جامعة الموصل

كلية العلوم

التحري عن تعدد أشكال بعض الجينات ذات العلاقة بتخثر الدم وجين (MTHFR , PT Prothrombin and FV Leiden) مستقبل Oxytocin وعلاقتها ببعض المتغيرات الكيموحيوية لدى النساء اللواتي يعانين من حالات الاجهاض في محافظة نينوى

زهرة جاسم رمضان

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور أويس موفق حامد

1441هـ 2020م

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية (65) امرأة من النساء الحوامل اللواتي يعانين من مشاكل أثناء الحمل و (20) من النساء الحوامل اللواتي لا يعانين من أي مشاكل اثناء الحمل وبفئة عمرية تتراوح بين (35-25) سنة وتم تقسيم العينات على أربع مجاميع، الأولى تتضمن النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات إجهاض متكرر، والثانية تتضمن النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات إجهاض متكرر (الجنين الميت)، والثالثة تتضمن النساء اللواتي يعانين من حالات إجهاض متكرر تلقائي وبفحص TORCH (Toxoplasma , Others , Rubella , Cytomegalovirus and Herpes) موجب النتيجة والرابعة عدت مجموعة سيطرة، تم سحب (5) مل من الدم الوريدي من النساء وتم تقسيمه على جزأين، الجزء الأول تم وضعه في أنابيب تحتوي على مادة مانعة للتخثر EDTA التي استخدمت في استخلاص الدنا المجيني للاختبارات الجزيئية، والجزء الثاني تم وضعه في أنابيب الهلام لغرض الحصول على مصل الدم الذي أجريت عليه الفحوصات الكيموحيوية .

أظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة بين حالات اضطرابات الحمل والطفرات الوراثية التي تصيب الجين MTHFR في الموقع A1298C إذ أظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من الإجهاض المتكرر التلقائي بأن نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الأعلى 40% وقد كان التكرار الاليلي لهذه المجموعة على النحو الأتي: التكرار الاليلي للاليل الطافر C كان 0.575 والاليل الطبيعي A 0.425 .و أظهرت النسب لمجموعة النساء اللواتي يعانين من حالات الجنين الميت بأن نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الأعلى 40% .أما التكرار الاليلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بأن التكرار الاليلي للاليل الطافر C 0.525 و الاليل الطبيعي A 0.475 . أما بالنسبة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من فحص TORCH الموجب فقد أظهرت الدراسة بأن نسبة توزيع الطراز الوراثي المتباين AC كانت هي الأعلى 50% وأن التكرار الاليلي لهذه المجموعة بين بأن تكرار الاليل الطافر C كان 0.322 والاليل الطبيعي A 0.678 . وقد أظهرت نتائج الدراسة وجود تباين وراثي لجين مستقبلات الأوكسيتوسين Oxytocin Receptor Gene وأنه حامل للطفرة في الموقع rs53576 لدى النساء اللواتي يعانين من اضطرابات الحمل إذ أظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانين حالات الاسقاط التلقائي بأن نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر TT كانت هي الأعلى 60%. أما بالنسبة للتكرار الاليلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بأن تكرار الاليل الطافر T 0.675 و الاليل الطبيعي C 0.325 . بينما بالنسبة لمجموعة النساء اللواتي يعانين حالات الجنين الميت فأن نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر TT كانت هي الأعلى 75%. أما بالنسبة للتكرار الاليلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بأن تكرار الاليل الطافر T كان 0.8 و

الاليل الطبيعي C 0.2 . وعند تحديد التباين الوراثي للجين Prothrombin لم تظهر النتائج أي تغاير وراثي في الموقع (G20210A) للجين PT لدى النساء اللواتي يعانين من اضطرابات الحمل في كل المجاميع التي شملتها الدراسة وعند إجراء اختبار تحديد التسلسلات لقطعة الجين المضخمة بتفاعل Polymerase Chain Reaction الـ PCR أظهرت النتائج وجود تغاير في عدد من النيوكليوتيدات إذ يتبين تحول النيوكليوتيد A إلى T في الموقع (26545) و كذلك تغير النيوكليوتيد C إلى A في الموقع (26594) و تغير النيوكليوتيد G إلى A في الموقع (26653)، وعند تحديد التباين الوراثي للجين Factor V Leiden بينت نتائج الدراسة بعد الاعتماد على تقنية تضخيم الطفرة المقاوم Amplification Refractory Mutation System الـ ARMS-PCR للجين FV Leiden عدم إصابة الجين بالطفرة (A1691G) ، وبعد إجراء اختبار تحديد التسلسلات لقطعة الجين المضخمة بتفاعل الـ PCR أظهرت النتائج وجود تغاير في عدد من النيوكليوتيدات مقارنة مع تسلسلات للجين في موقع National Center Biotechnology Information الـ NCBI إذ يتبين تحول النيوكليوتيد T إلى C في الموقع (38644) كذلك تغير النيوكليوتيد C إلى A في الموقع (38674) وتغير النيوكليوتيد T إلى C في الموقع (38583) وعند دراسة علاقة التباين الوراثي للجينات مع المتغيرات الكيموحيوية تبين أن النمط الوراثي الطافر CC للجين MTHFR أعطى أعلى نسبة موجبة للمتغيرات الكيموحيوية بالنسبة لمجموعة النساء ذوات الاجهاض المتكرر، ومجموعة النساء ذوات الجنين الميت أما في مجموعة النساء ذوات فحص الـ TORCH الموجب فقد بينت النتائج بأن النمط الوراثي المتباين AC أعطى أعلى نسبة موجبة للمتغيرات الكيموحيوية، و أظهرت نتائج الدراسة بأن النمط الوراثي المتباين AG للجين OXR أعطى أعلى نسبة موجبة للمتغيرات الكيموحيوية بالنسبة لمجموعة النساء ذوات الاجهاض المتكرر ومجموعة النساء ذوات الجنين الميت ومجموعة النساء ذوات فحص الـ TORCH.

Abstract

The cases of recurrent abortion occur for many reasons, including immune causes, an endocrine disorder and anatomical causes such as uterine abnormalities as well as genetic causes like genetic mutations in chromosomes, such as mutations affecting enzymes and clotting factors, also mutations affecting hormones and their receptors. this study included (65) pregnant women who suffer from problems during pregnancy and (20) healthy women and the age range between (25-35) years. The samples divided to four groups ,the first of this group include pregnant women who suffer from recurrent spontaneous abortion , the second group include pregnant women with missed abortion , the third group include pregnant women with recurrent spontaneous abortion and positive TORCH examination and the fourth group was considered a control group.

The result of the study showed a relationship between cases of pregnancy disorder and genetic mutations of MTHFR gene at the (A1298C) site, the result of the study for a group of women with RSA showed that the distribution of the mutant genotype CC was the highest 40% and the repetitive alleles for this group was 57.5% for mutant allele C and 42.5% for normal allele A.

While the group of missed abortion showed that that the distribution of the mutant genotype CC was the highest 40% and the repetitive alleles for this group was 52.5% for mutant allele C and 47.5% for normal allele A.

While the group of women with positive TORCH showed that the distribution of heterozygous genotype was the highest 50% and the repetitive alleles for this group was 32.2% for mutant allele C and 67.8% for normal allele A.

The result of the study showed genetic variation of OXR gene and that is carries mutation in the site rs53576 in women who suffer from pregnancy disorder , the result of the study for a group of women with

RSA showed that the distribution of the mutant genotype TT was the highest 60% and the repetitive alleles for this group was 55% for mutant allele and 45% for normal allele .

While the group of women with missed abortion showed that the distribution of the mutant genotype TT was the highest 75% and the repetitive alleles for this group was 80 % for mutant allele and 20 % for normal allele .

When determining the genetic variation of the prothrombin gene the result did not show any genetic variation in the site (G20210A) of PT gene in the women who suffer from pregnancy disorders in all the groups of study ,while the result of the sequencing showed variation in the nucleotides that converted the nucleotide A to T in the site (26545) , converted nucleotide C to A in the site (26594) and converted G to A in the site (26653) .

When determining the genetic variation of the FVL gene the result which depends on ARMs-PCR technique did not show any genetic variation in the site (A1691G) of FVL gene ,while the result of the sequencing showed variation in the nucleotides that converted the nucleotide C to A in the site (38644) , converted nucleotide A to C in the site (38674) and converted T to C in the site (38583) .

When examination the relationship of genetic variation of genes with biochemical variables it was found that the mutant genotype CC of the gene MTHFR gave the highest positive percentage of biochemical variables in relation to the group of RSA and missed abortion ,as the group of women with positive TORCH examination the result showed that the heterozygous genotype AC variant gave the highest positive percentage of the biochemical variable, the result showed that heterozygous genotype AG of OXR gene gave the highest positive percentage of biochemical variables in relation to the group of RSA, missed abortion and as the group of women with positive TORCH examination.

Mosul University

College of sciences

Investigation of some genes polymorphism related to blood clotting (MTHFR ,PT Prothrombin and FV Leiden) and Oxytocin receptor gene ,and their correlation with some biochemical parameters in aborted women in Nineveh governorate

Zahra Jassim Ramadan

M.S.c In

Biology \ Zoology

Supervised by

Assist Prof

Dr. Owayes M. Hamed

1441 A.H **2020 A.D.**