University of Mosul

College of Sciences

The Effect of Human Cytomegalovirus Infection on Gene Expression of Cytokine Genes in Immunocompromised Patients in Mosul City / Iraq

Nawal Shahir Mahmood Attia Al-Jubouri

Master Thesis

Biology / Microbiology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Abdulrahem Thonnon AlGhazal

2020 A.D. **1442 A.H.**

Abstract

Human cytomegaloviruses (HCMV) cause different infections in human all over the world with a prevalence exceeds 70% in adults and 90% in poorer communities and developing countries. HCMV causes severe diseases and complications in human represented with pneumonia, systemic infections and ulcerative colitis in immune-compromised and transplant recipients. This study set out at 27 October 2019 to 2 February 2020 and subjected 200 immunocompromised patients,94 with cancer,59 with dialysis,41 with thyroid gland disorder and 6 with thalassemia. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the seropositivity of immunoglobulins (IgM, IgG),2.5% of the 200 sample give positive result for IgM and 36% of them give positive result of IgG. molecular test real-time polymerase chain reaction(Real-time PCR) was also done for 20% of the 200 samples to confirm the serological test and to get more sensitive and accurate results and for control 50 blood samples was collected from immunocompetent person.At molecular level, mRNA transcripts (gene expression) of three cytokines genes Interlukin 10 (IL-10),Tumor necrosis factor (TNF), and Chemokine ligand-2 (CCL-2) were determined for the patients and control samples that give positive result for IgG with normalization to 5 housekeeping genes (HKG) using SABioscience Gene-Analysis. The results showed that HCMV seropervalence in Mosul city was relatively low compared to others cities. The percentage distribution of HCMV in females was more than in males. HCMV seropositivity in married persons was more than in singles. Females are more susceptible to HCMV infection than males. HCMV prevalence was in high rate in immunocompromised patients with cancer, dialysis, thyroid gland disorder but in low rate in thalassemia patients. HCMV almost infects low educational level persons and elderly person especially 40-60 years old. HCMV induces increasing of gene expression of three cytokines with different fold change in serology tests as (IL-10 = 5.33, TNF = 2.88, and CCL-2 = 8.35). These fold changes compared with standard tables to get new Ct values (Threshold values) as control Ct value which

normalized with acute Ct value. These two Ct values then introduced into SABioscince Gene Analysis which perform another normalization and got a new fold changes for each gene. The new fold changes then introduced into kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis program which illustrated that these genes cause high impact on 4 key immune pathways represented by cytokine-cytokine receptor interaction pathway affected with three genes,The nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor (NOD-like receptor) signaling pathway affected by CCL-2, TNF genes. Toll-like receptor signaling pathway affected with TNF, and asthma pathway affected by IL-10, TNF genes in infected patients. These findings may participate in comprehending the relationship between HCMV infection and host cell at molecular levels.

الخلاصة

الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV يسبب اصابات مختلفة في الانسان في جميع انحاء العالم مع معدل انتشار يتعدى 70 % في البالغين و90% في المجتمعات الاكثر فقرا والدول النامية. الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV يسبب امراض خطيرة ومضاعفات في الانسان تتمثل بذات الرئة، اصابات جهازية وقرح القولون في المرضى منقوصي المناعة والمرضى المتلقين لاعضاء مزروعة. هذه الدراسة انطلقت في 27 تشرين الاول 2019 الى 2 شباط 2020 واستهدفت 200 مريض منقوص المناعة، منهم 94 مرضى سرطان، 59 مرضى غسيل كلى، 41 مرضى اضطراب الغدة الدرقية و6 مرضى ثلاسيميا. فحص المقايسة الامتصاصية المناعية للانزيم ELISA استعمل لكشف الايجابية المصلية للبروتينات المناعية نوع (IgG,IgM)، 2.5 % من المئتين عينة اعطت نتائج ايجابية للبروتين المناعي IgM و 36 % من هذه العينات اعطت نتائج ايجابية للبروتين المناعي IgG. الفحص الجزيئي تفاعل البلمرة المتسلسل ذي الوقت الحقيقي (Real-time PCR) اجري كذلك ل 20% من المئتين عينة لتاكيد الفحص المصلي وللحصول على نتائج اكثر حساسية ودقة، وللسيطرة جمعت 50 عينة دم من اشخاص مؤهلين مناعيا. على المستوى الجزيئي نسخ الحامض النووري الرسول mRNA(التعبير الجيني) لجينات ثلاث سايتوكينات، الانترلوكين 10(10 IL)، عامل نخر الورم (TNF)، وكيموكين لكاند- ٢ (CCL-2) حددت للمرضى وعينات السيطرة التي اعطت نتائج موجبة للـ IgG مع مقارنتها لخمس جينات دائمية العمل في خلايا الانسان (5 House keeping gene) باستخدام التحليل الجيني بواسطة SABioscience النتائج اظهرت ان الانتشار المصلي للفايروس المضخم للخلايا البشرية (HCMV) في مدينة الموصل كان قليل نسبيا مقارنة بمدن اخرى. نسبة انتشار الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV في الاناث كان اكثر من الذكور. الايجابية المصلية للفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV في الاشخاص المتزوجين اكثر من الغير متزوجين، الاناث اكثر تاثرا بالاصابة بفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV. انتشار الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV كان بنسبة عالية في المرضى المنقوصي المناعة المصابين بالسرطان ومرضى غسيل الكلى ومرضى اضطراب الغدة الدرقية ولكن بنسبة واطئة لمرضى الثلاسيميا. الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV غالبا يصيب الاشخاص ذوي المستوى الثقافي الواطئ والاشخاص كبار السن خاصة 40-60 سنة. الفايروس المضخم للخلايا البشرية HCMV يحفز زيادة في التعبير الجيني لثلاث سايتوكينات بتغيير اضعاف مختلف في الفحوصات المصلية حيث كانت (5.33= IL 10، TNF=2.88، CCL2=8.35) تغيير الاضعاف هذه تقارن بجداول قياسية للحصول على قيمة عتبة Ct للسيطرة Control Ct value والتي تقارن مع قيمة عتبة Ctvalue للحالة الحادة، هذين القيمتين للعتبة بعدها تقدم للتحليل الجيني بواسطة SABioscince والذي ينفذ مقارنة اخرى ونحصل على تغيرات اضعاف جديدة لكل جين.تغيرات الضعف الجديدة بعد ذلك تقدم لبرنامج التحليل الجيني لموسوعة كيوتو للجينات

والمجينات (KEGG) الذي يوضح ان هذه الجينات تسبب تاثير عالي على اربعة مسارات مناعية تتمثل بمسار تفاعل مستقبلات السايتوكين Cytokine-Cytokine receptor interaction تتاثر بالجينات الثلاثة، مسار مستقبلات NOD-like تتاثر بجينات الكيموكين ليكاند- ٢ (CCL-2) 2وعامل نخر الورم (TNF) ومسار مستقبلات Toll-like تتاثر بجين عامل نخر الورم (TNF) ومسار الربو يتاثر بجينات الانترلوكين-10 (IL-10) وعامل نخر الورم (TNF) في المرضى المصابين بالفايروس المضخم للخلايا البشرية (HCMV). هذه النتائج ربما تساهم في فهم العلاقة بين الاصابة بالفايروس المضخم للخلايا البشرية (HCMV) وخلايا المضيف على المستوى الجزيئي.

جامعة الموصل

كلية العلوم

تأثير الاصابة بفايروس المضخم للخلايا البشري على التعبير الجيني لجينات السايتوكينات في المرضى مثبطي المناعة في مدينة الموصل / العراق

نوال شاهر محمود عطية الجبوري

رسالة ماجستير

علوم حياة / احياء مجهرية

بإشراف

الاستاذ المساعد الدكتور

عبد الرحيم ننون الغزال

١٤٤٢هـ ٢٠٢٠م