



جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

## تأثير تغايرات في جين *ND1* و *BRAF* و بعض المعايير الفسلجية في مرضى سرطان الغدة الدرقية

رسالة مُقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الحياة - علم الحيوان

كُتبت بواسطة

حوراء عبد الحميد محسن

بكالوريوس علوم حياة 2020 / جامعة كربلاء

بإشراف

أ.م.د. زينب نزار جواد

الإشراف الثاني

أ.م.د. هبة علوان عبد السلام

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا يَفْسَحِ اللَّهُ لَكُمْ ۗ وَإِذَا قِيلَ  
انشُرُوا فَاَنْشُرُوا يَنْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۗ وَاللَّهُ بِمَا  
تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ)

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة - الآية 11

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة (تأثير تغايرات في جين *NDI* و *BRAF* و بعض المعايير الفسلجية في مرضى سرطان الغدة الدرقية) قد جرت تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة/ فرع الحيوان.



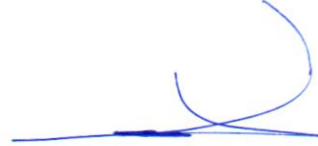
التوقيع :

الاسم : أ.م.د. زينب نزار جواد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء

التاريخ: 7 / 12 / 2023



التوقيع :

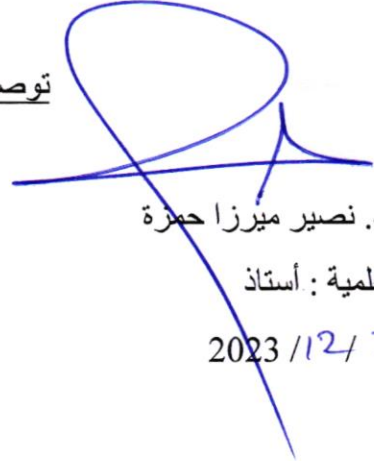
الاسم : أ.م.د. هبة علوان عبد السلام

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء

التاريخ: 7 / 12 / 2023

توصية رئيس قسم علوم الحياة



التوقيع :

الاسم : أ.د. نصير ميرزا حمزة

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: 7 / 12 / 2023

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (تأثير تغيرات في جين *NDI* و *BRAF* و بعض المعايير الفسلجية في مرضى سرطان الغدة الدرقية قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية و بذلك اصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الاسلوب و صحة التعبير .

التوقيع :

الاسم : د. مسلم مالك السدي  
المرتبة العلمية : استاذ  
العنوان : كلية العلوم الإسلامية  
التاريخ: 2023 / 12 / 7

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد إطلعنا على الرسالة الموسومة : ( تأثير تغيرات في جين *ND1* و *BRAF* وبعض المعايير الفسلجية في مرضى سرطان الغدة الدرقية) المقدمة من قبل الطالبة ( حوراء عبد الحميد محسن خصاف) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الحياة / علم الحيوان ، وبعد إجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير ( امتياز ).

عضو لجنة المناقشة


التوقيع : 

الاسم: أ.د. لقاء حسون صكبان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: 2023 / 12 / 7

رئيس لجنة المناقشة


التوقيع : 

الاسم: أ.د. رشا عبد الامير جواد

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: 2023 / 12 / 7

المشرف

التوقيع : 

الاسم: أ.م.د. زينب نزار جواد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ: 2023 / 12 / 7

عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم: أ.د. رند محمد عبد الحسين

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: 2023 / 12 / 7

المشرف

التوقيع : 

الاسم: أ.م.د. هبة علوان عبد السلام

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ: 2023 / 12 / 7

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :

الإسم : أ.د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: 2023 / 12 / 20

## الإهداء

الى حبيبي رسول الله صلى الله عليه وآله وسلم . . .

الى سيد قلبي المحاضر وأميري المنتظر إمام نرمانى محمد المهدي أقر الله بحياه عيوني . . . .

الى الأب الحنون عبد الحليم محسن مَرَحْمَةُ اللهِ . . .

الى أحلى ما أهداني الله . . وطني الصغير وملجأى الآمن عائلتي الحبيبة (متكأى أبى ، ملجأى امي ،

أحبائي اخوتي ومرفيق دريبي ) . .

الى كل الأصدقاء والنزملاء اللذين كانت لهم الوقفة المشرفة معي . .

الى كل من ساندني بالدعاء والحرف والايماة لإتمام هذه الرسالة . . .

أهدي جهدي . . .

حوراء

## شكر وتقدير

قال تعالى : { لَئِنْ شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ } سورة ابراهيم - الآيه 7

الحمد لله تعالى بجميع محامده كلها على جميع نعمه كلها حتى ينتهي الحمد الى ما يحب ربنا ويرضى حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه ، الحمد لله الذي تصاغر عند تعاطم الأئمة شكري وتضاءل في جنب إكرامه إياي ثنائي ونشري خالق اللوح والقلم وخالق الخلق من العدم ، الحمد لله الذي بعزته وجلاله تتم الصالحات ملء الارض و السماوات على ما أكرمني به من إتمام هذه الدراسة التي أرجو أن تنال رضاه و تنفع عباده كما ينبغي لجلال وجهه الكريم. أود أولاً أن اتقدم بجزيل شكري و امتناني الى مقام النور و خاتم الأطهار بقية الله سيدي المأمول المنتصر بإذن الله صاحب العصر والزمان الإمام الحجة المنتظر كونه لم يذرنى لحظة واحدة فكان رفيق مناجاتي يجسد لي الحلول و يسخر لي الأحياء والجمادات ، يمسح دوماً بيده الحنونة على قلبي القلق فيطمئنه أبي الحنون المعين الذي أعجز عن مجازاة فضائله و عطاياه غير المنقطعة ،سائلة الله تعالى أن يفرج عنا به ويعجل لنا في ظهوره الشريف و يطهر الأرض و قلوبنا برويته.

ويطيب لي أن اتوجه بجزيل الشكر والامتنان الى استاذتي و مشرفتي الاستاذ المساعد الدكتورة زينب نزار جواد لإقتراحها موضوع البحث و متابعتها الدائمة و حرصها الشديد و توجيهاتها السديدة طيلة فترة دراستي حتى إتمام هذه الرسالة و أسأل الله العلي القدير ان يمدّها بالصحة والعافية والتوفيق الدائم في مسيرتها التدريسية خدمةً للعلم . كما و يسعدني أن اشكر استاذتي و مشرفتي الاستاذ المساعد الدكتورة هبة علوان عبد السلام لتقديمها الملاحظات القيّمة و مساعدتها غير المشروطة و دعمها الدائم طيلة فترة دراستي و أسأل الله تعالى لها مزيداً من النجاح والابداع في مسيرتها التدريسية .

كما أتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة و منتسبيها و أخص بالذكر استاذتي جميعاً في قسم علوم الحياة لدعمهم المستمر و مساندتهم الدائمة سائلة الله تعالى لهم دوام التوفيق و النجاح و أخص منهم الاستاذ الدكتور نصير ميرزا حمزة رئيس قسم علوم الحياة لما أولاه من رعاية خاصة و طيب مشهود لطلبة الدراسات العليا جزاه الله خير الجزاء خدمة للمسيرة العلمية .

كما وأقدم شكري و امتناني الى منتسبي مؤسسة وارث الدولية لعلاج الاورام في كربلاء المقدسة و أخص بالذكر الانسانيّ الرائع الاستاذ الدكتور حيدر حمزة العابدي رئيس هيئة الصحة والتعليم الطبي في العتبة الحسينية المقدسة لتقديمه الدعم الدائم و التوجيه بمساعدتي و تذليله كل الصعوبات وتهوينها سائلة الله تعالى له دوام الصحة والعافية و المزيد من التآلق و الإبداع . و أود أن اشكر جميع المرضى و المتطوعين من الأصحاء

الذين وافقوا على سحب الدم و تقديم معلوماتهم الشخصية اللازمة لإنجاز هذه الرسالة و أسأل الله ان يمن عليهم بالصحة والعافية و يتغمد من توفى منهم بواسع رحمته . كما أحب أن اشكر عائلتي جميعاً لما تكبدوه من عناء طيلة فترة دراستي و لما قدموه من دعم معنوي و مساندة و فقههم الله لكل خير و أشكر كل من ساعد في إتمام هذا البحث و قدم لي العون و مد يد المساعدة و زودني بالمعلومات اللازمة لإتمام هذا البحث أخص بالذكر اخي الطيب الشيخ الاستاذ **علي جبار العقيلي** وفقه الله وسدد خطاه و الأخ الاستاذ **مصطفى عبد الحسين** وفقه الله لكل خير.

حوراء



تهتم الدراسة الحالية بالكشف عن دور أعداد نسخ الحامض النووي المايتوكونديري لجين *NADH / ubiquinone oxidoreductase 1 (NDI)* و طفرات الجين *BRAF* لدى مرضى سرطان الغدة الدرقية كونها من الجينات المهمة والمؤثرة في حدوث الإصابة بالأمراض ومنها السرطانات كما في سرطان الغدة الدرقية كما تمت دراسة بعض عوامل الخطورة مثل الجنس و التاريخ العائلي للإصابة بالمرض و التدخين و العمر وارتفاع ضغط الدم لمعرفة تأثيرها على الإصابة بسرطان الغدة الدرقية.

تناولت الدراسة أيضاً بعض المعايير الفسلجية و الهرمونية لمجموعتي المرضى والأصحاء لبيان أهميتها في تشخيص المرض وهي قياس مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) Thyroid- stimulating hormone و هرمونات الغدة الدرقية (T3) Triiodothyronine ، Thyroxin (T4) ، calcitonin ومستويات مضادات الأكسدة الجلوتاثيون glutathione ودرست العلاقة بين سرطان الغدة الدرقية و الإجهاد التأكسدي المستضد السرطاني المضغي CEA carcinogenic embryonic antigen و المانول داي الديهايد MDA Malondialdehyde و جُمعت العينات الخاصة بهذه الدراسة من 50 مريض مصاب بسرطان الغدة الدرقية من مراجعي مؤسسة وارث لعلاج الأورام في محافظة كربلاء المقدسة بعد التشخيص وقبل الجراحة و 50 شخص من الأصحاء مظهرياً كمجموعة سيطرة للفترة ما بين 1 أيلول 2022 ولغاية 1 كانون الأول 2022.

تم استخلاص الـ Deoxyribose nucleic acid (DNA) من الدم لمجموعتي المرضى والأصحاء وأجري الكشف الجزيئي عن أعداد نسخ الحامض النووي المايتوكونديري للجين *NDI* مقارنة مع الجين الطبيعي (*HGB* (Housekeeping gene) و طفرات الجين *BRAF* باستخدام (REAL TIME PCR) (QPCR) و Sequencing إذ اظهرت نتائج الكشف الجزيئي في جين *NDI* بالمقارنة مع الجين الطبيعي *HGB* ارتباط معنوي عالي عند مستوى المعنوية ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بالنسبة لتحليل cycle CT threshold بين المصابين بسرطان الغدة الدرقية والأصحاء منه ، كما تم تحديد تتابع القواعد النيروجينية في جين الدراسة *BRAF* والمضخم بواسطة الـ PCR و قورنت النتائج مع البيانات التي تم الحصول عليها من Gene bank باستخدام موقع (NCBI Blast) في موقع (NCBI) Gene bank National Center for Biotechnology Information وكان عدد العينات 5 للمرضى مقابل عينة سيطرة واحدة لكلا شريطي الـ DNA الامامي والخلفي (Forward & Reverse) إذ تم اكتشاف اثنين من التعددات الشكلية الـ single nucleotide poly-morphisms (SNPs) و كان التعدد الشكلي الاول rs2128998351 في

الموقع (A113G) بإستبدال الأدينين بالجوانين وكان التغير في ثلاثة عينات و ذو طراز وراثي متباين الزيجة heterozygous ، و التعدد الشكلي الثاني مفرد النيوكليوتيد (SNPs) هو rs2128998142 في الموقع T164A باستبدال الثايمين بالأدينين وكان التغير في عينتين بطراز وراثي متباين الزيجة heterozygous اذ أظهرت هذه الدراسة أن الـSNP كان مرتبطا بالمرض المستهدف بسبب وجوده في عينات من المرضى لم تلاحظ في عينات الاصحاء ، ولم تربط أي دراسة سابقة هذين الـSNPs مع سرطان الغدة الدرقية في العراق.

كما اشارت النتائج الحالية الى وجود علاقات مختلفة بين العوامل المدروسة اذ اظهرت فروقات ذات دلالة احصائية عند مستوى المعنوية ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) للجنس والتدخين والعمر مع الاصابة بسرطان الغدة الدرقية بينما لم تظهر علاقة للتاريخ العائلي و ارتفاع ضغط الدم مع الاصابة بالمرض ، كما اوجدت الدراسة ارتفاع في مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH و هرمونات الغدة الدرقية -T3-T4 (calsitonin) في الدم بمقارنتها مع مجموعة الاصحاء اذ كانت أعلى بكثير مما لدى المرضى ، كما و تمت دراسة مستويات مضادات الأكسدة (الجلوتاثيون) ووجد انخفاض في مستوياته ودرست العلاقة بين سرطان الغدة الدرقية و الإجهاد التأكسدي (المستضد السرطاني المضغي والمانول داي الديهايد) اذ لوحظت زيادة في مستويات الإجهاد التأكسدي بما في ذلك مستضد السرطاني المضغي والمانول داي الديهايد.

قائمة المحتويات		
رقم الصفحة	اسم الموضوع	التسلسل
I	الآية	
II	الإهداء	
III- IV	شكر وتقدير	
V-VI	الخلاصة	
VII-X	قائمة المحتويات	
XI	قائمة الجداول	
XII	قائمة الاشكال	
XIII-XIV	قائمة المختصرات	
3-1	<b>Introduction</b> الفصل الأول : المقدمة	
28-4	<b>Literature review</b> الفصل الثاني : استعراض المراجع	
6-4	Thyroid gland الغدة الدرقية	1-2
6	Tumour الورم	2-2
7	Cancer السرطان	3-2
7	Thyroid cancer سرطان الغدة الدرقية	4-2
8-7	Types of Thyroid cancer انواع سرطان الغدة الدرقية	5-2
8	Papillary Thyroid Cancer السرطان الحليمي	1-5-2
8	follicular thyroid cancer السرطان الجريبي	2-5-2
8	Hurthle سرطان خلايا هورثل	3-5-2
8	Medullary Thyroid Cancer سرطان الغدة الدرقية اللبي او النخاعي	4-5-2
9	Anaplastic سرطان الغدة الدرقية غير المتمايز	5-5-2
9	Parathyroid Cancer سرطان الغدة جار الدرقية	6-5-2
16-9	Thyroid gland cancer epidemiology وبائية سرطان الغدة الدرقية	6-2
22-16	Genes regulating the life cycle of a cell and their relationship to carcinogenesis الجينات المنظمة لدورة حياة الخلية وعلاقتها بالسرطان	7-2
18-17	جين <i>TP53 / P53</i>	1-7-2
19-18	جين <i>NRAS</i>	2-7-2
19	جين <i>BRAF</i>	3-7-2
20-19	جين <i>RET</i> (Rearranged During Transfection)	4-7-2

20	(Phosphatase and Tensin Homolog) <i>PTEN</i> جين	5-7-2
21-20	(Thyroid Transcription Factor-1) <i>TTF-1/NKX2-1</i> جين	6-7-2
22-21	NADH / ubiquinone oxidoreductase 1 <i>ND1</i> جين	7-7-2
22	Antioxidant مضادات الأكسدة	8-2
22	Glutathione الكلوتاثيون	1-8-2
23-22	Oxidative stress الإجهاد التأكسدي	9-2
23	(MDA) Malondialdehyde المألون ثنائي الديهايد	1-9-2
24-23	CEA carcinogenic embryonic antigen المستضد السرطاني المضغي	2-9-2
26-24	Thyroid cancer risk factors عوامل الخطورة لمرض سرطان الغدة الدرقية	10-2
24	Exposure to external radiation التعرض للإشعاع الخارجي	1-10-2
25-24	Age العمر	2-10-2
25	Sex الجنس	3-10-2
25	Family history التاريخ العائلي	4-10-2
26	Smoking التدخين	5-10-2
26	Diet والنظام الغذائي Body mass index مؤشر كتلة الجسم	6-10-2
27	Symptoms of thyroid cancer اعراض سرطان الغدة الدرقية	11-2
28-27	Diagnosis of thyroid cancer تشخيص سرطان الغدة الدرقية	12-2
28	Thyroid cancer treatment علاج سرطان الغدة الدرقية	13-2
<b>49-29</b>	<b>Materials and Methods الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل</b>	
31-29	Materials المواد	1-3
30-29	الاجهزة المختبرية والمواد المستخدمة في الدراسة	1-1-3
31-30	Biological and chemicals المواد الاحيائية والكيميائية المستخدمة materials	1-2-3
32-31	Methods طرائق العمل	2-3
31	جمع المعلومات	1-2-3
32-31	Experience Design تصميم التجربة	2-2-3
33	Collection of blood samples جمع عينات الدم	3-2-3
40-33	Molecular Detection الكشف الجزيئي	4-2-3
35-34	(Protocol Isolation DNA) DNA طريقة استخلاص الحامض النووي	1-4-2-3
35	الكشف الجزيئي عن التغيرات الشكلية في جين <i>BRAF</i> وعدد نسخ DNA في المايتوكوندريا	2-4-2-3
35	Primers اختيار البوادئ	1-2-4-2-3
36	Primers Dilution تحضير البوادئ	2-2-4-2-3

36	Polymerase Chain Reaction (PCR) تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل	3-2-4-2-3
37	الكشف الجزيئي للكشف عن الطفرات في جين (BRAF)	4-2-4-2-3
38-37	Electrophoresis of PCR products الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل	5-2-4-2-3
37	الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز	1-5-2-4-2-3
38	Electrophoresis of loaded DNA الترحيل الكهربائي للـ DNA المحمل	2-5-2-4-2-3
39-38	DNA Sequencing methods الكشف الجزيئي باستخدام تحديد تنابعات الحمض النووي DNA	6-2-4-2-3
39	Quantitative Polymerase Chain Reaction (REAL TIME (QPCR)) تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي	7-2-4-2-3
40-39	الكشف الجزيئي عن عدد نسخ جين المايتوكوندريا (NDI)	8-2-4-2-3
40-49	Physiological tests الاختبارات الفسلجية	5-2-3
41-40	T4 تقدير تركيز هرمون الثايروكسين	1-5-2-3
42-41	T3 تقدير تركيز هرمون الثايرونين ثلاثي اليود	2-5-2-3
43	Calcitonin hormone تقدير تركيز هرمون الكالسيتونين	3-5-2-3
45-44	TSH تقدير تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية	4-5-2-3
46-45	قياس تركيز المألون ثنائي الألديهيد (MDA) Malondialdehyde في مصل الدم	5-5-2-3
46-47	قياس تركيز المستضد السرطاني المضغي في مصل الدم Carcinoembryonic Antigen Test (CEA)	6-5-2-3
48-49	قياس تركيز الكلوتاتيون المختزل في مصل الدم (GSH)	7-5-2-3
49	التحليل الإحصائي	6-2-3
<b>68-50</b>	<b>Results and Discussion الفصل الرابع : النتائج والمناقشة</b>	
54-50	دراسة تأثير عوامل الخطورة	1-4
50	Sex الجنس	1-1-4
51-50	Family history of the التاريخ العائلي للإصابة بالمرض disease	2-1-4
52-51	Smoking التدخين	3-1-4
52	Age العمر	4-1-4
53	ارتفاع ضغط الدم	5-1-4
62-55	الجانب الوراثي	أولا
62-55	Molecular detection الكشف الجزيئي	2-4

55	الاستخلاص والترحيل الكهربائي للـ DNA الكروموسومي المستخلص Electrophoresis of the extracted chromosomal DNA	1-2-4
57-55	حساب عدد نسخ الـ DNA في المايكروندريا باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي QPCR	2-2-4
57	الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	3-2-4
62-58	الكشف الجزيئي باستخدام تحديد تنابعات الحمض النووي DNA Sequencing	4-2-4
68-63	الجانب الفلسفي	ثانياً
64-63	التغيرات في المعايير الفلسفية	3-4
66-64	قياس هرمونات الغدة الدرقية لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء	1-3-4
64-63	التغيرات في معدل تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH	1-1-3-4
66-64	التغيرات في معدل تركيز هرموني الغدة الدرقية T3 و T4 والكالسيتونين	2-1-3-4
68-66	قياس مستويات معايير الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء	2-3-4
67	التغيرات في معدل تركيز انزيم الكلوتاثيون GSH و المالون داي الديهايد MDA	1-2-3-4
68-67	التغيرات في معدل تركيز المستضد السرطاني المضغي (CEA)	2-2-3-4
69	<b>الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and recommendations</b>	
96-70	<b>المصادر references</b>	
A-B	<b>Summary</b>	

## قائمة الجداول

رقم الصفحة	إسم الجدول	التسلسل
11	جدول يوضح أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية لعام 2019	(1-2)
11	جدول يوضح أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية لعام 2020	(2-2)
12-11	جدول يوضح أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية لعام 2021	(3-2)
12	جدول يوضح أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2019	(4-2)
14-13	جدول يوضح أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2020	(5-2)
15-14	جدول يوضح أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2021	(6-2)
30-29	جدول يوضح الاجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة و شركة التصنيع والمنشأ	(1-3)
31-30	جدول يوضح المواد المستخدمة في الدراسة	(2-3)
33	جدول يوضح مكونات عدة استخلاص الحامض النووي DNA	(3-3)
35	جدول يوضح البودئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن أعداد النسخ و الطفرات في جينات الدراسة	(4-3)
36	جدول يوضح المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR	(5-3)
37	جدول يوضح البرنامج المستخدم لتضخيم الجين ( <i>BRAF</i> ) بتقنية PCR	(6-3)
39	جدول يوضح المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل الكمي QPCR	(7-3)
40	جدول يوضح خطوات البرنامج المستخدم لتفاعل البلمرة المتسلسل الكمي لجينات الدراسة	(8-3)
46-45	جدول يوضح البرنامج المستخدم لقياس تركيز المألون ثنائي الالديهيد	(9-3)
54-53	جدول يوضح تأثير عوامل الخطورة ( الجنس ، التاريخ العائلي ، التدخين ، العمر ، ارتفاع ضغط الدم ) على الإصابة بسرطان الغدة الدرقية	(1-4)
57	جدول يوضح عدد نسخ الـ (DNA) في المايتوكوندريا mtDNA في جينات <i>ND1</i> ، <i>HGB</i> لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء حسب مستويات الـ <i>CT</i>	(2-4)
60	جدول يوضح تسلسل الأحماض الأمينية الكامل للبروتين الناتج من جين الـ <i>BRAF</i> المرجعي .	(3-4)
66	جدول يوضح قياس هرمونات الغدة الدرقية لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء	(4-4)
68	جدول يوضح قياس مستويات معايير الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء	(5-4)

## قائمة الاشكال

رقم الصفحة	إسم الشكل	التسلسل
4	تركيب الغدة الدرقية	(1-2)
10	شكل يوضح يوضح منحنيات أعداد الاصابات بانواع مختلفة من السرطان منذ عام 2000-2016 في العراق	(2-2)
13	شكل يوضح معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2019	(3-2)
14	شكل يوضح معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2020	(4-2)
15	شكل يوضح معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2021	(5-2)
16	شكل يوضح يوضح نسب حالات الاصابات الجديدة بالسرطان للإناث من كل الاعمار في العراق لسنة 2021 .	(6-2)
41	شكل يوضح المنحنى القياسي لهرمون الثايروكسين T4	(1-3)
42	شكل يوضح المنحنى القياسي لهرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3	(2-3)
44	شكل يوضح المنحنى القياسي لهرمون الكالسيتونين	(3-3)
45	شكل يوضح المنحنى القياسي لهرمون TSH	(4-3)
47	شكل يوضح المنحنى القياسي للمستضد السرطاني المضغي (CEA)	(5-3)
55	شكل يوضح حزم الـ DNA بعد ترحيلها على هلام الاكاروز وبتركيز (2% ) عند 70 فولت لمدة ساعة.	(1-4)
56	شكل يوضح تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي Q-PCR في جينات ( <i>ND1</i> , <i>HGB</i> ) للكشف الجزيئي عن أعداد نسخ الـ (DNA) في المايٹوكوندريا mtDNA لمرضى سرطان الغدة الدرقية و مجموعة الاصحاء	(2-4)
58	شكل يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج جين <i>BRAF</i> بعد تضخيمها بواسطة الـ PCR على هلام الاكاروز بتركيز 2% على 70 فولت لمدة ساعة	(3-4)
59	شكل يوضح اصطفاف التسلسلات المتعددة لجين <i>BRAF</i> المرجعي مع العينات الستة (A1,B1,B2,B3,B4,B5)	(4-4)
60	شكل يوضح نمط تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة المكتشفة (SNP) داخل chromatogram لقطعة الجين <i>BRAF</i>	(5-4)
61	شكل يوضح الـ SNPs rs2128998351 و rs2128998142 المحددة في A و B باللون الأزرق	(6-4)



قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
BMI	Body mass index
bp	Base pare
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
CEA	Carcinoembryonic Antigen
CT	Cycle Threshold
CT scan	Computed tomography
D1	type 1 deiodinase
D2	type 2 deiodinase
D3	type 3 deiodinase
DNA	Deoxyribose nucleic acid
DTC	Differentiated thyroid cancers
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
FNA	Fine-Needle Aspiration
FTC	Follicular thyroid cancer
GSH	Glutathione
HPV	Human papilloma virus
HGB	Housekeeping gene
IR	Incidence rate/100,000 Population
LH	Luteinizing hormone
MDA	Malondialdehyde
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MTC	Medullary Thyroid Cancer
mtDNA	Mitochondrial Deoxyribose
mtDNA-CN	Mitochondrial Deoxyribose copy number
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ND1	ubiquinone oxidoreductase 1 / NADH
OXPPOS	Oxidative phosphorylation
PCR	Polymerase Chain Reaction
PTC	Papillary Thyroid Cancer
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
PTH	Parathyroid gland
QPCR	Quantitive Polymerase Chain Reaction (REAL TIME)
RCC	Renal Cell Carcinoma

RET	Rearranged During Transfection
ROS	Reactive oxygen species
SNPs	Single-nucleotide polymorphism
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxin
TC	Thyroid cancer
TG	Thyroglobulin
THs	Thyroid hormones
TR	Thyroid receptor
TRH	Thyroid releasing hormone
TSH	Thyroid-stimulating hormone
TTF-1	Thyroid Transcription Factor-1

# الفصل الأول

## Introduction : المقدمة

## المقدمة : Introduction

مرض السرطان من الامراض التي تشكل تحدياً خطراً جداً وهو ثاني اكبر سبب للوفاة في العالم لعام 2023 بعد النوبات القلبية ( Agrwa and Mittal, 2023 ) ، ينشأ السرطان عند تعرض الخلية لمؤثرات تجعلها تختلف عن الخلية الطبيعية اذ تبدأ بالانقسام بشكل نمو غير منتظم خارج عن نطاق سيطرة الجسم الامر الذي يؤدي الى تكوين خلايا غير طبيعية تنتج كتل من الأنسجة تسمى بالورم Tumor (Bisoyi, 2022) ، يصيب أي جزء من اجزاء الجسم ويكون الورم بنوعين إما أوراماً حميدة Benign tumor وهي الأقل خطورة والتي تميل الى ان تشبه الخلايا النسيجية التي نشأت منها ولا تنتشر للخلايا المجاورة ، أو تكوّن أورام خبيثة Malignant tumor وهي الاكثر خطورة لأنها تنتشر بسرعة كبيرة و تغزو الأنسجة والأعضاء القريبة بل وتنتقل إلى مناطق الجسم الاخرى البعيدة عن منشأ الورم (Patel, 2020) .

هنالك العديد من الانواع السرطانية المختصة بكل عضو يصيبه ، فسرطان الغدة الدرقية مختص باصابة الغدة الدرقية والذي يعد من اكثر أنواع سرطانات الغدد الصماء شيوعاً في العالم ، ارتفع مؤخراً معدل الاصابة بسرطان الغدة الدرقية اذ صُنّف في المرتبة 13 بين اكثر السرطانات شيوعاً والسادس الأكثر بين النساء ( Schneider and Kitahara , 2022 ) ، اختلفت نسبة انتشاره حول دول العالم اذ تم تشخيص مايقارب (200-700) إصابة جديدة بسرطان الغدة الدرقية في الصين وهو مايمثل نسبة 5.11% من الاصابات بالسرطان و مايقارب 7900 حالة وفاة بسرطان الغدة الدرقية لعام 2015 . وكانت الاناث أعلى اصابة بالمرض والوفاة بالمقارنة مع الذكور ( He et al., 2019 ) وهو الاكثر شيوعاً في البيض غير اللاتينيين والآسيويين و سكان جزر المحيط الهادئ عند مقارنتهم مع الاعراق الأخرى (Weeks et al., 2018). اما في العراق فسجل ارتفاع في معدل الاصابة بسرطان الغدة الدرقية بشكل ملحوظ منذ عام 2007 فصاعداً من 0.62 إلى 2.96 ، و كانت نسبة الذكور 1: الى 2.5 الاناث (Hussain and Lafta, 2021).

هنالك الكثير من عوامل الخطورة المسببة لسرطان الغدة الدرقية مثل الجنس والتاريخ العائلي والعمر و السمنة و اليود الغذائي والهرمونات والملوثات البيئية والتعرض للإشعاع والتدخين وارتفاع ضغط الدم وغيرها (Lam, 2022) . سرطان الغدة الدرقية يظهر بعدة أنواع أكثرها شيوعاً سرطان الغدة الدرقية الحليمي papillary و الجريبي follicular والمتسببان بنسبة 95% تقريبا من الإصابات بسرطان الغدة الدرقية، أما بقية الأنواع فتشكل 5% فقط من الإصابات مثل سرطان الغدة الدرقية النخاعي

Medullary و غير المتمايز Anaplastic و سرطان خلايا هورثل او الخلايا الحمضة Hurthle cell cancer وهو الاكثر ندرة (Anari *et al.*, 2022)

يرتبط عدد نسخ الـ DNA داخل المايوتوكونديريا بصحة الجسم اذ يسبب انخفاضه عن الحد الطبيعي امراض الكلى المزمنة والسكري و امراض القلب والاعوية الدموية (He *et al.*, 2022) وبعض انواع السرطانات مثل سرطان المثانة والثدي والمريء والكلى والكبد والثدي (Tuchalska-Czuroń *et al.*, 2019) ، و يسبب ارتفاع عدد هذه النسخ عن الحد الطبيعي الكثير من الامراض منها سرطان الغدة الدرقية (Esfahanian *et al.*, 2021) .

تؤدي دراسة التعدد الشكلي Polymorphisms في الجينات دوراً هاماً في تشخيص الطرز الوراثية المختلفة للجينات ، إذ أن لجينات الإنسان تعدداً شكلياً كبيراً في قطع مختلفة من الجين في الـ DNA ويمكن تحديد علاقة عوامل الخطورة مع الاستعدادات الوراثية لكثير من الأمراض مثل أنواع السرطان المختلفة وأمراض السكري و القلب عن طريق التعدد الشكلي ، ومن الجينات المهمة المرتبطة مع خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية جين (*BRAF*) ، إذ يعد من الجينات المنظمة لنمو الخلايا وانقسامها و إن اي خلل بعمله يؤدي لنمو غير مسيطر عليه وبالتالي تكوين الورم . ترتبط الطفرات والتعدلات الشكلية في جين *BRAF* ارتباطاً وثيقاً مع سرطان الغدة الدرقية ، يحدث تعدد الأشكال الجيني بشكل عشوائي عبر الجينوم بأكمله بنسبة 1 % على الأقل في السكان و تتميز الغالبية بأنها صامتة ، وليس لها أي تأثير على وظائف الجينات ولكن يمكن أن تؤدي بعض التغيرات في النوكليوتيدات الى تكوين الخلايا الورمية والسرطانية (Lim *et al.*, 2022;Lence-Anta *et al.*, 2014)

تزيد التغيرات الشكلية من احتمالية الإصابة بسرطان الغدة الدرقية وتطورها اذ وجدت الدراسة ان لها تأثير كبير على مرضى سرطان الغدة الدرقية بكل انواعه (Kaubyte and Lai, 2022) ; (Kyrodimos *et al.*, 2023)

## الهدف من الدراسة :

نظراً لأهمية دراسة مرض سرطان الغدة الدرقية كونه من السرطانات المنتشرة في الوقت الحالي وزيادة أعداد الإصابات بهذا المرض مع قلة وجود الدراسات على المستوى الجزيئي للمرض في محافظة كربلاء المقدسة ، لذا هدفت الدراسة الحالية الى :-

1. دراسة ارتباط عدد نسخ الـ DNA في المايٹوكوندريا مع الإصابة بسرطان الغدة الدرقية من خلال استخدام (PCR) Polymerase Chain Reaction ، Quantitative (QPCR) Sequencing , Polymerase Chain Reaction .
2. دراسة التعدد الشكلي المفرد SNPs في جين (*BRAF*) لدى الاشخاص المصابين بمرض الغدة الدرقية ومقارنتها مع مجموعة الاصحاء كونه من الجينات المهمة و المؤثرة على نسب الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ومقارنة التعدادات الشكلية والطرز الجينية في تلك الجينات مع ما تم دراسته وتسجيله عالمياً ومحلياً .
3. دراسة بعض عوامل الخطورة المؤثرة على نسب الإصابة بسرطان الغدة الدرقية مثل الجنس ، التاريخ العائلي للإصابة بسرطان الغدة الدرقية ، العمر ، التدخين ، ارتفاع ضغط الدم .
4. دراسة المعايير الهرمونية التي تضمنت قياس مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) و هرمونات الغدة الدرقية T3 ، T4 ، و calcitonin لدى مرضى سرطان الغدة الدرقية ومقارنتها مع الاصحاء مظهرياً وبيان أهميتها في التشخيص بالمقارنة مع التشخيص الجزيئي .
5. دراسة بعض المعايير الفسلجية المرتبطة بسرطان الغدة الدرقية مثل مضاد الاكسدة الجلوتاثيون glutathione ودرست العلاقة بين سرطان الغدة الدرقية و معايير الاجهاد التأكسدي (المستضد السرطاني المضغي carcinogenic embryonic antigen و المانول داي الديهايد (Malondialdehyde).

## الفصل الثاني

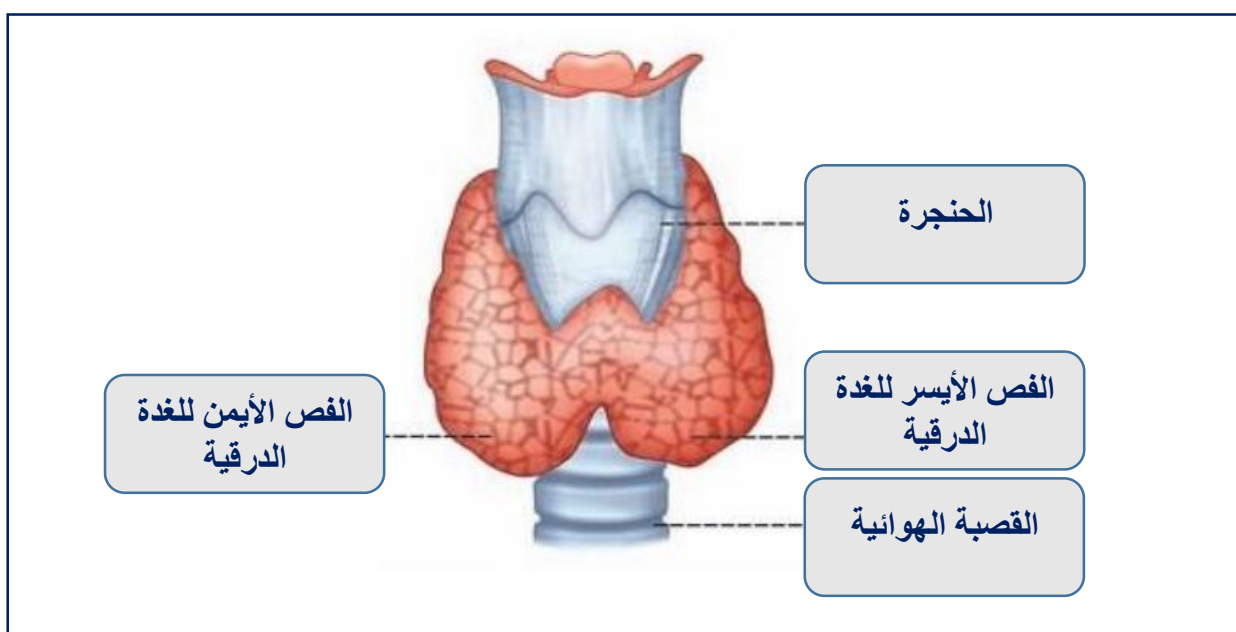
### Literature review إستعراض المراجع

## إستعراض المراجع Literature review

## 1-2 الغدة الدرقية Thyroid gland

الغدة الدرقية هي واحدة من أكبر الغدد الصماء في الجسم إذ تزن ما يقارب 15-20 غرام و تكون ذات لون بني محمر وشكل يشبه الفراشة، تقع أمام الحنجرة في الجزء السفلي من الرقبة على جانبي الرغامى Trachea (Ali and Majeed,2022). تتكون الغدة الدرقية من فصين ايمن وايسر متصلان ببعضهما عن طريق تركيب وسطي يسمى البرزخ Isthmus (Aldoma, 2021). تنقسم الغدة الدرقية إلى عدة فصيصات عن طريق امتداد حواجز من الكبسولة المحيطة بها تدعى الحويصلات أو الجريبات Follicles ، إذ تكون عبارة عن حويصلات مغلقة مليئة بالمادة الغروية أو الغروان colloid وتكون حاوية على اليود Iodine ( et al., ) (Wali 2022).

تكون الغدة الدرقية غدة غنية بالأوعية الدموية تجهز بكميات وفيرة من الدم إذ يتم تغذيتها بواسطة الشرايين الدرقية العلوية والسفلية وأحياناً عن طريق شريان إضافي يُعرف باسم شريان الغدة الدرقية إذ تبلغ كمية الدم الواصلة الى الغدة الدرقية حوالي ( 80-120 مل / دقيقة) (Zou et al., 2022 Andersson , 2010)



الشكل 1-2 تركيب الغدة الدرقية (El kasuini,2015)



تؤدي الغدة الدرقية دوراً أساسياً في تنظيم معدل الأيض والتمثيل الغذائي وتحفز النمو الجسدي ، كما وجد انها تؤثر على الجانب النفسي وتغيير المزاج إذ قد تؤدي الاضطرابات الحاصلة فيها الى الاكتئاب الشديد . (AI- Suhaimi, 2022) ، كما تخزن الغدة الدرقية تراكيز عالية من اليود (Iodine) فيكون تركيزه فيها أعلى من تركيزه في الدم بنسبة قد تصل الى % 50 أو أكثر ، ويعد اليود المادة الاساسية التي لها دور اساسي في التخليق الحيوي لهرمونات الغدة الدرقية ، لذا فإن الخطوة الأولى من تصنيع هرمونات الغدة الدرقية تتم بوساطة إنزيم البيروكسيد الدرقي Thyroid peroxidase الذي يحويل ايون اليود Iodine الى Iodide وهو الشكل المؤكسد من اليود والذي يكون قادراً على الارتباط مع الحامض الاميني التايروسين Tyrosine ، و يتم ارتباط اليود مع التايروسين في الغلوبولين الدرقي ( التايروكلوبيولين (Thyroglobulin (TG) للغدة الدرقية إذ ان كل جزيئة TG تحتوي على ما يقارب 130 جزيئة من حامض التايروسين والتي تعد احدى الركائز المهمة لانها تتحد مع اليود فتشكل هرمونات الغدة الدرقية (Rubio et al., 2009 ; Zimmerman,2009) .

تفرز الغدة الدرقية هرمونات مهمة تسمى بالهرمونات الدرقية Thyroid Hormone ، تؤدي دور كبير في عملية أيض المواد الغذائية ، ومنها هرمون التايروكسين (T4) Thyroxin و هرمون ثلاثي يود التايرونيين (T3) Triiodothyronine تكون هذه الهرمونات الاساس في توليد الطاقة للجسم لانها تعمل على رفع معدل الايض في الجسم ، ولها دور في تنظيم النمو عن طريق زيادة معدل التفاعلات الكيميائية وتحفيز النشاط الايضي في الجسم (Marschner et al.,2022) . تفرز الغدة الدرقية هرمون التايروكسين بنسبة 8-10 مرات من تركيز T3 تقريباً ، إذ يكون ذو عمر نصف أطول وتقريباً (80%) من كمية T4 يتحول الى T3 بواسطة الاعضاء المحيطية الاكثر استهلاكاً للأوكسجين مثل الرئة و القلب و الكبد و يكون هرمون T3 اكثر فعالية من هرمون T4 بعشرة أضعاف (Eligar et al.,2016) كما و تفرز الغدة الدرقية هرمون الكالسيتونين ( Calcitonin ) ، الذي يؤدي دوراً أساسياً في عملية تنظيم وتوازن مستوى الكالسيوم في الدم عن طريق زيادة تحفيز ترسيبه داخل العظام وتثبيط عملية امتصاصه من الامعاء وتثبيط عملية إعادة الامتصاص من الكلية فيزداد إفرازه عند زيادة مستوى الكالسيوم في الدم (Wawrzyniak and Balawender, 2022) .

يتحفز افراز T4 و T3 بفعل الهرمون المحفز للدرقية (Thyroid-stimulating hormone (TSH) الذي يفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية وتتم الاصحاء عليه بواسطة الهرمون المحرر للدرقية (TRH) Thyroid releasing hormone من منطقة تحت المهاد (Gelen et al.,2023) وتؤثر هرمونات الدرقية بشكل كبير في نمو الاعضاء والتطور الطبيعي لاسيما في العظام والجهاز العصبي المركزي (Zuñiga,2022) . كما تشارك هرمونات الغدة الدرقية في التطور العصبي لأنها تؤثر في هجرة وتمايز الخلايا العصبية والخلايا الدبقية ويرجع عمل هرمونات الغدة الدرقية غالباً الى تفاعل الهرمون النشط (T3) مع المستقبلات النووية للخلايا العصبية وتنظيم التعبير الجيني gene expression لها في مراحل التكوين الجنينية ، كما وينظم

عدد كبير من الجينات من قبل هرمونات الغدة الدرقية ، وفي الخلايا العصبية يسيطر هرمون T3 على ما يقارب 5% من جميع الجينات المعبر عنها (Giannocco *et al.*, 2021) . كما انها تؤثر على مختلف الأنسجة والاعضاء لانها ترتبط بمستقبلات داخل خلوية نووية هي مستقبلات Thyroid receptor من نوع الفا وبيتا (  $TR\alpha$  و  $TR\beta$  ) ( Li *et al.*, 2023) . و تُصنَّع هرمونات الغدة الدرقية البروتينات الريبوسومية الضرورية لنضج الدماغ وبذا فهي مهمة جداً في تطور الجهاز العصبي . ( Cordero-Véliz *et al.*, 2023) ) وان لهرمونات الغدة الدرقية دوراً كبيراً في الفعاليات الأيضية للجسم مثل أيض البروتينات والكاربوهيدرات والدهون والسكريات لذلك تنخفض مستويات الدهون بشكل كبير في حالات فرط الدرقية Hyperthyroidism ويرتفع تركيز الكوليسترول Hypercholesterolemia والدهون في الدم في حالات قصور الدرقية Hypothyroidism ( Ravikant *et al.*, 2023) ، وتساعد الغدة الدرقية في ترسب الكالسيوم والفوسفات في العظام وتقويتها وتقليل مستوى الكالسيوم في الدم. كما وتعمل على زيادة معدل التمثيل الغذائي للكربوهيدرات والبروتينات والدهون ، وتتحكم في تنظيم درجة حرارة الجسم (Alhassani, 2022) .

## 2-2 الورم Tumour

(باللاتينية: Neoplasma) يعرف بأنه نمو غير طبيعي للأنسجة ناتج عن النمو غير المنتظم للخلايا ، إذ تنمو بشكل غير مسيطر عليه و يفقد الجسم القدرة على التحكم به ، ويحدث ذلك بسبب خلل في عمل الخلية نتيجة تعرضها لمؤثرات خارجية مكتسبة أو داخلية موروثية . لاتعود الخلايا الورمية إلى شكلها الطبيعي حتى بعد زوال المؤثر، تكون كتلة تسمى الورم يمكن أن تنتشر إلى أجزاء اخرى من الجسم أو لا تنتشر (Breton *et al.*, 2021). تحدث هذه الأورام في جميع الخلايا بما فيها الخلايا التي تُنتج الهرمونات مثل البنكرياس ، الغدة الدرقية والغدة النخامية مما يؤدي ذلك إلى خلل في إنتاج الهرمونات .

تنقسم الأورام بصورة عامة الى :

1. أورام حميدة (Benign tumors) وهي أورام لاتشكل خطورة على حياة الفرد إذ لاتغزو الأنسجة المحيطة ويكون إنتشارها بطيء وفي منطقة محددة .
2. أورام خبيثة ( Malignant tumors ) أو ما تعرف بالسرطان Cancer وهي أمراض تشكل خطورة كبيرة على حياة الفرد إذ تنمو بشكل سريع و غير مسيطر عليه و تنتشر الى الأنسجة المجاورة وتغزوها ، ولها القدرة على الانتشار عبر مجرى الدم أو اللمف للانتقال الى اماكن اخرى من الجسم وهي لاتشبه الخلية الأصلية شكلاً أو وظيفياً (Fontanella *et al.*, 2021).

## 3-2 السرطان Cancer

وهو مجموعة من الأمراض التي تصيب كافة اعضاء الجسم بتوغل وانتشار الخلايا السرطانية من خلال عمليات الانقسام غير المحدودة و يعد مرض العصر الشائع عالمياً لما يشكله من خطوره على حياة الانسان ، إذ يتضمن نشوءه عدم القدرة على اكتشاف ضرر الـ DNA ولذلك تستمر الخلايا السرطانية في تكوين خلايا جديدة دون سيطرة و عدم الاستجابة لاشارات تثبيط النمو (Naing et al.,2020) .

يبدأ السرطان في بداية تكوينه من خلية واحدة طبيعية تعرضت للعديد من العوامل كالعوامل الكيميائية مثل المواد المسرطنة والسكريات، والعوامل الفيزيائية مثل التعرض للإشعاع أو قد تكون عوامل بايولوجية مثل فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) Human papilloma virus، والتي تعرف جميعها بالمسرطنات (Park et al., 2021) ، وهذه العوامل تؤثر على جينات هذه الخلايا مما يسبب الطفرات إذ ان الأورام السرطانية قد لا تنشأ الا بعد تراكم هذه الطفرات في جينات النمو والجينات المثبطة للنمو (Matthews et al.,2022).

شهدت اغلب بلدان العالم ارتفاعاً خطيراً في حصيلة مرضى الأورام ، ووفق الاحصائيات وُجد انه على المدى الطويل وبحلول عام 2030 سترتفع اعداد الإصابة بالسرطان بمقدار 1.8 مرة ، كما وانه سيبسبب رئيسي للوفاة في جميع أنحاء العالم ، وقد أزهق أرواح 10 ملايين شخص في عام 2020 (Ferlay et al ., 2020)

## 4-2 سرطان الغدة الدرقية Thyroid cancer

سرطان الغدة الدرقية هو من أورام الغدد الصماء الخبيثة الأكثر شيوعاً ، و نسبياً بين عامة السكان يعد ثامن أكثر السرطانات شيوعاً عند النساء في جميع أنحاء العالم (Guo et al ., 2022)، وثالث أكثر أنواع السرطانات شيوعاً بين النساء دون سن 45 عاماً (Jalil et al ., 2022). الإصابة أعلى بكثير في النساء من الرجال (نسبة 3 : 1) ، تنشأ جميع سرطانات الغدة الدرقية تقريباً من الظهارة الجريبية (Seib and Sosa, 2019) .

شهدت بعض الدراسات زيادة معدل الوفيات (بمتوسط 2.9٪ سنوياً) وأعداد متزايدة من الاصابات بالأورام وإنتشارها خارج الغدة الدرقية (Wei et al ., 2022) ، و يُعتقد عمومًا أن الإصابة بسرطان الغدة الدرقية مرتبطة بالمتلازمات الجينية الموروثة ، والتعرض للإشعاع ، ونقص الهرمونات واليود (Gavryutina et al ., 2022) ، بالإضافة إلى ذلك فإن قلق المريض و حالته النفسية يعد عامل آخر يجب أخذه في نظر الاعتبار إذ أيدت الدراسات الحديثة أن لحالة المريض النفسية و العاطفية دوراً مؤثراً في الإصابة بسرطان الغدة الدرقية إذ وجد أن مرضى سرطان الغدة الدرقية في المراحل المتقدمة كانوا يعانون من القلق والعصبية (Liu et al., 2021)

## 5-2 أنواع سرطان الغدة الدرقية Types of Thyroid cancer

1. المتمايز والذي يشمل :

( الحليمي papillary ، الجريبي follicular و سرطان خلايا هورثل ( Hurthle cell cancer ) .

2. اللبي أو النخاعي Medullary.

3. غير المتمايز Anaplastic .

بالإضافة الى سرطان الغدد جار الدرقية (PTH) Parathyroid gland (Haddad et al., 2022)

### 2-5-1 سرطان الحليمي (PTC) Papillary Thyroid Cancer

وهو النوع الأكثر شيوعاً إذ يمثل حوالي 80% من سرطانات الغدة الدرقية (Song et al., 2021) ، تميل هذه السرطانات إلى النمو ببطئ شديد وعادة ما تصيب فص واحد فقط من الغدة الدرقية على الرغم من نموها ببطئ ، غالباً ما تنتشر السرطانات الحليمية إلى العقد الليمفاوية في الرقبة (Zhao et al., 2022) ولكن حتى عندما تنتشر هذه السرطانات إلى الغدد الليمفاوية يمكن علاجها في كثير من الأحيان بنجاح ونادراً ما تكون قاتلة (Song et al., 2021) يسمى PTC متطاول الخلايا لان شكل الخلايا يكون طولياً أي أنها أطول بمقدار 2-3 مرات من العرض (Wall et al., 2021).

### 2-5-2 سرطان الجريبي (FTC) follicular thyroid cancer

يعد سرطان الجريبات هو النوع الذي يلي الحليمي شيوعاً إذ يمثل حوالي 15\_20 % من سرطانات للغدة الدرقية (Sencha et al., 2019) وهو الأكثر شيوعاً في البلدان التي لا يحصل فيها الناس على كمية كافية من اليود في نظامهم الغذائي (Kermoison and Draganescu, 2022) وعادة لا تنتشر هذه السرطانات إلى الغدد الليمفاوية ، لكنها يمكن أن تنتشر إلى أجزاء أخرى من الجسم ، مثل الرئتين أو العظام (Zhong et al., 2022)

### 2-5-3 سرطان خلايا هورثل (oxyphil) Hurthle (ويسمى أيضاً سرطان الخلايا الحمضة oxyphil)

تمثل حوالي 3% من سرطانات الغدة الدرقية ويعد من الصعب العثور عليها ومعالجتها لذلك فهي من أخطر أنواع سرطانات الغدة الدرقية (Hamouche et al., 2022) لانه لا يكون مصحوباً بأعراض تدل عليه فعادة ما يتم الكشف عنه عن طريق الصدفة و يمكن ان ينتشر الى الاعضاء والأنسجة المحيطة و علاجه يقتصر على استئصال الغدة الدرقية (Coca-Pelaz et al., 2021) .

### 2-5-4 سرطان الغدة الدرقية اللبي أو النخاعي (MTC) (Medullary Thyroid Cancer)

يمثل سرطان الغدة الدرقية النخاعي (MTC) حوالي 4% من حالات سرطان الغدة الدرقية (Li et al., 2021) ويتطور من الخلايا C في الغدة الدرقية والتي عادة ما تصنع الكالسيونين وهو هرمون يساعد على التحكم في كمية الكالسيوم في الدم (Al-Suhaimi, 2022) و في بعض الأحيان يمكن أن ينتشر هذا السرطان إلى الغدد الليمفاوية أو الرئتين أو الكبد حتى قبل اكتشاف عقيدة الغدة الدرقية وغالباً ما يرتبط MTC الوراثي بزيادة خطر الإصابة بأنواع أخرى من الأورام (Kaliszewski et al., 2022) .

**2-5-5 سرطان الغدة الدرقية غير المتمايز ( Anaplastic )**

هو نوع نادر من سرطان الغدة الدرقية ، ويشكل حوالي 2٪ من جميع سرطانات الغدة الدرقية (Wang *et al.*, 2022) يُعتقد أنه ينشأ أحياناً من سرطان حليمي أو جريبي ويُطلق على هذا السرطان اسم غير المتمايز لأن الخلايا السرطانية لا تشبه إلى حد كبير خلايا الغدة الدرقية الطبيعية و غالباً ما ينتشر هذا السرطان بسرعة في العنق وإلى أجزاء أخرى من الجسم ، ويصعب جداً علاجه (Kanai *et al.*, 2022) .

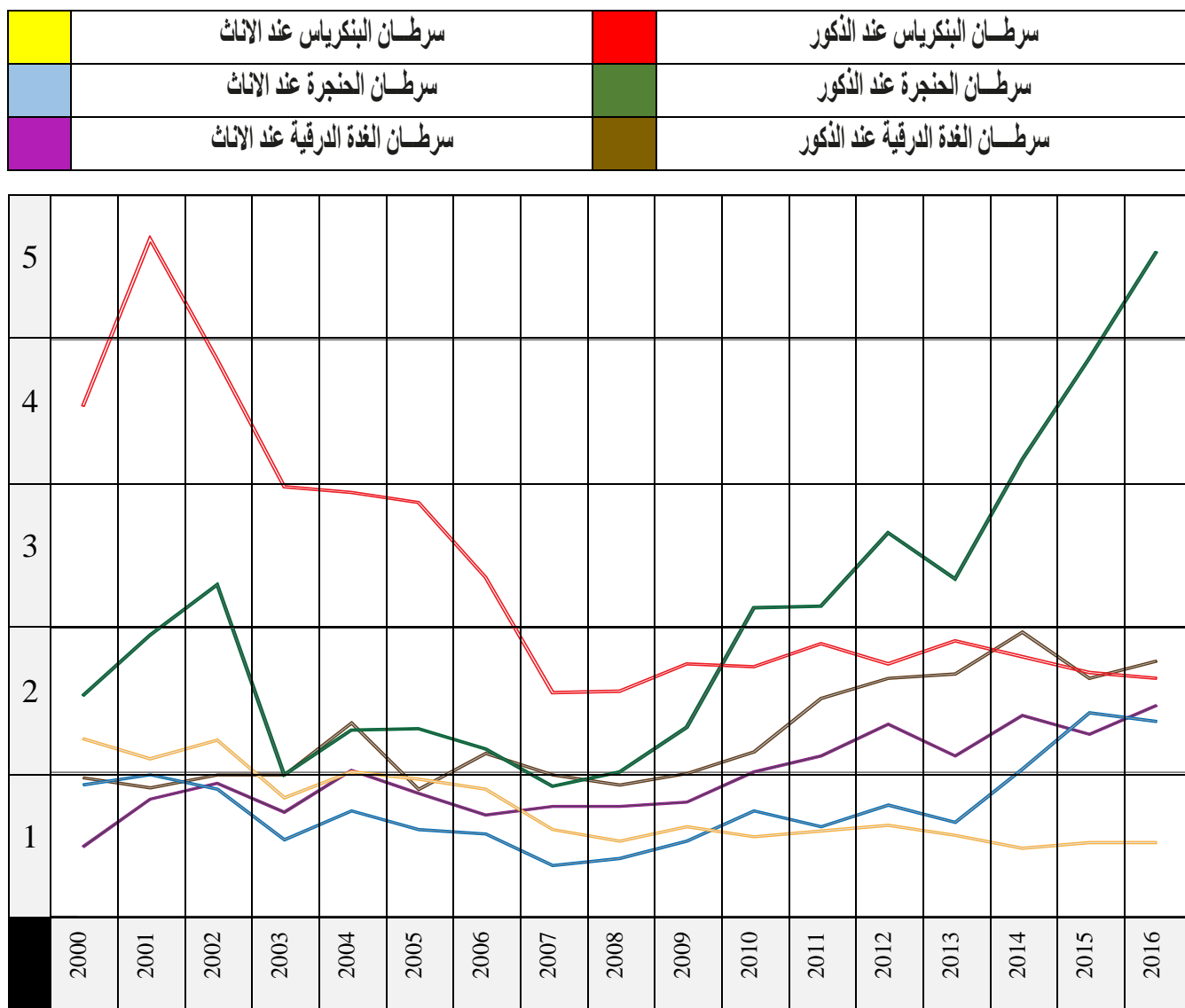
**2-5-6 سرطان الغدة جار الدرقية (Parathyroid Cancer)**

يوجد خلف الغدة الدرقية 4 غدد صغيرة تسمى الغدة جار الدرقية تساعد الغدد جار الدرقية في تنظيم مستويات الكالسيوم و الفسفور في الجسم (Nelwan *et al.*, 2022) وتعد سرطانات الغدد جار الدرقية نادرة جداً إذ ربما يكون هناك أقل من 100 حالة كل عام في الولايات المتحدة (Sakr, 2022) ، غالباً ما يتم الكشف عن سرطانات الغدة جار الدرقية لأنها تسبب ارتفاع مستويات الكالسيوم في الدم وهذا يجعل المريض متعباً ضعيفاً خاملاً يعاني من الجفاف والتبول الكثير ، وبعض الأعراض الأخرى مثل آلام العظام والكسور والألم الناتج عن حصوات الكلى و الإمساك و أحياناً الاكتئاب (Leal and Cardoso, 2022)

**2-6 وبائية سرطان الغدة الدرقية Thyroid gland cancer epidemiology**

سرطان الغدة الدرقية هو الورم الخبيث الأكثر شيوعاً في الغدد الصماء (Grimm, 2022) ونسبياً بين عامة السكان يعد ثامن أكثر السرطانات شيوعاً عند النساء في جميع أنحاء العالم (Xu *et al.*, 2022) ، وثالث أكثر أنواع السرطانات شيوعاً بين النساء دون سن 45 عاماً (Schubart *et al.*, 2021) . الإصابة أعلى بكثير في النساء من الرجال (نسبة 3 : 1) بين سن 15 و 39 وينخفض الفرق بينهما مع تقدم العمر (Pizzato *et al.*, 2022) ، تنشأ جميع سرطانات الغدة الدرقية تقريباً من الظهارة الجريبية (Tarabichi *et al.*, 2022). تتزايد معدلات الإصابة بمختلف أنواع السرطان على مستوى العالم ومن المتوقع أن ترتفع إلى 20 مليون حالة جديدة في عام (2025) مقارنة بـ 14.1 مليون حالة جديدة سجلت في عام (2012) (Kulothungan *et al.*, 2022) ووجدت زيادة في نسبة الوفيات المرتبطة بالسرطان من 14٪ إلى 16٪ منذ عام 2005 أخذة بالازدياد. (Liu and Liu, 2022) . مؤخراً ارتفع معدل الإصابة بسرطان الغدة الدرقية بشكل كبير في الولايات المتحدة على مدى العقود الأربعة الماضية ، إذ يصنف سرطان الغدة الدرقية حالياً في المرتبة 13 بين أكثر تشخيصات السرطان شيوعاً والسادس الأكثر شيوعاً بين النساء (Kitahara and Schneider , 2022)

تشير زيادة حدوث سرطانات الغدة الدرقية الكبيرة والمتقدمة وكذلك الوفيات بسرطان الغدة الدرقية إلى أن العوامل المسببة قد تكون قد ساهمت في زيادة حدوث المرض إذ يتزايد معدل الإصابة بسرطان الغدة الدرقية في العديد من البلدان منذ أوائل الثمانينيات وحتى الآن فان الإصابة بسرطان الغدة الدرقية أخذ في الازدياد في جميع أنحاء العالم (Pizzato et al., 2022) وبحسب دراسة في العراق أوضحت ان أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية في تزايد مستمر و بشكل ملحوظ (Alsaadawi and Şehirli,2022) ، كما و بينت دراسة اخرى ان سرطان الغدة الدرقية يتجه اتجاهاً مرتفعاً بشكل ملحوظ بدءاً منذ عام 2007 من ( 0.62 - 2.96 ) / 100.000 ( ع = 0.003 ) حتى عام 2021 إذ كانت نسبة الذكور إلى الإناث 1:2.5 ، كما و كان لسرطان الغدة الدرقية اتجاه متزايد عموماً من 1.22 إلى 2.96 / 100.000 بدءاً من عام 2007 فصاعداً (Hussain and Lafta, 2021) كما في الشكل (2-2) :



الشكل (2-2) يوضح منحنيات اعداد الاصابات بأنواع مختلفة من السرطان منذ عام 2000-2016 في العراق

(Al-Janabi et al., 2017)

سجل العراق بين السنوات ( 2006-2014 ) أعلى معدلات إصابة بسرطاني الثدي والغدة الدرقية لدى الإناث في كربلاء ، العراق. إذ تم تشخيص أنواع مختلفة من مرض السرطان لسكان مدينة كربلاء خلال السنوات الثماني الماضية (2008- 2015) وأظهرت البيانات أن معدل الانتشار و نوع السرطان تفأوت بين الذكور والإناث باختلاف الجنس والعمر (Al-Janabi *et al.*, 2017) ، كان سرطان المثانة أكثر شيوعًا عند الذكور يليه سرطان المعدة والمريء وسرطان القولون والمستقيم وسرطانات الغدد الدرقية واللمفاوية وسرطان البروستات وسرطان الخلايا الكلوية (Renal cell carcinoma (RCC أما بين الإناث فكان سرطان الثدي أعلى نسبة يليه سرطان الغدة الدرقية و الغدد الليمفاوية ثم سرطان القولون والمستقيم والمثانة وسرطان الرحم ، وسرطان المبيض على التوالي ، و سرطان اللسان وسرطان الكبد والإحليل ( Cieszyńska *et al.*, 2022) .

و بحسب تقرير وزارة التخطيط العراقية فإن أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية لعام 2019 كما في الجدول (1-2)

C73 / Thyroid Gland	Female			Male			Total		
	No.	%	IR	No.	%	IR	No.	%	IR
	1,421	3.96	7.34	381	1.06	1.93	1,802	5.02	4.61

جدول (1-2) اعداد المصابين بسرطان الغدة الدرقية لعام 2019

حسب تقرير وزارة التخطيط – الجهاز المركزي للإحصاء – الإحصاءات البيئية للعراق والمؤشرات الصحية لسنة 2019

وفي عام 2020 بلغت أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية كما في الجدول (2-2)

C73 / Thyroid Gland	Female			Male			Total		
	No.	%	IR	No.	%	IR	No.	%	IR
	1101	3.47	5.57	309	0.98	1.52	1410	4.45	3.51

جدول (2-2) اعداد المصابين بسرطان الغدة الدرقية لعام 2020

حسب تقرير وزارة التخطيط – الجهاز المركزي للإحصاء – الإحصاءات البيئية للعراق والمؤشرات الصحية لسنة 2020

وفي عام 2021 بلغت أعداد الاصابات بسرطان الغدة الدرقية كما في الجدول (3-2)

C73 / Thyroid Gland	Female			Male			Total		
	No.	%	IR	No.	%	IR	No.	%	IR

	1409	3.93	3.42	354	0.99	0.86	1763	4.92	4.28
--	------	------	------	-----	------	------	------	------	------

جدول (3-2) اعداد المصابين بسرطان الغدة الدرقية لعام 2021

حسب تقرير وزارة التخطيط – الجهاز المركزي للإحصاء – الإحصاءات البيئية للعراق والمؤشرات الصحية لسنة 2021

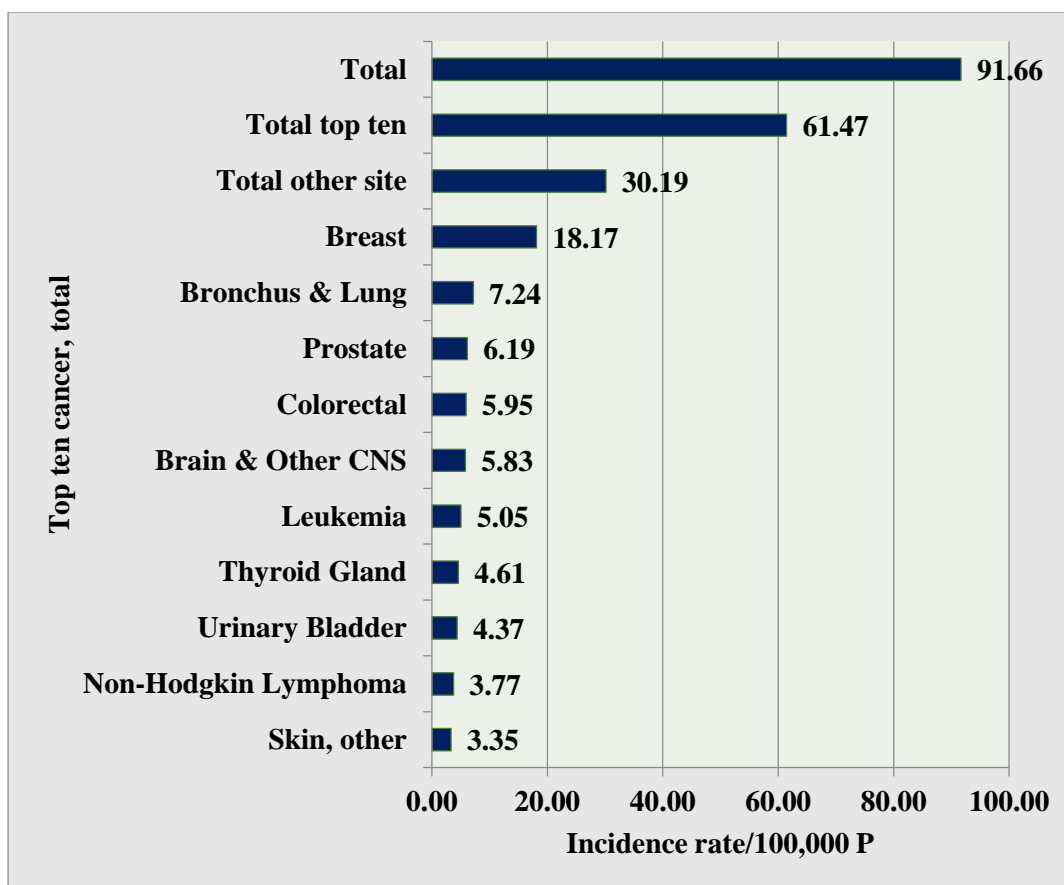
كما يوضح الجدول (4-2) أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2019 إذ يظهر سرطان الغدة الدرقية في المرتبة السادسة وكما يلي :

Top Ten Total		No.	%
1	Breast	7,109	19.82
2	Bronchus and Lung	2,832	7.90
3	Colorectal	2,328	6.49
4	Brain and Other CNS	2,283	6.37
5	Leukemia	1,977	5.51
6	Thyroid Gland	1,802	5.02
7	Urinary Bladder	1,710	4.77
8	Non-Hodgkin Lymphoma	1,477	4.12
9	Skin	1,311	3.66
10	Prostate	1,224	3.41
Total Top Ten		24,053	67.07
Total other Site		11,811	32.93
Total		35,864	100.00%

جدول (4-2) أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2019

الشكل (3-2) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2019





الشكل (3-2) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2019

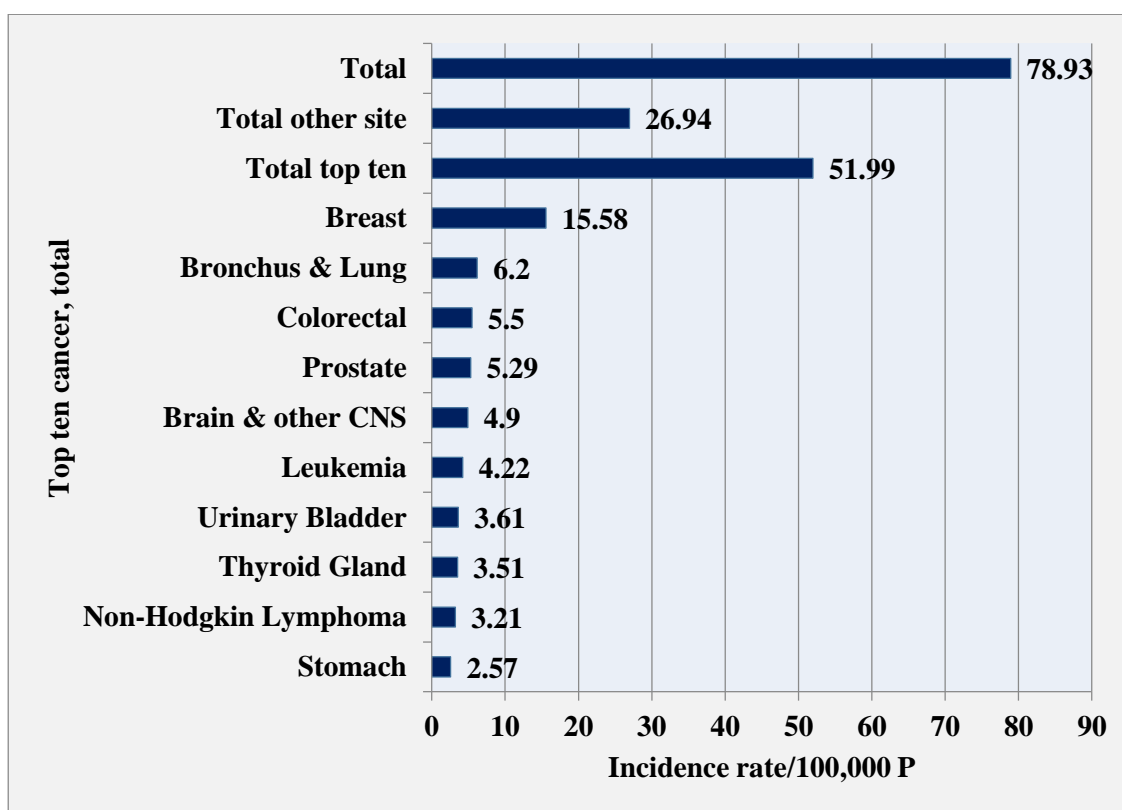
و يوضح الجدول (5-2) أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2020 إذ يظهر سرطان الغدة الدرقية في المرتبة السابعة وكما يلي :

Top ten, total		No.	%
1	Breast	6,255	19.74
2	Bronchus and Lung	2,491	7.86
3	Colorectal	2,210	6.97
4	Brain and other CNS	1,968	6.21
5	Leukemia	1,693	5.34
6	Urinary Bladder	1,450	4.58
7	Thyroid Gland	1,410	4.45
8	Non-Hodgkin Lymphoma	1,288	4.06
9	Prostate	1,078	3.40

10	Stomach	1,031	3.25
Total top ten		20,874	65.87
Total other site		10,818	34.13
Total		31,692	100.00%

جدول (5-2) أنواع السرطانات الأكثر شيوعاً لعام 2020

الشكل (4-2) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2020



الشكل (4-2) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2020

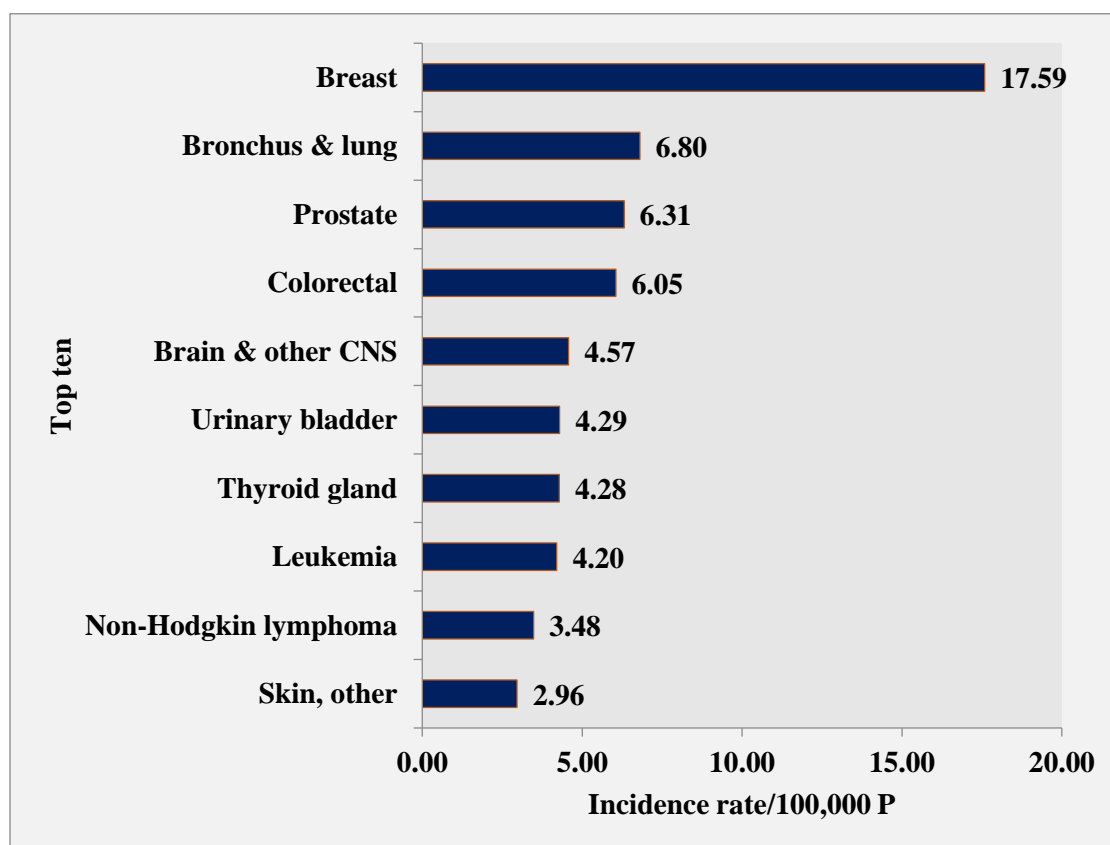
و يوضح الجدول (6-2) أكثر 10 أنواع السرطانات شيوعاً في العراق لعام 2021 إذ يظهر سرطان الغدة الدرقية في المرتبة السادسة وكما يلي :

Top ten	No.	%
1 Breast	7246	30.63
2 Bronchus andlung	2802	11.85
3 Colorectal	2493	10.54
4 Brain and other CNS	1882	7.96

5	Urinary bladder	1769	7.48
6	Thyroid gland	1763	7.45
7	Leukemia	1732	7.32
8	Non-Hodgkin lymphoma	1433	6.06
9	Prostate	1313	5.55
10	Skin, other	1221	5.16
Total top ten		23654	100.00%

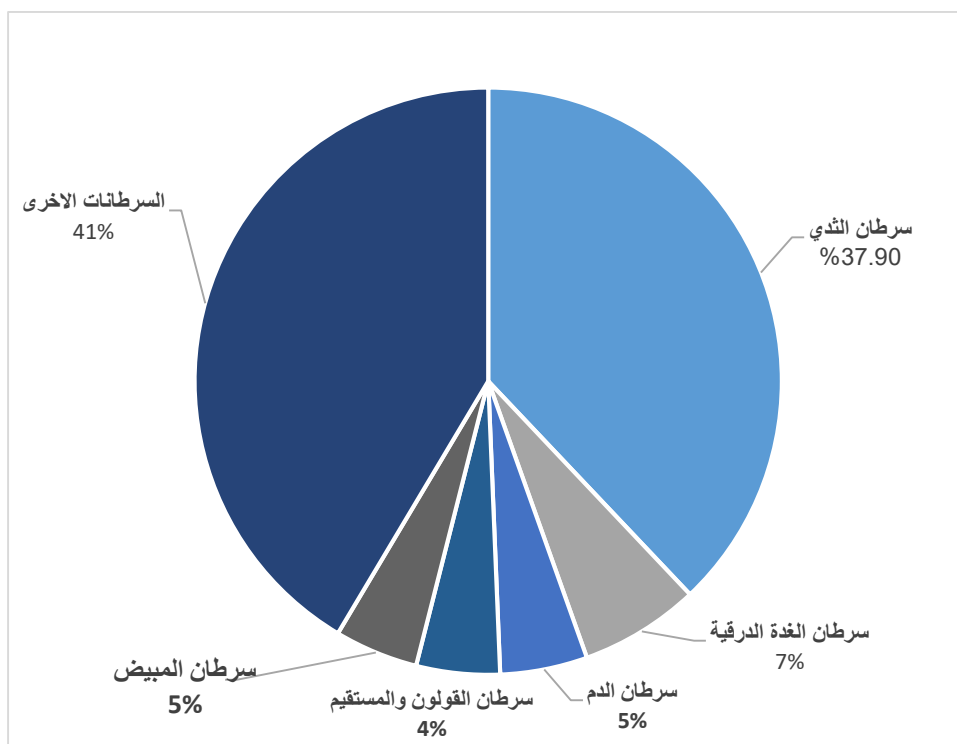
جدول (2-6) أنواع السرطانات الأكثر شيوعاً لعام 2021

و يوضح الشكل (2-5) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2021



الشكل (2-5) معدل الإصابة لكل 100,000 نسمة في العراق لعام 2021

فيما يلي شكل توضيحي يبين نسب حالات الاصابات الجديدة بالسرطان للإناث من كل الاعمار في العراق لسنة 2021 .



الشكل (2-6) نسب حالات الاصابات الجديدة بالسرطان للإناث من كل الاعمار في العراق لسنة 2021 .

حسب تقرير منظمة الصحة العالمية 2021

ويعزى سبب الإصابة بسرطان الغدة الدرقية وزيادته في العراق بنسبة 4% سنوياً نتيجة التعرض للعوامل المسرطنة كالإشعاع ومخلفات الحروب وغيرها (Al-ghuraibawi et al., 2022)

## 7-2 الجينات المنظمة لدورة حياة الخلية وعلاقتها بالسرطان :

### Genes regulating the life cycle of a cell and their relationship to carcinogenesis.

تمر الخلية بعدة مراحل للانقسام والنمو والتجدد و تتم الاصحاء على هذه العمليات والتحكم بها وتنظيمها بواسطة الجينات إذ ان هناك نوعين من الجينات المنظمة لعمل الخلية إما ان تكون جينات محفزة لنمو الخلية أو المسماة بالجينات الورمية لانها المسؤولة عن تقدم الخلية في دورة حياتها وعند حدوث طفرة أو تغير بالمعلومات الوراثية فيها فهي تدفع الخلية للنمو والانقسام وبالتالي ازدياد اعداد الخلايا عن الحد الطبيعي مما يكون الأورام أو تكون جينات مثبطة لدورة حياة الخلية وتسمى بالجينات الكابحة للورم Tumor suppressor gene أو جينات اصلاح الـ DNA (DNA repair gene) إذ تعمل على اكتشاف الخلل و اعاقه تقدم انقسام الخلية بسبب وجود ضرر في DNA وتعد الاخيرة مهمة جدا في الحد من انتشار الخلايا غير السليمة من خلال ايقاف عملية الانقسام

حتى اصلاح التلف المكتشف أو بدفع الخلية الى الموت المبرمج أو الانتحار الخلوي (Apoptosis) (Sadoughi et al., 2021) (Li et al., 2022) (Abate et al., 2020) إن من أخطر ما قد تتعرض له الجينات الكابحة للورم أن تفقد قدرتها على اكتشاف الخلل و اصلاحه بسبب تعرضها لطفرة Mutation تثبط عملها وتمنعها من اكتشاف أي ضرر في DNA الخلية وهذا ما يسمح للخلايا السرطانية بالتكاثر والانتشار دون ان يتم إيقافها (Reilly et al., 2019; Carbone et al., 2020).

أما الطفرة الجينية فهي تغييرات دائمة تحدث في تسلسل الحمض النووي DNA للكائنات الحية وقد تكون التغيرات محدودة تصيب نكليوتيد واحد SNPs أو كامل المنطقة ضمن الكروموسوم وقد لا تؤثر الطفرة على الكائن الحي إن حدثت في منطقة ليس لها تأثير على انتاج الجينات أو عملها كأن تحدث في منطقة غير مشفرة من الحمض النووي DNA ، أو في منطقة مشفرة منه دون أن يتغير تسلسل الحمض الأميني المشفر من تلك الجينات ، أما إن أدت الطفرة إلى تغيير في تسلسل الأحماض الأمينية المشفرة من قبل الجين أو تغيير في صفات البروتين المنتج فقد يؤثر ذلك على الكائن الحي بالكامل فالطفرة الجينية إما أن تكون لصالح الكائن بأن تسمح له بالتكيف مع ظروف جديدة أو تؤثر على قدرته للعيش ضمن الظروف الطبيعية (Amiteye, 2023).

لبعض الهرمونات علاقة وثيقة بحدوث سرطان الغدة الدرقية من قبل بعض الجينات الورمية أو الكابحة للورم فان حدوث الطفرات في تلك الجينات يؤثر على نوع ونشاط الأنزيمات والذي قد يسبب أوراما سرطانية في غدة الدرقية (Xu et al., 2021).

غالباً ما تحدث الطفرات الجينية نتيجة لنوعين من التغييرات الأول يحدث اما لعوامل بيئية كالمواد الكيميائية والإشعاع كالأشعة فوق البنفسجية القادمة من الشمس إذ تعمل على تغيير الحمض النووي DNA من خلال تغيير تسلسل قواعد النيكليوتيد وشكل الحمض النووي أيضا فتظهر النتائج على شكل اخطاء في تكرار الحمض النووي ونسخه ، أما النوع الثاني من التغييرات فيعود لأخطاء حدثت خلال عمليات الانقسام الاخرالي أو الخيطي للخلية فتظهر على شكل طفرات نقطية و طفرات حذف لازواج القواعد النتروجينية ، والتي تسبب بدورها تكرار الأخطاء مسببة حذف الجينات أو تسلسلات مهمة منها وتغيير أماكن أجزاء من الكروموسومات (Yali and Mitiku, 2022)

### 1-7-2 جين TP53 / P53

يعد جين P53 من الجينات المثبطة للورم إذ ان له دور كبير في إصلاح الحامض النووي و موت الخلايا المبرمج و التحكم في انقسام الخلية كما يتسبب P53 في توقف نمو الخلايا وبالتالي منع عمليات النمو غير المسيطر عليه (Menichini et al., 2021) و تؤدي الطفرات في جين P53 عند الإصابة بأنواع مختلفة من السرطانات إلى استبدال الأحماض الأمينية و بالتالي حدوث خلل في عمل الجين فيفقد قدرته على نمو و انقسام الخلايا )

(Monti *et al.*, 2020) ، إن لجين *P53* الطافر دور مهم في أورام الغدة الدرقية والأنسجة الأخرى إذ يسبب تكاثر لا يمكن السيطرة عليه في خلايا الغدة الدرقية مؤدياً إلى أورام خبيثة فيها كونه المسؤول عن إيقاف الانقسام والتكاثر المستمر للخلايا و يحافظ على استقرار الجينوم ( Favero *et al.*, 2021 ; Latteyer *et al.*, 2016 ) يقع جين *P53* على كروموسوم ( 17 q 13 ) وهو يشفر بروتينا يحتوي على 393 حامض أميني ( Cannarella *et al.*, 2021 ) و يعمل على تنشيط الجينات التي لها دور في تنظيم دورة الخلية *checkpoint cell cycle* كما يحافظ على سلامة الجينوم فيعمل مع تلك الجينات لمنع النمو غير المرغوب فيه للخلايا لذلك يوصف *P53* بأنه الوصي على الجينوم ( Tiwari and Fleshner, 2021 ) .

يساهم جين *P53* في تنظيم استجابة الخلايا للإجهاد التأكسدي عندما تتعرض الخلايا لظروف غير طبيعية مثل الإشعاع أو التعرض لمواد كيميائية ضارة والتي تؤثر على سلامة الغدة الدرقية ( Lin *et al.*, 2015 ) إذ يمكن لـ *TP53* تنشيط آليات الدفاع الخلوي والحفاظ على الغدة و يعمل على تنظيم عمليات التمايز الخلوي مما يساهم في الحفاظ على التوازن بين أنواع الخلايا في الغدة الدرقية وينظم تفاعلات معقدة تؤثر على نمو ووظائف الخلايا في الغدة الدرقية والتوازن الهرموني فيها ( Garufi *et al.*, 2015 ; Manzella *et al.*, 2017 )

## 2-7-2 جين *NRAS*

ينتمي جين *NRAS* إلى عائلة جينات *RAS* يقع على الكروموسوم 1p 13.2 ، ( Khan *et al.* , 2019 ) ويعد جين ورمي يشفر بروتين غشائي لينتقل بين جهاز كولجي والغشاء البلازمي، ويؤدي دوراً مهماً في تنظيم الإشارات الخلوية ونمو الخلايا في مجموعة متنوعة من الأنسجة بما في ذلك الغدة الدرقية ( Chamberlain and Shipston, 2015 ) ويرتبط عمله بالعديد من العمليات الحيوية داخل الخلية مثل تنظيم نمو الخلايا خلال نقل الإشارات الخلوية فعندما تتلقى الخلية إشارات محفزة مثل مستحاثات النمو يتفعل جين *NRAS* لنقل هذه الإشارات وتفعيل مسارات تعزيز النمو والانقسام داخل الخلية ويتحكم في مسارات النمو والانقسام الخلوي من خلال المشاركة في التفاعلات التي تساهم في تنظيم تلك المسارات مما يؤثر على عمليات الخلية الحيوية بما في ذلك تكاثرها ونموها ( Simão *et al.*, 2023 ) كما يساهم في تحفيز التمايز الخلوي بالإضافة لدوره في تحويل الإشارات من العوامل الخارجية مثل مستحاثات النمو وتفعيلها داخل الخلية وبالتالي فإن له دوراً في الآليات التي تسمح للخلايا بالاستجابة لتغيرات البيئة وتنظيم نموها وانقسامها بناءً على الظروف المحيطة بها ( Sadeghi Shaker *et al.* , 2023 ) ، إن أي تغييرات غير طبيعية في هذا الجين مثل الطفرات أو التغيرات يمكن أن تؤدي إلى تغييرات في النمو والانقسام الخلوي في الخلايا الدرقية وبالتالي تحفيز نمو الخلايا السرطانية وتكوين الأورام ، و تتفاعل جينات *NRAS* مع جينات أخرى معنية بوظائف الغدة الدرقية لتنظيم نموها ووظائفها كما و يؤدي دوراً في تحفيز التمايز الخلوي والاستجابة للإشارات الهرمونية المرتبطة بالغدة الدرقية

(Huang *et al.*, 2019; Marotta *et al.*, 2021) كما يمكن أن تسبب الطفرات في جين *NRAS* سرطان المستقيم و سرطان الغدة الدرقية الجريبي ومتلازمة التكاثر للمفاوي المناعي الذاتي و متلازمة نونان وسرطان الدم ( Kiremitci *et al.*,2022 )

### 2-7-3 جين *BRAF*

جين *BRAF* هو جين يُشفّر البروتين الذي له دور مهم في تنظيم مسارات الإشارات الخلوية التي تساهم في النمو والانقسام الخلوي ويعدمن الجينات المهمة المنظمة لدورة حياة الخلية ، يقع جين *BRAF* على الكروموسوم 7q34 وتسبب الطفرات والتغيرات في جين *BRAF* الأورام والسرطانات إذ ان 20 من أصل 34 عينة من المتعرضين لطفرة في جين *BRAF* سببت سرطانات الجلد و الأمعاء و سرطان المبيض وسرطان الغدة الدرقية (Birden *et al.*,2022) إن الطفرة الأكثر شيوعاً في سرطان الغدة الدرقية في جين *BRAF* إذ يتعرض لطفرة استبدال تؤدي إلى استبدال الحامض الأميني فالين بحامض الغلوتاميك (Valin) 600 (V600E وهو التغيير الأكثر شيوعاً إذ تم ايجاده في ~ 45 ٪ من المرضى البالغين المصابين بـ DTC ، و ~ 58 ٪ من مرضى سرطان الغدة الدرقية الحليمي ( Chakraborty *et al.*,2020) وظيفة الجين الاساسية هي التنظيم السلبي لدورة حياة الخلية ودفع الخلايا للموت المبرمج ، ويعمل على نقل الإشارات داخل الخلايا و فسفرة البروتين ونقل المجموعات الفوسفات و الاستجابة الخلوية لأيون الكالسيوم و تمايز الخلايا و نمو وتطور الغدة الدرقية و الغدة الصعترية ، كما ويقوم بالتحكم في مسار تنشيط البروتينات (Extracellular Signal-Regulated ERK Kinase) والذي يعمل على تنظيم النمو والتكاثر الخلوي ، تؤدي الطفرات في جين *BRAF* إلى تشوه في وظيفة البروتين مما يساهم في تفاقم النمو والانقسام الخلوي بشكل غير منظم وغير مسيطر عليه مما يتسبب في تكوين أنواع مختلفة من السرطان بما في ذلك سرطانات الجلد وسرطانات الغدة الدرقية وبعض أنواع السرطانات الأخرى (Fullmer *et al.*,2021)

### 2-7-4 جين *RET* (Rearranged During Transfection)

يؤدي جين *RET* دور مهم في نمو الأنسجة العصبية والغدية و الأعصاب وان اي طفرات أو تغييرات شكلية في هذا الجين يمكن أن تتسبب في تكوين سرطان الغدة الدرقية *MTC* وأشكال أخرى من سرطانات الغدة الدرقية ، يقع جين *RET* على الكروموسوم 10q11.2 (Chu and Nosé, 2022) و يعمل على تحفيز تثبيط المستقبلات وتنشيط مسارات إشارات الخلايا التي تؤدي دورا في تمايز الخلايا ونموها وهجرتها وبفائها، كما يعد مهماً جدا في تطور الجهاز العصبي والأعضاء والأنسجة المشتقة من القمة العصبية. يمكن أن يخضع هذا الجين الورمي للتنشيط السرطاني من خلال تعرضه للطفرات إذ ترتبط الطفرات في هذا الجين بمرض Hirschsprung و central hypoventilation syndrome (متلازمة نقص التهوية المركزي) ( Kawai and Takahashi, )

(2020) ، يتعرض جين *RET* الى نوعين من الطفرات التي ترتبط بسرطان الغدة الدرقية فهي اما ان تتم بتبادل الأجزاء الجينية Rearrangements إذ يتم تبادل أجزاء مختلفة من الجينات مما يسبب تكوين اجزاء غير طبيعية من بروتين جين *RET* غالبا ما تكون هذه البروتينات نشطة بشكل مفرط فتؤدي الى نقل الإشارات داخل الخلايا مما يؤدي إلى تعزيز نمو الخلايا بشكل غير منتظم وتكون الأورام ، أو طفرة نقطية Point Mutations عندما يتغير واحد أو أكثر من النيوكليوتيدات في جين *RET* إذ يؤثر هذا التغيير على وظيفة الجين ووظيفة البروتين الناتج منه مما يؤدي ايضا الى تكوين الأورام وتطورها ، وتؤدي الطفرات في جين *RET* الى تفاقم عمليات النمو والانقسام الخلوي في الخلايا وبالتالي تسهم في تكون سرطان الغدة الدرقية ويكون سرطان الغدة الدرقية النخاعي اكثر الأورام التي تنشأ نتيجة للطفرات في جين *RET* ويكون أكثر صعوبة في العلاج مقارنةً مع سرطانات الغدة الدرقية الاخرى (Kalarani et al.,2023) .

### 2-7-5 جين *PTEN* (Phosphatase and Tensin Homolog)

يؤدي جين *PTEN* دور مهم تنظيم العديد من العمليات الحيوية في الجسم مثل تنظيم مسارات الإشارات الخلوية والتحكم في نمو وانقسام الخلايا، وظيفته الرئيسية هي تنظيم مستويات الفوسفات في الخلايا من خلال إزالة مجموعات الفوسفات من البروتينات و الدهون مما يؤثر على أنظمة مهمة منها مسار *PI3K-AKT: PTEN* الذي ينظم مسار *PI3K-AKT* وبالتالي تنظيم نمو وبقاء الخلايا فعندما يكون *PTEN* نشطاً يقوم بتحليل جزيئة الفوسفوينوزيتول ( Phosphoinositol ) *PIP3* إلى *PIP2* مما يقلل من نشاط مسار *PI3K-AKT* ويقلل من تأثيراته على النمو الخلوي و بقاء الخلية وتنظيم النمو والانقسام الخلوي بتنظيمه مسارات إشارات النمو والتكاثر فيمنع تكاثر الخلايا غير طبيعي للخلايا وضمان توازنها و منع تكون الأورام (Misra et al.,2021) كما يساهم *PTEN* في الحفاظ على استقرار الجينوم من خلال تنظيم مسارات الإصلاح الجينومي. يقع الجين على الكروموسوم 10q23.31 ويعتقد أنه مرتبط بالغشاء الداخلي للميتوكوندريا ليساهم في تنظيم استقلاب الطاقة في الميتوكوندريا (Wang et al.,2020) عند تعرض الجين الى طفرات أو تغييرات يمكن أن تؤدي إلى فقدان وظيفته أو تقليل قدرته على التحكم في هذه المسارات والعمليات الحيوية فإن ذلك يمكن أن يساهم في تفاقم عمليات النمو والانقسام الخلوي مما يمكن أن يؤدي إلى تكون السرطانات وزيادة احتمالية تكوين الأورام فيسبب الإصابة بسرطان الغدة الدرقية الجريبي Follicular Thyroid Carcinoma (Colombo et al.,2022)

### 2-7-6 جين *TTF-1/ NKX2-1* (Thyroid Transcription Factor-1)

يؤدي جين *NKX2-1* دور مهم في تنظيم وظيفة الغدة الدرقية والرئتين إذ يُنتج بروتين يعمل على تنظيم تعبير الجينات الأخرى وتكوين الخلايا إذ يحفز تكوين الخلايا الغدية في الغدة الدرقية لإنتاج هرمونات الدرقية المهمة



للتوازن الهرموني في الجسم، كما ويساهم في تحفيز تكوين الخلايا الرئوية وتمايزها في الرئتين ، وينظم افراز الهرمونات الدرقية والهرمونات الرئوية، مما يساهم في التوازن الهرموني العام في الجسم (Fukagawa *et al.*, 2023) ، يقع جين *NKX2-1* على الكروموسوم 14q13.3 ويعمل على تشفير بروتين إعتبرَ عامل نسخ خاص بالغدة الدرقية thyroid-specific transcription factor إذ يرتبط البروتين المشفر بـ thyroglobulin promoter إذ ينظم التعبير عن الجينات الخاصة بالغدة الدرقية وجينات التشكل morphogenesis . تؤدي الطفرات في هذا الجين إلى اضطرابات في عمل الغدة الدرقية والرئتين وقد ترتبط بأمراض أخرى مختلفة مثل الإصابة بـ قصور الغدة الدرقية وضيق التنفس الولادي و داء الرقاص العصبي وقد تسبب سرطان الغدة الدرقية (Marić and Ljuboja, 2020) وبعض التغيرات تشفر أشكالاً مختلفة لهذا الجين فيشارك مع جين آخر و يسمى بـ *TTF1* إذ يؤدي دوراً في نسخ الجينات الريبوسومية (Ito *et al.*, 2021)

### 7-7-2 جين *NADH / ubiquinone oxidoreductase 1 NDI*

يقع جين *ND1* في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا إذ يتم توليد الطاقة و هو جين من الجينات نازعة الهيدروجين الموجودة في الميتوكوندريا والتي تُشفّر العديد من البروتينات التي تشكل سلسلة التنفس الخلوي (Respiratory complex chain) (Fernandez-Vizarra and Zeviani, 2021) والذي يؤدي دور مهم في تكوين الطاقة داخل الخلية من خلال أكسدة المواد الغذائية ويشارك في نقل الإلكترونات داخل الميتوكوندريا، يعد جين *ND1* المعقد الأول لتسلسل التنفس الخلوي Complex I وهو واحد من خمس مجموعات من البروتينات التي تؤدي دور في نقل الإلكترونات وتوليد الكهرباء اللازمة لتحرير الطاقة من الأوكسجين ، تتميز الجينات الميتوكوندريية ببنية مختلفة عن الجينات النووية إذ يتم نقلها بشكل مستقل عن الجينات النووية فيتضح من ذلك ان لها تأثير مباشر على وظيفة الميتوكوندريا وإنتاج الطاقة (Singh *et al.*, 2020) ينتج جين *MT-ND1* بروتين يتكون من 318 حمض أميني (Lewis *et al.*, 2020) تؤثر التغيرات في الحامض النووي الميتوكوندري mtDNA على الفسفرة التأكسدية OXPHOS والتي تعتبر من السمات المميزة للخلايا السرطانية إذ وجد في جميع حالات الإصابة بـ PTC وجود طفرة mtDNA واحدة على الأقل بإجمالي 21 طفرة ، وتشير الدراسات إلى أن PTCs وباقي أنواع سرطانات الغدة الدرقية تكتسب أولاً طفرة *BRAF V600E* ثم طفرات mtDNA ، وان أي طفرات و تغيرات في جينات الميتوكوندريا مثل جين *ND1* تسبب اضطرابات في توليد الطاقة داخل الخلايا مما يؤثر على أنظمة الجسم المختلفة (de Sousa Barrambana, 2019).

كما وتسبب تغيرات الحامض النووي الميتوكوندري mtDNA متلازمة ميلاس MELAS syndrome وهي نوبات تشبه السكتة الدماغية تسبب اضطراب في عمل المخ والجهاز العصبي والعضلات ومرض التنكس العصبي neurodegenerative disease ومتلازمة لي (اضطرابات الحركة والاعتلال العصبي المحيطي) وهو مرض عصبي وراثي يؤثر على الجهاز العصبي المركزي و أمراض الاعصاب البصرية optic nerve disease و الزهايمر واضطرابات التمثيل الغذائي بما في ذلك السمنة ومرض السكري من النوع الثاني

(Wallace, 2005) وارتفاع ضغط الدم و كما وجدت في الأنسجة السرطانية لسرطانات الغدة الدرقية الحليمي و الجريبي (FTC) وسرطان الكبد والثدي والقولون والمستقيم والبروستات (Pinkowska *et al.*, 2021; Hasanzad *et al.*, 2019)

## 8-2 مضادات الأكسدة Antioxidant

وهي مركبات معقدة لها خصائص بايولوجية بالغة الأهمية لجسم الكائن الحي و هي تمثل الدفاعات الخاصة التي يمتلكها الجسم و التي بدورها تحميه من الضرر و الإذى الذي تسببه الجذور الحرة وتعمل كدرع واقى يقلل من مخاطر الإصابة بالأمراض ( Chauhan *et al.*, 2022 ) ومنها أمراض القلب وتصلب الشرايين Atheroscleri والشيخوخة Aging و السكري والسرطان Cancer كما لها دور مهم في الحفاظ على صحة الكائن الحي وخاصة في المراحل العمرية المتقدمة ( Demirci-Cekic *et al.*, 2022 ) ، تتميز مضادات الاكسدة بقدرتها على إعطاء الكترولون الى الجذور الحرة بحيث تتحول هذه الجذور الحرة من تفاعلاتها ونشاطها الضار الى مركبات مستقرة غير قادرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم وكما تعمل على تفكيك البيروكسيد تكون إما ذائبة بالدهون أو ذائبة في الماء وهي بنوعين مضادات الأكسدة الانزيمية وغير الانزيمية (Ifeanyi, 2018).

### 1-8-2 الكلوتاثيون Glutathione

وهو مضاد اكسدة غير انزيمي يعتبر واحد من أقوى مضادات الأكسدة الموجودة في الجسم وهو مكون من تركيب ثلاثي الببتيد نتيجة ارتباط ثلاثة حماض أمينية هي السستين cysteine والكلوتاميت glutamate و الكلايسين، ويحتوي بين الحامضين الأمينيين الأول والثاني على أسرة كما Gama لذلك فهو يقاوم التحلل بواسطة انزيمات الببتيديز Peptidase ( Raj Rai *et al.*, 2021 ) يوجد في الخلايا الحيوانية والنباتية والبكتريا ويرمز له بالرمز GSH ، يعد الكلوتاثيون من أهم العوامل المهمة لمنع الإذى الحاصل نتيجة للضرر التأكسدي وكذلك أحد الكاسحات الرئيسة للجذور الحرة ومن مضادات الاكسدة غير الانزيمية فله دور مهم في الحفاظ على الخلايا والأعضاء والأنسجة من الإجهاد التأكسدي ( Adwas *et al.*, 2019).

## 9-2 الإجهاد التأكسدي Oxidative stress

على الرغم من أن الأوكسجين هو الجزيء الأساسي للحياة إلا أنه سبب مؤثر في احداث أضرار على الغدة الدرقية بواسطة تكوين الجذور الحرة وأنواع الأوكسجين النشط (ROS) Reactive oxygen species ، ان الإجهاد التأكسدي Oxidative stress هو ظرف غير طبيعي تمر به الخلايا يؤدي لإنتاج أنواع الأوكسجين

التفاعلية (ROS) بصورة مفرطة فيتعدى دفاع مضادات الأكسدة الخلوية مسبباً تلف في الجزيئات الخلوية الكبيرة وبالتالي تغيير في وظائف الخلايا وقدرتها على الاستمرار ، فقد يسبب شذوذ في التعبير عن الجينات ومستقبلات الأغشية واضطرابات المناعة والطفرة وترسبات الدهون أو البروتينات في الأنسجة كما و يتحكم بنمو الخلايا أو موتها وبذا فإن أكثر الأمراض سببها الإجهاد التأكسدي مثل السرطانات وأمراض العين والضمور البقعي والأمراض التنكسية العصبية (التصلب الجانبي ومرض الزهايمر) ( Salehi *et al.* , 2019 ; Prasun,2020 ) ينتج الاجهاد التأكسدي عند عدم التوازن بين أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة وإنتاج الجذور الحرة (García-Sánchez, 2020) و مع مرور الوقت يفقد الجسم قدرته على محاربة آثار الجذور الحرة ، فتتكاثر فيه وترفع من الإجهاد التأكسدي وبالتالي يزداد الضرر على الخلايا ، ويسبب الكثير من الأمراض أهمها السرطان والسكري وأمراض القلب (Bhatti *et al.*, 2022) تؤدي هرمونات الغدة الدرقية THs دوراً أساسياً في الحفاظ على التوازن القلبي الوعائي وتشارك في تعديل انقباض القلب ومعدل ضرباته والوظيفة الانبساطية ومقاومة الأوعية الدموية الجهازية وتوسع الأوعية إذ تعمل على تنشيط أو قمع الجينات المستهدفة أو تنشيط الإشارات داخل الخلايا ( Arcos, 2022) .

ان مايتوكوندريا الخلايا حقيقية النواة مسؤولة بشكل أساسي عن تخليق ثلاثي ادينوسين الفوسفات وتعديل الإجهاد التأكسدي و مع تقدم العمر تنتج الميتوكوندريا أنواعا متزايدة من الأوكسجين التفاعلي ROS والتي بدورها تحفز تلف الحمض النووي للميتوكوندريا mtDNA والطفرة ، وتضعف وظائف الميتوكوندريا ، وبالتالي تساعد في تكون الخلايا السرطانية في الغدة الدرقية (Venditti and Di Meo, 2020) .

## 2-9-1-9 المألون ثنائي الديهايد (MDA) Malondialdehyde

وهو مؤشر حيوي للإجهاد التأكسدي ويعتبر مطفر ومسبب للأورام وهو الناتج الأخير من عملية بيروكسيدية الدهن وهو منتج داخلي المنشأ Endogenous وتحدث هذه العملية بصورة تلقائية في خلايا الجسم عند نقصان مستوى مضادات الأكسدة وزيادة الاجهاد التأكسدي في الجسم (Ahmad, *et al.*, 2018) فهذا يؤدي إلى زيادة بيروكسدة الدهن كذلك تحدث عملية بيروكسدة الدهن عند زيادة إنتاج الجذور الحرة و التي تفوق قابلية و قدرة مضادات الأكسدة على كسحها أو التخلص من نواتجها بسبب أكسدة الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة والموجودة في الأغشية الخلوية وبالتالي تفقد الصفة النفاذية الاختيارية للسوائل و المواد من خلاله و عليه فان تكون MDA يعتبر نتيجة لزيادة حالات توليد الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي ( Yaman and Ayhanci, ) (2021).

## 2-9-2-2 المستضد السرطاني المضعي CEA carcinogenic embryonic antigen

وهو بروتين سكري وجوده احد دلالات الأورام يعمل على تحفيز الاستجابة المناعية و يعبر عن البروتينات التي تمنع الإصابة وتكرار DNA إذ يرتبط بمستقبلات محددة على سطح الخلية المستهدفة و يعبر عن هذه

البروتينات إذ يمنع تلف الاحماض النووية عن طريق المستقبلات السائتوبلازمية التأكسدي (Huang and Kaufman, 2002).

## 10-2 عوامل الخطورة لمرض سرطان الغدة الدرقية Thyroid cancer risk factors

يعد التعرض للإشعاع المؤين عامل الخطر الأكبر والأهم للإصابة بسرطان الغدة الدرقية كما وظهرت السمعة كعامل خطر مهم آخر إضافة الى النظام الغذائي و جنس الإناث والعمر و فصيلة الدم والتدخين والكحول و توارث الجينات والعرق (Kitahara and Schneider, 2022).

### 1-10-2 التعرض للإشعاع الخارجي Exposure to external radiation

الإشعاع المؤين هو أقوى عامل خطر للإصابة بسرطان الغدة الدرقية بناءً على دراسات التساقط الذري والحوادث النووية والعلاج الإشعاعي للحالات الحميدة أو السرطانات السابقة فقد تتعرض الغدة الدرقية لجرعات عالية من الإشعاع نتيجة العلاج الإشعاعي (النوي و الطبي) للسرطانات القريبة من المنطقة، أو نتيجة للفحوصات الشعاعية مثل الأشعة السينية أو التعرض لحوادث نووية أو تسرب إشعاعي من مصادر مشعة في حين أن هذه الحالات من التعرض للإشعاع تؤثر على مجموعات معينة من الناس، إلا أنها تعتبر عامل خطر ومهم يمكن أن يكون مسؤولاً عن الزيادة الكبيرة في الإصابات بسرطان الغدة الدرقية، أحد التفسيرات المحتملة لهذا الاتجاه التصاعدي هو الاستخدام المتزايد لتقنيات التشخيص التي تسمح باكتشاف سرطان الغدة الدرقية و يكون الخطر أكبر في مرحلة الطفولة ويقل مع تقدم العمر ويكون ضئيلاً عند البالغين، ويكون الحد الأدنى للاستجابة للإشعاع بعد التعرض من 5-10 سنوات قبل ظهور سرطان الغدة الدرقية (Khan and Afzal, 2023; Lamartina et al., 2020).

### 2-10-2 العمر Age

تختلف أنسجة الغدة الدرقية السليمة لدى الشباب عن البالغين و الاطفال ويختلف معدل تكاثر خلايا الغدة الدرقية الطبيعية في فترة الجنين والطفولة والبلوغ إذ تحتوي الغدة الدرقية لدى الطفل على بصيلات أصغر وتعبير أعلى للبروتينات المشاركة في ايض اليوديد (Faggiano et al., 2004) عند النساء يزداد خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية بالعمر الأقرب إلى سن 50 عاماً نظراً لأن سن 51 هو متوسط العمر عند بداية انقطاع الطمث وإن التغييرات في هرمون الاستروجين أو هرمون LH و الهرمون المنبه للجريب FSH يؤثر على نمو سرطان الغدة الدرقية وتمده، نظراً لأن FSH و LH لهما وحدة  $\alpha$  متطابقة مع TSH، فمن الممكن أن يرتفع LH و FSH مع انقطاع الطمث و يحفز نمو سرطان الغدة الدرقية وغزوها عن طريق تحفيز مستقبل TSH، بينما تكون احتمالية الإصابة بسرطان الغدة الدرقية لدى المرضى الذين تتراوح أعمارهم بين 20-44 عاماً أقل

(Kalezić *et al.* , 2023) ولكن من الممكن أن الطفرات الجينية المحددة مثل التغيرات الشكلية لجين RET (RET / PEC) يكون لها معدل أعلى في الشباب (Haymart, 2009) وطفرة BRAF تكون أكثر شيوعاً عند البالغين ومن المحتمل أن يؤدي الاستعداد لطفرة جينية معينة الى تطور الخلايا السرطانية بشكل كبير اي يمنح الورم خصائص فريدة وبذلك تصعب محاربته عند الشباب (Schreck *et al.* , 2019) .

### 2-10-3 الجنس Sex

إن الزيادة في الاصابات بسرطان الغدة الدرقية شملت كلا الجنسين وجميع الفئات العمرية لكنها كانت أسرع انتشاراً بين النساء في سن الإنجاب (Unuane and Velkeniers, 2020) إذ كان معدل الإصابة بسرطان الغدة الدرقية أعلى لدى النساء منه عند الرجال بنسبة ثابتة تبلغ 3:1 ، باستثناء فئة المراهقين والشباب البالغين إذ يكون معدل الإصابة في الإناث أعلى بمقدار 5 أضعاف (Miranda-Filho *et al.* , 2021) وبشكل عام يزداد خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية لدى النساء في فترة البلوغ و بعد انقطاع الطمث ، وكما يزداد خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية لدى الرجال بشكل دائم طوال حياتهم مما يدعم فكرة أن للعوامل الهرمونية أثر في التسبب ببعض سرطانات الغدة الدرقية (Suteau *et al.* , 2021) ، إن هرمون الاستروجين يزيد من مستويات هرمون TSH في الجسم مما يؤدي بدوره إلى زيادة نمو وتكاثر خلايا الغدة الدرقية (Demetriou *et al.* , 2023) إذ يتم التعبير عن مستقبلات الإستروجين بشكل كبير في أورام الغدة الدرقية وارتفاع الإستروجين مع الحمل يسبب ارتفاع في مستويات هرمون الغدة الدرقية Triiodothyronine في الدم مما قد يؤدي إلى ارتفاع معدل نمو وتكاثر الخلايا و ترتبط مستويات هرمون TSH المرتفعة في الدم بالتشخيص المبكر لسرطان الغدة الدرقية لدى الأفراد المصابين باضطرابات الغدة الدرقية (Alyas *et al.* , 2022).

### 2-10-4 التاريخ العائلي Family history

إن تاريخ الإصابة بأمراض الغدة الدرقية لدى الأقارب من الدرجة الأولى يعمل كعامل خطر لـ Thyroid TC cancer إذ أظهرت نتائج دراسة أن خطر الإصابة بـ TC عند الأطفال يزداد إذا كان الوالدان مصابين بأمراض الغدة الدرقية (Janús *et al.* , 2023).

وأظهرت نتائج دراسة أخرى في الكويت أن خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية الحميد لدى أقاربهم أعلى بثلاث مرات من غيرهم تشير هذه النتائج إلى أن الجينات قد تكون مسؤولة عن الإصابة (Parad *et al.* , 2021) ، لاحظ Shen و جماعته (2017) دور الطفرات في جينات *BRAF V600E* و *TERT* و *RAS* في حالات الإصابة بأمراض الغدة الدرقية Thyroid cancer كما و ان تاريخ الإصابة بأمراض الغدة الدرقية بما في ذلك ضمور الغدة الدرقية وفرط نشاط الغدة الدرقية يزيد من خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية (Shen *et al.*, 2017)

**5-10-2 التدخين Smoking**

يعد التدخين أحد أكثر أسباب السرطان شيوعاً و تم تصنيفه على أنه عامل مسرطن لـ 12 نوع من السرطان في تقرير نشرته الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (Le et al., 2022) ومع ذلك ظهرت نتائج معاكسة في حالات سرطانات الغدة الدرقية بينما تدعم بعض البيانات التأثير المسرطن للتدخين على سرطان الغدة الدرقية (Wiersinga, 2013) يُظهر البعض الآخر عدم وجود تأثير كبير للتدخين على سرطان الغدة الدرقية وبعضها يدعم أيضاً انخفاض خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية المرتبط بتدخين السجائر (Liu et al 2017) إن مخلفات تدخين السجائر في جسم الانسان تظهر خصائص مشابهة لهرمونات الغدة الدرقية ويمكن أن تعمل كمنبهات جزئية لمستقبلات هرمون الغدة الدرقية وبما ان هناك صلة بين خطر الإصابة بأورام الغدة الدرقية وتركيز هرمون تحفيز الغدة الدرقية TSH فقد يزداد خطر الإصابة بالأورام الخبيثة في عقيدة الغدة الدرقية مع زيادة تركيزات هرمون TSH في الدم فبالتالي يمكن أن تؤدي مستخلصات السجائر المستنشقة للمدخنين إلى زيادة في ثلاثي يودوثيرونين T3 والثيروكسين T4 مما قد يؤدي بدوره إلى انخفاض مستويات هرمون TSH في الدم وبالتالي يؤدي تأثير تثبيط TSH إلى انخفاض تحفيز الغدة الدرقية وهو ما قد يفسر سبب انخفاض معدلات سرطان الغدة الدرقية للذكور والإناث المدخنين (Hayashi et al., 2018; Tweed et al., 2012)

**6-10-2 مؤشر كتلة الجسم (BMI) والنظام الغذائي Diet**

ترتبط السمنة بزيادة احتمالية الإصابة بالعديد من أنواع السرطان نتيجة تأثيرها على الأنظمة الهرمونية والمقاومة للأنسولين والالتهابات المزمنة و بذلك يعد مؤشر كتلة الجسم عامل مهم مرتبط بخطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية إذ يمكن أن يساعد هذا العامل في الوقاية و تقليل عبئ سرطان الغدة الدرقية من خلال الوقاية منه ، وجدت الدراسات ارتباطاً إيجابياً لمؤشر كتلة الجسم بسرطان الغدة الدرقية إذ تتراوح نسب المخاطر من 1.1 إلى 2.3 عند الذكور و 1.0 إلى 7.4 في الإناث أي ان خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية يزداد لكلا الجنسين (He et al., 2019) كما و يؤثر نمط الحياة بشدة على معدلات الإصابة بسرطان الغدة الدرقية بما في ذلك تناول اليود واستهلاك الأسماك والخضروات إذ تشير الأبحاث إلى أن نقص اليود يرتبط بزيادة خطر الإصابة بسرطان الجريبات ، في حين يرتبط تناول كميات كبيرة من اليود بزيادة الإصابة بالسرطان الحليمي (Cheng et al., 2020) كما و أظهرت دراسات بيئية ارتباطاً بين تناول اليود والإصابة بسرطان الغدة الدرقية الحليمي إذ وجد أن خطر الإصابة بالسرطان الحليمي أقل في المناطق التي تعاني من نقص في اليود مقارنة بالمناطق ذات اليود الكافي (Feldt-Rasmussen, 2001; Khan and Mudassar, 2021).

## 11-2 اعراض سرطان الغدة الدرقية Symptoms of thyroid cancer

قد لاتظهر الاعراض بوضوح في المراحل المبكرة من الإصابة بينما تبدأ بالظهور مع تطور المرض (Haymart *et al.*,2023 ;Cheong *et al.*,2023) و يمكن ملاحظتها كما يلي :

1. تضخم صلب في منطقة الرقبة ناتج عن تضخم الغدة الدرقية .
2. اضطرابات في الحلق مثل السعال و بحة في الصوت بسبب الضغط على الاعصاب المجاورة كونها تقع بالقرب من الحبال الصوتية .
3. صعوبة في البلع و الآلام المزعجة في الحلق .
4. صعوبة التنفس.

## 12-2 تشخيص سرطان الغدة الدرقية Diagnosis of thyroid cancer

يعد أفضل اختبار لتشخيص سرطان الغدة الدرقية قبل الجراحة هو الخزعة أي فحص الخلايا بالإبرة الدقيقة Fine-needle aspiration (FNA) إذ يعد اختبار آمن وبسيط و يوفر نتائج سريعة ودقيقة لاكتشاف وتشخيص الأورام الخبيثة بنسبة دقة من 80% إلى 95% في تشخيص مرض PTC لأنه لا يمكن تمييز FTC عن الأورام الغدية الجريبية الحميدة بوساطة الخزعة (Xu *et al.*,2022)

1. **الفحص البدني** : تفحص منطقة العنق يدوياً لتحسس أي تغيرات يمكن ملاحظتها في الغدة الدرقية مثل العقيدات والتأكد من عوامل الخطر المحيطة بالمريض مثل التعرض للإشعاع والتاريخ العائلي للإصابة بأورام الغدة الدرقية.
2. **تحليل الدم**: بوساطة أخذ عينة من الدم لاختبار مستويات هرمونات الغدة الدرقية مثل هرمون T3 و T4 و الكالسيونين وذلك لتقييم وظيفة الغدة الدرقية و معرفة ما إذا كانت تعمل بشكل طبيعي و يتم افراز الهرمونات ضمن المستويات الطبيعية .
3. **التصوير بالموجات فوق الصوتية (Ultra sound)** : تستخدم الموجات فوق الصوتية عالية التردد لإنتاج صور لأعضاء الجسم فتعمل على تكوين صورة للغدة الدرقية تساعد في تحديد ما إذا كانت العقيدة الدرقية غير سرطانية (حميدة) أم أن هناك احتمالاً يهدد بأن تكون سرطانية.
4. **التصوير بالأشعة المقطعية Computed tomography CT Scan أو الرنين المغناطيسي (MRI) Magnetic Resonance Imaging** : للحصول على صور مفصلة للغدة الدرقية والأنسجة المحيطة بها وبالتالي تحديد حجم الورم وموقعه.
5. **فحص PET Scan**: لمعرفة انتشار الورم في مناطق الجسم الأخرى .

6. **الخرزة** : بأخذ عينة من نسيج الغدة الدرقية لاختبارها إذ يكون الشفط بالإبرة الرفيعة إذ تؤخذ عينات من نسيج الغدة المشتبه به ثم تُعامل العينة في المختبر للبحث عن الخلايا السرطانية.
7. **الاختبارات الجينية** : قد يكون لدى بعض الأشخاص المصابين بسرطان الغدة الدرقية النخاعي أو اللبي تغيرات جينية والتي يمكن أن تكون مصاحبة لسرطانات الغدد الصمّ الأخرى و قد تكون بسبب التاريخ العائلي للمرض إذ يوصي الطبيب بإجراء اختبار وراثي للبحث عن الجينات التي قد تزيد من مخاطر الإصابة بالسرطان ( Lebbink et Do Cao et al.,2022 ; Verburg and Reiners, 2019 )  
(al.,2022 ;

### 13-2 علاج سرطان الغدة الدرقية Thyroid cancer treatment

يتم اختيار العلاج المناسب لسرطان الغدة الدرقية اعتماداً على عدّة عوامل أساسية وتتضمن هذه العوامل نوع سرطان الغدة الدرقية وحجم الكتلة الظاهرة ومرحلة المرض وعمر المريض وحالته الصحيّة ومن الخيارات العلاجية التي يمكن أن يلجأ لها الطبيب ما يأتي :

1. **العلاج الجراحي**: هو العلاج الأكثر شيوعاً لسرطان الغدة الدرقية إذ يتم استئصال الغدة الدرقية أو جزء منها وبعد الاستئصال يتم استخدام اليود المشع لتقليل احتمالية تكرار الإصابة بالسرطان وعلاج الأمراض المتبقية .
2. **العلاج الإشعاعي**: يتم فيه استخدام جهاز يُصدر إشعاعاً يُوجّه إلى الجزء المصاب للتخلّص ممّا تبقى من الخلايا السرطانية بعد العلاج الجراحي وقد يستخدم في حالات يكون فيها استخدام اليود المشع غير ملائم أو غير فعّال.
3. **العلاج الكيماوي**: ويتمثل باستخدام أدوية خاصة تقتل الخلايا السرطانية وغالباً ما تُستخدم للسيطرة على المرض وليس لغرض العلاج
4. **العلاج باليود المشع**: إذ يتم بلع مادة اليود المشعّ عن طريق الفم وفي كثير من الأحيان يكون هذا العلاج الخطوة التي تلي العلاج الجراحي وذلك للقضاء على أي خلايا سرطانية متبقية بعد استئصال الكتلة، إضافةً إلى تقليل احتمالية إعادة تكون الورم مرةً أخرى.
5. **العلاج الدوائي**: باستخدام عقاقير تساعد في علاج بعض أنواع سرطان الغدة الدرقية مثل تلك التي تستهدف البروتينات المعينة مثل جينات *RET* و *BRAF* المشاركة في تطور الورم. (Vander Poorten et al.,2022 ;Xing et al.,2023;Rovira et al.,2023)



الفصل الثالث :

**المواد وطرائق العمل Materials and Methods**

## 1-3 المواد Materials

## 1-1-3 الاجهزة المختبرية والمواد المستخدمة في الدراسة

جدول 1-3 الاجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة و شركة التصنيع والمنشأ

الشركة المصنعة والمنشأ	اسم الجهاز او المستلزم	ت
Analytic jena(Germany)	Real time (Q PCR )	1 جهاز تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل الكمي
Shimadzu (Japan)	UV VIS- Spectrophotometer	2 جهاز قياس الطيف الضوئي والاطوال الموجية
UVP UVsolo touch (Germany)	Photo documentation system	3 جهاز التوثيق الفوتوغرافي
Analytic jena (Germany)	Thermal cycler DNA	4 جهاز تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل
Biobase (China)	Centrifuge	5 جهاز النبذ المركزي
UV Transilluminator (China )	UV light transilluminator	6 جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية
Bioneer ( China )	Gel electrophoresis apparatus	7 جهاز الترحيل الكهربائي
Biobse (Korea`)	Laminar flow cabinet	8 الكابينة المعقمة
Biobase (China)	Cooling Centrifuge	9 جهاز النبذ المركزي المبرد
Cleaver scientific (USA)	Electrophoresis constant power supply	10 مجهر الطاقة الكهربائية المستمر
Biocheck (USA)	Elisa	11 جهاز فحص الامتزاز المناعي

Biobase (China)	Electrical sensitive balance	ميزان الكتروني حساس	12
Samsung (Korea)	Microwave oven	فرن مايكرويف	13
Biobase (China)	Vortex	مازج	14
Biobase (China)	Water bath	حمام مائي	15
Hitachi (Japan)	Freezer Deep	مجدة	16
Bio Basic (Canada)	Micropipettes	ماصات دقيقة باحجام مختلفة	17
Bio Basic (Canada)	Micropipettes tips	قلم الماصات الدقيقة	18
Promega (USA)	Collection Tubes	انابيب جامعة	19
UAE	EDTA Tubes (Comoplast)	أنابيب مانعة للتخثر	20
UAE	Gel Tube	أنابيب هلام	21

### 2-1-3 Biological and chemicals materials المستخدمة

جدول 2-3 المواد المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	اسم المادة المستخدمة	ت
Marliju (korea)	Agarose	1 أكاروز
Bio basic (canada)	Ethidium Bromide	2 بروميد الاثيديوم

Bioneer ( korea)	Primers	بوادئ	3
Geneaid ( korea)	gsync™ Blood DNA Extraction Kit	عدة استخلاص الحامض النووي DNA	4
Aquarama (canada)	Deionized water	ماء مزال الأيون	5
Bioneer (korea)	PCR PreMix	عدة عمل الـ PCR	6
Bioneer (korea)	QPCR Master Mix	عدة عمل الـ QPCR	7
(korea) Bioneer	DNA loading Dye	صبغة تحميل الـ DNA	8
Bio basic (canada)	10X TBE Buffer Solution	محلول دائري منظم	9
(Korea) Bioneer	DNA ladder Marker (100-2000 bp)	معلومات الحجم	10
BioMeriex	Calbiotech T3 kit	عدة تقدير هرمون T3	11
BioMeriex	Calbiotech Calcitonin kit	عدة تقدير هرمون الكالسيتونين	12
BioMeriex	Calbiotech T4 kit	عدة تقدير هرمون T4	13
BioMeriex	Calbiotech TSH kit	عدة تقدير الهرمون المحفز للغدة الدرقية	14
BioMeriex (France)	GSH kit	عدة قياس الكلوتاثيون	15
BioMeriex (France)	CEA kit	عدة قياس المستضد السرطاني المضغي	16
BioMeriex (France)	MDA kit	عدة قياس المانول داي الديهايد	17

### 2-3 طرائق العمل Methods

#### 1-2-3 جمع المعلومات

تم جمع المعلومات من مرضى سرطان الغدة الدرقية و الاصحاء ( مجموعة الاصحاء ) وفقا لاستمارة استبيان معدة لهذا الغرض ( ملحق رقم 1 ) أعدت لبيان بعض المعلومات المرتبطة بعينات الدراسة و دراسة تأثير بعض عوامل الخطورة على نسبة الاصابة بسرطان الغدة الدرقية مثل ( الجنس ، التاريخ العائلي ، التدخين ، العمر ، ارتفاع ضغط الدم ) .

#### 2-2-3 تصميم التجربة Experience Design

جمعت عينات الدراسة من مراجعي مؤسسة وارث لعلاج الأورام في محافظة كربلاء المقدسة وقسمت الى :

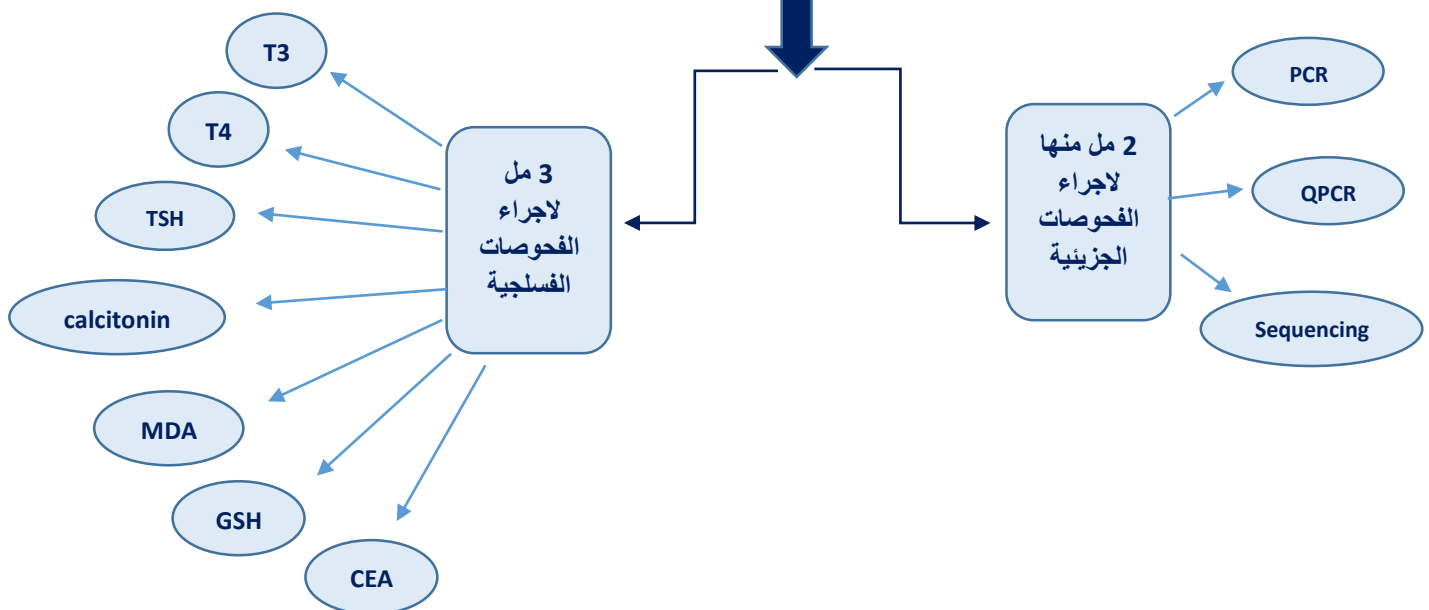
50 عينة من الاصحاء مظهرياً  
( مجموعة سيطرة )

50 عينة من المرضى  
المصابين بسرطان الغدة الدرقية

37 مصابة  
بمرض  
سرطان  
الغدة  
الدرقية

13 مصاب  
بمرض  
سرطان  
الغدة  
الدرقية

بسحب 5 مل من الدم الوريدي من المرضى والاصحاء وقسمت الى :



## 3-2-3 جمع عينات الدم Collection of blood samples

جمعت عينات الدراسة من المراجعين لمؤسسة وارث لعلاج الاورام في محافظة كربلاء المقدسة / العراق ، شملت الدراسة ( 100 عينة) بعد تشخيصهم جراحياً وقد قسمت العينات إلى 50 مريض بسرطان الغدة الدرقية الخبيث قبل اخذ العلاج ومقارنتها مع 50 عينة من الاصحاء مظهرياً كمجموعة سيطرة للفترة ( 1 أيلول لغاية 1 كانون الاول ) لعام 2022 .

سحب 5 مل من الدم الوريدي من المرضى المراجعين لمؤسسة وارث لعلاج الاورام وقد قسمت عينات الدم إلى :

1. 2 مل وضعت في أنابيب مانعة للتخثر ( EDTA ( Ethylene diamine tetra acetic acid ) ورجت العينة لمنع التخثر ، ومن ثم نقلت بحافظات مبردة إلى مختبر الدراسات العليا \_ كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء لإجراء الفحوصات الجزيئية لها .

2. 3 مل وضعت في أنبوبة هلام ( Gel tube ) لغرض اجراء الاختبارات الفسلجية ، وتسجيل النتائج للمصابين بسرطان الغدة الدرقية بعد تشخيصهم جراحياً وكذلك مجموعة الاصحاء

## 3-2-4 الكشف الجزيئي Molecular Detection

تم استخلاص الـ DNA الكروموسومي لغرض إجراء الكشف الجزيئي عن الطفرات في جين *BRAF* و التحقق من عدد النسخ لجين *NDI* و مقارنتها بالجين الطبيعي *HGB* في الماييتوكونديريا ، باستخدام التقنيات الجزيئية (PCR) (QPCR) و (DNA Sequencing) .

جدول (3-3) يوضح مكونات عدة استخلاص الحامض النووي DNA

الشركة المصنعة والمنشأ	الكميات	المكونات	العدة
Geneaid ( Korea )	30 ml 45 ml 100 ml 30 ml 1 ml  100 pcs 2 ml	- GSB Buffer -W1 Buffer -Wash Buffer with Ethanol - Elution Buffer -Proteinase K 1.1 with Deionized Sterile Distal Water. -GD Columns -Collection Tubes 100 pcs .	عدة استخلاص الحامض النووي DNA

**1-4-2-3 طريقة استخلاص الحامض النووي DNA (Protocol Isolation DNA)**

تم استخلاص الـ DNA من الدم بحسب تعليمات عدة الاستخلاص المجهزة من قبل شركة ( korea Geneaid حسب الخطوات التالية :

- 1- وضع  $200 \mu\text{l}$  من الدم في أنبوبة إندروف Eppendorf tubes ذات حجم  $1.5 \text{ ml}$
  - 2- أضيف لكل أنبوبة  $20 \mu\text{l}$  من Proteinase k ثم رجت العيلة بواسطة مازج لمدة 20 ثانية .
  - 3- حضنت العينة في الحمام المائي على درجة حرارة  $60^\circ \text{C}$  لمدة 5 دقائق .
  - 4- أضيف إلى العينات  $200 \mu\text{l}$  من GSB buffer ثم مزجت بواسطة المازج Vortex .
  - 5- حضنت العينة في الحمام المائي على درجة حرارة  $60^\circ \text{C}$  لمدة 5 دقائق .
  - 6- وضع محلول  $200 \mu\text{l}$  Elution buffer في أنبوبة إندروف Eppendorf tubes في الحمام المائي على درجة حرارة  $60^\circ \text{C}$  .
  - 7- أضيف إلى العينات  $200 \mu\text{l}$  من الكحول الايثيلي المطلق بسرعة الى العينات ثم مزجت بواسطة المازج Vortex لمدة 10 ثواني .
  - 8- وضعت أعمدة الـ GS في أنبوبة جمع Collection Tubes 2 ملم .
  - 9- نقل جميع الخليط إلى أنبوبة الـ GS المثبتة في أنبوبة الجمع Collection Tubes
  - 10- وضعت أنبوبة الـ GS المثبتة في أنبوبة الجمع في جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة ( 14-16 ) الف دورة في الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة ، إلى حين تدفق جميع السائل إلى أنبوبة الجمع .
  11. أهملت انابيب الجمع المحتوية على السائل و نقلت اعمدة الـ GS الى أعمدة جمع جديدة حجم 2 ملم .
  12. الغسل :
- أ- أضيف  $400 \mu\text{l}$  من محلول W1Buffer الى اعمدة الـ GS
- ب- وضعت أعمدة الـ GS الموضوعه في أعمدة جمع في جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة 14-16 الف دورة في الدقيقة ولمدة 30 ثانية .
- ت - تم التخلص من السائل في أعمدة الجمع .
- ث- وضعت أعمدة الـ GS في أنبوبة جمع 2 ملم .
- ج -أضيف إليها  $600 \mu\text{l}$  من محلول Wash Buffer بعد إضافة الكحول الايثيلي المطلق له حسب تعليمات الشركة المنتجة ) الى أعمدة الـ GS .
- ح- وضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة 14-16 الف دورة في الدقيقة ولمدة 30 ثانية.
- خ- تم التخلص من السائل ثم وضعت أعمدة الـ GS في أعمدة جمع 2 ملم جديدة .
- د- وضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة 14-16 الف دورة في الدقيقة ولمدة ثلاث دقائق وذلك لضمان جفاف أنابيب الـ GS .

- 13- نقلت أنبوبة أعمدة الربط إلى أنبوبة appendrof نظيفة ثم اضيف لها 100 µl من محلول Elution buffer وتركت العينة لمدة 3 دقائق كي نسمح لأعمدة الـ GS بامتصاص الـ Elution buffer .
- 14- وضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة 14-16 الف دورة في الدقيقة ولمدة 30 ثانية .
- 15- أهملت أنبوبة أعمدة الـ GS إذ أن السائل الموجود في أنبوبة الـ appendrof هو DNA .
- 16- حفظت الأنابيب الحاوية على الـ DNA بدرجة حرارة ° 20C - في المجمدة Freezer .

### 2-4-2-3 الكشف الجزيئي عن التغيرات الشكلية في جين BRAF وعدد نسخ DNA في

#### الميتوكوندريا

ان تذبذب أعداد نسخ الحامض النووي في الميتوكوندريا (mtDNA Copy Number) عن الحد الطبيعي سواء زيادة أو نقصان يعد أحد أسباب حدوث العديد من السرطانات ومنها سرطان الغدة الدرقية و تعد الطفرات و التغيرات الشكلية في جين BRAF وزيادة اعداد النسخ لجين NDI في الميتوكوندريا من أهم العوامل الشائعة والمسببة لهذا المرض . إذ تمت دراسة الطفرات و اعداد النسخ باستخدام التقنيات الجزيئية ( PCR , QPCR , SEQUENCING )

### 1-2-4-2-3 اختيار البودائ Primers

تم اختيار البودائ (Primers) كما في الجدول (3-4) لغرض الكشف الجزيئي عن الطفرات و عدد النسخ في جين الدراسة .

جدول (3-4) يوضح البودائ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن اعداد النسخ و الطفرات في جينات الدراسة

Name of gene	Sequence of Primers*	Product Size(bp)	Reference
<i>NDI</i>	F :5'--CCC TAA AAC CCG CCACATCT-3' R :5'-GAG CGA TGG TGA GAGCTAAGGT-3'		Zheng <i>etal.</i> , (2019)
<i>HGB</i>	F :5'-GCTTCTGACACAACACTGTGTTCACT AGC-3' R :5'-CAC CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'		Zheng <i>etal.</i> , (2019)
<i>BRAF</i>	F: 5'-TCATAATGCTTGCTCTGATAGGA- 3' R:5'-GGCCAAAAATTTAATCAGTGGA- 3'	224	Mosin <i>etal.</i> , (2014)

F : Forward .

R: reverse .



## 2-2-4-2-3 تحضير البودائ Primers Dilution

تم الحصول على البودائ جميعها من شركة Bioneer Company/ Korea كمسحوق Lyophilized product ، و تم تحضير محلول الخزن ( Stock solution ) ومحلول العمل ( Working solution ) بحسب تعليمات شركة Bioneer . تم تحضير محلول الخزن بإضافة الماء المزال الأيون ( Deionized water ) للحصول على التركيز النهائي للعالق  $100 \mu\text{l}$  أما محلول العمل ( Working solution ) خُضر بواسطة سحب  $10 \mu\text{l}$  من محلول الخزن  $100 \mu\text{l}$  وتخفيفه بـ  $90 \mu\text{l}$  من الماء المزال الأيون للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل والذي هو  $10 \mu\text{l}$   $100 \text{ picomols}$  /  $\mu\text{l}$  وتم حفظ البودائ بالتجميد بدرجة  $20^\circ \text{C}$  -.

## 3-2-4-2-3 تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction

الجدول ( 3 – 5 ) يوضح المواد المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR لعينات الدراسة.

جدول ( 3 – 5 ) المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR

المادة	المكونات Components	حجم التفاعل Amount	الشركة المصنعة والمنشأ
Go Taq <sup>R</sup> G2 Green Master Mix	Green Master Mix	$12.5 \mu\text{l}$	Promega (Korea)
	Upstream Primer	$2 \mu\text{l}$	
	Downstream Primer	$2 \mu\text{l}$	
	DNA Template	$6.5 \mu\text{l}$	
	Nuclease-free water	$2 \mu\text{l}$	
التركيز النهائي Final concentration		$25 \mu\text{l}$	

مزجت جميع المواد المذكورة في الجدول أعلاه بواسطة المازج (vortex) ثم نقلت الأنابيب إلى جهاز البلمرة المتسلسل PCR و تم تشغيل الجهاز حسب البرنامج لجينات الدراسة .

## 3-2-4-2-3 الكشف الجزيئي للكشف عن الطفرات في جين (BRAF)

يبين الجدول (6-3) البرنامج المستخدم لتفاعل البلمرة المتسلسل للكشف الجزيئي عن الطفرات باستخدام تقنية الـ PCR

## جدول (6-3) البرنامج المستخدم لتضخيم الجين (BRAF) بتقنية الـ PCR

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	95C°	min.5	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	35
3	Annealing	60C°	1 min.	
4	Extension	72C°	1 min.	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4 C°	-	

## 3-2-4-2-3 الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل

## Electrophoresis of PCR products

رُحِلَ 2µl من DNA ladder loading مع 10 µl من نواتج الـ PCR على هلام الأكاروز المحضر بتركيز 2 %، وتم ترحيل ناتج الـ PCR على طاقة كهربائية مقدارها 70V ولمدة ساعة واحدة و صُبغ الهلام بصبغة بروميد الأثيديوم السائلة وبكمية 2µl، شوهدت الحزم بواسطة مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV transiluminater)، ووثقت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation system).

## 3-2-4-2-3 الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز:

بعد استخلاص الـ DNA اعتمدت طريقة Sambrook وجماعته (1989) للتأكد من وجود الـ DNA بعد استخلاصه من الدم.

## (a) مواد الترحيل الكهربائي:

1. أكاروز Agarose.
2. محلول دارى منظم 10X TBE Buffer Solution.
3. بروميد الأثيديوم Ethidium Bromide.
4. صبغة تحميل الدنا DNA loading Dye.

**Protocol of Gel Electrophoresis خطوات الترحيل الكهربائي (b)****- تحضير هلام الأكاروز agarose**

1. أُذيب 0.8 غم من الأكاروز في 100 مل من محلول 1 X TBE بواسطة تسخين المزيج باستخدام جهاز فرن المايكرويف إلى أن يتم إذابة كل دقائق الهلام حتى يبدو المزيج صافياً.
2. أُضيف 2 µl من بروميد الأثيديوم Ethidium Bromide إلى سائل الأكاروز بعد أن يبرد وقبل أن يتجلط السائل يتم مزج الهلام لكي تمتزج الصبغة بشكل متجانس .
3. صُب المزيج في صفيحة الإسناد الخاصة بجهاز الترحيل وبعد غمس المشط (comb) قرب إحدى نهايتي الصفيحة يتم ترك المزيج ليتصلب في درجة حرارة الغرفة .
4. أُزيل المشط وكذلك مساند الصفيحة .
5. وُضعت الصفيحة في مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي ثم يضاف إليها محلول الترحيل 1X TBE المخفف .

**2-5-2-4-2-3 Electrophoresis of loaded DNA المحمل DNA للترحيل الكهربائي**

مزج 7µl من الـ DNA مع 3 µl من صبغة تحميل الدنا DNA loading Dye بعد ذلك وضعت العينات في الحفر المفردة من الهلام . رحلت العينات من الكاثود (-) إلى الأنود (+) على طاقة كهربائية مقدارها 70 فولت ولمدة ساعة واحدة ، ثم استخدم جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) لغرض مشاهدة حزم الـ DNA ، تم تلوين هذه الحزم بصبغة بروميد الأثيديوم وصورت الحزم باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation system).

**6-2-4-2-3 الكشف الجزيئي باستخدام تحديد تتابعات الحمض النووي DNA Sequencing methods**

بعد إجراء فحص الـ PCR تم اختيار 5 عينات لجين *BRAF* من المرضى لدراسة الطفرات في شريطي الـ DNA ، أرسلت تلك العينات مع بوائدها إلى شركة ماكروجين في كوريا (Macrogen Inc. Geumchen, Seoul, South Korea) المتخصصة في تحليل نواتج الـ sequencing لتلك العينات ، تم اعتماد نواتج تفاعل الـ PCR لجين *BRAF* ، تمت مقارنة نتيجة التتابعات مع مثيلاتها من تتابعات الحمض النووي للجين سابقاً والمسجلة عالمياً إذ تم استخراج قاعدة البيانات المرجعية (GenBank acc.) (reference database) من موقع بنك الجينات AB082923.1, NC\_000001.11, and NM\_001126118.1)

( <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> )، تم تحليل نواتج تسلسل عينات الـ PCR وتنقيحها واصطفاها وتحليلها جنباً لجنب مع عينات الـ NCBI بواسطة برنامج BioEdit Sequence Alignment Editor Software Version 7.

### 7-2-4-2-3 تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي Quantitive Polymerase Chain Reaction (REAL TIME (QPCR))

الجدول ( 3 – 7 ) يوضح المواد المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل الكمي QPCR لعينات الدراسة .

جدول ( 3 – 7 ) المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل الكمي QPCR

الشركة المصنعة والمنشأ	حجم التفاعل Amount	المكونات Component
<b>Bioneer (Korea)</b>	10 µl	Master Mix
	1.5 µl	Forward Primer
	1.5 µl	Reverse Primer
	0.2 µl	CXR Reference Dye
	3.3 µl	Nuclease-Free Water
	3.5 µl	DNA Template
	<b>20 µl</b>	<b>التركيز النهائي Final concentration</b>
مزجت جميع المواد المذكورة في الجدول أعلاه بواسطة المازج (vortex) ثم نقلت الأنابيب إلى جهاز البلمرة المتسلسل الكمي QPCR و تم تشغيل الجهاز بحسب البرنامج المعتمد في جينات الدراسة		

### 8-2-4-2-3 الكشف الجزيئي عن عدد نسخ جين المايوتوكوندريا (ND1) :

يبين الجدول (8-3) البرنامج المستخدم لتفاعل البلمرة المتسلسل الكمي QPCR بالكشف الجزيئي عن عدد نسخ الـ (DNA) في المايوتوكوندريا باستخدام التقنية الجزيئية QPCR في جينات (ND1 , HGB) .

الجدول (3-8) يبين خطوات البرنامج المستخدم لتفاعل البلمرة المتسلسل الكمي لجينات الدراسة

Steps	Temperature	Time	Cycles
1	95C°	03:00	1
2	95C°	00:15	40
3	60C°	01:00	
1	95C°	02:00	1
2	95C°	00:03	40
3	60C°	00:30	

### 3-2-5 الاختبارات الفسلجية : Physiological Tests

#### قياس تركيز الهرمونات

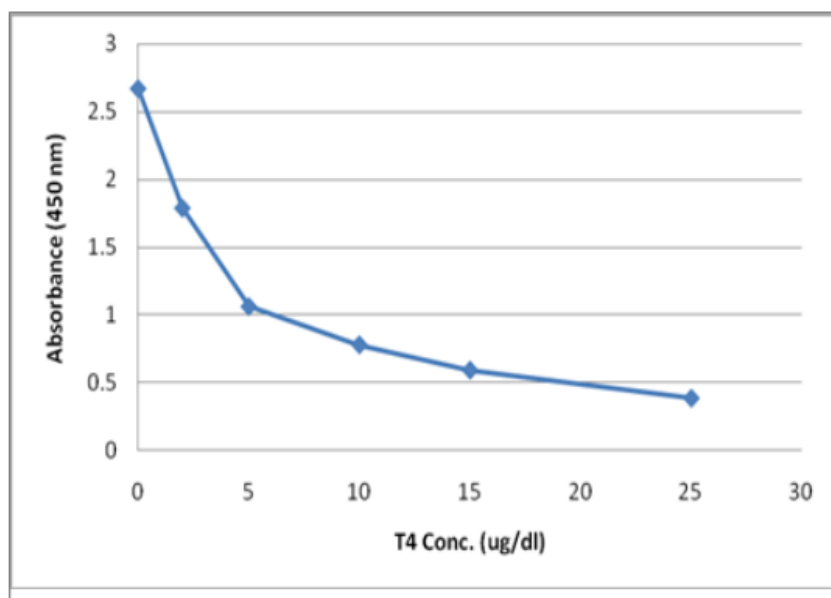
تم اجراء قياس تراكيذ الهرمونات في المركز الوطني للمختبرات التعليمية في مدينة الطب ، كما تم استخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل هرمون بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الماني المنشأ واجريت الخطوات لقياس كل هرمون بالاعتماد على الخطوات الموافقة لكل طقم وكالاتي :

#### 3-2-5-1 تقدير تركيز هرمون الثايروكسين T4

تم تحضير كاشف Working T4-HRPO Conjugate Reagent واطيف 0.1ml من مركز انزيم الارتباط الى 0.1ml من مخفف انزيم الارتباط بنسبة ( 1:10 ) ومزج بشكل جيد جدا وثر ك ليستقر بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة اعتمدت طريقة Robbins ( 1973 ).  
طريقة العمل:

1. ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة للـ T4 على المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون.
2. اضيف 25 µl من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية الى حفر التعبير.
3. اضيف 100 µl من كاشف Working Conjugate Reagent الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة .
4. حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة ( 18-25 ) لمدة 60 دقيقة .

5. ازيلت محتويات الحفر عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات.
6. غسلت الاوعية 5 مرات بالماء المقطر.
7. جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
8. اضيف 100 µl من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق .
9. حضنت الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة.
10. تم ايقاف التفاعل بإضافة 100 µl من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية ولوحظ تغير اللون من الأزرق الى الاصفر كلياً .
11. قرأت الامتصاصية بجهاز Microtiter wellreader عند الطول الموجي 450 نانوميتر
12. تم رسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل ( 3 - 1 )



الشكل ( 3 - 1 ) المنحني القياسي لهرمون الثايروكسين T4

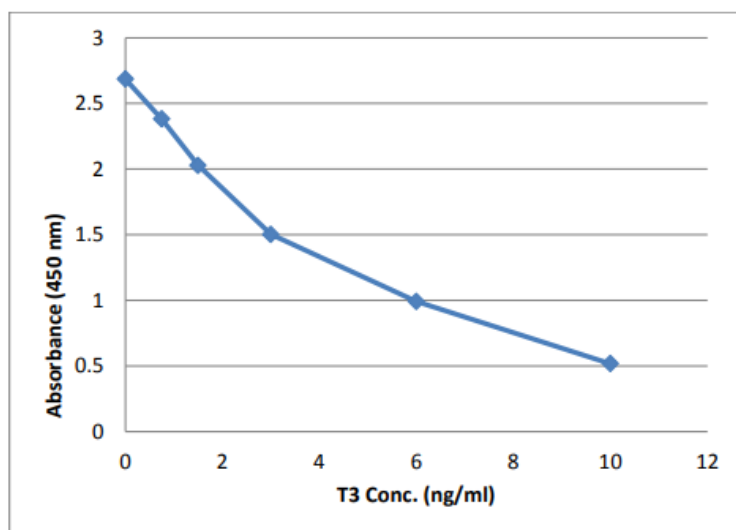
### 2-5-2-3 تقدير تركيز هرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3

#### تحضير كاشف Working T3-HRPO Conjugate Reagent

لتحضير كاشف Working T3 - Conjugate Reagent اضيف 0.1ml من مركز انزيم الارتباط الى 0.1ml من مخفف انزيم الارتباط بنسبة ( 1:10 ) ومزج بشكل جيد وترك ليستقر بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة واعتمدت طريقة Skelley وجماعته (1973) .

طريقة العمل :

1. ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة لل T3 على المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون .
2. اضيف  $50 \mu\text{l}$  من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية الى الحفر.
3. اضيف  $50 \mu\text{l}$  من كاشف Working T3-HRPO Conjugate Reagent الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة .
4. حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.
5. ازيلت محتويات الحفر عن طريق قلب الاوعية في سلة المهملات.
6. غسلت الاوعية 5 مرات بالماء المقطر.
7. جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الاوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
8. اضيف  $100 \mu\text{l}$  من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق .
9. تم حضن الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة بدون رج .
10. تم ايقاف التفاعل بإضافة  $100 \mu\text{l}$  من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية ولاحظ تغير اللون من الأزرق إلى الاصفر كليا .
11. قرأت الامتصاصية بجهاز Microtiter will reader عند الطول الموجي 450 نانوميتر .
12. رسم المنحنى القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (2-3)



الشكل (2 - 3) المنحنى القياسي لهرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3

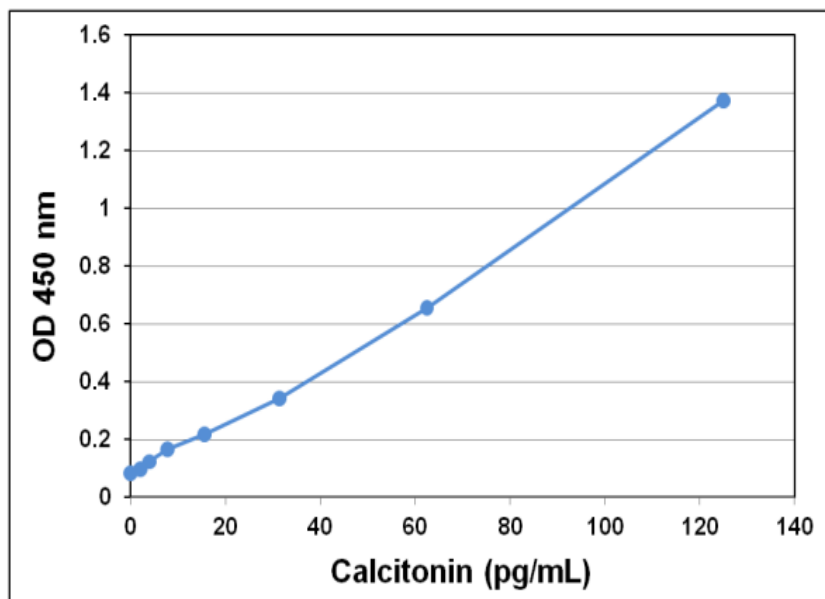
## 3-2-3 تقدير تركيز هرمون الكالسيتونين Calcitonin hormone

تم قياس تركيز الكالسيتونين في المصل بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة (ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الماني المنشأ واجريت الخطوات لقياس تركيز هرمون الكالسيتونين بالاعتماد على الخطوات المرفقة له في عدة التحاليل (Kits) وفق طريقة Austin و Heath (1981) وكالاتي :

طريقة العمل :

1. أضيف 100  $\mu$ L من عينات الكالسيتونين إلى اللوحة المطلية بالأجسام المضادة للكالسيتونين اذ يجب فحص كل عينة ومعيار وعينات الاصحاء بشكل مضاعف من خلال تقسيمها الى نسختين .
2. احتضنت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة على جهاز الهزات orbital shaker .
3. غسلت اوعية التعبير 5 مرات بالماء المقطر.
4. جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
5. أضيف 100  $\mu$ L من الأجسام المضادة للكالسيتونين المخفف لكل حفرة .
6. احتضنت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة على جهاز الهزات orbital shaker .
7. غسلت اوعية التعبير 5 مرات بالماء المقطر و جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
8. أضيف 100  $\mu$ L من إنزيم Streptavidin-Enzyme Conjugate المخفف إلى كل حفرة .
9. احتضنت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة على جهاز الهزات orbital shaker .
10. غسلت الاوعية 5 مرات بالماء المقطر و جففت عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
11. أضيف 100  $\mu$ l من محلول Substrate Solution إلى كل حفرة بما في ذلك الحفر الفارغة ثم احتضنت بدرجة حرارة الغرفة على جهاز الهزات Orbital shaker من 5-20 دقيقة ، مع ملاحظة تغير اللون لإيقاف التفاعل ومنع التشبع.
12. تم ايقاف تفاعل الإنزيم بإضافة 100  $\mu$ l من محلول الايقاف وقراءة النتائج على الفور (لان اللون سوف يتلاشى بمرور الوقت).
13. قرأت الامتصاصية بجهاز Microtiter wellreader عند الطول الموجي 450 نانوميتر
14. رسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (3 - 3)





الشكل (3-3) يوضح المنحنى القياسي لهرمون الكالسيتونين

### 4-5-2-3 تقدير تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH

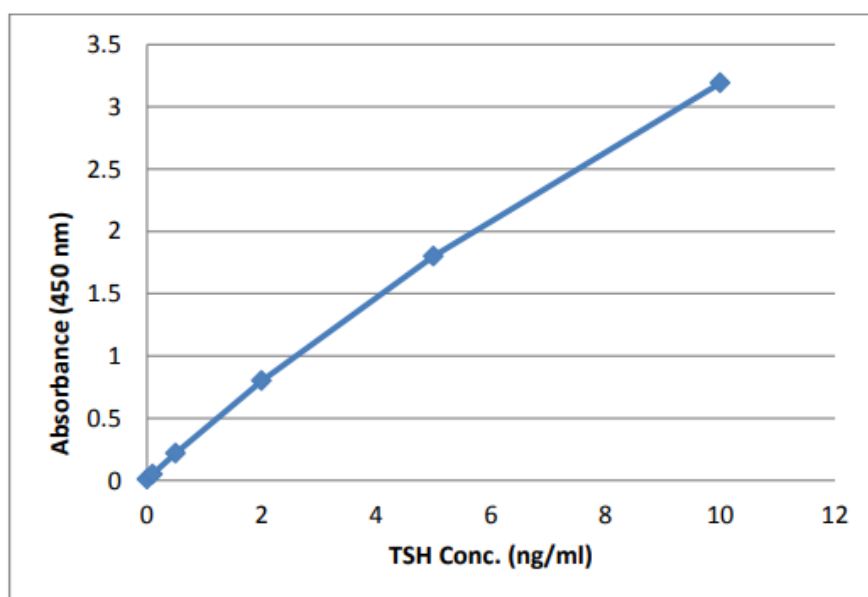
#### 1-4-5-2-3 اساس الفحص

تم قياس تركيز هرمون TSH باستعمال عدة الفحص Kit وباستعمال تقنية الاليزا اذ يعتمد الفحص على التفاعل بين الاجسام المضادة في الانزيم الكاشف ومستضدات هرمون TSH في المصل واعتمدت طريقة Frank و جماعته (1996).

#### طريقة العمل :

1. ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة للـ TSH على المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون .
2. اضيف 100  $\mu$ l من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية بتركيز مختلفة و وضعت هذه الاحجام في الحفر المهيأة لها .
3. اضيف 100  $\mu$ l من الكاشف المرتبط بالانزيم الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة.
4. حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة ( 25-18 ) درجة مئوية مع الرج بالجهاز الخاص بسرعة 175 RPM لمدة 120 دقيقة .
5. ازيلت محتويات الحفر عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات.

6. غسلت الأوعية 5 مرات بالماء المقطر.
7. جففت الأوعية عن طريق قلبها على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
8. اضيف 100 µl من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق.
9. حضنت الأوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة.
10. تم ايقاف التفاعل بإضافة 100 µl من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية ف لوحظ تغير اللون من الأزرق إلى الأصفر كليا .
11. قرات الامتصاصية بجهاز Microtiter well reader عند الطول الموجي 450 نانوميتر.
12. رسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية كما في الشكل (3-4) .



الشكل (3 - 4) المنحني القياسي لهرمون TSH

### 3-2-5-5- قياس تركيز المألون ثنائي الالديهيد (MDA) Malondialdehyde في مصل الدم

تم تقدير مستوى المألون ثنائي الالديهيد بالاعتماد على طريقة الباحثين ( Schmedes and Holmer, 1989 ) اذ تعتمد هذه الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهن وبين حامض الثايوباربيوتريك Thiobarbituric (TBA) وبشكل اساسي MDA , يتم التفاعل بوسط حامضي ويكون الناتج ملوناً وتقاس شدة الامتصاص له على طول موجي 532 نانوميتر .

الجدول (3-9) يوضح البرنامج المستخدم لقياس تركيز المألون ثنائي الالديهيد

الكاشف	الاختبار	Blank
السيروم	150 µl	....

150 µl	....	ماء مقطر
1 ml	1 ml	TCA(17.5%)
1 ml	1 ml	TBA (0.6 %)
مزج بشكل جيد ثم وضع في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 15 دقيقة و ترك ليبرد		
1 ml	1 ml	TCA(70 %)
تركت الانابيب بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 20 دقيقة ثم اجريت لها عملية الطرد المركزي عند سرعة 2000 rpm لمدة ربع ساعة ثم قرأت شدة الامتصاص للراشح المتكون عند 532 نانوميتر		

### 3-2-5-6- قياس تركيز المستضد السرطاني المضغي Carcinoembryonic Antigen Test

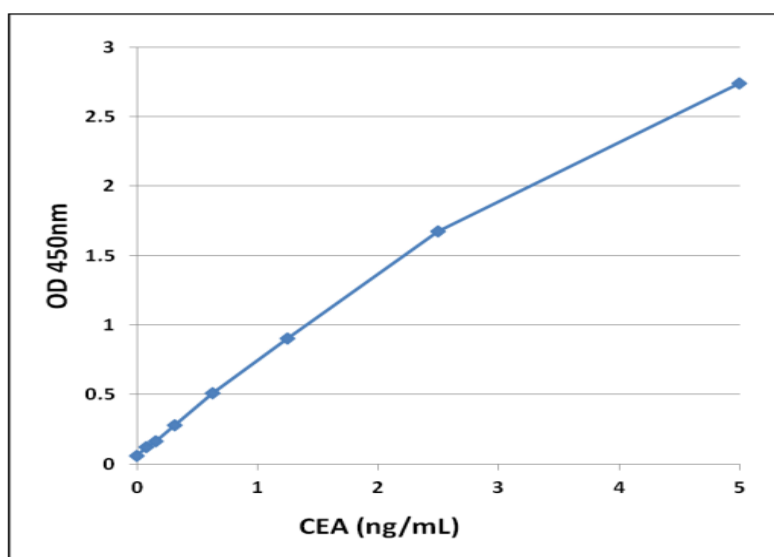
#### (CEA) في مصل الدم

تم قياس تركيز المستضد السرطاني المضغي في المصل بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الماني المنشأ و اجريت الخطوات لقياس تركيز مستضد CEA بالاعتماد على الخطوات المرفقة له في عدة التحاليل (Kits) واعتمدت طريقة Mughal وجماعته (1983) وكالاتي :

طريقة العمل :

1. حضرت و خلطت جميع الكواشف جيدا قبل الاستخدام.
2. أُضيف 100 µl من العينة القياسية CEA إلى اللوحة المطلية بالأجسام المضادة وتم فحص العينة القياسية و عينة الاصحاء و تقسيم كل واحدة منها الى نسختين.
3. تمت تغطية الصفيحة و حضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة على جهاز الهزات Orbital shaker
4. غسلت أوعية التعبير 5 مرات بالماء المقطر وجففت الأوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
5. أُضيف 100 µl من الجسم المضاد المضاد ل CEA المخفف.

7. اعادة غطاء الصفيحة وحضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة على جهاز الهزات Orbital shaker .
8. غسلت أوعية التعبير 5 مرات بالماء المقطر وجففت الأوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
9. أضيف 100 µl من إنزيم Streptavidin-Enzyme Conjugate المخفف.
10. اعادة غطاء الصفيحة وحضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة على جهاز الهزات Orbital shaker .
11. غسلت أوعية التعبير 5 مرات بالماء المقطر وجففت الأوعية عن طريق قلب هذه الأوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
12. أضيف 100 µl من محلول Substrate Solution إلى كل حفرة بما في ذلك الحفر الفارغة ثم احتضنت بدرجة حرارة الغرفة على جهاز الهزات Orbital shaker من 5-20 دقيقة ، مع ملاحظة تغير اللون لإيقاف التفاعل ومنع التشبع.
13. تم إيقاف تفاعل الإنزيم بإضافة 100 µl من محلول الإيقاف وقراءة النتائج على الفور (لان اللون سوف يتلاشى بمرور الوقت).
14. قرأت الامتصاصية بجهاز Microtiter wellreader عند الطول الموجي 450 نانوميتر
15. رسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (3 - 5)



## الشكل (3 - 5) المنحنى القياسي للمستضد السرطاني المضغى (CEA)

## 3-2-5-7- قياس تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل الدم (GSH) :

قيس مستوى انزيم الكلوتاثيون المختزل من خلال تقدير حجمه بطريقة التدوير الأنزيمي الامثل (Tietz,1999) والتي تكون معتمدة على فعل مجموعة السلفهيدريل Sulphydryl في جزيئة الانزيم GSHr ، و يختزل مولد اللون 5,5- ثنائي ثايو 2 - نايتر و حامض البنزويك Thio-2-nitrobnzoic acid-5 جزيئة GSHr بواسطة مجموعة السلفهيدريل وينتج مركباً أصفر اللون 5- ثايو 2- نايتر و حامض البنزويك Thio-2-nitrobnzoic acid-5 وبصورة مكثفة ، بعد ذلك تم قياس امتصاصية اللون المختزل TNB عند طول موجي تراوح بين 405 - 414 نانوميتر في جهاز الأليزا ELISA .

## الكواشف Reagents

## 1 - المحلول المنظم التقديري GSHr

0.4 مولاري من N-morpholino ethanesulphonic acid -2 و 1.0 مولاري من الفوسفات Phosphate و 2 مايكرومولاري من EDTA كونت المحلول المنظم.

## 2- المحلول القياسي GSSG standard

## 3- مزيج العامل المرافق لـGSHr Co - factor mixture.

## 4- مزيج الانزيم GSHr enzyme mixture.

## 5- GSHr DTNB

## 3-2-5-7-1 طريقة العمل :

1- تمت اضافة 50 مايكرو لتر من المحلول القياسي لكل حفرة.

2- تمت اضافة 50 مايكرو لتر من العينة لكل حفرة .

3- ثم تم تغطية الصفيحة بإستعمال الغطاء المحدد.

4- ثم حضر خليط الفحص من خلال مزج الكواشف الآتية:

المحلول المنظم التقديري 11.25 مل ومزيج العامل المرافق 0.45 مل ومزيج الانزيم 2.1 مل وماء 2.3 مل و محلول 5,5- ثنائي ثايو ثاني 2 - نايتر و حامض البنزويك 0.45 مل.

- 5- بعدها رفع غطاء الصفيحة واضيف 150 مايكرو لتر من خليط الفحص المحضر لكل حفرة من الحفر التي تحتوي على المحاليل القياسية والعينات ثم تم اعادة غطاء الصفيحة وحضنت في الظلام على جهاز الهزات . Orbital shaker
- 6- تم قياس الامتصاصية بعد مرور 25 دقيقة في جهاز ELISA عند الطول الموجي 414- 405 نانوميتر.

### 3-2-6 التحليل الإحصائي

استخدم برنامج التحليل الإحصائي (SPSS) Special Packages of Social Since (SPSS) V.22 لتحليل نتائج الدراسة وتم اعتماد مستوى المعنوية ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) لمعرفة الفروقات الإحصائية لعينات الدراسة (بشير، 2003)



الفصل الرابع  
النتائج والمناقشة  
**Results and Discussion**



## 1-4 دراسة تأثير عوامل الخطورة:

## 1-1-4 الجنس Sex

حسب استمارة استبيان معدة لبيان علاقة عوامل الخطورة ( الجنس ، التدخين ، التاريخ العائلي للإصابة بالمرض والعمر في سن الانجاب و ارتفاع ضغط الدم) بسرطان الغدة الدرقية لـ ( 50 ) مريض مصاب ومقارنتها مع (50) شخص سليم كمجموعة سيطرة ، تبين من نتائج الجدول (1-4) والخاص بتوزيع (المرضى والأصحاء) حسب الجنس أن الإصابة في المرضى الذكور بلغت 13 (26%) في حين بلغت نسبة الإصابة في الإناث 37 (74%) ، أما مجموعة الأصحاء فقد سجلت 22 (44%) للذكور و 28 (56%) للإناث .

وأشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود علاقة معنوية عالية عند مستوى ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين المصابين بسرطان الغدة الدرقية لجنس (الذكور والإناث) ، بينما لم تظهر أي علاقة معنوية بين المرضى والأصحاء من جنس الذكور و المرضى والأصحاء من جنس الإناث وكذلك لم تظهر أي علاقة معنوية بين الأصحاء من الذكور والإناث يعود السبب الى عوامل هرمونية و جنسية ترتبط بالفترة الانجابية لدى الإناث والتي تبدأ من 15 عام و تقل بعد 50-55 عام (Colonna et al., 2020) ، و تأثير هرمون الاستروجين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية اذ يزيد من تركيز الجلوبيولين TBG ، وهو بروتين عالي الارتباط بهرمونات الغدة الدرقية ، كما أن للإستروجين تأثير إيجابي على انتشار الورم وقد يساهم في العمليات التي تؤدي إلى تلف الحمض النووي وبالتالي المشاركة في بدء تكوين الأورام (Suteau et al., 2021)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات التي اشارت الى تأثير الجنس على خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ، اذ اشارت الى أن نسبة الإصابة بسرطان الغدة الدرقية عند الإناث اعلى من الذكور بثلاثة إلى أربعة أضعاف ( Kim et al., 2022A; Lee et al., 2022 ) ، ولكن عند الذكور يكون حجم الورم أكبر و قابلية انتقاله للعقد الليمفاوية أسرع لذا فإن الإصابة بسرطان الغدة الدرقية الحليمي (PTC) عند الذكور تكون أكثر خطورة و شراسة من الإناث ( Kim et al., 2022B).

## 2-1-4 التاريخ العائلي للإصابة بالمرض Family history of the disease

من عوامل الخطورة التي تتناولها الدراسة هي التاريخ العائلي للإصابة بسرطان الغدة الدرقية اذ يتضح من نتائج الجدول ( 1-4 ) الخاص بتأثير التاريخ العائلي على المرضى أن نسبة 20 (40%) من المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية لديهم تاريخ عائلي مع الإصابة بسرطان الغدة الدرقية مقارنة مع المرضى الذين لا يملكون تاريخ عائلي للإصابة وبنسبة 30 (60%) ، أما في مجموعة الأصحاء

فكانت 9 (18%) لديهم تاريخ عائلي للإصابة و 41 (82%) من الأصحاء اللذين ليس لديهم تاريخ عائلي للإصابة بالمرض ، وأشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى P ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين مجموعتي المرضى والأصحاء ممن لديهم تاريخ عائلي للإصابة ، وكذلك وجود فروقات معنوية بين الأصحاء للتاريخ العائلي ، بينما لم تظهر فروقات معنوية بين المرضى للتاريخ العائلي للإصابة بالمرض .

يرتفع خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية بشكل متزايد في الأشخاص الذين لديهم تاريخ عائلي للإصابة بسرطان الغدة الدرقية من الدرجة الأولى بالخصوص اقارب الدرجة الأولى ( الوالدين و الأشقاء) بالمقارنة مع المرضى الذين لا يملكون اي تاريخ عائلي مع المرض ، وتزداد نسبة الإصابة بسرطان الغدة الدرقية في مرضى التاريخ العائلي بشكل مرتفع مع سرطان الغدة الدرقية من النوع الحليمي (PTC) (Rosario and Mourão, 2022) ، لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة Mohamed وجماعته (2022) والتي اشارت الى عدم وجود اي علاقة مؤثرة للتاريخ العائلي والإصابة بسرطان الغدة الدرقية ، و أن ماتم اكتشافه فقط في 13.0% من الأفراد المصابين بسرطان الغدة الدرقية لديهم تاريخ وراثي للمرض (Kodirova, 2022) . يفسر تأثير تاريخ الإصابة بالمرض مع زيادة حالات الإصابة بسرطان الغدة الدرقية بسبب توارث الطفرات و التغيرات الشكلية المسببة للمرض فيها مما يسهل الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ، اذ يزداد تكرار الطفرات في جينات *BRAF* و *V600E* و *TERT* و *RAS* مع المصابين بسرطان الغدة الدرقية الحاملين للتاريخ العائلي للمرض (Shen et al,2017)

#### 3-1-4 التدخين Smoking

يعد التدخين من اهم العوامل المرتبطة بالسرطان ومنها سرطان الغدة الدرقية ، و توضح نتائج الجدول (1-4) عوامل الخطورة المرتبطة مع سرطان الغدة الدرقية ومنها التدخين اذ تمثل نسبة 12 (24%) المرضى المدخنين بالمقارنة مع نسبة 38 (76%) للمصابين من غير المدخنين ، أما مجموعة الأصحاء فقد ظهرت فيها نسبة غير المدخنين 34 (68%) أعلى من نسبة 16 (32%) من المدخنين من الأصحاء ، وقد أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عالية عند ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين المدخنين وغير المدخنين لمجموعتي المرضى والأصحاء .

اتفقت الدراسة الحالية مع بعض الدراسات التي اوجدت عدم وجود تأثير كبير للتدخين على سرطان الغدة الدرقية اذ يقلل التدخين من خطر الإصابة (Yeo et al., 2021; Gudzenko et al., 2022) ، أن السمنة عامل خطر مهم للإصابة بسرطان الغدة الدرقية ومايسببه التدخين في انخفاض مؤشر كتلة الجسم يعطي تأثيراً وقائياً من المرض (Åsvold et al., 2009) بالإضافة الى التأثير الايجابي

للنيكوتين المتناول بكميات غير كبيرة اذ يعمل على تنشيط خلايا الدماغ وتقليل نسب الإصابة بالأمراض الناجمة عن هرم الخلايا الدماغية مثل مرضي الزهايمر والشلل الرعاش وتحفيز خلايا الجسم والغدد الكظرية والدرقية ( Kim *et al.*, 2019 ) كما ويقوم التدخين بتثبيط الهرمون المنبه للغدة الدرقية (TSH) والذي يسبب الكثير من المشاكل في الغدة الدرقية عند ارتفاعه عند الحد الطبيعي بالإضافة الى تأثير التدخين المضاد للإستروجين Anti-estrogenic حيث يعمل التدخين على تثبيط نسب افراز هرمون الاستروجين لأن الخلايا السرطانية ترتبط بمستقبلات هرمون الاستروجين مما يساعدها على النمو والانتشار والتكاثر عند ارتباطها بالاستروجين ولذلك فإن مضادات الاستروجين الناتجة من التدخين تمنع الهرمون من الارتباط بمستقبلاته الموجودة على الخلايا السرطانية (Kamat *et al.*, 2011 ;Boelaert, 2009)

#### 4-1-4 العمر Age

اوضحت دراسة نتائج الجدول (1-4) فيما يخص ارتباط العمر مع الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ان اعلى نسبة إصابة بسرطان الغدة الدرقية كانت في الفئة العمرية (30-40) إذ بلغت 15 (30%) في حين أن اقل نسبة إصابة بالمرض في الفئة العمرية (<75) إذ بلغت 1 (2.0%)، أما الفئات العمرية (20-30) و(40-50) و(50-60) و(60-70) فقد سُجّلت نسب 5 (10%) و9 (18%) و11 (22%) و9 (18.0%) على التوالي أظهر التحليل الإحصائي فروقات معنوية عند ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين المراحل العمرية لدى المرضى 30-40 ، 60-50 بينما لم يظهر التحليل الإحصائي معنوية بين جميع الفئات العمرية المدروسة بين المرضى والأصحاء

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه Deng وجماعته (2022) والذي أشار إلى أن الفئات العمرية الصغيرة هي اكثر عرضة للإصابة بالمرض وخصوصا الفئات العمرية تحت سن الـ 40 سنة وذلك كون المرض مرتبط بالهرمونات التناسلية وسن الانجاب، وكما هو معروف ان سن الانجاب يتراوح من 15 – 40 عام فإن الإصابة تكون عادة بهذا المعدل العمري (Colonna *et al.*, 2020)، وكما يمكن ان تزداد نسب الإصابة مع الفئات العمرية الاكبر مابين (50-60) (Díez *et al.*, 2022)، ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه Azangou-Khyavy وجماعته (2022) والذي اشار في دراسته الى ان أعلى نسب للإصابة بسرطان الغدة الدرقية للنساء في الفئات العمرية 65 – 69 سنة بسبب التشخيص المبكر لسرطان الغدة الدرقية في السنوات الاخيرة.

## 5-1-4 ارتفاع ضغط الدم Hypertension

يعد ارتفاع ضغط الدم من عوامل الخطورة المرتبطة مع سرطان الغدة الدرقية اوضحت دراسة نتائج الجدول (1-4) أن نسبة المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية و ارتفاع ضغط الدم بلغت 21 (42%) في حين بلغت نسبة المرضى غير المصابين بارتفاع ضغط الدم 29 (58%) ، أما مجموعة الأصحاء فقد سجلت 15 (30%) للمصابين بارتفاع ضغط الدم و 35 (70%) للأصحاء غير المصابين بارتفاع ضغط الدم . لم يظهر التحليل الإحصائي فروقات معنوية عند مستوى ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين مجموعة الأصحاء والمرضى لإرتفاع ضغط الدم .

ضغط الدم المرتفع له ارتباط مباشر مع العديد من الامراض اذ يؤثر مباشرة على معدل ضربات القلب و مرونة الشرايين وله علاقة بالسرطان (Szwarcbard and Topliss, 2023) ، أن نسبة 42% من مرضى سرطان الغدة الدرقية مصابين بارتفاع ضغط الدم وأن ضغط الدم 85/130 ملم زئبقي كان مرتبطاً مع حجم الورم اذ كان أكبر و أكثر شدة و منتشر الى العقد الليمفاوية (Song et al., 2021) وهذا ما لم يتفق مع ماتوصلت اليه دراسة Berta وجماعته (2019) والذي اشار الى عدم وجود ارتباط بين ارتفاع ضغط الدم مع الاصابة بسرطان الغدة الدرقية ، وأعزى سبب ذلك الى انه من الممكن أن يؤثر علاج ارتفاع ضغط الدم على خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية

جدول (1-4) تأثير عوامل الخطورة ( الجنس ، التاريخ العائلي ، التدخين ، العمر ، ارتفاع ضغط الدم ) على الإصابة بسرطان الغدة الدرقية

ت	عوامل الخطورة		العدد والنسبة	العينات		المعنوية
	الذكور	الانثى		المرضى	الأصحاء	
1	ذكر	الجنس	العدد	22	13	0.13
			النسبة	44.0%	26.0%	
	انثى		العدد	28	37	0.26
			النسبة	56.0%	74.0%	
المعنوية بين الذكر والانثى						
2	لا يوجد تاريخ عائلي	التاريخ العائلي للإصابة بسرطان الغدة الدرقية	العدد	41	30	0.19
			النسبة	82.0%	60.0%	
	يوجد تاريخ عائلي		العدد	9	20	0.04
			النسبة	18.0%	40.0%	

	0.16	0.000	المعنوية بين وجود وعدم وجود التاريخ العائلي للإصابة			
0.64	38	34	العدد	غير مدخن	التدخين	3
	76.0%	68.0%	النسبة			
0.54	12	16	العدد	مدخن		
	24.0%	32.0%	النسبة			
	0.000	0.01	المعنوية بين المدخنين وغير المدخنين			
0.13	5	11	العدد	30-20	العمر	4
	10.0%	22.0%	النسبة			
0.32	15	10	العدد	40-30		
	30.0%	20.0%	النسبة			
0.66	9	11	العدد	50-40		
	18.0%	22.0%	النسبة			
0.49	11	8	العدد	60-50		
	22.0%	16.0%	النسبة			
1.0	9	9	العدد	70-60		
	18.0%	18.0%	النسبة			
1.0	1	1	العدد	75<		
	2.0%	2.0%	النسبة			
	0.02	0.13	المعنوية للفئات العمرية			
0.62	21	15	العدد	نعم	ارتفاع ضغط الدم	5
	42.0%	30.0%	النسبة			
0.78	29	35	العدد	لا		
	58.0%	70.0%	النسبة			
	0.45	0.00	المعنوية لارتفاع ضغط الدم			

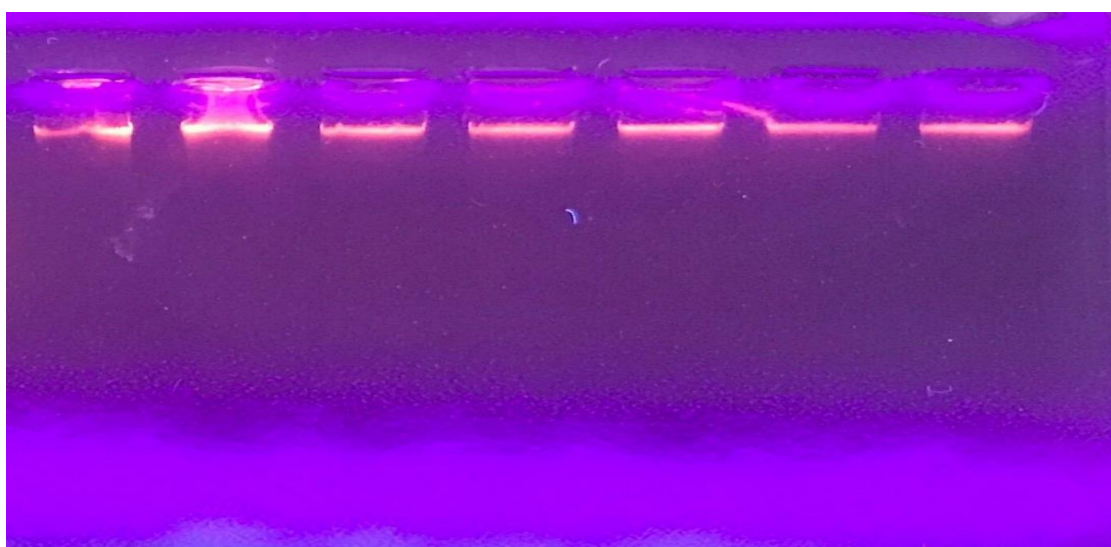
أولاً : الجانب الوراثي

#### 2-4 الكشف الجزيئي Molecular detection

1-2-4 الاستخلاص والترحيل الكهربائي للـ DNA الكروموسومي المستخلص

#### Electrophoresis of the extracted chromosomal DNA

تم استخلاص الحامض النووي DNA من عينات الدم لمجموعة المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية وكذلك لمجموعة الأصحاء ، رُحلت العينات كهربائياً على جل الأكاروز وبتركيز (2 %) عند 70 فولت ولمدة ساعة ، تمت مشاهدة حزم الـ DNA تحت جهاز الأشعة فوق البنفسجية بعد تلوينها بصبغة الاثيديوم برومايد كما في الشكل (1-4).



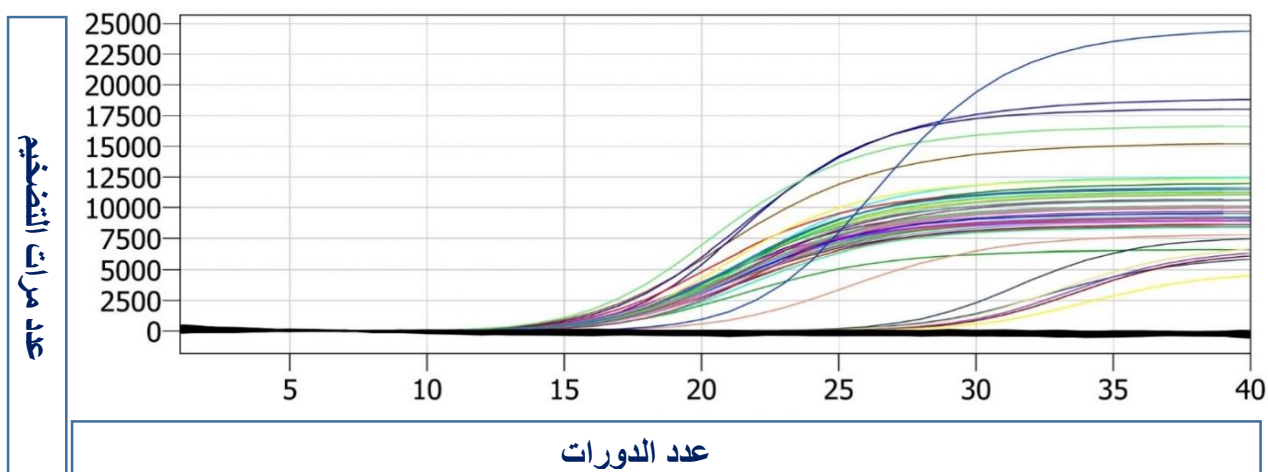
شكل (1-4) حزم الـ DNA بعد ترحيلها على هلام الأكاروز وبتركيز (2%) عند 70 فولت لمدة ساعة.

2-2-4 حساب عدد نسخ الـ DNA في المايٹوكوندريا باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي

: QPCR

اختبرت العينات في مرضى سرطان الغدة الدرقية والأصحاء جزيئياً باستخدام تقنية QPCR للكشف عن عدد نسخ الدنا المايٹوكونديري ويوضح الشكل (2-4) تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي QPCR للكشف الجزيئي عن عدد نسخ الـ (DNA) في المايٹوكوندريا باستخدام التقنية الجزيئية QPCR في جين *ND1* (NADH dehydrogenase subunit1) و *HGB* (Housekeeping gene) كجين مقارنة إذ تم استخراج قيمة dCT بطرح معدل الـ ct لجين *ND1* من معدل الـ ct لجين *HGB* ثم إيجاد ddCT بطرح dCT لكل عينة من المرضى والأصحاء من النتيجة التقريبية للمعدل الكلي لـ dCT لمجموعة الأصحاء فقط ، ثم إيجاد mtDNA-CN بواسطة المعادلة  $(2^{-\Delta\Delta CT})$

(Zheng, et al., 2019) ، ثم حُللت القيم إحصائياً لجيني الدراسة ولمجموعتي المرضى والأصحاء.



شكل (2-4) تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي Q-PCR في جينات ( *ND1* , *HGB* ) للكشف الجزيئي عن أعداد نسخ الـ(DNA) في الماييتوكونديريا mtDNA لمرضى سرطان الغدة الدرقية و مجموعة الاصحاء

تمت دراسة اعداد نسخ الحامض النووي داخل الماييتوكونديريا MTDNA لجين *ND1* ومقارنتها مع الجين الطبيعي *HGB* لكل من المرضى البالغ عددهم (50) مريض و مجموعة الاصحاء من الاصحاء البالغ عددهم (50) شخص و كما موضح في الجدول (2-4) ، إذ تبين نتائج الجدول ارتفاع كبير في معدلات mtDNA-CN في كريات الدم البيض للمرضى اذ بلغت (1591.63) ،  $\pm 1110.32$  ، بينما بلغ معدل الـ mtDNA-CN لمجموعة الأصحاء (0.582) ،  $\pm 0.118$  ،  $0.788$  ، أظهرت نتائج التحليل الإحصائي فروقات عالية المعنوية عند مستوى  $p \leq 0.01$  و ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) بين مجموعة المرضى والأصحاء بالنسبة لتحليل الـ CT لنسخ DNA الماييتوكونديري لجيني *ND1* (NADH dehydrogenase subunit 1) و (*HGB* ( Housekeeping gene ) .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Bernal-Tirapo و جماعته (2023) والتي اشارت الى وجود ارتباط إيجابي في نسبة عدد نسخ *ND1* / mtDNA مع المصابين بسرطان الغدة الدرقية ، وكما اوضحت دراسة Zheng وجماعته (2019) أن mtDNA-CN في أنسجة PTC كان أعلى بأربع مرات تقريباً من أنسجة الغدة الدرقية الطبيعية وبالتالي فإن ارتفاع معدلات الـ mtDNA-CN عن المستويات الطبيعية عامل خطر مرتبط بالاصابة بالمرض ، في حين لم تتفق نتائج الدراسة مع ما توصل إليه Thakur وجماعته (2020) والذي أشار في دراسته الى عدم وجود ارتباط بين عدد نسخ mtDNA في الكريات البيض وخطر الإصابة بالسرطان . و كما أوجدت دراسة اخرى انخفاض لمحتوى mtDNA في ماييتوكونديريا الكريات البيضاء لمرضى سرطان الغدة الدرقية ( *Perdas et al.*, 2019) .

تنتج المايوتوكونديريا الشوارد الحرة أو الجذور الحرة ( ROS ( Reactive Oxygen Species والتي تعمل على الاتصال بين الخلايا و تدعم عمل الجهاز المناعي ، ولكن زيادتها عن المستوى الطبيعي تسبب الاجهاد التأكسدي ( خلل او تلف بالانسجة يؤدي للاضرار بالجسم ) وبالتالي تكون الاورام، ويعزى سبب الزيادة في عدد نسخ الدنا المايوتوكونديري mtDNA كونه يزداد مع زيادة الاجهاد التأكسدي وبالتالي يثبط زيادته التنفس الخلوي داخل المايوتوكونديريا وزيادة عدد كريات الدم البيض mtDNA ، وهذا يعد رد فعل لتثبيط وظائف المايوتوكونديريا و يعد mtDNA مؤشر حيوي لوظائف المايوتوكونديريا ( Han and Chen, 2013 )

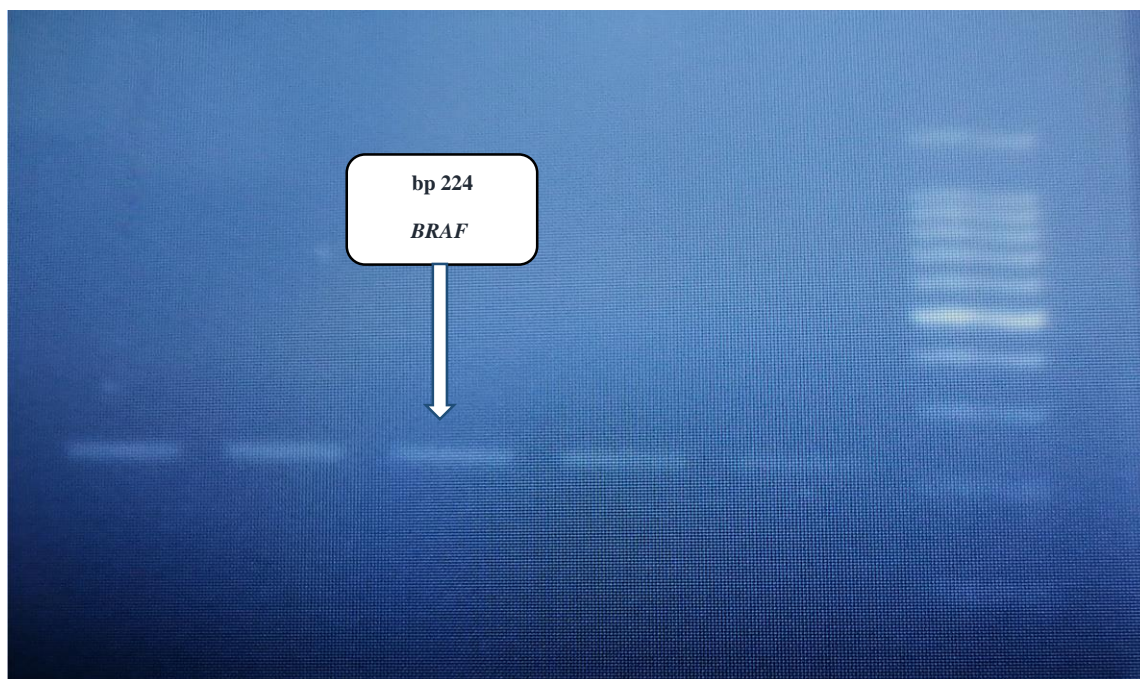
الجدول (2-4) عدد نسخ الـ(DNA) في المايوتوكونديريا mtDNA في جينات *ND1* , *HGB* لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء حسب مستويات الـ CT

المعنوية	الخطأ المعياري	الانحراف المعياري	الوسط الحسابي	العينة
*0.000	0.118	0.788	0.582	الصحاء
	165.52	1110.32	1591.63	المرضى

#### 3-2-4 الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

تم اجراء التشخيص الجزيئي لعينات الدراسة بواسطة استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في جين *BRAF* ، إذ يبين الشكل (4 - 3) الترحيل الكهربائي لنواتج جين *BRAF* بعد تضخيمها بواسطة الـ PCR ، وتظهر حزم هذا الجين بعد ترحيلها على هلام الاكاروز بتركيز 2 % على 70 فولت لمدة ساعة واحدة ، اذ يمثل العمود الأول الدليل الحجمي (Size marker) بحجم 100 – 1000 bp ومثلت حزم الاعمدة (2,3,4,5) نواتج تفاعل PCR لجين *BRAF* بعد ترحيلها على هلام الاكاروز بتركيز 2 % على 70 فولت بحجم 224 bp (Al-Ankoshy et al.,2020)





شكل (3-4) الترحيل الكهربائي لنواتج جين *BRAF* بعد تضخيمها بواسطة الـ PCR على هلام الاكاروز بتركيز 2% على 70 فولت لمدة ساعة

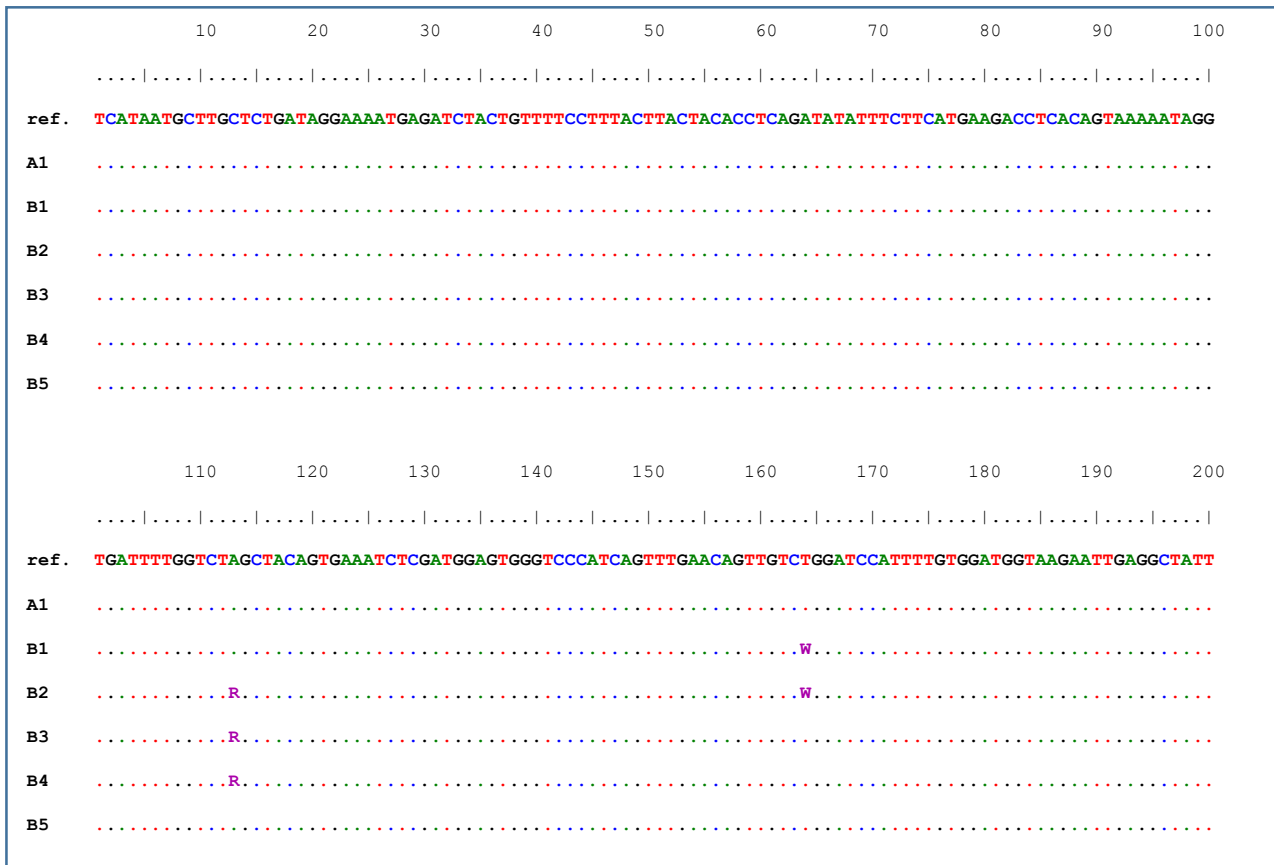
#### 4-2-4 الكشف الجزيئي باستخدام تحديد تنابعات الحمض النووي DNA Sequencing

تم إجراء الكشف الجزيئي باستخدام تقنية DNA Sequencing وتحديد تنابع القواعد النيروجينية في جين الدراسة *BRAF* والمضخم بواسطة الـ PCR ، وكما تم الحصول على نتائج هذه التنابعات بعد ارسالها إلى شركة ماكروجين في كوريا ( Macrogen Inc. Geumchen, Seoul, South Korea ) ، وتمت مقارنة النتائج مع البيانات التي تم الحصول عليها من Gene bank باستخدام موقع (NCBI Blast) في موقع (NCBI) Gene bank وكان عدد العينات 5 للمرضى مقابل 1 عينة سيطرة لكلا شريطي الـ DNA الامامي والخلفي (Forward and Reverse) ، كما وتم تحديد تنابعات جينات الدراسة باستخدام BioEdit Sequence Alignment Editor Software و اكتشاف التباير في تنابعات الجين *BRAF* بواسطة برنامج SnapGene Viewer ver. 4.0.4 (<https://www.snapgene.com>) .

يتضح من الشكل (4 - 4) تحليل متعددة اصطفاف تسلسل القواعد النيروجينية Multiple sequence alignment analysis لجين *BRAF* المرجعي مع العينات الستة (A1,B1,B2,B3,B4,B5) باستخدام برنامج Bio Edit Sequence Alignment Editor Software و SnapGene .

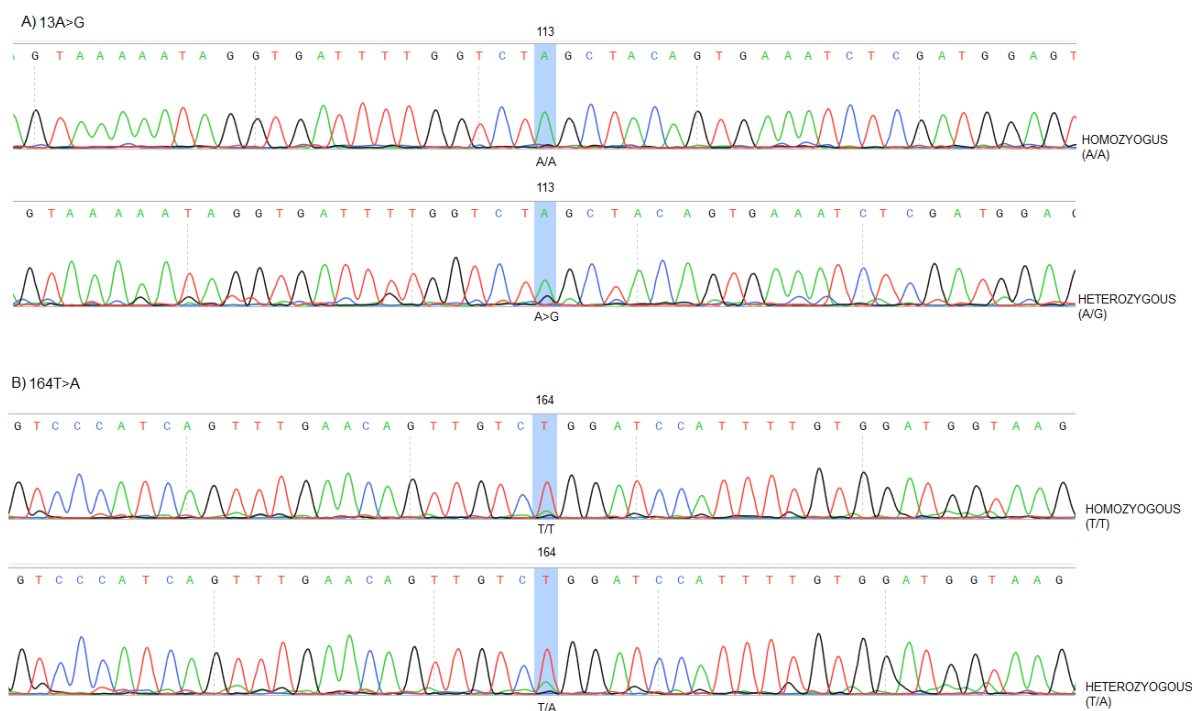
تم اكتشاف اثنين من التعددات الشكلية (SNP) الاول rs2128998351 في الموقع (A113G) بإستبدال الأدينين بالجوانين وكان التباير في العينات (B2,B3,B4) ذو طراز وراثي متباين الزيجة heterozygous والتي اختلفت مع العينتين (B1,B5) و (A1) عينة الاصحاء (homozygous) فقورنت هذه العينات مع البيانات التي تم الحصول عليها من بنك الجينات باستخدام موقع (NCBI Blast) وكانت مشابهة الى *BRAF* المرجعي أو الاصلي .

و التعدد الشكلي الثاني مفرد النيوكليوتيد (SNPs) هو rs2128998142 في الموقع T164A بإستبدال الثايمين بالأدينين وكان التباير في العينتين (B1,B2) بطراز وراثي متباين الزيجة heterozygous والتي اختلفت مع العينات (B3,B4,B5) و (A1) عينة الاصحاء (homozygous) التي تمت مقارنتها مع البيانات التي تم الحصول عليها من بنك الجينات باستخدام موقع (NCBI Blast) وكانت مشابهة الى *BRAF* المرجعي أو الاصلي .



شكل (4 - 4) تطابق التسلسلات المتعددة لجين *BRAF* المرجعي مع العينات الستة (A1,B1,B2,B3,B4,B5)

كما ويتضح من الشكل (4-5) نمط قراءة تسلسل (الـ chromatogram) لاثنتين من الـ SNPs المكتشفة في هذه الدراسة rs2128998351 التي تقع في A113G و rs2128998142 والواقعة في T164A من قطعة الـ *BRAF* الجينية المضخمة .



شكل (4-5) نمط تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة المكتشفة (SNP) داخل chromatogram لقطعة الجين *BRAF*

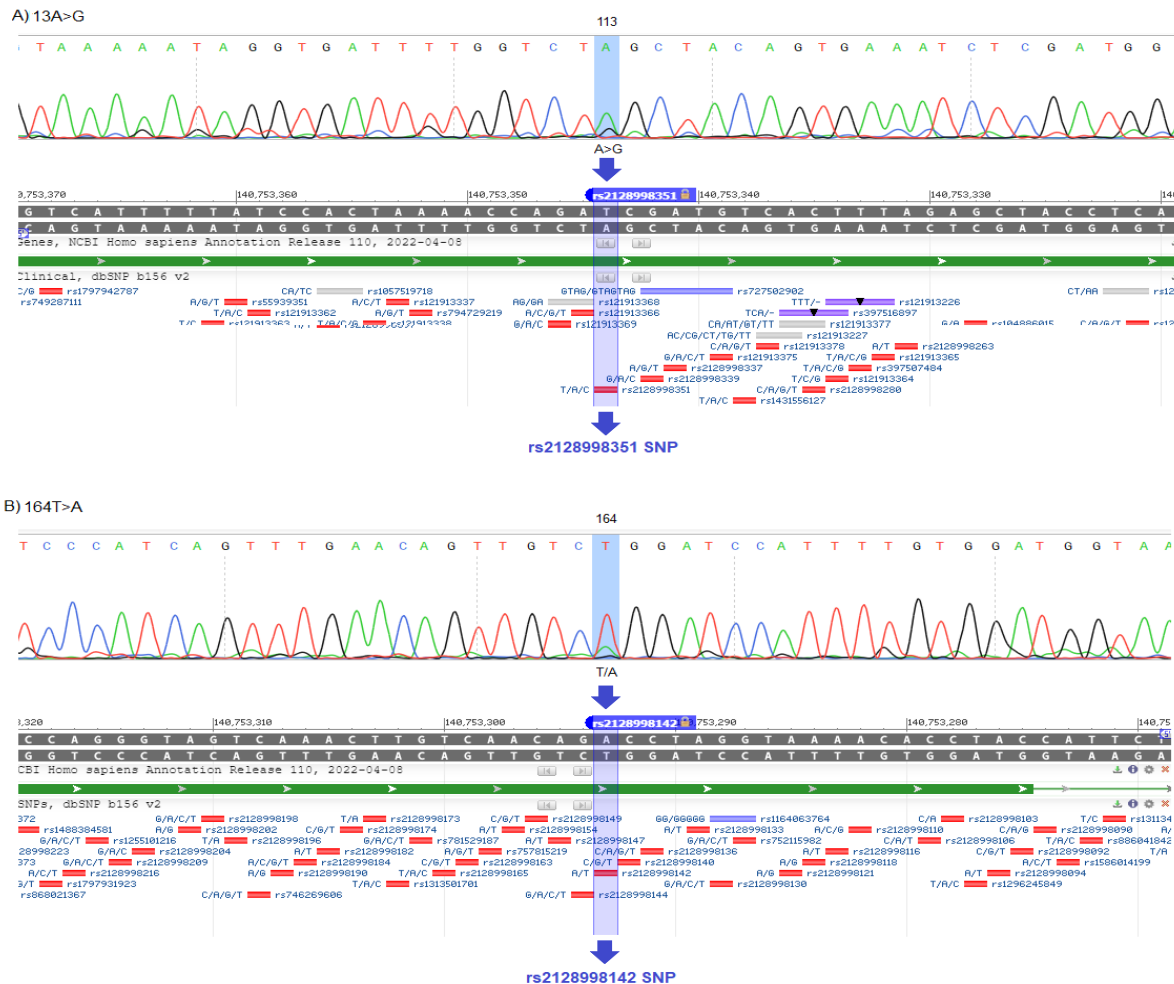
يبين الجدول (4-3) تسلسل الفواعد النيتروجينية الكامل لجين الـ *BRAF* المرجعي .

Amplicon	Reference locus sequences (5' - 3')	length
DNA sequences within the <i>BRAF</i> gene	*TCATAATGCTTGCTCTGATAGGAAAATGAGATCTACT GTTTTCTTTACTTACTACACCTCAGATATATTTCTTCA TGAAGACCTCACAGTAAAATAGGTGATTTGGTCTAG CTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCATCAGTTT GAACAGTTGTCTGGATCCATTTTGTGGATGGTAAGAAT TGAGGCTATTTTCCACTGATTAAATTTTGGCC**	224 bp

\* forward primer sequences (placed in a forward direction)

\*\* reverse primer sequences (placed in a reverse complement direction)

تعد التغيرات الشكلية المحصلة في الدراسة من الـ SNPs المكتشفة والمسجلة في هذا الموقع الجيني عند مقارنتها مع بنك الجينات بالاعتماد على مراجعة الموقع ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?geneId=7157](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?geneId=7157)). وكما موضح في الشكل (6-4).



شكل (6-4) الـ SNPs rs2128998351 و rs2128998142 المحددة في A و B باللون الأزرق

تم تسجيل الـ SNP الاول (rs2128998351) من جين *BRAF* في بنك الجينات بتردد منخفض لأن تأثيره صامتاً ولم يتسبب هذا التغير في استبدال للأحماض الأمينية في الإنزيم المشفر للجينات (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2128998351>). و على الرغم من عدم وجود دراسة سابقة أوجدت إرتباط بين rs2128998351 SNP مع سرطان الغدة الدرقية ، فقد أظهرت هذه الدراسة أن الـ SNP كان مرتبطاً بالمرض المستهدف بسبب وجوده في ثلاث عينات من المرضى ، في حين لم يلاحظ حدوثه في عينة الاصحاء .

كما وسجل ال-SNP الاخر (rs2128998142) من جين *BRAF* في بنك الجينات بتردد منخفض ايضاً لإحداثه تأثيراً صامتاً ولم يتسبب هذا التغير في أي استبدال للأحماض الأمينية في الإنزيم المشفر للجينات كما في ال-SNP الاول (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2128998351). وعلى الرغم من عدم وجود دراسة سابقة أوجدت ارتباط بين SNP rs2128998142 مع مرض سرطان الغدة الدرقية ، فقد اشارت هذه الدراسة أن ال-SNP قد ظهر في عينتين للمرضى وعدم ظهوره في عينة الاصحاء . ولم تربط أي دراسة سابقة هذين ال-SNPs مع سرطان الغدة الدرقية ، لذلك يمكن القول أن هذه الدراسة هي الأولى التي تكشف عن ارتباط محتمل بين تعدد الأشكال الجيني لجين *BRAF* مع مرض سرطان الغدة الدرقية في العراق.

أن جين *BRAF* يؤدي دوراً مهماً في نشوء الورم وتطوره كونه مسؤول عن نمو الخلايا فإن أي طفرات أو تغيرات قد تؤثر على وظيفته وتؤدي الى فقدان الاصحاء على نمو الخلايا وبالتالي تكوين الاورام السرطانية مثل سرطان الغدة الدرقية (Al-Ankoshy *et al.*, 2020 ; Shimizu *et al.*, 2022)

وجدت العديد من الطفرات والتغيرات في جين *BRAF* اذ اعتبرت V600E طفرة الأكثر شيوعاً وتكراراً وارتبطت ارتباطاً وثيقاً مع سرطان الغدة الدرقية وهي الاكثر انتشاراً في مرضى PTC (Ge *et al.*, 2020)

أشارت دراسة أجريت على المرضى النمساويين الى وجود علاقة إحصائية قوية بين الطفرات مثل طفرة *BRAF* V600E وبين mtDNA (Tsybrovskyy *et al.*, 2021) وكما أشارت دراسة اخرى إلى أن مرضى سرطان الغدة الدرقية عادة يتعرضون لطفرة *BRAF* V600E ثم طفرات زيادة محتوى ال-mtDNA داخل المايوتوكونديريا (Tsybrovskyy *et al.*, 2022) ان جين *BRAF* له دور في خفض تعبير بعض الجينات المهمة لنقل الالكترونات في المايوتوكونديريا الامر الذي يمنع التنفس والتمثيل الغذائي للمايوتوكونديريا ولهذا يرتفع mtDNA-CN استجابة لتعبويض خلل المايوتوكونديريا (Orlando *et al.*, 2019).

ان للتغيرات الشكلية ال-SNPs في جين *BRAF* اثر مهم في تكوين الاورام والاصابة بانواع مختلفة من السرطانات فضلاً عن سرطان الغدة الدرقية فهي ترتبط مع سرطان المستقيم وسرطان القولون و تؤثر في حجم الورم و خطورته و كذلك تزيد من نسبة الوفيات (Shaalan *et al.*, 2022)

ثانياً: الجانب الفسلجي

#### 3-4 التغييرات في المعايير الفسلجية:

1-3-4 قياس هرمونات الغدة الدرقية لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء  
يلاحظ من الجدول (4-4) وجود إرتفاع معنوي عند ( $p \leq 0.01$ ) و ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH و مستوى هرموني  $T_3$  و  $T_4$  لمرضى سرطان الغدة الدرقية اذ بلغ (  $0.82 \pm 5.73$  mg/d l ) مقارنة مع مجموعة الاصحاء ( $0.06 \pm 1.23$ ) بالنسبة للهرمون المحفز للغدة الدرقية ، اما بالنسبة لهرموني  $T_3$  و  $T_4$  لمرضى سرطان الغدة فقد بلغ (  $1.02 \pm 5.96$  ng/ml ) و (  $1.45 \pm 14.99$   $\mu$ IU/ml ) على التوالي مقارنة مع مستوى الهرموني في مجموعة الاشخاص الاصحاء (  $0.37 \pm 1.14$  ng/ml ) و (  $0.98 \pm 7.72$   $\mu$ IU/ml ) على التوالي ، كذلك يلاحظ من الجدول حدوث إرتفاع معنوي في معدل هرمون Calcitonin لدى المرضى (  $9.64$  pg/ml ) عند مقارنتهم مع مجموعة الاصحاء ( $0.91 \pm 4.32$  pg/ml) .

#### 1-1-3-4 التغييرات في معدل تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل إليه الباحثين ( Notsu and Kanasaki, 2022 ) اللذين أوجدا إرتفاع في مستويات الهرمون المحفز للغدة الدرقية TSH عن الحد الطبيعي مما ساهم في تطور الورم و زيادة انتشاره وتحفيز انتاج الهرمونات وذلك بسبب الطفرات الحاصلة في جينات مستقبلات TSH عند الاصابة بالورم والتي تسببت بتنشيط افراز المزيد من TSH وزيادة انتاج الأدينوسين أحادي الفوسفات داخل الخلايا وهو السبب الأكثر أهمية لفرط نشاط الغدة الدرقية وتكاثر خلاياها و انتاجها المفرط للهرمونات عند الاصابة بسرطان الغدة الدرقية ( Takedani *et al.*,2021) ، اذ تسبب هذه الطفرات تلف في الحمض النووي مما يؤدي الى اضطراب في افراز الهرمونات و تحفيز النمو المستمر وتعزيز انقسام الخلايا و تكاثرها بشكل غير مسيطر عليه ، كما وجد ان مستوى TSH في الدم يزداد في حالات الاصابة بسرطان الغدة الدرقية حتى بعد استئصال الغدة الدرقية بعد الاصابة كنتيجة لانخفاض مستويات هرمونات الدرقية في الدم ، كما يزداد في حالات نقص اليود او التعرض لبعض المواد الكيميائية التي تمنع إفراز هرمونات الغدة الدرقية ، او التي تضر بالخلايا الحويصلية للغدة الدرقية و التي تمنع تحويل  $T_4$  إلى  $T_3$  ، كذلك المواد الكيميائية التي تزيد من استقلاب وإفراز هرمون الغدة الدرقية الكبدي ( Hill *et al.*,1998) .

ان عدم التوازن بين افراز هرمونات الغدة الدرقية والغدة النخامية في الحالات الورمية يؤدي دوراً مهماً في تحفيز تخليق الحمض النووي وتكاثر الخلايا من خلال فقدان الاصحاء على انتاج TSH من الغدة النخامية واستمرار استقباله من الغدة الدرقية وفقدان قدرة الخلايا على الاستجابة الطبيعية لهرمون ال TSH ( Andrae, 2013 ) ، اذ يزيد TSH من انقسام الخلايا السرطانية مما يؤدي إلى زيادة في فرصة

حدوث طفرة تلقائية ، ثم يعزز نمو الخلايا المتغايرة التي تستمر بالاستجابة لهرمون TSH ( Yang *et al.*, 2022) كما واتفقت نتائج الدراسة مع الباحثين ( Biondi and Cooper, 2019 ) اللذين أوجدا ارتفاع في مستويات هرمون TSH في الدم للمرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية ، اذ وجدوا ان مستويات TSH في الدم لدى المرضى الذين يعانون من عقيدات الغدة الدرقية ترتبط بزيادة خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية المتميز DTC، وتكون أكثر خطورة لدى المرضى الذين تم تشخيصهم بسرطان الغدة الدرقية. اذ يؤثر هرمون TSH على سرطان الغدة الدرقية المتميز DTC لأنه يعبر عن مستقبلات هرمون TSH وبالتالي يستجيب لتحفيزه ، وغالبًا ما يتم تثبيط مستويات TSH لدى المرضى الذين يعانون من DTC خاصة إذا كان الورم في المراحل المتقدمة ولا يمكن الاصحاء عليه (Soh and Aw, 2019).

أظهرت دراسة اخرى أن ارتفاع مستويات هرمون TSH كان مرتبطًا بزيادة خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ، اذ يؤدي TSH دورًا مهمًا في تنظيم وظيفة الغدة الدرقية بما في ذلك زيادة عدد وحجم ونشاط إفراز خلايا الغدة الدرقية وزيادة تدفق الدم في الغدة الدرقية ، وزيادة إنتاج هرمونات الغدة الدرقية وإفرازها ، وبالتالي فإنها تعزز نمو الخلايا السرطانية ، اذ يعتمد تخليق هرمونات الغدة الدرقية على توافر اليود وتحفيز TSH ( Pirahanchi *et al.*, 2018; McLeod , 2014 ).

بينما اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه Kim وجماعته (2022) والذي وجد انخفاض في مستوى هرمون TSH لدى المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية ، و نتائج دراسة اخرى ( Huang *et al.*, 2017 ) اللذين اوجدوا زيادة كبيرة في خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية الحليمي (PTC) وانخفاض هرمون ال TSH في النساء وبمستويات أعلى منه في الرجال . و كذلك دراسة ( Hrafinkelsson *et al.*, 2000 ) التي أوجدت انخفاض في مستويات هرمون TSH في حالات سرطان الغدة الدرقية مقارنة بمجموعة الاصحاء .

#### 2-1-3-4- التغييرات في معدل تركيز هرموني الغدة الدرقية T3 و T4 و الكالسيونين

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل إليه De Stefano و جماعته (2023) والذي أوجد زيادة في هرمونات الغدة الدرقية ( T3 و T4 ) لدى المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية و أوعز السبب الى فعالية الإنزيمات نازعة اليود deiodinase selenoenzymes من النوعين الاول والثاني ( type 1 و type 2 deiodinase (D1) and type 2 deiodinase (D2) في تحفيز و زيادة إفراز الهرمونات عند الإصابة بالأورام ففي هذه الحالة المرضية يرتفع التعبير الجيني لانزيمي D1 و D2 واللذان يؤديان الى افراز الكثير من هرمونات الغدة الدرقية ، وباستمرار افراز هذه الهرمونات بكميات عالية سوف تدخل هذه الهرمونات الى الخلايا الدرقية الجريبية follicular thyroid epithelial cell من خلال ناقلات هرمون

الغدة الدرقية بروتين الكلوبولين المرتبط (thyroxine-binding globulin) ثم يتم استقلابها بواسطة هذه الانزيمات ، اذ يعمل D1 الموجود على غشاء الخلية على تنشيط هرمون T4 ثم يتحول إلى T3 فيما بعد ، و بالمقابل يعمل D2 داخل الشبكة الإندوبلازمية بالقرب من نواة الخلية على زيادة افراز هرمون T3 ، وتشير الأدلة الحديثة إلى أنه خلال المرحلة المتأخرة من تكون أورام الغدة الدرقية يرتفع التعبير عن D2 .

وأوجدت دراسة الباحث Mousa وجماعته ( 2021 ) أن ارتفاع مستويات هرمونات الغدة الدرقية T3 و T4 يزداد عند الإصابة بالاورام و بالمقابل فإن انخفاض مستويات هرمون T4 والحفاظ على الحالة الأيضية الطبيعية من هرمون T3 يبطن نمو أنواع عديدة من الأورام اذ وجدت أن مجموعة متنوعة من الخلايا السرطانية تتكاثر استجابة للتركيزات الفسيولوجية لـ T4 . أوجدت دراسة اخرى ارتفاع في هرمون الكالسيونين لدى مرضى سرطان الغدة الدرقية النخاعي MTC ، اذ أشار الى ان ارتفاع مستوى هرمون الكالسيونين عند المصابين يدل على وجود ورم خبيث وُعد ارتفاع هرمون الكالسيونين من العلامات التشخيصية للورم في سرطانات الغدة الدرقية وبالخاص سرطان الغدة الدرقية المتمايز DTC و أوعز ارتفاعه استجابة لتحفيز هرمون الـ TSH (Soh and Aw, 2019) ، كما و أوجدت دراسة اخرى ( De Stefano et al.,2023 ) انخفاض في مستوى هرمونات الغدة الدرقية T3 و T4 في المراحل الاولى من المرض بسبب افراط في مستويات التعبير عن الإنزيم نازع اليود من النوع الثالث type 3 من deiodinase (D3) والذي يعمل على تثبيط افراز الهرمونات في سرطانات الغدة الدرقية المتمايزة ، بينما اوجدت في المراحل المتأخرة من المرض ارتفاع في التعبير عن انزيم D2 و بالمقابل انخفاض في انزيم D3 أي زيادة افراز هرمونات الغدة الدرقية T3 و T4 في سرطانات الغدة الدرقية غير المتمايزة ، وان اي خلل يسبب انخفاض في مستويات هرمونات الغدة الدرقية يؤدي إلى إفراز الغدة النخامية المزيد من هرمون TSH وبالتالي فإن مستويات TSH المرتفعة تزيد من إنتاج الغدة الدرقية للهرمونات لأنه ينشط الأدينيلات الموجودة في غشاء البلازما مما يؤدي إلى زيادة مستويات الأدينوسين أحادي الفوسفات ( cAMP ) اذ يؤدي الأخير إلى تحفيز إحداث إشارات إضافية داخل الخلايا لتكوين هرمونات الغدة الدرقية وبالتالي تعزيز نمو سرطان الغدة الدرقية ( Pirahanchi et al.,2018) . أوجدت دراسة أخرى ارتفاع في مستويات الهرمون T3 في مرضى سرطان الغدة الدرقية وأوعز السبب الى ان الهرمون يعزز ويحفز نمو الخلايا السرطانية لانه ينشط Cyclin D1 (Perri et al.,2014) وهو يتفق مع ما أوجدته الدراسة الحالية ، كما اظهرت دراسة زيادة مستويات الكالسيونين في مرضى سرطان الغدة الدرقية مقارنةً بالأشخاص الاصحاء في حين تنخفض مستويات هرمون الكالسيونين بعد إجراء الاستئصال كامل للغدة Montes and (Giovanela, 2023) ، تساهم هرمونات الغدة الدرقية في الحالات الطبيعية في تنشيط مسار نقل الاشارات Ras/MAPK (ERK1/2) وتثبيط تكاثر الخلايا الناجم عن زيادة مستويات هرمونات الغدة



الدرقية عن الحد الطبيعي بواسطة نظير يودوثيرونين iodothyronine analogue و حمض رباعي يودوثيروأسيتيك (رباعي الأثر) tetraiodothyroacetic acid (tetrac) ، الذي يمنع ربط اليودوثيرونين بمستقبلات سطح الخلية للغدة الدرقية (Lin, et al.,2007) و نظراً لأن جميع أنسجة الجسم تقريباً تتأثر بهرمونات الغدة الدرقية فإن تعطيل إفرازها يؤثر على التوازن الجهازي للأوكسدة ومضادات الأوكسدة ، فقد أثبت أن زيادة مستويات هرمونات الغدة الدرقية تؤدي إلى توليد ROS مما يسبب الإجهاد التأكسدي وبالتالي تحفيز الورم ، و هذا يرجع إلى حقيقة أن هذه الهرمونات تسرع عملية التمثيل الغذائي القاعدية في الخلايا ، كما لوحظ ارتفاع نشاط إنزيم مضادات الأوكسدة في المرضى الذين يعانون من سرطان الغدة الدرقية الحليمي والتهاب الغدة الدرقية (Chainy and Sahoo, 2020; Wróblewski et al.,2023).

الجدول ( 4\_4 ) تركيز هرمونات الغدة الدرقية لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء

المعنوية	المعدل ± الخطأ القياسي	العينات	الهرمون
.000	0.06 ±1.23	الأصحاء	TSH (mg/dl)
	0.12 ± 5.73	المرضى	
.000	0.06 ±1.14	الأصحاء	T3 (ng/ml)
	0.14 ±5.96	المرضى	
.000	0.17 ±7.72	الأصحاء	T4 (µIU/ml)
	0.21 ±14.99	المرضى	
.000	0.15 ±4.32	الأصحاء	Calcitonin (pg/ml)
	0.13 ±9.64	المرضى	

المعدل = الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي n = 50 للمرضى و 50 للأصحاء

4-3-2 قياس مستويات معايير الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء

يلاحظ من الجدول (4-5) وجود إنخفاض معنوي في مستوى الانزيم الكلوتاثيون GSH المضاد للأوكسدة لدى المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية اذ بلغ ( 7.79 ± 111.09 mg/d l ) مقارنة مع مجموعة الاصحاء ( 7.28 ± 160.34 )، بينما سجلت النتائج إرتفاع معنوي في مستوى المألون داي الديهايد اذ بلغ ( 0.69 ± 4.33ng/ml ) و والمستضد السرطاني المضغي CEA ( 0.93 ± 8.28µIU/ml ) على التوالي مقارنة مع مجموعة الاشخاص الاصحاء ( 1.36ng/ml ± 0.24 ) و ( 0.14 ± 1.20µIU/ml ) على التوالي .

## 4-3-2-1 التغييرات في معدل تركيز انزيم الكلوتاثيون GSH و المألون داي الديهايد MDA

اتفقت الدراسة مع Lopes وجماعته (2022) التي وجدت إنخفاض في مستوى الانزيم المضاد للأكسدة (الكلوتاثيون GSH) و إرتفاع في مستويات المألون داي الديهايد MDA في مرضى سرطان الغدة الدرقية بالخاص الحليمي منه ، كونه مؤشراً لإرتفاع الاجهاد التأكسدي و الذي يزداد عند الاصابة بالاورام. كما واتفقت مع Sekhar وجماعته (2022) و دراسة Salimi وجماعته (2023) التي اوجدت نضوب في مستوى الجلوتاثيون لدى المرضى و ذلك كونه يمنع أكسدة الدهون في اغشية الخلايا عند زيادة الاجهاد التأكسدي وينظم مسار موت الخلايا فبالنتالي يقل مستواه لدى المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية . يعد الاجهاد التأكسدي حالة كيميائية ناتجة عن عدم التوازن بين انظمة الاكسدة ومضادات الاكسدة و له دور كبير في تكوين أورام الغدة الدرقية و زيادة نشاط وانتشار الخلايا السرطانية فيها ( Muzza et al.,2022) وهو يؤدي الى تلف الحامض النووي في النواة و داخل المايكوتونديريا ( Madeddu et al.,2022) .

## 4-3-2-2 التغييرات في معدل تركيز المستضد السرطاني المضغي (CEA)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Turkdogan وجماعته (2018) التي أوجدت أن مستويات المستضد السرطاني المضغي (CEA) Carcinoembryonic Antigen المرتفعة كانت مؤشراً على تقدم الورم و خطورته ، اذ توصلت الى ان المستويات المرتفعة من ال CEA يزيد من نسبة الوفيات للمرضى بشكل كبير ، فقد وجد انه عندما تكون مستويات CEA اكثر من 500 نانوغرام / مل ، فان معدل وفيات المرضى يرتفع الى نسبة 67% (Turkdogan et al.,2018) .

و أوجدت دراسة اخرى زيادة غير طبيعية في مستوى CEA في مصل الدم لدى المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية النخاعي MTC واوزت هذه الدراسة الى ان الزيادة في تعبير CEA يكون استجابةً للإنترفيرون الفا وكاما والإنترلوكينات الالتهابية ، فقد وجد ان بروتين ال-CEA يتواجد في الانسجة الجنينية بتراكيز منخفضة جداً أقل من 3 نانوغرام و يزداد عند الاصابة بالسرطانات و بعض الامراض الاخرى (Baptista et al.,2022) و اظهرت دراسة اخرى زيادة ملحوظة في مستويات CEA عند المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية ، بينما وجدت انخفاض كبير في نسبته بعد الجراحة والاستئصال الكامل للغدة ، وبذلك فإن زيادة مستويات CEA تعد مؤشراً فعلياً على الاصابة بسرطان الغدة الدرقية (Montes and Giovanella, 2023)

ان CEA يعد مؤشر للكشف عن انتشار الاورام و خطورتها كونه ينشط اطلاق السايكوكينات والتي بدورها تنشط خلايا الجسم الطبيعية للارتباط بالخلايا السرطانية المنتشرة ، و يتم التعبير عن المستضد

السرطاني CEA في الخلايا الطلائية في أجهزة الجسم المتعددة كما أنه يشترك في العديد من الوظائف البيولوجية مثل التصاق الخلية بالخلية أو التصاق الخلية بأي سطح خارجي لأنه مكون من سلسلة من البروتينات السكرية ويعمل على تنظيم التمايز الخلوي والاستماتة والاستجابة المناعية عند تكوين الأورام والاستجابة الالتهابية (Chen *et al.*,2016 ; Klaile *et al.*,2013) وقد يشترك هذا المستضد في التعرف المناعي على الأورام عن طريق التدخل في التصاق الخلايا السرطانية القاتلة مع الخلايا الطبيعية ، بالإضافة الى تأثيره على التمايز الخلوي ، كما ان الأجسام المضادة المرتبطة ب CEA لها تأثيرات مباشرة مضادة للأورام ويمكنها أيضاً تحسس خلايا الورم في الجسم الحي كيميائياً . (Passos *et al.*,2021 ; Del Rivero *et al.*,2020)

الجدول ( 5\_4 ) قياس مستويات معايير الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة لمرضى سرطان الغدة الدرقية ومجموعة الاصحاء

المعنوية	المعدل ± الخطأ القياسي	العينات	معايير الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة
.000	1.23 ±160.34	الأصحاء	GSH ( u/ml ) الكلوتاتيون
	1.10 ±111.09	المرضى	
.000	0.04 ±1.36	الأصحاء	MDA ( μmol/L ) المالون داي الديهايد
	0.10 ±4.33	المرضى	
.000	0.02 ±1.20	الأصحاء	CEA (ng/ml ) المستضد السرطاني المضغي
	0.13 ±8.28	المرضى	

المعدل = الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي n=50 للمرضى و 50 للاصحاء

الاستنتاجات والتوصيات

**Conclusions and Recommendations**

**الاستنتاجات :Conclusions**

- 1- وجود ارتباط معنوي بين محتوى الـ mtDNA مع خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية اذ ازداد عدد نسخ الـ DNA المايٹوكونديري بالنسبة لجين ND1 عند مقارنته مع الجين المقارنة الطبيعي HGB في المرضى المصابين بسرطان الغدة الدرقية بالمقارنة مع مجموعة الاصحاء .
- 2- اثبت الكشف عن وجود اثنين من التعددات الشكلية SNPs وهما ( rs2128998142 and rs2128998351) في جين *BRAF* وهي تغيرات شكلية غير مدروسة مع هذا المرض .
- 3- معنوية عالية بين بعض عوامل الخطورة المتمثلة بـ (الجنس ، التاريخ العائلي للمرض ، العمر، التدخين ) مع الإصابة بسرطان الغدة الدرقية .
- 4- وجود ارتباط عالي المعنوية بين التغيرات الهرمونية لـ ( T3 , T4 , Calcitonin and TSH ) مع خطر الإصابة بسرطان الغدة الدرقية ووجد أن لزيادتها أثر كبير في الإصابة بسرطان الغدة الدرقية .
- 5- ارتفاع مستويات معايير الاجهاد التأكسدي (المانول داي الديهايد و المستضد السرطاني المضغي) عند الإصابة بسرطان الغدة الدرقية و انخفاض في مستويات مضادات الاكسدة ( الكلوتاثيون ) .
- 6- ارتفاع تركيز المستضد السرطاني المضغي (CEA) كان مؤشر على تقدم الورم وخطورته .

**التوصيات Recommendations**

- 1- استخدام الفحص الجزيئي في مراكز الأورام بالمستشفيات العراقية كوسيلة للكشف المبكر عن السرطان في الكشف عن الطفرات الجديدة والتغيرات الشكلية في الجينات الرئيسية والثانوية المسببة لسرطان الغدة الدرقية .
- 2- دراسة و تشخيص الأنواع الأخرى من التعددات الشكلية (SNPs) او الطفرات الموجودة في جين *BRAF* ، ودراسة انواع اخرى من جينات الدنا المايٹوكونديري مرتبطة بالمرض باستخدام تقنيات جزيئية مختلفة و زيادة اعداد عينات الدراسة لبيان الارتباط بينها وبين المرض .
- 3- دراسة عوامل خطورة اخرى مرتبطة بمرض سرطان الغدة الدرقية مثل السمنة والنظام الغذائي والتعرض للإشعاع.
- 4- اجراء الفحوصات الدورية للمعايير الهرمونية للتأكد من سلامة الغدة الدرقية والكشف المبكر عن الورم.

المصادر

**References**

## References :

## أولاً: المصادر العربية

1. بشير ، سعد زغلول.(2003) دليلك الى البرنامج الإحصائي SPSS . المعهد العربي للتدريب والبحوث الإحصائية ، الاصدار العاشر ، الجهاز المركزي للإحصاء /العراق .

## ثانياً : المصادر الأجنبية

- Abate, M., Festa, A., Falco, M., Lombardi, A., Luce, A., Grimaldi, A., ... and Misso, G. (2020, February). Mitochondria as playmakers of apoptosis, autophagy and senescence. In *Seminars in cell and developmental biology* (Vol. 98, pp. 139-153). Academic Press.
- Adwas, A. A., Elsayed, A., Azab, A. E., and Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng*, 6(1), 43-47.
- Agrwal, A., and Mittal, S. (2023). 243 Opportunities with Nano-Formulations in Cancer Chemoprevention. In *Natural Products and Nano-Formulations in Cancer Chemoprevention* (pp. 243-257). CRC Press.
- Ahmad, S., Akhter, F., Shahab, U., Rafi, Z., Khan, M. S., Nabi, R., and Ashraf, J. M. (2018, April). Do all roads lead to the Rome? The glycation perspective!. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 49, pp. 9-19). Academic Press.
- Al mankoshy, A., Alqershi, K., and Rabee ,H., (2020) the role of *BRAF* mutation (V600E) in papillary thyroid carcinoma PTC. *Indian Gornal of forensic medicin and toxicology*. Doi 10.37506.
- Al-Ankoshy, A. A. M., Alqershi, K. A., and Rabeea, H. W. (2020). The Role of BRAF Mutation (V600E) in Papillary Thyroid Carcinoma (PTC). *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(1), 1369-1373.

- Aldoma, A. A. M. (2021). *Measurement of Thyroid Volume in Normal Adult Saudi Women Using Ultrasonography* (Doctoral dissertation, Sudan University of Science and Technology).
- Al-ghuraibawi, S. H. A., Al-Kilabi, L. H. M., and Almudhafa, R. H. (2022). Immunohistochemical Expression Of HPV In Iraqi Patients Suffered From Papillary Thyroid Carcinoma (Cross-Sectional Study). *NVEO-NATURAL VOLATILES and ESSENTIAL OILS Journal| NVEO*, 604-618.
- Alhassani, S. S. A. (2022). *Effect of Nutrition on Inorganic Elements Deficiency in Humans* (Doctoral dissertation, Sudan University of Science and Technology).
- Ali, N. H., and Majeed, A. A. (2022). Thyroid Hormone Concentration and Receptor. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology*, 14(1), 221-230.
- Al-Janabi, A. A. H. S., Naseer, Z. H., and Hamody, T. A. (2017). Epidemiological study of cancers in Iraq-Karbala from 2008 to 2015. *Int J Med Res Health Sci*, 6(1), 79-86.
- Alsaadawi, M., and Şehirli, E. (2022, October). The Efficiency of Ensemble Techniques in Predicting Thyroid Disorder: A Comparative Study. In *2022 International Symposium on Multidisciplinary Studies and Innovative Technologies (ISMSIT)* (pp. 834-840). IEEE.
- Al-Suhaimi, E. A. (2022). Bone Remodeling Physiology: Regulation of Parathyroid Glands, C Cells, Vitamin D, and Bone as an Endocrine Organ. In *Emerging Concepts in Endocrine Structure and Functions* (pp. 161-199). Springer, Singapore.
- Alyas, T., Hamid, M., Alissa, K., Faiz, T., Tabassum, N., and Ahmad, A. (2022). Empirical method for thyroid disease classification using a machine learning approach. *BioMed Research International*, 2022.
- Amiteye, S. (2023). Genetic Mutations and Molecular Detection Techniques in Plant Breeding. In *Advanced Crop Improvement, Volume 1: Theory and Practice* (pp. 277-308). Cham: Springer International Publishing.



- Anari, S., Tataei Sarshar, N., Mahjoori, N., Dorosti, S., and Rezaie, A. (2022). Review of deep learning approaches for thyroid cancer diagnosis. *Mathematical Problems in Engineering*, 2022.
- Andersson, L. (2010). Embryonic origin and development of thyroid progenitor cells. Abstract. Göteborg: University of Gothenburg, 10-15.
- Andrae, U. (2013). Formation and Biological Consequences. *Biological Reactive Intermediates V: Basic Mechanistic Research in Toxicology and Human Risk Assessment*, 387, 213.
- Arcos, M. L. B. (2022). Role of thyroid hormones-induced oxidative stress on cardiovascular physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 130239.
- Åsvold, B. O., Bjørro, T., and Vatten, L. J. (2009). Association of serum TSH with high body mass differs between smokers and never-smokers. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(12), 5023-5027.
- Austin, L. A., and Heath III, H. (1981). Calcitonin: physiology and pathophysiology. *New England Journal of Medicine*, 304(5), 269-278.
- Azangou-Khyavy, M., Saeedi Moghaddam, S., Rezaei, N., Esfahani, Z., Rezaei, N., Azadnajafabad, S., ... and Larijani, B. (2022). National, sub-national, and risk-attributed burden of thyroid cancer in Iran from 1990 to 2019. *Scientific Reports*, 12(1), 13231.
- Baptista, P. F., Fonseca, L. C. M., de Carvalho, A. F. C., da Silva, S. N. V., and Freitas, C. R. O. (2022, August). Brain metastasis from calcitonin-negative medullary thyroid carcinoma. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 83, No. 4, pp. 258-260). Elsevier Masson.
- Bernal-Tirapo, J., Bayo-Jimenez, M. T., Yuste-García, P., Córdova-Oriz, I., Peñas, A., García-Borda, F. J., ... and Monsalve, M. (2023). Evaluation of Mitochondrial Function in Blood Samples Shows Distinct Patterns in Subjects with Thyroid Carcinoma from Those with Hyperplasia.

- Berta E, Lengyel I, Halmi S, et al. Hypertension in thyroid disorders. *Front Endocrinol.* 2019;10:482.
- Bhatti, J. S., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I. S., Navik, U., Khullar, N., ... and Reddy, P. H. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radical Biology and Medicine.*
- Biondi, B., and Cooper, D. S. (2019). Thyroid hormone suppression therapy. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 48(1), 227-237.
- Birden, N., Selvi Gunel, N., Ozates, N. P., Goker Bagca, B., Gunduz, C., Sabour Takanlou, L., ... and Biray Avci, C. (2022). The effects of Epigallocatechin-3-gallate and Dabrafenib combination on apoptosis and the genes involved in epigenetic events in anaplastic thyroid cancer cells. *Medical Oncology*, 39(8), 98.
- Bisoyi, P. (2022). A brief tour guide to cancer disease. In *Understanding cancer* (pp. 1-20). Academic Press.
- Bjerkreim, B. A., Hammerstad, S. S., Gulseth, H. L., Berg, T. J., Omdal, L. J., Lee-Ødegård, S., and Eriksen, E. F. (2022). Effect of liothyronine treatment on quality of life in female hypothyroid patients with residual symptoms on levothyroxine therapy: A randomized crossover study. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 816566
- Boelaert, K. (2009). The association between serum TSH concentration and thyroid cancer. *Endocrine-related cancer*, 16(4), 1065-1072.
- Breton, Jeffrey M. 2021. "Clinical and Histopathological Principles for the Diagnosis of a Recurrent Paraganglioma of the Jugular Foramen Initially Diagnosed as a Middle Ear Adenoma: Illustrative Case." *Journal of Neurosurgery: Case Lessons* 2(5): 2–6.
- Cancer. 2015;136:E359–86. doi: 10.1002/ijc.29210.

- Cannarella, R., Condorelli, R. A., Barbagallo, F., La Vignera, S., and Calogero, A. E. (2021). Endocrinology of the aging prostate: current concepts. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 554078.
- Carbone, M., Arron, S. T., Beutler, B., Bononi, A., Cavenee, W., Cleaver, J. E., and Yang, H. (2020). Tumour predisposition and cancer syndromes as models to study gene–environment interactions. *Nature Reviews Cancer*, 20(9), 533-549.
- Chainy, G. B., and Sahoo, D. K. (2020). Hormones and oxidative stress: an overview. *Free Radical Research*, 54(1), 1-26.
- Chakraborty, D., Shakya, S., Ballal, S., Agarwal, S., and Bal, C. (2020). BRAF V600E and TERT promoter mutations in paediatric and young adult papillary thyroid cancer and clinicopathological correlation. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 33(11), 1465-1474.
- Chamberlain, L. H., and Shipston, M. J. (2015). The physiology of protein S-acylation. *Physiological reviews*, 95(2), 341-376.
- Chauhan, V., Chandel, A., and Chauhan, O. P. (2022). Antioxidants. In *Advances in Food Chemistry: Food Components, Processing and Preservation* (pp. 353-384). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Chen, J., Raju, G. S., Jogunoori, W., Menon, V., Majumdar, A., Chen, J. S., ... and Mishra, L. (2016). Mutational profiles reveal an aberrant TGF- $\beta$ -CEA regulated pathway in colon adenomas. *PloS one*, 11(4), e0153933.
- Cheng, X. I. U., Qian, H. E., Jian, Z. H., Nan, Y. Z., Hua, G. L., Qian, W. F., ... and Shan, J. S. (2020). Strong correlation of abnormal serum and urinary iodine levels with papillary thyroid cancer: a case-control study. *Biomedical and Environmental Sciences*, 33(1), 62-67.

- Cheong, B., Teh, H. J. H., Ng, G. S. N., and Huang, K. H. K. (2023). Thyroid cancer presenting as neck pain at a chiropractic clinic. *Cureus*, 15(5).
- Chu, Y. H., and Nosé, V. (2022). Familial Medullary Thyroid Carcinoma (FMTC). In *Endocrine Pathology* (pp. 244-257). Cham: Springer International Publishing.
- Cieszyńska, M., Kluźniak, W., Wokołorczyk, D., Cybulski, C., Huzarski, T., Gronwald, J., ... and Lubiński, J. (2022). Risk of Second Primary Thyroid Cancer in Women with Breast Cancer. *Cancers*, 14(4), 957.
- Coca-Pelaz, A., Rodrigo, J. P., Shah, J. P., Sanabria, A., Al Ghuzlan, A., Silver, C. E., ... and Ferlito, A. (2021). Hürthle cell carcinoma of the thyroid gland: systematic review and meta-analysis. *Advances in Therapy*, 38(10), 5144-5164.
- Colombo, C., Pogliaghi, G., Tosi, D., Muzza, M., Bulfamante, G., Persani, L., ... and Cirello, V. (2022). Thyroid cancer harboring PTEN and TP53 mutations: A peculiar molecular and clinical case report. *Frontiers in Oncology*, 12, 949098.
- Colonna, M., Borson-Chazot, F., Delafosse, P., Schwartz, C., and Guizard, A. V. (2020, December). Progression of incidence and estimate of net survival from papillary thyroid cancers diagnosed between 2008 and 2016 in France. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 81, No. 6, pp. 530-538). Elsevier Masson.
- Cordero-Véliz, C., Larraín, J., and Faunes, F. (2023). Transcriptome analysis of the response to thyroid hormone in *Xenopus* neural stem and progenitor cells. *Developmental Dynamics*, 252(2), 294-304.
- de Sousa Barrambana, S. A. (2019). *Mitochondrial Dynamics in Thyroid Cancer: Unravelling the Role of DRP1* (Doctoral dissertation, Universidade do Porto (Portugal)).
- De Stefano, M. A., Porcelli, T., Schlumberger, M., and Salvatore, D. (2023). Deiodinases in thyroid tumorigenesis. *Endocrine-Related Cancer*, 1(aop).

- Del Rivero, J., Donahue, R. N., Martí, J. L., Gramza, A. W., Bilusic, M., Rauckhorst, M., ... and Madan, R. A. (2020). A case report of sequential use of a yeast-CEA therapeutic cancer vaccine and anti-PD-L1 inhibitor in metastatic medullary thyroid cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 490.
- Demetriou, E., Fokou, M., Frangos, S., Papageorgis, P., Economides, P. A., and Economides, A. (2023). Thyroid Nodules and Obesity. *Life*, 13(6), 1292.
- Demirci-Cekic, S., Özkan, G., Avan, A. N., Uzunboy, S., Çapanoğlu, E., and Apak, R. (2022). Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 209, 114477.
- Deng, Y., Zhang, J., Zou, G., Li, S., Gong, Z., Yue, G., ... and Xu, J. (2022). Peripheral blood inflammatory markers can predict benign and malignant thyroid nodules. *International Journal of Endocrinology*, 2022.
- Díez, J. J., Anda, E., Alcazar, V., Isidro, M. L., Familiar, C., Paja, M., ... and Sastre, J. (2022). Differentiated thyroid carcinoma in the elderly: influence of age on disease-free and overall survival. *Endocrine*, 77(1), 121-133.
- Do Cao, C., Haissaguerre, M., Lussey-Lepoutre, C., Donatini, G., Raverot, V., and Russ, G. (2022, December). SFE-AFCE-SFMN 2022 Consensus on the management of thyroid nodules: Initial work-up for thyroid nodules. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 83, No. 6, pp. 380-388). Elsevier Masson.
- Eligar, V., Taylor, P. N., Okosieme, O. E., Leese, G. P., and Dayan, C. M. (2016). Thyroxine replacement: a clinical endocrinologist's viewpoint. *Annals of clinical biochemistry*, 53(4), 421-433.
- Esfahanian, F., Hazaveh, M. M., Garehbagh, L. H., Falahati, K., Ataei, M., Sanati, M. H., and Jadali, Z. (2021). Increased Mitochondrial DNA Copy Number and Oxidative Damage in Patients with Hashimoto's Thyroiditis. *Iranian Journal of Public Health*, 50(8), 1697.
- Faggiano, A., Coulot, J., Bellon, N., Talbot, M., Caillou, B., Ricard, M., ... and Schlumberger, M. (2004). Age-dependent variation of follicular size and

- expression of iodine transporters in human thyroid tissue. *Journal of Nuclear Medicine*, 45(2), 232-237.
- Favero, Andrea, Ilenia Segatto, Tiziana Perin, and Barbara Belletti. 2021. —The Many Facets of MiR-223 in Cancer: Oncosuppressor, Oncogenic Driver, Therapeutic Target, and Biomarker of Response. | *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA* 12(6): 1–21.
- Feldt-Rasmussen, U. (2001). Iodine and cancer. *Thyroid*, 11(5), 483-486.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... and Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
- Fernandez-Vizarra, E., and Zeviani, M. (2021). Mitochondrial disorders of the OXPHOS system. *FEBS letters*, 595(8), 1062-1106.
- Fontanella, R. A., Sideri, S., Di Stefano, C., Catizone, A., Di Agostino, S., Angelini, D. F., ... and Riccioli, A. (2021). CD44v8-10 is a marker for malignant traits and a potential driver of bone metastasis in a subpopulation of prostate cancer cells. *Cancer Biology and Medicine*, 18(3), 788.
- Frank, J. E., Faix, J. E., Hermos, R. J., Mullaney, D. M., Rojan, D. A., Mitchell, M. L., and Klein, R. Z. (1996). Thyroid function in very low birth weight infants: effects on neonatal hypothyroidism screening. *The Journal of pediatrics*, 128(4), 548-554.
- Fukagawa, K., Takahashi, Y., Yamamichi, N., Kageyama-Yahara, N., Sakaguchi, Y., Obata, M., ... and Fujishiro, M. (2023). Transcriptome analysis reveals the essential role of NK2 homeobox 1/thyroid transcription factor 1 (NKX2-1/TTF-1) in gastric adenocarcinoma of fundic-gland type. *Gastric Cancer*, 26(1), 44-54.

- Fullmer, T., Cabanillas, M. E., and Zafereo, M. (2021). Novel therapeutics in radioactive iodine-resistant thyroid cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 720723.
- García-Sánchez, A., Miranda-Díaz, A. G., and Cardona-Muñoz, E. G. (2020). The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro- and antioxidant properties in chronic diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.
- Garufi, A., D'Orazi, V., Crispini, A., and D'Orazi, G. (2015). Zn (II)-curc targets p53 in thyroid cancer cells. *International Journal of Oncology*, 47(4), 1241-1248.
- Gavryutina, I., Fordjour, L., and Chin, V. L. (2022). Genetics of Thyroid Disorders. *Endocrines*, 3(2), 198-213.
- Ge, J., Wang, J., Wang, H., Jiang, X., Liao, Q., Gong, Q., ... and Zeng, Z. (2020). The BRAF V600E mutation is a predictor of the effect of radioiodine therapy in papillary thyroid cancer. *Journal of Cancer*, 11(4), 932.
- Gelen, V., Şengül, E., and Kükürt, A. (2023). Thyroid Hormones (T3 and T4) and their Effects on the Cardiovascular System.
- Giannocco, G., Kizys, M. M. L., Maciel, R. M., and de Souza, J. S. (2021, June). Thyroid hormone, gene expression, and central nervous system: where we are. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 114, pp. 47-56). Academic Press.
- Grimm, D. (2022). Recent Advances in Thyroid Cancer Research. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4631.
- Gudzenko, N., Mabuchi, K., Brenner, A. V., Little, M. P., Hatch, M., Drozdovitch, V., ... and Cahoon, E. K. (2022). Risk of thyroid cancer in Ukrainian cleanup workers following the Chernobyl accident. *European Journal of Epidemiology*, 37(1), 67-77.
- Guo, L. W., Meng, Q. C., Zheng, L. Y., Chen, Q., Liu, Y., Xu, H. F., ... and Zhang, S. K. (2022). Special issue "The advance of solid tumor research in China":

Participants with a family history of cancer have a higher participation rate in low-dose computed tomography for lung cancer screening. *International Journal of Cancer*.

Haddad, R. I., Bischoff, L., Ball, D., Bernet, V., Blomain, E., Busaidy, N. L., ... and Darlow, S. (2022). Thyroid carcinoma, version 2.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National*

Hamouche, W., Gill, S., Faour, O., Zahedi, T., and Zhang, F. (2022). ODP469 Coexistence of two thyroid malignancies with Hurthle cell and Papillary thyroid carcinoma. *Journal of the Endocrine Society*, 6(Supplement\_1), A760-A761.

Han, Y., and Chen, J. Z. (2013). Oxidative stress induces mitochondrial DNA damage and cytotoxicity through independent mechanisms in human cancer cells. *BioMed research international*, 2013.

Hasanzad, M., Sarhangi, N., Meybodi, H. R. A., Nikfar, S., Khatami, F., and Larijani, B. (2019). Precision medicine in non communicable diseases. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 8(Suppl1), 1.

Hayashi, M., Futawaka, K., Matsushita, M., Hatai, M., Yoshikawa, N., Nakamura, K., ... and Moriyama, K. (2018). Cigarette smoke extract disrupts transcriptional activities mediated by thyroid hormones and its receptors. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 41(3), 383-393.

Haymart, M. R. (2009). Understanding the relationship between age and thyroid cancer. *The oncologist*, 14(3), 216-221.

Haymart, P., Levin, N. J., and Haymart, M. R. (2023). The psychosocial impact of thyroid cancer. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 10-1097.

He, J., and Wei, W. Q. (2019). China cancer registry annual report. Beijing: People's Medical Publishing House. 2021.



- He, Q., Sun, H., Li, F., and Liang, N. (2019). Obesity and risk of differentiated thyroid cancer: a large-scale case-control study. *Clinical Endocrinology*, 91(6), 869-878.
- He, W. J., Li, C., Huang, Z., Geng, S., Rao, V. S., Kelly, T. N., ... and Rebholz, C. M. (2022). Association of mitochondrial DNA copy number with risk of progression of kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 17(7), 966-975.
- Hill, R. N., Crisp, T. M., Hurley, P. M., Rosenthal, S. L., and Singh, D. V. (1998). Risk assessment of thyroid follicular cell tumors. *Environmental Health Perspectives*, 106(8), 447-457.
- Hrafinkelsson J, Tulinius H, Kjeld M, Sigvaldason H, Jonasson JG. Serum thyroglobulin as a risk factor for thyroid carcinoma. *Acta Oncol* 2000;39:973–7.
- Huang, E. H., and Kaufman, H. L. (2002). CEA-based vaccines. *Expert review of vaccines*, 1(1), 49-63.
- Huang, H., Rusiecki, J., Zhao, N., Chen, Y., Ma, S., Yu, H., ... and Zhang, Y. (2017). Thyroid-Stimulating Hormone, Thyroid Hormones, and Risk of Papillary Thyroid Cancer: A Nested Case–Control Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 26(8), 1209-1218.
- Huang, M., Yan, C., Xiao, J., Wang, T., and Ling, R. (2019). Relevance and clinicopathologic relationship of BRAF V600E, TERT and NRAS mutations for papillary thyroid carcinoma patients in Northwest China. *Diagnostic pathology*, 14(1), 1-10.
- Hussain, A. M., and Lafta, R. K. (2021). Cancer Trends in Iraq 2000–2016. *Oman medical journal*, 36(1), e219.
- Ifeanyi, O. E. (2018). A review on free radicals and antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci*, 4(2), 123-133.

- Ito, Y., Furuya, F., Taki, K., Suzuki, H., and Shimura, H. (2021). NKX2-1 re-expression induces cell death through apoptosis and necrosis in dedifferentiated thyroid carcinoma cells. *Plos one*, 16(11), e0259558.
- Jalil, A. T., Al-Khafaji, A. H. D., Karevskiy, A., Dilfy, S. H., and Hanan, Z. K. (2021). Polymerase chain reaction technique for molecular detection of HPV16 infections among women with cervical cancer in Dhi-Qar Province. *Materials Today: Proceedings*.
- Januś, D., Kujdowicz, M., Wójcik, M., Taczanowska-Niemczuk, A., Kiszka-Wiłkojć, A., Górecki, W., and Starzyk, J. B. (2023). Ultrasound evolution of parenchymal changes in the thyroid gland with autoimmune thyroiditis in children prior to the development of papillary thyroid carcinoma—a follow-up study. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1172823.
- Kalarani, I. B., Sivamani, G., and Veerabathiran, R. (2023). Identification of crucial genes involved in thyroid cancer development. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 35(1), 15.
- Kalezić, M., Živić, R., Djukić, V., Milanović, M., Ostojić, M., Rančić, N., and Vekić, B. (2023). Short-stay thyroid surgery for older patients: is it safe?. *Vojnosanitetski pregled*, 80(05).
- Kaliszewski, K., Ludwig, M., Ludwig, B., Mikuła, A., Greniuk, M., and Rudnicki, J. (2022). Update on the Diagnosis and Management of Medullary Thyroid Cancer: What Has Changed in Recent Years?. *Cancers*, 14(15), 3643.
- Kamat, A.; Rajoria, S.; George, A.; Suriano, R.; Shanmugam, A.; Megwalu, U.; Prakash, P.B.; Tiwari, R.; Schantz, S. (2011) Estrogen-Mediated Angiogenesis in Thyroid Tumor Microenvironment Is Mediated Through VEGF Signaling Pathways. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 137, 1146–1153.

- Kanai, T., Ito, T., Morikawa, H., Amitani, M., Shimizu, T., Ohno, K., and Ito, K. I. (2022) Surgical resection of the primary tumor prevents an undesirable locoregional condition and improves the quality of life in patients with anaplastic thyroid cancer. *Surgery Today*, 1-7.
- Kaubryte J and Lai AG: Pan-cancer prognostic genetic mutations and clinicopathological factors associated with survival outcomes: a systematic review. *NPJ Precis Oncol* 6(1): 27, 2022. PMID: 35444210. DOI: 10.1038/s41698-022-00269-5 .
- Kawai, K., and Takahashi, M. (2020). Intracellular RET signaling pathways activated by GDNF. *Cell and tissue research*, 382(1), 113-123.
- Kermoison, G., and Draganescu, C. (2022). Role of Dietary and Environmental Factors on Thyroid Cancer in Romania: A Brief Review. *Diagnostics*, 12(8), 1959.
- Khan, A. Q., Kuttikrishnan, S., Siveen, K. S., Prabhu, K. S., Shanmugakonar, M., Al-Naemi, H. A., ... and Uddin, S. (2019, February). RAS-mediated oncogenic signaling pathways in human malignancies. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 54, pp. 1-13). Academic Press.
- Khan, M. S., and Mudassar, S. (2021). Thyroid Cancer and SNPs. *Genetic Polymorphism and cancer susceptibility*, 235-280.
- Khan, M. U., and Afzal, S. (2023). Relationship between dose and response in thyroid cancer caused by Radiation. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 10(1S), 4244-4250.
- Kim, J., Kim, M. K., Baek, K. H., Song, K. H., Han, K., and Kwon, H. S. (2022) A. Repeated Low High-Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Thyroid Cancer: A Nationwide Population-Based Study in Korea. *Endocrinology and Metabolism*, 37(2), 303.
- Kim, S.-J.; Kim, M.J.; Yoon, S.G.; Myong, J.P.; Yu, H.W.; Chai, Y.J.; Choi, J.Y.; Lee, K.E. (2019) Impact of smoking on thyroid gland: Dose-related effect of urinary cotinine levels on thyroid function and thyroid autoimmunity. *Sci. Rep.* 9, 1–6.

- Kim, T. H., Lee, M. Y., Jin, S. M., and Lee, S. H. (2022)B. The association between serum concentration of thyroid hormones and thyroid cancer: a cohort study. *Endocrine-Related Cancer*, 29(12), 635-644.
- Kiremitci, B. Z., Gürler, E. S., and Kiraz, Y. (2022). Molecular characterization of multiple myeloma. *Journal of Medical Science*, 91(2), e656-e656.
- Kitahara, C. M., and Schneider, A. B. (2022). Epidemiology of Thyroid Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 31(7), 1284-1297.
- Klaile, E., Klassert, T. E., Scheffrahn, I., Müller, M. M., Heinrich, A., Heyl, K. A., ... and Slevogt, H. (2013). Carcinoembryonic antigen (CEA)-related cell adhesion molecules are co-expressed in the human lung and their expression can be modulated in bronchial epithelial cells by non-typable *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, TLR3, and type I and II interferons. *Respiratory research*, 14(1), 1-17.
- Kodirova, N. (2022). THE EFFECT OF TOBACCO SMOKING ON THE THYROID GLAND. *Eurasian Journal of Medical and Natural Sciences*, 2(12), 214-216.
- Kulothungan, V., Sathishkumar, K., Leburu, S., Ramamoorthy, T., Stephen, S., Basavarajappa, D., ... and Mathur, P. (2022). Burden of cancers in India- estimates of cancer crude incidence, YLLs, YLDs and DALYs for 2021 and 2025 based on National Cancer Registry Program. *BMC cancer*, 22(1), 1-12.
- Kyrodimos, E., Chrysovergis, A., Mastronikolis, N., Papanastasiou, G., Tsiambas, E., Spyropoulou, D., ... and Papanikolaou, V. (2023). The Landscape of Single Nucleotide Polymorphisms in Papillary Thyroid Carcinoma. *Landscape*, 3(1).
- Lam, A. K. (2022). Papillary thyroid carcinoma: current position in epidemiology, genomics, and classification. In *Papillary Thyroid Carcinoma: Methods and Protocols* (pp. 1-15). New York, NY: Springer US.
- Lamartina, L., Grani, G., Durante, C., Filetti, S., and Cooper, D. S. (2020). Screening for differentiated thyroid cancer in selected populations. *The lancet Diabetes and endocrinology*, 8(1), 81-88.
- Latteyer, S., Tiedje, V., König, K., Ting, S., Heukamp, L. C., Meder, L., ... and Moeller, L. C. (2016). Targeted next-generation sequencing for TP53, RAS,

- BRAF, ALK and NF1 mutations in anaplastic thyroid cancer. *Endocrine*, 54, 733-741.
- Le, H. X., Truong, D. T. T., Tran, L. B., Le, P. H., Pham, B. U. D., Wada, K., ... and Le, N. T. (2022). A prospective cohort study on the association between waterpipe tobacco smoking and gastric cancer mortality in Northern Vietnam. *BMC cancer*, 22(1), 803.
- Leal, F., and Cardoso, I. L. (2022). Biochemical Changes In Nutritional Diseases Fernanda Leal1 And Inês Lopes Cardoso1. *Biochemical Changes In Disease*, 140.
- Lebbink, C. A., Links, T. P., Czarniecka, A., Dias, R. P., Elisei, R., Izatt, L., ... and van Santen, H. M. (2022). 2022 European Thyroid Association Guidelines for the management of pediatric thyroid nodules and differentiated thyroid carcinoma. *European Thyroid Journal*, 11(6).
- Lee, A. W., Mendoza, R. A., Aman, S., Hsu, R., and Liu, L. (2022). Thyroid cancer incidence disparities among ethnic Asian American populations, 1990–2014. *Annals of Epidemiology*, 66, 28-36.
- Lence-Anta JJ, Xhaard C, Ortiz RM, Kassim H, Pereda CM, Turcios S, Velasco M, Chappe M, Infante I, Bustillo M, García A, Clero E, Maillard S, Salazar S, Rodriguez R and de Vathaire F (2014) Environmental, lifestyle, and anthropometric risk factors for differentiated thyroid cancer in cuba: a case-control study. *Eur Thyroid J* 3(3): 189-196,. PMID: 25538901. DOI: 10.1159/000362928.
- Levy, S. B., and Bribiescas, R. G. (2023). Hierarchies in the energy budget: Thyroid hormones and the evolution of human life history patterns. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*.

- Lewis, C. J., Dixit, B., Batiuk, E., Hall, C. J., O'Connor, M. S., and Boominathan, A. (2020). Codon optimization is an essential parameter for the efficient allotopic expression of mtDNA genes. *Redox Biology*, 30, 101429.
- Li, D., Chi, Y., Chen, X., Ge, M., Zhang, Y., Guo, Z., and Gao, M. (2021). Anlotinib in Locally Advanced or Metastatic Medullary Thyroid Carcinoma: A Randomized, Double-Blind Phase IIB Trial. *Clinical Cancer Research*, 27(13), 3567-3575.
- Li, L. M., Song, Y., Shi, Y. Q., and Sun, L. L. (2023). Thyroid hormone receptor-beta agonists in NAFLD therapy: possibilities and challenges. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, dgad072 .
- Li, R., Wang, Y., Li, J., and Zhou, X. (2022). Extrachromosomal circular DNA (eccDNA): an emerging star in cancer. *Biomarker Research*, 10(1), 1-13.
- Lim LM, Chung WY, Hwang DY, Yu CC, Ke HL, Liang PI, Lin TW, Cheng SM, Huang AM and Kuo HT(2022) : Whole-exome sequencing identified mutational profiles of urothelial carcinoma post kidney transplantation. *J Transl Med* 20(1): 324, 2022. PMID: 35864526. DOI: 10.1186/s12967-022-03522-4.
- Lin, H. Y., Glinsky, G. V., Mousa, S. A., and Davis, P. J. (2015). Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. *Oncotarget*, 6(17), 14735.
- Lin, H. Y., Tang, H. Y., Shih, A., Keating, T., Cao, G., Davis, P. J., and Davis, F. B. (2007). Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for thyroid cancer cells and is anti-apoptotic. *Steroids*, 72(2), 180-187.
- Liu, H., Zhan, L., Guo, L., Yu, X., Li, L., Feng, H., ... and Sun, S. (2021). More Aggressive Cancer Behaviour in Thyroid Cancer Patients in the Post-COVID-19 Pandemic Era: A Retrospective Study. *International Journal of General Medicine*, 14, 7197.
- Liu, Y., and Liu, L. (2022). Changes in the Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in Asia. *Cancers*, 14(18), 4473.

- Liu, Y., Su, L., and Xiao, H. (2017). Review of factors related to the thyroid cancer epidemic. *International journal of endocrinology*, 2017.
- Lopes, N. M. D., Lens, H. H. M., da Silva Brito, W. A., Bianchi, J. K., Marinello, P. C., Cecchini, R., ... and Cecchini, A. L. (2022). Role of papillary thyroid carcinoma patients with Hashimoto thyroiditis: evaluation of oxidative stress and inflammatory markers. *Clinical and Translational Oncology*, 24(12), 2366-2378.
- Madeddu, C., Sanna, E., Gramignano, G., Tanca, L., Cherchi, M. C., Mola, B., ... and Macciò, A. (2022). Correlation of leptin, proinflammatory cytokines and oxidative stress with tumor size and disease stage of endometrioid (Type I) endometrial cancer and review of the underlying mechanisms. *Cancers*, 14(2), 268.
- Mahdab, A., Memmi, K., and Oumouna, M. (2022). *The impact of covid-19 on patients with thyroiditis* (Doctoral dissertation).
- Manzella, L., Stella, S., Pennisi, M. S., Tirrò, E., Massimino, M., Romano, C., ... and Vigneri, P. (2017). New insights in thyroid cancer and p53 family proteins. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1325.
- Marić, N., and Ljuboja, O. (2020). Pulmonary Hemorrhage in a Patient with Brain-Lung-Thyroid Syndrome Caused by a p. T86fs Variant in the NKX2-1 Gene.
- Marotta, V., Bifulco, M., and Vitale, M. (2021). Significance of RAS mutations in thyroid benign nodules and non-medullary thyroid cancer. *Cancers*, 13(15), 3785.
- Marschner, R. A., Arenhardt, F., Ribeiro, R. T., and Wajner, S. M. (2022). Influence of Altered Thyroid Hormone Mechanisms in the Progression of Metabolic Dysfunction Associated with Fatty Liver Disease (MAFLD): A Systematic Review. *Metabolites*, 12(8), 675.
- Matthews, Helen K., Cosetta Bertoli, and Robertus A.M. de Bruin. 2022. "Cell Cycle Control in Cancer." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 23(1): 74–88.

- McLeod DS.( 2014) Thyrotropin in the development and management of differentiated thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*;43:367–83.
- Menichini, Paola . (2021). —Antitumor Effects of PRIMA-1 and PRIMA 1met (APR246) in Hematological Malignancies: Still a Mutant P53- Dependent Affair? *Cells* 10(1): 1–15.
- Miranda-Filho, A., Lortet-Tieulent, J., Bray, F., Cao, B., Franceschi, S., Vaccarella, S., and Dal Maso, L. (2021). Thyroid cancer incidence trends by histology in 25 countries: a population-based study. *The lancet Diabetes and endocrinology*, 9(4), 225-234
- Misra, S., Ghosh, G., Chowdhury, S. G., and Karmakar, P. (2021). Non-canonical function of nuclear PTEN and its implication on tumorigenesis. *DNA repair*, 107, 103197.
- Mohamed, T. Z., Sultan, A. A. E. A., Tag El-Din, M., Mostafa, A. A. E., Nafea, M. A., Kalmoush, A. E., ... and Baheeg, M. (2022). Incidence and Risk Factors of Thyroid Malignancy in Patients with Toxic Nodular Goiter. *International Journal of Surgical Oncology*, 2022.
- Montes de Jesus, F. M., and Giovanella, L. (2023). Unexplained increase of serum carcinoembryonic antigen: don't forget the thyroid!. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, (0).
- Monti, P., Menichini, P., Speciale, A., Cutrona, G., Fais, F., Taiana, E., ... and Fronza, G. (2020). Heterogeneity of TP53 mutations and P53 protein residual function in cancer: does it matter?. *Frontiers in oncology*, 10, 593383.
- Mousa, S. A., Hercbergs, A., Lin, H. Y., Keating, K. A., and Davis, P. J. (2021). Actions of thyroid hormones on thyroid cancers. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 691736.
- Mughal, A. W., Hortobagyi, G. N., Fritsche, H. A., Buzdar, A. U., Yap, H. Y., and Blumenschein, G. R. (1983). Serial plasma carcinoembryonic antigen measurements during treatment of metastatic breast cancer. *Jama*, 249(14), 1881-1886.



- Muzza, M., Pogliaghi, G., Colombo, C., Carbone, E., Cirello, V., Palazzo, S., ... and Fugazzola, L. (2022). Oxidative Stress Correlates with More Aggressive Features in Thyroid Cancer. *Cancers*, 14(23), 5857.
- Naing, A., Meric-Bernstam, F., Stephen, B., Karp, D. D., Hajjar, J., Ahnert, J. R., and Habra, M. A. (2020). Phase 2 study of pembrolizumab in patients with advanced rare cancers. *Journal for immunotherapy of cancer*, 8(1)
- Nelwan, S. C., Tedjosongko, U., Dewi, A. M., and Ayuningtyas, P. (2022). Parathyroid hormone-related protein and primary teeth eruption in stunting children. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 14(3), 016-021.
- Notsu, M., and Kanasaki, K. (2022). Tumor progression with thyrotoxicosis on differentiated thyroid carcinoma due to thyrotropin receptor stimulation: is tyrosine kinase inhibitors the cause of thyroid stimulating hormone receptor antibody positivity?. *Annals of Palliative Medicine*, 11(9), 2806-2809.
- Orlando, A., Chimienti, G., Pesce, V., Fracasso, F., Lezza, A. M. S., and Russo, F. (2019). An In Vitro Study on Mitochondrial Compensatory Response Induced by Gliadin Peptides in Caco-2 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1862.
- Parad, M. T., Fararouei, M., Mirahmadizadeh, A. R., and Afrashteh, S. (2021). Thyroid cancer and its associated factors: A population-based case-control study. *International Journal of Cancer*, 149(3), 514-521.
- Park, Youngjun, Dominik Heider, and Anne Christin Hauschild. 2021. "Integrative Analysis of Next-Generation Sequencing for next-Generation Cancer Research toward Artificial Intelligence." *Cancers* 13(13): 1–20.
- Passos, I., Stefanidou, E., Meditskou-Eythymiadou, S., Mironidou-Tzouveleki, M., Manaki, V., Magra, V., ... and Sapalidis, K. (2021). A review of the significance in measuring preoperative and postoperative carcinoembryonic antigen (CEA) values in patients with medullary thyroid carcinoma (MTC). *Medicina*, 57(6), 609.
- Patel, A. (2020). Benign vs malignant tumors. *JAMA oncology*, 6(9), 1488-1488.

- Perdas, E.; Stawski, R.; Kaczka, K.; Nowak, D.; Zubrzycka, M. Altered Levels of Circulating Nuclear and Mitochondrial DNA in Patients with Papillary Thyroid Cancer. *Sci. Rep.* 2019, 9, 14438.
- Perri, A., Catalano, S., Bonofiglio, D., Vizza, D., Rovito, D., Qi, H., ... and Andò, S. (2014). T3 enhances thyroid cancer cell proliferation through TRβ1/Oct-1-mediated cyclin D1 activation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 205-217.
- Pinkowska, A., Podhorska-Okolów, M., Dziegiel, P., and Nowińska, K. (2021). The role of irisin in cancer disease. *Cells*, 10(6), 1479.
- Pirahanchi, Y., Tariq, M. A., and Jialal, I. (2018). Physiology, thyroid.
- Pizzato, M., Li, M., Vignat, J., Laversanne, M., Singh, D., La Vecchia, C., and Vaccarella, S. (2022). The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 10(4), 264-272.
- Prasun, P. (2020). Role of mitochondria in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 19(2), 2017-2022
- Raj Rai, S., Bhattacharyya, C., Sarkar, A., Chakraborty, S., Sircar, E., Dutta, S., and Sengupta, R. (2021). Glutathione: role in oxidative/nitrosative stress, antioxidant defense, and treatments. *ChemistrySelect*, 6(18), 4566-4590.
- Ravikant, S., Tak, A. K. B. N. K., Yogi, J. P., Jat, R. K., and Choudhary, S. Association Of Thyroid And Lipids Profile In Euthyroid, Hypothyroidism And Hyperthyroidism Subjects. *European Journal of Molecular and Clinical Medicine*, 10(01), 2023.
- Reilly, Nicole M., Luca Novara, Federica Di Nicolantonio, and Alberto Bardelli. 2019. —Exploiting DNA Repair Defects in Colorectal Cancer. *Molecular Oncology* 13(4): 681–Kodirova 0.

- Robbins, J. (1973). Radioassay and the thyroid gland. *Metabolism*, 22(8), 1021-1026.
- Rosario, P. W., and Mourão, G. F. (2022). Ultrasonography screening in children and adolescents who have one parent with familial non-medullary thyroid carcinoma. *Journal of Paediatrics and Child Health*.
- Rovira, A., Carroll, P., and Simo, R. (2023). Thyroid lymphoma. *Current Opinion in Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, 31(2), 83-88.
- Rubio, I.G. ; Medeiros-Neto, G. (2009). Mutations of the thyroglobulin gene and its relevance to thyroid disorders. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 16(5):373–378.
- Sadeghi Shaker, M., Rokni, M., Mahmoudi, M., and Farhadi, E. (2023). Ras family signaling pathway in immunopathogenesis of inflammatory rheumatic diseases. *Frontiers in Immunology*, 14, 1151246.
- Sadoughi, F., Dana, P. M., Asemi, Z., and Yousefi, B. (2021). DNA damage response and repair in osteosarcoma: defects, regulation and therapeutic implications. *DNA repair*, 102, 103105.
- Sakr, M. F. (2022). Parathyroid Cancer. In *Parathyroid Gland Disorders* (pp. 317-350). Springer, Cham.
- Salehi, B., Lopez-Jornet, P., Pons-Fuster López, E., Calina, D., Sharifi-Rad, M., Ramírez-Alarcón, K., et al. (2019b). Plant-derived bioactives in oral mucosal lesions: a key emphasis to curcumin, lycopene, chamomile, aloe vera, green tea and coffee properties. *Biomolecules* 9:106. doi: 10.3390/biom9030106
- Salimi, F., Asadikaram, G., Abolhassani, M., Pourfarjam, Y., Nejad, H. Z., Abbasi-Jorjandi, M., and Sanjari, M. (2023). Organochlorine pesticides induce thyroid tumors through oxidative stress; an in vivo and in silico study. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-21.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.

- Schmedes, A., and Hølmer, G. (1989). A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(6), 813-817.
- Schreck, K. C., Grossman, S. A., and Pratilas, C. A. (2019). BRAF mutations and the utility of RAF and MEK inhibitors in primary brain tumors. *Cancers*, 11(9), 1262.
- Schubart, J. R., Eliassen, A. H., Schilling, A., and Goldenberg, D. (2021). Reproductive factors and risk of thyroid cancer in women: an analysis in the Nurses' Health Study II. *Women's Health Issues*, 31(5), 494-502.
- Seib, C. D., and Sosa, J. A. (2019). Evolving understanding of the epidemiology of thyroid cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 48(1), 23-35.
- Seib, C. D., and Sosa, J. A. (2019). Evolving understanding of the epidemiology of thyroid cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 48(1), 23-35.
- Sekhar, K. R., Cyr, S., and Baregamian, N. (2022). Ferroptosis inducers in thyroid cancer. *World Journal of Surgery*, 1-11.
- Sencha, A. N., Sencha, E. A., Patrunov, Y. N., Aleksandrov, Y. K., Tukhbatullin, M. G., Peniaeva, E. I., and Timofeyeva, L. A. (2019). Ultrasound diagnosis of thyroid carcinoma. In *Thyroid Ultrasound* (pp. 105-129). Springer, Cham.
- Shalan, A. A., Mokhtar, S. H., Ahmedah, H. T., Almars, A. I., Toraih, E. A., Ibrahiem, A. T., ... and Salem, M. A. (2022). Prognostic Value of LINC-ROR (rs1942347) Variant in Patients with Colon Cancer Harboring BRAF Mutation: A Propensity Score-Matched Analysis. *Biomolecules*, 12(4), 569.
- Shen, X., Liu, R., and Xing, M. (2017). A six-genotype genetic prognostic model for papillary thyroid cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 24(1), 41.

- Shimizu, Y., Maruyama, K., Suzuki, M., Kawachi, H., Low, S. K., Oh-Hara, T., ... and Katayama, R. (2022). Acquired resistance to BRAF inhibitors is mediated by BRAF splicing variants in BRAF V600E mutation-positive colorectal neuroendocrine carcinoma. *Cancer Letters*, 543, 215799.
- Simão, S., Agostinho, R. R., Martínez-Ruiz, A., and Araújo, I. M. (2023). Regulation of Ras Signaling by S-Nitrosylation. *Antioxidants*, 12(8), 1562.
- Singh, K., Singh, I. N., Diggins, E., Connors, S. L., Karim, M. A., Lee, D., ... and Frye, R. E. (2020). Developmental regression and mitochondrial function in children with autism. *Annals of clinical and translational neurology*, 7(5), 683-694.
- Skelley, D. S., Brown, L. P., and Besch, P. K. (1973). Radioimmunoassay. *Clinical chemistry*, 19(2), 146-186.
- Soh, S. B., and Aw, T. C. (2019). Laboratory testing in thyroid conditions-pitfalls and clinical utility. *Annals of laboratory medicine*, 39(1), 3.
- Song, Y., Dai, L., Xu, G., Wang, T., Yu, W., Chen, K., and Zhang, B. (2021). Video mediastinoscopy-assisted superior mediastinal dissection in the treatment of thyroid carcinoma with mediastinal lymphadenopathy: preliminary results. *BMC surgery*, 21(1), 1-7.
- Suteau, V., Munier, M., Briet, C., and Rodien, P. (2021). Sex bias in differentiated thyroid cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12992.
- Szwarcbard, N., and Topliss, D. J. (2023). Hypertension in thyroid disease and primary hyperparathyroidism. In *Endocrine Hypertension* (pp. 249-261). Academic Press.
- Takedani, K., Notsu, M., Adachi, N., Tanaka, S., Yamamoto, M., Yamauchi, M., ... and Kanasaki, K. (2021). Thyroid crisis caused by metastatic thyroid cancer: an autopsy case report. *BMC Endocrine Disorders*, 21(1), 1-8.

- Tarabichi, M., Demetter, P., Craciun, L., Maenhaut, C., and Detours, V. (2022). Thyroid cancer under the scope of emerging technologies. *Molecular and cellular endocrinology*, 541, 111491.
- Thakur, N., Sharma, A. K., Singh, H., and Singh, S. (2020). Role of mitochondrial DNA (mtDNA) variations in cancer development: A systematic review. *Cancer Investigation*, 38(7), 375-393.
- Tietz N.W. (1999) ," Text book of clinical chemistry", 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders p. 1241-1245.
- Tiwari, Raj, and Neil Fleshner. 2021. —The Role of Metformin, Statins and Diet in Men on Active Surveillance for Prostate Cancer.‖ *World Journal of Urology* (October).
- Tsybrovskyy, O., De Luise, M., de Biase, D., Caporali, L., Fiorini, C., Gasparre, G., ... and Tallini, G. (2022). Papillary thyroid carcinoma tall cell variant shares accumulation of mitochondria, mitochondrial DNA mutations, and loss of oxidative phosphorylation complex I integrity with oncocytic tumors. *The Journal of Pathology: Clinical Research*, 8(2), 155-168.
- Tuchalska-Czuroń, J., Lenart, J., Augustyniak, J., and Durlik, M. (2019). Is mitochondrial DNA copy number a good prognostic marker in resectable pancreatic cancer?. *Pancreatology*, 19(1), 73-79.
- Turkdogan, S., Forest, V. I., Hier, M. P., Tamilia, M., Florea, A., and Payne, R. J. (2018). Carcinoembryonic antigen levels correlated with advanced disease in medullary thyroid cancer. *Journal of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 47(1), 1-7.
- Tweed, J. O., Hsia, S. H., Lutfy, K., and Friedman, T. C. (2012). The endocrine effects of nicotine and cigarette smoke. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 23(7), 334-342.
- Unuane, D., and Velkeniers, B. (2020). Impact of thyroid disease on fertility and assisted conception. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 34(4), 101378.

- Vander Poorten, V., Goedseels, N., Triantafyllou, A., Sanabria, A., Clement, P. M., Cohen, O., ... and Ferlito, A. (2022). Effectiveness of core needle biopsy in the diagnosis of thyroid lymphoma and anaplastic thyroid carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 971249.
- Venditti, P., and Di Meo, S. (2020). The role of reactive oxygen species in the life cycle of the mitochondrion. *International journal of molecular sciences*, *21*(6), 2173.
- Verburg, F., and Reiners, C. (2019). Sonographic diagnosis of thyroid cancer with support of AI. *Nature Reviews Endocrinology*, *15*(6), 319-321.
- Wali, O. N., Mraisel, A. C., and Salih, A. N. (2022). Histopathological study of thyroid carcinoma in Misan province. *Journal of Bioscience and Applied Research*, 93-102.
- Wall, J., Champion, B., El-Kaissi, S., and Lahooti, H. (2021). Comprehensive Cancer Network, *20*(8), 925-951.
- Wallace, D. C. (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.*, *39*, 359-407.
- Wang, J. R., Montierth, M., Xu, L., Goswami, M., Zhao, X., Cote, G., ... and Cabanillas, M. E. (2022). Impact of somatic mutations on survival outcomes in patients with anaplastic thyroid carcinoma. *JCO Precision Oncology*, *6*, e2100504.
- Wang, N., Zhu, P., Huang, R., Wang, C., Sun, L., Lan, B., ... and Gao, Y. (2020). PINK1: The guard of mitochondria. *Life sciences*, *259*, 118247.
- Wawrzyniak, A., and Balawender, K. (2022). Structural and metabolic changes in bone. *Animals*, *12*(15), 1946.

- Weeks, K. S., Kahl, A. R., Lynch, C. F., and Charlton, M. E. (2018). Racial/ethnic differences in thyroid cancer incidence in the United States, 2007-2014. *Cancer*, 124(7), 1483-1491.
- Wei, X., Wang, X., Xiong, J., Li, C., Liao, Y., Zhu, Y., and Mao, J. (2022). Risk and Prognostic Factors for BRAFV600E Mutations in Papillary Thyroid Carcinoma. *BioMed Research International*, 2022.
- Wiersinga, W. M. (2013). Smoking and thyroid. *Clinical endocrinology*, 79(2), 145-151.
- Wróblewski, M., Wróblewska, J., Nuskiewicz, J., Pawłowska, M., Wesołowski, R., and Woźniak, A. (2023). The Role of Selected Trace Elements in Oxidoreductive Homeostasis in Patients with Thyroid Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4840.
- Xing, Y., Wang, Y., and Wu, X. (2023). Radiotherapy combined with immunotherapy successfully treated one case of anaplastic thyroid cancer: A case report. *Frontiers in Oncology*, 13, 1125226.
- Xu, B., Fuchs, T. L., Ahmadi, S., Alghamdi, M., Alzumaili, B., Bani, M. A., and Ghossein, R. A. (2022). International Medullary Thyroid Carcinoma Grading System: A Validated Grading System for Medullary Thyroid Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 40(1), 96-104.
- Xu, D., Wang, Y., Wu, H., Lu, W., Chang, W., Yao, J., and Xu, L. (2022). An artificial intelligence ultrasound system's ability to distinguish benign from malignant follicular-patterned lesions. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 981403.
- Xu, H., Chen, Y., Gu, M., Liu, C., Chen, Q., Zhan, M., and Wang, Z. (2021). Fatty acid metabolism reprogramming in advanced prostate cancer. *Metabolites*, 11(11), 765.
- Yali, W., and Mitiku, T. (2022). Mutation breeding and its importance in modern plant breeding. *Journal of Plant Sciences*, 10(2), 64-70.



- Yaman, S. O., and Ayhanci, A. (2021). Lipid peroxidation. *Accenting Lipid Peroxidation*, 1-11.
- Yang, X., Guo, N., Gao, X., Liang, J., Fan, X., and Zhao, Y. (2022). Meta-analysis of TSH suppression therapy and the risk of cardiovascular events after thyroid cancer surgery. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 991876.
- Yeo, Y., Han, K., Shin, D. W., Kim, D., Jeong, S. M., Chun, S., and Kim, T. H. (2021). Changes in smoking, alcohol consumption, and the risk of thyroid cancer: a population-based Korean cohort study. *Cancers*, 13(10), 2343.
- Zhao, L., Wu, F., Zhou, T., Lu, K., Jiang, K., Zhang, Y., and Luo, D. (2022). Risk factors of skip lateral cervical lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*, 1-9.
- Zheng, J., Cui, N. H., Zhang, S., Wang, X. B., and Ming, L. (2019). Leukocyte mitochondrial DNA copy number and risk of thyroid cancer: A two-stage case-control study. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 421.
- Zhong, M., Khan, F. Z., He, X., Cui, L., Lei, K., and Ge, M. (2022). Impact of lung metastasis versus metastasis of bone, brain, or liver on overall survival and thyroid cancer-specific survival of thyroid cancer patients: a population-based study. *Cancers*, 14(13), 3133.
- Zimmermann, M.B.(2009) Iodine deficiency. *Endocrinol Rev.* 30 (4):376– 408.
- Zou, Y., Xia, S., and Chen, W. (2022). Imaging Anatomy of Thyroid Gland 12. *Radiology of Infectious and Inflammatory Diseases-Volume 2: Head and Neck*, 81.
- Zuñiga, L. F. F., Muñoz, Y. S., and Pustovrh, M. C. (2022). Thyroid hormones: Metabolism and transportation in the fetoplacental unit. *Molecular Reproduction and Development*, 89(11), 526-539.

## ملحق رقم 1

### استمارة الإستبيان المعتمدة في دراسة سرطان الغدة الدرقية

1. رقم العينة .
2. تاريخ جمع العينة .
3. الجنس Sex .
4. التاريخ العائلي للاصابة بالمرض Family history of the disease .
5. التدخين Smoking (مدخن ام غير مدخن) .
6. العمر Age .
7. ارتفاع ضغط الدم Hypertension .

## Summary :

The current study is concerned with revealing the role of mitochondrial DNA copies of the *ND1* gene and *BRAF* gene mutations in thyroid cancer patients as one of the important genes affecting the occurrence of diseases, including cancers, as in thyroid cancer. Some risk factors such as gender, family history of the disease, smoking, age and high blood pressure were also studied to find out their impact on thyroid cancer.

the study also dealt with some physiological and hormonal criteria for the patient and control groups to show their importance in diagnosing the disease, which is measuring the level of thyroid-stimulating hormone (TSH) Thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones (T3) Triiodothyronine, (T4) thyroxin, calcitonin and antioxidant levels (glutathione) and studied the relationship between thyroid cancer and oxidative stress (carcinogenic embryonic antigen and Malondialdehyde ). samples for this study were collected from 50 patients with thyroid cancer from the Warith Foundation for Oncology in the Holy Karbala after diagnosis and before surgery and 50 people from control group Between 1- September 2022 until 1- December 2022.

DNA was extracted from the blood of the cancer patient and control groups, and molecular detection was performed on the number of mitochondrial DNA copies of the *ND1* gene compared with the natural gene *HGB* and *BRAF* gene mutations using the techniques of (REAL TIME PCR) (QPCR) and Sequencing, where the results of molecular detection in the *ND1* gene compared to the normal gene *HGB* showed a high significant association at the level of significance ( $p \leq 0.01$ ) and ( $p \leq 0.05$ ) for cycle threshold CT analysis among thyroid cancer patients and control groups. The sequence of nitrogenous bases in the *BRAF* and amplified study gene was also determined by PCR and the results were compared with the data obtained

from Gene bank using the NCBI Blast website at the Gene bank website (NCBI) and the number of samples was 5 for patients compared to 1 control sample for both Forward & Reverse DNA strands. Two morphological polymorphisms (SNP) were discovered, the first is rs2128998351 at the site (A113G) by replacing adenine with guanine, and the heterogeneity was in three samples and has a heterozygous genetic pattern, and the second mononucleated polymorphism (SNPs) is rs2128998142 at site T164A by replacing thymine with adenine and the heterogeneity was in two samples with heterozygous, This study showed that SNP was associated with the thyroid cancer due to its presence in samples of patients that were not observed in control samples, and no previous study linked these two SNPs with thyroid cancer in Iraq.

The current results indicated the existence of different relationships between the studied factors, where they showed statistically significant differences at the level of moral ( $p \leq 0.01$ ) and ( $p \leq 0.05$ ) for sex, smoking and age with thyroid cancer, while no relationship with family history and high blood pressure with thyroid cancer has been shown, where it was found by comparing them with the control group that they were much higher than in patients, The relationship between thyroid cancer and oxidative stress (embryonic carcinogenic antigen and Malondialdehyde) was studied, and an increase in oxidative stress indicators including carcinogenic embryonic antigen and Malondialdehyde .



Karbala University

College of Education for Pure Sciences

Department of biology

## **Variations in ND1 Gene and *BRAF* Gene and Physiological Parameters in Thyroid Cancer Patient's**

A Thesis Submitted to the Council of College of Education for Pure Science /  
University of Karbala in partial fulfillment of the requirements for the degree of  
master in Biology-Zoology

Written By

**Hawraa Abdul Hameed Mohsen**

Bachelor of Education for Pure Sciences- Biology 2019\_2020

Supervised by

**Ass. Prov. D. Zainab Nizar Jawad**

Second Supervised

**Ass. Prov. D. Hiba Alwan Abdul Salam**

September 2023 A.D.

Rabi Al-Awwal 1445 A.H.