جامعة الموصل
كلية العلـــــوم

العلاقة النسجية والكيميائية النسجية المناعية والجزيئية بين IGF-1 وIGFBP-3 وهرمون اللبتين وبعض بروتينات الصدمة الحرارية مع مستويات مضادات الأكسدة الإنزيمية في المشائم البشرية وأجنتها

ياسر عبدالأمير عبدالله محمد آل عيسى

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ المساعد
الدكتورة فاطمة قاسم محمد الحيالي

الأستاذ المساعد
الدكتور علي سعيد حمودي الجلبي

1446 هـ
2024 م

الخلاصـــة:

أُجريـت هـذه الدراسـة للتحـري عـن العلاقـة بـين عامـل النمـو الشـبيه بالإنسـولين – 1 (Insulin-like Growth Factor-1 "IGF-1")، النمط الثالث من البروتينات المرتبطة بعامل النمو الشبيه بالإنسولين (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 "IGFBP-3")، هرمون اللبتين (Leptin Hormone "LEP") والتعبير الجيني (mRNA) لبعض بروتينات الصدمة الحرارية مع مستويات مضادات الأكسدة الإنزيمية في المشائم البشرية وأجنتها، إذ شملت الدراسة الحالية (60) مشيمة وجنين مجهض تم الحصول عليها من أمهات تراوحت أعمارهن بين (16 – 38) سنة، من النساء الوافدات إلى مستشفى الخنساء التعليمي في مركز مدينة الموصل بمحافظة نينوى في العراق، فقد قسمت العينات إلى (4) مجموعات وبواقع (15) عينة / مجموعة، المجموعة الأولى كانت مجموعة السيطرة السالبة، وضمت مشائم لأمهات ولدن ولادات طبيعية ولم يكن لهن إجهاضات سابقة ولم يعانين من أمراضٍ مزمنة، المجموعة الثانية كانت مجموعة السيطرة الموجبة، وضمت مشائم لأمهات ولدن ولادات طبيعية ولكن كان لهن إجهاضات سابقة ولم يعانين من أمراضٍ مزمنة، المجموعة الثالثة ضمت خليط من مشائم وأجنة مجهضة لأمهات أجري لهن عملية كشط الرحم (Curettage) ولم يعانين من أمراضٍ مزمنة، المجموعة الرابعة ضمت خليط من مشائم وأجنة مجهضة لأمهات أجري لهن عملية كشط الرحم وكنّ يعانين من مرض إرتفاع ضغط الدم الحملي.

أُخذت (5 – 10) سم^3 من العينات النسجية وللمجموعات كافة وقُسمت إلى جزئين: الأول وُضع في محلول الفورمال المخزن (10%) لغرض إجراء الفحوصات النسجية التقليدية والفحوصات الكيميائية النسجية المناعية (Immunohistochemistry "IHC")، والثاني وُضع في الثلاجة عالية التجميد (80- ^oC) لغرض إجراء الفحوصات الجزيئية، وأُجريت (3) أنواعٍ من الإختبارات في الدراسة الحالية: نسجية تقليدية، كيميائية نسجية مناعية (IHC)، وجزيئية.

أظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية التقليدية الملونة بصبغات الهيماتوكسيلين والإيوسين والمارة بالمشيمة لمجموعات الدراسة كافة وجود تغيرات مرضية نسجية مختلفة مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة.

وأظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع الملونة بالملونات الكيميائية النسجية المناعية والمارة بالمشيمة لمجموعات الدراسة كافة وجود رد فعل إيجابي قوي تجاه كل من (IGF-1)، (IGFBP-3) و(LEP).

أما نتائج فحص النسخ العكسي لتفاعل البلمرة المتسلسل (RT-PCR) لكل من (IGF-1)، (IGF-2)، (IGFBP-3) و(LEP)، فقد أظهرت تفاوتاً واضحاً في التعبير الجيني من خلال إنخفاض التنظيم الجيني لدى مجموعات الدراسة كافة مقارنةً مع المستويات التنظيمية الجينية لمجموعة السيطرة السالبة.

وأظهرت نتائج فحص التعبير الجيني لبروتينات الصدمة الحرارية Heat Shock Proteins (HSP27)، (HSP70) و(HSP90α) إنخفاضاً في التنظيم الجيني في عينات الدراسة كافة مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة، كما أظهرت نتائج فحص التعبير الجيني لبروتين الصدمة الحرارية (HSP60) إرتفاعاً في التنظيم الجيني في عينات الدراسة كافة مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة، أما نتائج بروتين الصدمة الحرارية (HSP-P1) فإنها لم تُظهر تغايراً في التنظيم الجيني في عينات الدراسة كافة.

كما أظهرت نتائج فحص التعبير الجيني لمضادي الأكسدة الإنزيميين الكلوتاثيون بيروكسيديز (Glutathione Peroxidase "GPx") وسوبر أوكسيد ديسميوتيز (Superoxide Dismutase "SOD") إنخفاضاً في التنظيم الجيني لوظيفة الإنزيم في عينات الدراسة مقارنةً مع مجموعتي السيطرة السالبة والموجبة، أما مضاد الأكسدة الإنزيمي الكاتاليز (Catalase "CAT")، فقد أظهرت نتائج فحص التعبير الجيني له في مجموعات الدراسة تعادلاً في التنظيم الجيني بين المجموعات، بإستثناء مجموعة الأمهات المجهضة واللآتي كنّ يعانين من مرض إرتفاع ضغط الدم الحملي.

وأخيراً أظهرت نتائج إختبار معامل الإرتباط عن وجود علاقات بين متغيرات الدراسة فيما بينهم بشكل واضح ومعنوي، إذ وُجِدت علاقة طردية قوية بين هرمون اللبتين (LEP) وبروتيني الصدمة الحرارية (HSP70) و(HSP90α)، فضلاً عن وجود علاقة قوية لهرمون اللبتين (LEP) والمرتبطة إرتباطاً وثيقاً بـ (IGF-1) و(IGF-2)، كما وُجِد إرتباطاً وثيقاً بين (IGF-2) و(IGFBP-3) مع (IGF-1). في حين أظهرت نتائج إختبار معامل الإرتباط بين بروتينات الصدمة الحرارية عن وجود علاقة طردية قوية بين (HSP27) وبين كل من (HSP60)، (HSP70) و(HSP-P1)، ووجود علاقة طردية واضحة بين (HSP70) وبين (HSP90α)، بينما أظهرت نتائج الإختبار عن وجود علاقات عكسية (غير معنوية) بين (HSP60) و(HSP-P1) وبين (HSP70)، (HSP90α)، (LEP)، (IGF-1)، (IGF-2) و(IGFBP-3).

Summary:

This study was conducted to investigate the relationship between (Insulin-like Growth Factor-1 “IGF-1”), (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 “IGFBP-3”), leptin hormone and gene expression (mRNA) for some heat shock proteins with enzymatic antioxidant levels in human placentas and their embryos. The current study included (60) placentas and aborted embryos obtained from mothers aged between (16-38) years, from women arriving at Al-Khansaa Educational Hospital in the center of Mosul city in Nineveh Governorate in Iraq, where the samples were divided into (4) groups and by (15) samples / group. The first group was the negative control group, and included placentas for mothers of normal births who did not have previous abortions and did not suffer from chronic diseases. The second group was the positive control group, and included placentas for mothers of normal births who had previous abortions and did not suffer from chronic diseases. The third group included a mixture of placentas and abortive embryos for mothers who underwent curettage surgery and did not suffer from chronic diseases. The fourth group included mixture of placentas and abortive embryos for mothers who underwent curettage surgery and they were suffering gestational hypertension.

(5-10) cm^3 were taken from tissue samples for all groups and divided into two parts: the first was placed in the buffered formalin (10%) for the purpose of conducting traditional histological and immunohistochemical (IHC) tests, and the second was placed in the deep freeze refrigerator (-80 ºC) for the purpose of conducting molecular tests, and (3) types of tests were conducted in the current study: traditional histological, (IHC) and molecular.

The results of microscopic examination of the traditional histological placental segments that stained with Hematoxylin and Eosin Pigments of all study groups showed different histopathological changes compared to the negative control group.

The results of microscopic examination of the (IHC) sections for placenta of all study groups showed a strong positive reaction to (IGF-1), (IGFBP-3) and (LEP).

The results of the Real Time Polymerase chain reaction (RT-PCR) of (IGF-1), (IGF-2), (IGFBP-3) and (LEP) showed a clear disparity in gene expression through a decrease in gene regulation in all study groups compared to the gene regulatory levels of the negative control group.

The results of examining the gene expression of the heat shock proteins (HSP27), (HSP70) and (HSP90α) showed a decrease in gene regulation in all study samples compared to the negative control group, and the results of examining the gene expression of (HSP60) showed an increase in gene regulation in all study samples compared to the negative control group, while the results of (HSP-P1) showed no variation in gene regulation in all study samples.

The results of the gene expression of the enzymatic antioxidants (GPx) and (SOD) showed a decrease in the gene regulation of enzyme function in the study samples compared to the negative and positive control groups, as for the enzymatic antioxidant (CAT), the results of the gene expression in the study groups showed a balance in the gene regulation between the groups, with the exception of the group of abortifacients mothers who suffered from gestational hypertension.

Finally, the results of the correlation coefficient test showed that there are relationships between the study variables among them clearly and morally, where a strong direct relationship was found between (LEP) and the heat shock proteins (HSP70) and (HSP90α), as well as a strong relationship of (LEP), which is closely related to (IGF-1) and (IGF-2), and a close relationship was found between (IGF-2) and (IGFBP-3) with (IGF-1). While the results of the test between the (HSPs) showed a strong direct relationship between (HSP27) and between (HSP60), (HSP70) and (HSP-P1), and the existence of a clear direct relationship between (HSP70) and (HSP90α), while the results of the test showed the existence of inverse (non-significant) relationships between (HSP60) and (HSP-P1) and between (HSP70), (HSP90α), (LEP), (IGF-1), (IGF-2) and (IGFBP-3).

University of Mosul

College of Science

Histological and Immunohistochemical and Molecular Relationship between IGF-1 and IGFBP-3 and Leptin Hormone and Some Heat Shock Proteins with Enzymatic Antioxidant levels in Human Placentas and their Embryos

Yasir Abdulameer Abdullah Mohammed A'al-Issa

Ph. D. Thesis

Biology / Zoology

Supervised By

Assistant Professor

Dr. Fatimah Qasim Mohammed Al-Hayyali

Assistant Professor

Dr. Ali Saeed Hammodi Alchalabi

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