتي باستخدام 60 مايكروغرام/مل من الإنزيم المنقى جزئيا وباس هيدروجيني 4.6 وبزمن تفاعل 15دقيقة وبدرجة حرارة 60 درجة مئوية وبتركيز 50 مايكرومول من بارانايتروفينول فوسفيت كمادة أساس لإنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي . كما تم إيجاد قيمة السرعة القصوى V_{max} وثابت مكيليس – منتن K_m وباستخدام رسم لاين ويفر– برك وكانت مساوية لـ 47.6 وحدة دولية/ لتر و29.9 مايكرومول على التوالي. وقد تمت دراسة تأثير بعض المركبات الكيميائية على فعالية إنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي، ووجد أن حامض التارتاريك يعمل كمثبط تنافسي عند تركيز 2 ملي مول.

واخيرا اظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى المستضد الخاص بالبروستات اذ بلغت قيمته 1.44±0.15 نانوغرام / مل مقارنة بمجموعة السيطرة 2.29±0.12 نانوغرام /مل ، كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي إنخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوتاثايون في مصل دم المرضى 0.97±0.04 ملي مولار / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة 4.22±0.18 ملي مولار / لتر ، بينما أظهر المالونداياالديهايد ارتفاعاً معنوياً في مصل دم المرضى المصابين بسرطان البروستات 35.6±0.64 ملي مولار / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة 2.08±0.13 ملي مولار / لتر.

University of Mosul

College of Science

Isolation and Study of Prostatic Acid Phosphatase from Serum of Prostate Cancer Patients

Wassan Nafeh Saleh Salibi Al-Taie

M.Sc. Thesis

Chemistry /Biochemistry

Supervised By

Assistant Professor Dr. Layla Abdullah Mustafa

1442 A.H. **2021 A.D.**

Abstract

This study was included the isolation and study of prostatic acid phosphatese (PAP) from the blood serum of prostate cancer patients, the prostatic specific antigen (PSA) was measured in addition to measuring the level of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA). Fifty blood samples were collected from patients attending the Oncology and Atomic Medicine Hospital in Mosul city of Mosul for the period from October to March of 2019, their ages ranged from 50 years and over, and 50 blood samples were collected from apparently healthy persons as a control group of the same ages.

The results showed that there was a significant increase in the activity of prostatic acid phosphatese in the blood serum of the patients with prostate cancer as the rate of enzyme activity was reached in the patients blood serum 31.41 ± 2.25 IU/L, compared to a control group 5.55± 0.24 IU/L and at a probability level $p \leq 0.05$, considered a predictor of prostate cancer.

The PAP was isolated using different biotechnologies. Two protein bands were separated by gel filtration technology to the protein precipitate resulting from the precipitation process with ammonium sulfate. Peak A showed high activity of the PAP, and the molecular weight was estimated using gel filtration and it was with in the limits of 98400 Daltons.

The study determined to find the optimal condition for the effectivenss of PAP and the maximum activity was as follows using 60 microgram/ml of partially purified enzyme and pH 4.6, with areaction time 15 minutes and at a temperature of 60 C^{o} at a concentration of 50 micromole of the parent substance paranitro phenyl phosphate. The value of the maximum activity V_{max}, and Michaelis-Menton constant K_m were determined using

Lineweaved-Burk plot, which was equal to 47.6 IU/L and 29.9 μmole respectively.

The effect of some chemical compounds on the effectiveness of PAP was investigated and it was concluded that tartaric acid operates as a competitive inhibitor at the concentration of 2 mmole.

Finally, the results showed a significant decrease in PSA level in serum blood of patients which was 1.44±0.15 ng/ml copared to control group 2.29± 0.12ng/ml. The results also showed a significantly decrease in the level of GSH in serum blood of patients 0.97±0.04 millimolar/ L compared to control group 4.22±0.18 millimolar /L, and a significant decrease in the level of MDA in patients which was 15.6± 0.64 millimolar /L compared to control group 2.08± 0.13 millimolar /L.