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

Study of the Glutardoxine 1 in Patients with Acute Lymphocytic and Myeloid Leukemia and its Relationship to Influencing Factors and Some Biochemical Parameters with Its Isolation from Blood Serum

Saqima Harbi Younis Alsharafany

M.Sc. Thesis

Chemistry/ Biochemistry

Supervised by

Prof. Dr. Luay Abed Ali Al-Helaly

2024 A.D **1446 A.H**

ABSTRACT

The thesis included studying and isolating glutardoxin1(Grx1) in blood serum for patients of acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myeloid leukemia (AML) comparing it with the control group, as well as studying the levels of the complete blood count (CBC) and some biochemical variables by measuring 12 variables, which include the enzymes of: methionine sulfoxide reductase A(MsrA), myeloperoxidase(MPO), glutathione S-transferase(GST), lactoperoxidase(LPO), catalase(Cat), thioredoxin(Trx), lipoxygenases(LPO) and xanthine oxidase(XO), beside of compounds Albumin(Alb), peroxynitrite(ONOO-), malondialdehyde(MDA) and glutathione(GSH). This study was conducted on (170) samples whose ages ranged between (2.5-15) years, the numbers of samples were distributed as follows: (78) Samples from patients with ALL and (25) samples from patients with AML, (36) sample as a control group and 31 samples for the purpose of isolating Grx1 from apparently healthy people. The study was divided into three main parts as follows:

-Part One (Clinical study): The results showed that the normal rate of Grx1 was (347.77±31.83) in the blood serum of the control group, while the activity of Grx1 enzyme in patients with ALL reached (445.51±45.91) and in patients with AML (445.51±45.91). The results showed increase for Grx1 in patients with both types of leukemia compared to the control group. In ALL, the Grx1 is affected by age, and as the patients grew older, the activity of the enzyme increases in both controls and leukemia patients. With the increases of the duration of the disease, It is also noted that the activity of the enzyme increases with the increase of BMI. The study confirmed that genetics has an effect on ALL (8.62%), and blood type has an effect, and the majority of ALL patients have blood type A^+ (39.6%).

The results showed increased in CAT, XO, GST, ONOO-, MDA and decrease in the levels of: MsrA, MPO, LPO, and also Trx, Alb and GSH in ALL patients. A significant decrease in the CBC consisting of (Hb, RBC, WBC, PCV%) was also observed, While the platelets did not show a significant decrease in their levels .

We also obtained an increase in: Grx1 in types B and T cells of ALL patients, which amounts to (438.39±66.86), (383.46±74.59) compared to the control group, which amounts to (347.77±71.83).We also had a significant increase in CAT, MPO, LPO, GST, XO, LP, and also in MDA, ONOO- and a significant decrease in the levels of MsrA, Alb, GSH, and the results also showed that there were no significant differences in the level of Trx compared with the control group. As shown, there was a significant decrease in CBC in all its components (Hb, RBC, WBC, platelets, PCV%) in T and B cells in ALL patients.

Part two: included the isolation and purification of Grx1 from the blood serum of apparently healthy people using various biological techniques, which included precipitation with 65% ammonium sulfate, gel filtration Sephadex G-50 and ion exchange chromatography, where only one main band with a high level of Grx1 was used. The number of purification times was 109 , with a protein recovery rate of 47.6%. In addition, the approximate molecular weight of Grx1 isolated and partially purified from blood serum was found to be approximately (13909.1) Dalton using the gel filtration chromatography technique (Sephadex G-50) and produce one band appeared using the PAGE-SDS electrophoresis technique with a molecular weight of (11365.2) Dalton.

Part Three: (Study of the effect of therapeutic drugs on Grx1): The effect of the drugs gave different rates of activation and inhibition, as the results showed an increase in the level of Grx1 in the presence of (5 mmole) to: paracetamol, mefenamic acid, and penicillin. However, it decreases in the presence of tetracycline, ibuprofen, amoxicillin, cephalexin, remdesivir, azithromycin, and vincristine sulfate, and the highest inhibitory rate was found with cephalexin and remdesivir.

الخلاصة

تضمنت الرسالة دراسة وعزل الكلوتاردوكسين 1 في مصل الدم المرضى سرطان الدم الليمفاوي الحاد (ALL) وسرطان الدم النقوي الحاد (AML) ومقارنته مع مجموعة السيطرة، وكذلك دراسة مستويات تعداد الدم الكامل (CBC) ومستويات بعض المتغيرات الكيموحيوية من خلال قياس 12 متغيراً والتي تشمل: إنزيمات الميثيونين سلفوكسيد دكتيز A والميلوبيروكسيديز والكلوتاثايون إس–ترانسفيراز واللاكتوبروكسيديز والكتاليز والثايوريدوكسين واللاييواوكسيجينيز والزانثين أوكسيديز بالإضافة إلى الألبومين والبيروكسينيتريت، والمالونداياليديهايد والكلوتاثايون. إذا أجريت هذه الدراسة على (170) عينة تراوحت أعمارها بين (2.5 –15) سنة، فقد توزعت أعداد العينات على النحو التالي: 78 نموذج لمرضى سرطان الدم اللمفاوي الحاد و25 نماذج من مرضى سرطان الدم النقوي الحاد، 36 نموذج كمجموعة سيطرة و31 عينات لغرض عزل الكلوتاردوكسين 1 من الأشخاص الأصحاء ظاهرياً. الدرسة قسمت الى ثلاث اجزاء رئيسية:

الجزء الأول (الدراسة السريرية): أظهرت النتائج أن المعدل الطبيعي لإنزيم الكلوتاريدوكسين 1 كان (31.83±347.77) في مصل الدم لمجموعة السيطرة، بينما بلغ نشاط إنزيم الكلوتاريدوكسين 1 في مرضى سرطان الدم الليمفاوي الحاد (45.91±445.51) وفي المرضى الذين يعانون من سرطان الدم النخاعي الحاد (45.91±445.51). أظهرت النتائج زيادة في الكلوتاريدوكسين 1 لدى المرضى المصابين بنوعي سرطانات الدم مقارنة بالمجموعة السيطرة. في سرطان الدم الليمفاوي الحاد، يتأثر الإنزيم بالعمر، ومع تقدم العمر، يزداد نشاط الإنزيم في كل من مجموعة السيطرة ومرضى سرطان الدم. ومع زيادة مدة المرض، تزداد فعالية الإنزيم في الجسم. ولوحظ أيضًا أن هناك زيادة في فعالية الإنزيم مع زيادة قيمة مؤشر كتلة الجسم. وأكدت دراسة أن الوراثة لها تأثير على سرطان الدم الليمفاوي الحاد بنسبة (8.62%)، ولفصيلة الدم تأثير، وأغلبية المرضى لديهم فصيلة الدم نوع A^+ (39.6%).

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في الكتاليز والزانثين أوكسيديز والكلوتاثايون S–ترانسفيريز، والبيروكسي نيتريت، والمالونداياليديهايد. وانخفاض في مستويات الميثيونين سلفوكساید ردكتيز A، والمايلوبيروكسيديز، اللاييواكسيجينيز، وأيضاً الثايوريدوكسين والألبومين والكلوتاثايون في مرضى سرطان الدم اللمفاوي الحاد . كما لوحظ انخفاض ملحوظ في تعداد الدم الكامل اعداد من (الهيموكلوبين وكريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وحجم الخلايا المضغوطة)، ولكن لم يظهر اعداد الصفائح الدموية أي انخفاض معنوي فيها.

كما حصلنا على زيادة في تركيز انزيم الكلوتاريدوكسين 1 في مصل مرضى الخلايا البائية والتائية لسرطان الدم الليمفاوي الحاد والذي بلغ (66.86±438.39)، (74.59±383.46) مقارنة بمجموعة السيطرة والتي بلغت (347.77 ± 71.83). كما حصلنا على زيادة معنوية في فعالية إنزيمات الكتاليز

والمايلوبيروكسيديز واللايبو او كسيجينيز والكلوتاثايون S–ترانسفير يز، والزانثين أوكسيديز واللاكتوبيروكسيديز وايضا في المالونداياالديهايد والبيروكسي نيتريت، وانخفاض كبير في مستويات الميثيونين سلفوكساید ردكتيز A و الألبومين و الكلوتاثايون، كما أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الثايو يردوكسين مقارنة مع مجموعة السيطرة.وكذلك كان هناك انخفاض كبير في تعداد الدم الكامل في جميع مكوناته)الهيموكلوبين وكريات الدم الحمر و خلايا الدم البيض والصفائح الدموية وحجم الكريات المضغوطة(في مرضى نوعي الخلايا التائية والبائية لسرطان الدم الليمفاوي الحاد.

الجزء الثاني: شمل عزل وتنقية الكلوتاريدوكسين 1 من مصل الدم للأشخاص الأصحاء ظاهرياً باستخدام تقنيات بيولوجية مختلفة، والتي شملت الترسيب بكبريتات الأمونيوم 56%، وكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي سيفادكس G-05 وكروماتوغرافيا التبادل الأيوني السالب، حيث وجد حزمة رئيسية واحدة لها نسبة عالية من الكلوتاريدوكسين 1. وكانت عدد مرات التنقية 901 مـ تر بنسبة استرداد بروتين 6.74%. بالإضافة إلى ذلك، تم حساب الوزن الجزيئي التقريبي للكلوتاريدوكسين 1 المعزول والمنقى جزئيا منه حيث أن مصل الدم بلغ حوالي)1.90931(دالتون باستخدام تقنية الترشيح الهلامي)سيفادكس 05-G(وظهرت حزمة واحدة باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي SDS-EGAP بوزن جزيئي قدره)2.56311(دالتون.

الجزء الثالث:)دراسة تأثير الأدوية العلاجية على الكلوتاريدوكسين 1(: أعطى تأثير الأدوية معدلات مختلفة من التنشيط والتثبيط، حيث أظهرت النتائج زيادة في مستوى الكلوتاريدوكسين 1 بوجود تركيز)5 ملي مول(في كل من: الباراسيتامول وحامض الميفيناميك والبنسلين، إلا أنه يتناقص في وجود التتراسيكلين والإيبوبروفين والأموكسيسيلين والسيفاليكسين والريمديسيفير والأزيثروميسين وكبريتات الفينكريستين، وتم العثور على أعلى معدل تثبيطي مع السيفالكسين والريمديسيفير

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

دراسة إنزيم كلوتاردوكسين 1 لدى مرضى سرطان الدم الحاد بنوعيه الليمفاوي والنقوي وعلاقته بالعوامل المؤثرة وبعض المتغيرات الكيموحيوية مع عزله من مصل الدم

سقيمة حربي يونس الشرفاني

رسالة ماجستير

الكيمياء/ الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ الدكتور لؤي عبد علي الهلالي

1446 هـ **2024 م**