دراسة سريرية لأنزيم السايتدين دي أمينيز في مصل مرضى السرطان وفقر دم البحر المتوسط والسكري

زهراء محمد علي احمد حمودات
قسم الكيمياء / كلية العلوم
جامعة الموصل

الاستلام	القبول
2008 / 11 / 26	2009 / 04 / 06

ABSTRACT

This research included a clinical study of cytidine deaminase activity in serum, which included of seven types of cancer patients involve larynx, lung, renal, bladder, sarcoma, prostate and seminomia and Thalassemia patients as well as, diabetes patients. The result showed through (115) cases of cancer patients an increase with a significant difference ($P \leq 0.0001$) of activity enzyme compared with (50) of healthy control, alsow to be found increase for enzyme activity in (50) cases of thalassemia patients by significant difference ($P \leq 0.05$) compared with healthy control, while to exist decrease by significant difference ($P \leq 0.001$) in (70) cases of diabetes patients for two types of disease diabetes (Insulline dependent and non insulline dependent) compared with control.

In addition to study of influence age and sex for healthy and patients on cytidine deaminase activity, that to find out decrease significant in advanced in years of healthy control, where as an increase activity of enzyme in males of patients larynx and lung cancer.

الملخص

تضمن البحث دراسة سريرية لانزيم السايتدين دي امينيز والتي اشتملت على سبعة أنواع من مرضى السرطان وهي الحنجرة والرئة والكلية والمثانة والسرقوم والبروستات والخصى، ومرضى فقر دم البحر المتوسط ومرضى السكري، اذ ظهر ومن خلال (115)

حالة مرضية مصابة بالسرطان ارتفاع معنوي لفعاليـة الانـزيم عنـد مـستوى الاحتماليـة ($P\leq0.0001$) عند مقارنتها مع (50) حالة لأشخاص أصحاء، كما لـوحظ ارتفـاع معنـوي لفعالية الانزيم ولـ (50) حالة من فقر دم البحر المتوسط عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$) مقارنة مع الأصحاء ، في حين وجد انخفاض معنوي عند مـستوى الاحتماليـة ($P\leq0.001$) لمرضى السكري ولـ (70) حالة وكلا النوعين من المرضى المعتمدين على الأنسولين وغير المعتمدين على الأنسولين ، فضلا عن ذلك درس تأثير عامل العمر والجـنس علـى فعاليـة الانزيم للأصحاء والمرضى، اذ لوحظ انخفاض معنوي في فعالية الانزيم لكبار الـسن عنـد الأصحاء في حين ظهر ارتفاع معنوي لفعالية الانزيم لذكور مرضى سرطان الحنجرة والرئة.

المقدمة

السايتدين دي امينيز من الانزيمات الواسعة الانتشار في الأحياء المجهرية، النباتـات، الحيوانات والإنسان[1-3]، ويختلف باختلاف مصدره من ناحية الخواص الحركية[4-7].

يقوم أنزيم السايتدين دي امينيز بتحفيز الإزالة الامينية للسايتدين منتجـاً اليـوردين، ويسمى أيضا بانزيم السايتدين امينو هيدروليز[8-10].

كما تم التعرف على فعالية الانزيم في مختلف أنسجة اللبائن مثل الرئة والثدي والكلية والدماغ والخلايا اللمفاوية[11-12]، اذ يعد هذا الانزيم مرشـداً ودلـيلاً للمؤشـرات الورميـة (Tumar markers)، فقد وجد في دراسات سابقة ان فعاليته تـزداد بنـسبة ملحوظـة فـي مرضى السرطان[13-15]. لذا اتجه الباحثون في دراسة هذا الانزيم وقياس فعاليته لاسيما بعدما وجدوا ما يسمى المتشابهات (analogues) وهي عملية استبدال مادة الأساس التي يعمل عليها الانزيم واستخدام مواد أساس أخرى تعمل على تثبيط فعاليتـه مثـل أرابينـوس سايتوسـين (arabinose cytosine,Arac) و5-سايتدين منقوص الأوكسجين (5-azadeoxycyticine) و2-2-ثنائي سايتدين منقـوص الأوكـسجين (2,2-Difluoro deoxycytidine) والتـي تستخدم علاجات كيمياوية (Chemotherapy) لبعض الحالات السرطانية[16,11,10].

المواد وطرائق العمل

الحالات الطبيعية والمرضية

تضمنت الدراسة قياس الفعالية النوعية لإنزيم الـسايتدين دي امينيـز فـي المـصل لاشخاص أصحاء، إذ بلغ عدد الحالات الطبيعية (50) حالة شملت كلا الجنسين (25 ذكر، 25 أنثى) تراوحت أعمارهم بين (3-80) سنة.

كما قيست الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم المرضى ومقارنته بالأصحاء إذ بلغ عدد الحالات المرضية (235) حالة، تضمنت (50) حالة إصـابة بفقـر دم

البحر المتوسط (الثلاسيميا ،Thalassemia) و(70) حالة إصابة بداء السكر و (115) حالـة إصـابة بمـرض الـسرطان اشـتملت علـى (16) حالـة إصـابة بـسرطان الحنجـرة (Larynx cancer) و (17) حالة إصابة سرطان الرئـة (Lung cancer) و (17) حالـة إصـابة بـسرطان الكليـة (Rend cancer) و (18) حالـة إصـابة بـسرطان المثانـة (Bladder cancer) و(16) حالة إصابة بسرطان السرقوم (وهو مرض خبيـث ينـشأ فـي النسيج الضام Sarcoma) و (16) حالة اصابة بسرطان البروسـتات (Prostat cancer) و (15) حالة إصابة بسرطان الخصى (Seminoma cancer) وذلك بعد التشخيص الدقيق من جانب الأطباء الاخصاصيين بالمرض، وكانت جميع الحالات المرضية في اثناء المعالجة، وقد دونت المعلومات الخاصة بالمرضى وفق استمارة الاستبيان المعدة لهذا الغرض، كما تم جمع الدم الوريدي في أنابيب نظيفة وجافة وخالية من موانع التخثر وتم فصل مصل الدم، وحفـظ في درجة حرارة (-20 ^{o}C) في المجمدة لحين إجراء القياسات وأهملت عينة الدم المتحللة في جميع الفحوصات وخصوصاً في قياس فعالية الانزيم.

قياس فعالية انزيم السايتدين دي امينيز:

تم قياس فعالية انزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم الأصحاء والمرضى اسـتناداً إلى الطريقة اللونية[8] والمعتمدة على تحديد كمية الامونيا الناتجة وعند طول مـوجي (590) نانوميتر باستخدام كاشف بيرثيلوت (Berthelot)، وتم التعبير عن الفعالية النوعية للسايتدين دي امينيز بنانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة /ملغم بـروتين، وبـالرجوع إلـى المنحني القياسي لكبريتات الامونيوم.

قياس البروتين الكلي:

تم قياس البروتين الكلي بطريقة بايوريت[17]

التحليل الاحصائي:

حللت النتائج احصائيا مقارنة بين مجموعتين باستخدام اختبار (t-test)، وعدت النتائج معنوية عند مستوى ($P \leq 0.05$)[18] .

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج ان الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز وبوحدة نانومول مـن السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين في مصل دم الأصحاء كانـت مـساوية إلـى (11.90± 2.15).

كما درس تأثير عامل الجنس والعمر على فعالية الانزيم للأصحاء، حيث وجد انـه لا يوجد تأثير لعامل الجنس على فعالية الانزيم وكما موضح بالجدول (1)، فـضلاً عـن تـأثير العمر على فعالية الانزيم للفئات العمرية الثلاثة (≤18 و 19-39 و 40≤) حيـث أظهـرت النتائج الإحصائية وكما مبين في الجدول (2) ان فعالية الانزيم تقل بتقـدم العمـر اذ يلاحـظ انخفاض معنوي عند الفئة الثالثة، وربما يعزى السبب في ذلك ان خلايا الإنسان وبتقدم العمر تكون في مرحلة الهدم أكثر مما هي في البناء مما يؤدي إلى قلة فعالية انـزيم الـسايتدين دي امينيز الذي يدخل في مسار الدي نوفو(De novo) في بناء الخلية[19-21].

جدول (1): الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم الأصحاء حسب الجنس

الجنس	* الفعالية النوعية
	المعدل ± الخطأ القياسي
الإناث	1.89±11.25
الذكور	1.95 ± 12.53

* الفعالية النوعية: نانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين

جدول (2): الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم الأصحاء حسب العمر

الفئات العمرية (سنة)	* الفعالية النوعية
	المعدل ± الخطأ القياسي
≤18	1.19 ±13.45
19-39	0.96 ± 12.13
≥40	**0.75± 9.4

* الفعالية النوعية: نانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين

** تشير إلى فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.05$) .

وتشير النتائج الإحصائية وكما هو مبين في الشكل (1) إلى وجود ارتفاع في فعاليـة الانزيم (CDA) مقارنة مع الأصحاء وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$) فـي مصل دم المرضى المصابين بمرض فقر دم البحر المتوسط (Thalassemia) حيث كانـت مساوية إلى (3.12 ± 17.26) وهذا يتفق مع نتائج الباحثين[22-24] ويعزى السبب في زيـادة فعالية الانزيم لمرضى الثلاسيميا إلى الزيادة في معدل سرعة تحلل كريات الدم الحمر غيـر المكتملة العمر مما يؤدي الى تسرب محتوياتها من الانزيمات إلى المصل ومن ثم بالتالي إلى زيادة فعالية الانزيم في المصل[25].

أيضاً تشير النتائج وكما موضحة بالشكل (1) إلى وجود ارتفاع فعالية الانـزيم فـي مصل دم مرضى السرطان مقارنة مع الأصحاء وبفرق معنـوي عنـد مـستوى الاحتماليـة ($P\leq0.0001$) وللأنواع السبعة حيث كانـت الفعاليـة النوعيـة لـسرطان الحنجـرة هـي (2.4 ± 22.18) وسرطان الرئة (3.01 ± 26.0) وسرطان المثانة (5.1 ± 24.18) وسرطان السرقوم (Sarcoma) (4.3 ± 24.89) وسرطان البروسـتات (1.21 ± 17.3) وسـرطان الخصى (3.35 ± 22.55) وهذه النتائج تتفق مع الأدبيات[15,26] إذ سجلوا ارتفاعاً عالياً فـي فعالية انزيم السايتدين دي امينيز في أمراض السرطان منهـا سـرطان المعـدة (Gastric cancer) وتتفق أيضاً مع نتائج الباحثين[14,27-29] الذين سجلوا زيادة في فعالية الانـزيم فـي ورم الدماغ (Brain tumer) وسرطان المبيض (Ovarian cancer) وسـرطان اللمفـاوي (Hodgkin’s Lymphoma, HD) ومرض ابيضاض الدم (Leukemia). وقد يعزى سبب الزيادة إلى عدة أسباب منها وجود أجسام مـضادة ذاتيـة (autoantibodies) او مركبـات مناعية أو بسبب وجود مستضدات معينة وهذه العوامل ربما تعمل على تسرب انزيم السايتدين دي امينيز او قد يعزى السبب إلى تحطم خلايـا B أو T (B or T cells) والتـي تـزداد بصورة رئيسة في هذا المرض او بسبب تأثير بعض الأدوية المعالجة[25,30]، فضلاً عن ذلك فان تسرب انزيم السايتدين دي امينيز من جدران الخلايا المحطمة قد يعود إلـى سـبب قلـة توفر مضادات الأكسدة التي لها علاقة مع مرض السرطان[31,32] .

ويظهر الشكل (1) أيضاً وجود انخفاض في فعالية الانـزيم (CDA) مقارنـة مـع الأصحاء وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P\leq 0.001$) في مصل مرضى المـصابين بـداء الـسكر حيـث كانـت (0.91 ± 6.78)، وقـد يعـود سـبب الانخفـاض إلـى غياب أنواع من الامينو كلوبين او بسبب تأثير الأدوية المعالجة [33,34]. كما لم يلاحظ وجـود أي فرق معنوي في فعالية الانزيم (CDA) بين مرضى السكري المعتمدين على الانـسولين ومرضى السكري غير المعتمدين على الانسولين وكما هو موضح بالجدول (3) حيث كانـت

(0.83 ± 6.8) و (2.1 ± 6.74) لكل من مرضى السكري المعتمدين على الانسولين وغير المعتمدين على الانسولين على التوالي.

جدول (3): الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم مرضى السكري

مرض السكري	* الفعالية النوعية
	المعدل ± الخطأ القياسي
مرضى السكري المعتمدين على الانسولين	0.31±6.825
مرضى السكري غير المعتمدين على الانسولين	0.21 ± 6.74

* الفعالية النوعية: نانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين

وقد درس تأثير عامل الجنس والعمر على فعالية انزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم المرضى، إذ يظهر وكما مبين بالجدول (4) انه لا يوجد تأثير معنوي لعامل الجنس على فعالية الانزيم في مصل مرضى المصابين بالثلاسيميا وداء السكر، على حين وجد ارتفاع في فعالية الانزيم في الذكور أعلى مما في الإناث وبفرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P\leq 0.001$) في مرضى سرطان الحنجرة (Larynx cancer) وسرطان الرئة (Lung cancer) ويعزى السبب في ذلك إلى ان نسبة التدخين في الذكور أعلى مما في الإناث والذي يكون له دور في هذا المرض خاصة ان معظم عينات الذكور التي جمعت كانوا مدخنين اذ يحصل للمدخنين انخفاض في مستوى مضادات الأكسدة غير الانزيمية ومنها الكلوتاثايون ومضادات الأكسدة الانزيمية مثل كلوتاثايون بيروكسيديزوسوبراوكسيد دسميوتيز (Superoxide dismutase) حيث تنخفض هذه المضادات في مرض السرطان[35-38].

جدول (4): الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم المرضى حسب الجنس

الجنس	* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى السرطان (Cancer)							* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى الثلاسيميا (Thalassemia)	* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى السكري (Diabetes)
	سرطان الخصى (Seminoma cancer)	سرطان البروستات (Prostat cancer)	سرطان السرفوم (Sarcoma)	سرطان المثانة (Bladder cancer)	سرطان الكلية (Rend cancer)	سرطان الرئة (Lung cancer)	سرطان الحنجرة (Larynx cancer)		
	المعدل ± الخطأ القياسي								
الإناث	- - - -	- - - -	1.56±25.52	1.49±22.91	1.1±24.6	0.19±24.6	0.2±15.1	1.92±16.61	0.48±6.38
الذكور	2.65±22.55	1.69±17.3	2.38±24.1	1.89±24.18	1.3±22.9	0.45±26.0****	0.73±27.73****	2.1±17.49	0.90±7.24

* الفعالية النوعية: نانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين

** يشير الى فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.05$)

*** يشير الى فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.01$)

**** يشير الى فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.001$)

اما عامل العمر فقد لوحظ انه لا يوجد تأثير لعامل على فعالية الانزيم في مصل مرضى المصابين بالثلاسيميا والسرطان وداء السكر وكما مبين بالجدول (5).

جدول (5): الفعالية النوعية لانزيم السايتدين دي امينيز في مصل دم المرضى حسب العمر

الفئة العمرية (سنة)	* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى السرطان Cancer patients							* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى الثلاسيميا (Thalassemia)	* الفعالية النوعية للانزيم في مرضى السكري (Diabetes)
	سرطان الخصى (Seminoma cancer)	سرطان البروستات (Prostat cancer)	سرطان السرقوم (Sarcoma)	سرطان المثانة (Bladder cancer)	سرطان الكلية (Rend cancer)	سرطان الرئة (Lung cancer)	سرطان الحنجرة (Larynx cancer)		
	المعدل ± الخطأ القياسي								
18≤	----+	----+	----+	----+	----+	----+	----+	**0.57±15.35**	**0.01±7.43**
39-19	**0.8±22.65**	**0.71±16.90**	**0.31±23.90**	**0.11±25.90**	**0.52±22.51**	**0.2±25.01**	**0.02±27.46**	**0.22±15.8**	**0.19±7.78**
40≤	**0.71±20.41**	**0.61±15.59**	**0.49±25.17**	**0.19±23.15**	**0.35±21.9**	**0.35±26.0**	**0.12±25.21**	++**----**	**0.07±6.85**

* الفعالية النوعية: نانومول من السايتدين المزال منه الامين/دقيقة/ملغم بروتين

+ تم جمع عينات مرضى السرطان (≤19) سنة

++ تم جمع عينات مرضى الثلاسيمياء (1-33) سنة

المصادر

1) Madigan M.; Martinko J. and Parker J. "Brock biology of microorganisms", 9th ed.,Prentice Hall,Upper saddle Riverm, N. J. (2000).

2) Smith, A.; Carlow, D.; Wolfenden, R. and Short, S., J. Biol. Chem., 33 (21): 6468-6474(1994).

3) Vita, A.; Amici, A.; Cacciamani, T.; Lanciotti, M. and Magni, G. Biochem., 24(21):6020-6024, (1985).

4) Katsuragi, T; Sonoda; T.Matsumoto; K. Sakai, T. and Tonomura, K., Agric. Biol.Chem., 53(5):1313-1319, (1989).

5) Yu T. S., Sakai T. and Omata S., Agric. Biol. Chem., 40(3):543-549 (1976,a).

6) Yu T. S., Sakai T. and Omata S., Agric. Biol. Chem., 40(3):551-557 (1976,b).

7) Kream J. P. and Chargaff, E., J. Am. Chem. Soci., 74:5157-5160, (1952).

8) Hammodate, Z. M. A., Raf. Sci., 1(18): 51-63,(2007).

9) Alta'ee, A. H. and Ewadh, M. J., National J. Chem., 11:484-489, (2003).

10) Laliberte, J.; Momparler, R. L., Cancer Res. 54:5401-5407, (1994).

11) Eliopoulos, N.; Bovenzi, V.; Le, N. L. O.; Momparler, L. F.; Greenbaum, M.; Letoumeau, S.; Coumyer, D. and Momparler, R. L., Gene Therapy, 5: 1545-1551, (1998).

12) Mansson, B.; Geborek, P.; Saxne, T. and Bjornsson, S., Ann. J. Rheum. Dis., 49: 594, (1990).

13) AL-Abachi, S. Z., Hammodat, Z. M. A., The 5th Scientific conference, Collge of Nursing, University of Mosul: 126-135, (2008).

14) Al-Abachi, S. Z., Ph. D. Thesis, College of Science, University of Mosul, (2006) (In English).

15) Miwa, M.; Ura, M.; Nishida, M.; Sawada, N.; Ishikawa, T.; Mori, K.; Shimma, N.; Umeda, I. and Ishitsuka, H., Eur. J. Cancer, 34:1274-1281, (1998).

16) Eda, H.; Ura, M.; Ouchi. K. F.; Tanaka, Y.; Miwa, M. and Ishitsuka, H. Cancer-Res., 58:1165-1169, (1998).

17) Crandall, G. D., "Biochemistry Laboratory". New York, Oxford University Press: 29, 83, (1983).

18) Steel, R. G. and Torrie, J. H. "Principles and procedures of statistics". 2nd ed. McGraw-Hill Company, Inc. London. (1990).

19) Lehninger, A. L., "Principles of Biochemistry". 4th ed., by W. H. Freeman and Company, New York: 184-208, (2005).
20) Zubay, G. "Biochemistry". 3th ed., W. C. Brown communications, Inc., USA. (1993).
21) Henderson, J. F., Paterson, A. R. P. "Nucleotide Metabolism Antiroduction". Academic Press. (1973).
22) Kobayashi, F.; Ikeda. T.; Marumo. F., and Sato. C., Am. .J. Gastroenterol, 88:266-271, (1993).
23) Chottiner, E. G., Cloft, H. J., Tartaglia, A. P. and Mitchel, B. S., Clin. Invest. 49: 1001-1005, (1987).
24) Hamill, S. and Tritsch, G. L. J.Med.7: 227-232, (1976).
25) Davidson's "Principles and practice of medicine", 19th ed., International editor, Toronto: 214-218, (2002).
26) Durak I.; Cetin R.; Canbolat O.; Cetin D. and Yurtarslani Z., Cancer Lett., 84(2): 199-202, (1994).
27) Alta'ee, A. H., Thesis, College of Science, University of Babylon, (2003) (In English).
28) Mc Mahon L. Paul J. and Kaye S., European society for Medical Oncology, Annals of Oncol.,11(4):84, (2000).
29) Rothman I.; Malathi V. and Silber R., Cancer-Res., 31:174-276, (1971).
30) Martino M. M. and Martino R. M., The Oncologist, 7(4): 288-323, (2002).
31) Pazdur, R.; Coia L. R.; Hoskins, W. J. and Wagman, L. D. "Cancer management: A multidisciplinary approach". 8th ed., CMP Health Care Media: 484-489, (2004).
32) Brown N.; Jones A.; Fujiyama Ch.; Harris A. and Bicknell R., Cancer Res., 60(15): 6298-6302, (2000).
33) Quartier Pierre, Jacinta Bustamante, Ozde Sanal, Alessandro Plebari, Clinlmmunol, Jan; llocl: 9-22, (2004).
34) Revy, P.; Muto, T.; Levy, Y.; Gennery, A., and Forveille, M., Nature, 17; 422(6933): 726-730, (2003).
35) Jankeer Muna, H., AL-Jebouri Mohammad, E., Taha Intsar, G. The 5th Scientific conference, College of Nursing, University of Mosul :127-139.
36) Dietrich, M.; Block, C.; Hudes, M.; Morrow, J.; Norkus, E. and Packer J., Can. Epidem Biomar.,11(5): 501-506, (2002).
37) Ishii, I. Teramoto S., Ouch, Y. and Matsuse, S. J. Physiol. Lung Cell Mol., 280, 280(6): 1189-1195, (2001).
38) Pryor, W. A.,Cancer., 55(Suppl 8):10,(1987).