



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

تقييم إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 وتنقيته جزئياً من مرضى
سرطان الغدة الدرقية الحليمي وعلاقته ببعض المتغيرات الكيموحيوية

عبدالعزیز غالب جمعة حسين

رسالة ماجستير

الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة إيمان عادل هادي الرمضان

الخلاصة

تضمنت الدراسة جزئين أساسيين وهما:

الجزء الأول:

تضمن الجزء الأول تقدير تركيز إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكليز-4، فضلاً عن قياس المتغيرات الكيموحيوية الأخرى في مصل دم كل من مرضى سرطان الغدة الدرقية الحليمي والأشخاص الأصحاء؛ إذ أجريت الدراسة على (130) نموذج مصل دم لأشخاص تتراوح أعمارهم بين (30-70) سنة ومن كلا الجنسين، (60) أنموذج منهم من المصابين بسرطان الغدة الدرقية من نوع سرطان الغدة الدرقية الحليمي الذين يراجعون مستشفى الأورام والطب النووي في مدينة الموصل والمُشخصين من أطباء متخصصين و(70) أنموذج لأصحاء (مجموعة الأصحاء)، كما تم تقسيم مجموعة المرضى والأصحاء حسب العمر إلى فئتين عمريتين وكانت الفئة العمرية الأولى (الأفراد ≥ 45 سنة) (سنة والثانية (الأفراد < 45 سنة) وكذلك تم تقسيم المرضى حسب مراحل مرض السرطان إلى مجموعتين.

أُخذت المعلومات من المرضى والأصحاء وتسجيلها في استمارة الاستبانة (الاسم، العمر، الطول، الوزن، الأمراض المزمنة الخ)، وبعد ذلك قيس مستوى بعض المتغيرات الكيموحيوية وتشمل قياس تركيز إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكليز-4 وهورمونات الغدة الدرقية (الهورمون المنشط للغدة الدرقية والثايروكسين وثلاثي يودوثيرونين) والثايروكلوبيولين والهورمونات الجنسية (الاستروجين والتستوستيرون) وفيتامين D و E وحامض اليوريك والكلوتاثايون وعوامل الأكسدة مثل المالونداي ألديهايد والبيروكسي نترت في مصل دم المرضى ومقارنتها مع مجموعة الأصحاء عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$.

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في تركيز إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكليز-4 (4.72 ± 0.487) نانوغرام/مل لدى مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة الأصحاء (3.351 ± 0.421) نانوغرام/مل، عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$.

كما بينت النتائج وجود ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ في مستوى المالونداي ألديهايد وبيروكسي نترت مقارنة مع مجموعة الأصحاء بينما كان هناك انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ في مستوى هورمونات (هورمون المنشط للغدة الدرقية والثايروكسين وثلاثي يودوثيرونين) والثايروكلوبيولين وفيتامين D3 والكلوتاثايون وفيتامين E وحامض اليوريك.

أظهرت نتائج الدراسة وجود ارتباط طردي معنوي بين كل من ثلاثي يودوثيرونين والثايروكسين وإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكليز-4 في مجموعة الأصحاء، بينما اقتصر هذا الارتباط على

التأثير وكسين فقط لدى المرضى بعد إجراء الاستئصال الجراحي، في المقابل، لوحظ ارتباط عكسي معنوي بين هورمون المنشط للغدة الدرقية وإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 في كلا المجموعتين. بينت النتائج أيضاً ارتباطاً طردياً معنوياً بين الإستروجين وإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 لدى الأصحاء والمرضى، وسُجل ارتباط طردي متوسط بين فيتامين D3 وإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 في المجموعتين.

أما بالنسبة لمضادات الأكسدة ومؤشرات الإجهاد التأكسدي، فقد لوحظ لدى مجموعة الأصحاء ارتباط طردي بين إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 وكل من فيتامين E والكلوتاثيون، مقابل علاقة عكسية مع المألونداي ألديهايد والبيروكسي نتريت، وحامض اليوريك، وفي مجموعة المرضى، استمر الارتباط الطردي مع فيتامين E، والعكسي مع MDA وحامض اليوريك.

الجزء الثاني:

تضمن عزل وتنقية إنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 من مصل دم المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية الحليمي باستخدام التقنيات الحياتية المختلفة التي تضمنت الترسيب بكبريتات الأمونيوم بنسبة تشبع (65%) والفرز الغشائي وكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستعمال هلام السيفاديكس (G75) وتقنية الهجرة الكهربائية الحاسوبية على هلام متعدد الاكريلاميد صوديوم دودسايل سلفيت، وقد ظهرت حزمتان بروتينيتان بتقنية الترشيح الهلامي، وتبين أن الحزمة البروتينية الثانية تمتلك تركيز لإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 أعلى من الحزمة البروتينية الأولى؛ إن تركيز النوعي لإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 في الحزمة الثانية هي (1.33) نانوغرام/ملغرام وبنسبة استعادة بلغت (44%).

كما حدد الوزن الجزيئي التقريبي لإنزيم الكاينيز المعتمد على السايكلين-4 المعزول والمنقى من مصل دم المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية الحليمي وكان بحدود (34,085) دالتون تقريباً باستخدام تقنية الترشيح الهلامي، و (35,500) دالتون باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية.

Summary

The study included two main parts as follows:

Part One:

The first part included the measurement of Cyclin-4-dependent kinase (CDK4) levels, in addition to other biochemical variables in the serum of patients with papillary thyroid carcinoma (PTC), as well as in the serum of healthy individuals. The study was conducted on 130 serum samples from individuals aged 30–70 years, including 60 samples from patients diagnosed with PTC, who attended the Oncology and Nuclear Medicine Hospital in Mosul and were diagnosed by specialized physicians, and 70 samples from healthy individuals (control group). Both patient and control groups were divided according to age into two groups: ≤ 45 years and > 45 years. Moreover, patients were further stratified according to the stages of cancer into two subgroups.

Information was collected from patients and healthy individuals and recorded in the questionnaire form (name, age, height, weight, chronic diseases, etc....). After that, the levels of some other biochemical variables were measured, such as the concentration of the cyclin-4-dependent kinase enzyme, thyroid hormones (TSH, T3, T4), thyroglobulin, sex hormones (estrogen and testosterone), vitamins D and E, uric acid, glutathione, and oxidative factors such as malondialdehyde and peroxynitrite in the serum of the patients and compared with the healthy control group at a probability level of $p \leq 0.05$.

The results showed a significant increase in the concentration of the CDK4 (4.72 ± 0.487 ng/mL) in the patient group compared to the healthy group (3.351 ± 0.421 ng/ml), at $p \leq 0.05$. Significant increases were also observed in MDA and peroxynitrite in patients, whereas significant decreases were observed in TSH, T4, T3, thyroglobulin, vitamin D3, glutathione, vitamin E, and uric acid at $p \leq 0.05$.

A significant positive correlation was observed between T3, T4, and CDK4 in healthy controls, whereas in patients after surgical resection, this correlation was limited to T4 only. Conversely, a negative correlation was found between TSH and CDK4 in both groups. Results also indicated a significant positive correlation between estrogen and CDK4 in both patients and controls, as well as a moderate positive correlation between vitamin D3 and CDK4 in both groups.

Regarding antioxidants and oxidative stress indicators, healthy individuals exhibited a positive correlation between CDK4 and vitamin E and glutathione, and a negative correlation with MDA, peroxynitrite, and uric acid. In patients, the positive correlation with vitamin E persisted, whereas negative correlations with MDA and uric acid were observed..

Part two:

The second part involved the isolation and purification of CDK4 from the serum of papillary thyroid carcinoma (PTC) patients using various biochemical techniques, including ammonium sulfate precipitation at 65% saturation, dialysis, gel filtration chromatography using Sephadex G75, and SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis). Two protein bands were detected via gel filtration, with the second band exhibiting a higher specific activity of CDK4 than the first. The specific concentration of CDK4 in the second band was 1.33 ng/mg with a recovery percentage of 44%.

The approximate molecular weight of purified CDK4 from patient serum was determined to be 34,085 Da by gel filtration and 35,500 Da by SDS-PAGE.

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



Evaluation of Cyclin-4- Dependent Kinase and Its Partial Purification From Papillary Thyroid Cancer Patients and Its Relationship to Some Biochemical Variables

**M.Sc. Thesis Submitted by
Abdulazez Ghalib Jumaa Hussein**

**M.Sc. Thesis in
Chemistry / Biochemistry**

**Supervised by
Assistant professor Dr. Eman Adil Hadi Al-Ramaddan**