|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | علاء كريم محمد أ.د. حسن فياض سمير |
| اسم الباحث | گلبوي عبد المجيد ناصر |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |   مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد √ |  استاذ  |
|  |  ماجستير  |  دكتوراه√ |
| عنوان الاطروحة | تخليق دقائق الفضة النانوية بإستخدام مستخلص واوراق الزيتون مع السوربيتول ودراسة تواثيرهاالسمي والوراثي. |
| السنة | 2016 |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة |  طورت الدراسة الحالية طريقة خضراء تقليدية ،سريعة وصديقة للبيئة لتخليق دقائق نانوية مستقرة من الفضة(AgNPs) بمعدل قطر45±50 نانوميتر ، باستخدام محلول مائي من مستخلص اوراق نبات الزيتون ( *oleae uropaea*)كعامل اختزال وعامل حماية مع السوربيتول (Sorbito D-والمستخدم لزيادة استقرارية الدقائق النانوية المحضرة .تم اجراء التفاعل بتركيز 10 من نترات الفضة وبتاثير الحرارة على تخليق دقائق الفضة النانوية والتي اجريت عند درجة حرارة الغرفة و 60 . تم التحقق من دقائق الفضة النانوية المحضرة عن طريق التغير باللون من عديم اللون الى اللون (البني الغامق – رصاصي(.وصفت وقيست حجم دقائق الفضة النانوية باستخدام التحليل الطيفي المرئي- الاشعة الفوق البنفسجية , المجهر اللكتروني الماسح , مجهر القوة الذرية وقياس الطيف الشععة التحت الحمراء. اعطى على طول موجي 419 عند التركيز surface Plasmon resonance جهاز المطياف الضوئي ملغم /مل لمستخلص اوراق الزيتون وعلى طول موجي 427 عند التركيز 1.5 ملغم /مييل 1للمستخلص ،مما يدل عليى تكون دقيائق (Ago) الييى الفضية (+Ag) وهذا يشير الى اختزال ايونات الفضية الاحادية. (AgNPs) الفضة النانوية.ولاغراض فحص السمية ، تم اخضاع 56 ذكر من الفئران وذلك بتوزيعها عشيوائيا وحقنت بدقائق الفضة النانوية بالتجويف البريتوني وبثلث جرعات مختلفة ( 0.25 , و 1 ملغييم / كغم من وزن الجسم ) ولمدة 7 أيييام و 14 يوم ( 8 فئران للمجموعة الواحدة) باستثاء مجموعة السيطرة التي وبدون دقائق الفضة النانوية . (deionized water) عوملت بالماء منزوع اليونات . (AgNPs).في نهاية التجربة ، جمعت نماذج الدم من القلب مباشعرة وعزل مصل الدم باستخدام جهاز النبيذ مؤشرات الجهاد ، (ALT, AST and ALP) المركزي واستخدم مصل الدم لقياس انزيميات الكبداضافة الى قيا س السا تيوكينات والمتكونة من , GPX, GRx, SOD, CAT, MDA التاكسدي مثلوبعدها قتلت الفئران لجراء الدراسات النسيجية . IL4, IL6, IL10, IL12, TNF-α and INF-ϒوالجزيئية .تم قياس التأثيرات السامة لدقائق الفضة النانوية المحقونة في انسجة الفئران , اظهرت الجرعات العالية ( 1ملغم / كغم من وزن الجسم ) تاثيرات سلبية على انسجة الكبد ، الطحال ، الدماغ والكلى .اذ اظهرت الفحوصات النسيجية حدوث تضرر النسجة ، نزف دموي و تنخر في الخلايا لجميع الفئران المعاملة بالجرعة العالية مقارنة بمجموعة السيطرة .فيما يتعلق بمدة الحق ن ، ل وحظ ان حق ن دقييائق الفضية النانويية يحفيز انتياج السيايتوكينات ماقبيلIL- اللتهاب ،السايتوكينات المضادة لللتهاب وكذلك كل من خليا تاء المساعدة – النييوع الول مثييل , 12فان مستوياتها قد ارتفعت ، IL-4, IL-6 and IL- وخليا تاء المساعدة – النوع الثاني مثل 10 INF-ϒمعنويا ، لكن الزيادة في النوع الثاني هي اكثر نسبيا من النوع الول .وكذلك جين السيطرة الداخلي *GPX1, SOD1, BCl2, TNF-α* تم قياس مستوى التعبير لجينات وباس تعمال ب وادئ خاص ة . بع د الس بوع الول م ن الحق ن ، اظه رت QRT-PCR باستخدام *ACTB* في انسييجة الكبييد > الكلييى > الطحييال > الييدماغ لجييين mg/kg للتركيز (p< النتائج تعبيرا معنويا ( 0.05*BCl* في الكبد > الكلى > الدماغ > الطحال. بينما اظه ر جي ن *2 SOD* و تعبيرا معنويا لجين *1* . *GPX1*تعبيرا معنويا في *TNF-α* تعبيرا عالي المعنوية في الدماغ > الكلى > الطحال > الكبد . بينما اظهر جين الكبد > الطحال > الكلى > الييدماغ .امييا التيياثيرات بعييد السييبوع الثيياني فقييد كييانت غرييير معنوييية ولجميع الجينات بالمقارنة مع السبوع الاول. بازدياد تركيز الجرعة ، وكذلك ازداد التعبير الجينييي (*TNF-*α) ازداد افرازعامل النخر الورمي لهذا العامل مع زيادة تركيز دقائق الفضة النانوية المحقونة .استنادا الى النتائج المستحصل عليهييا ميين الدراسيية الحاليية ، فان الحجوم الصغيرة من جزيئات الفضية النانوية والمحقونة تحت الغشاء البريتوني هي اكثر فعالية لحث استجابات حيوية ،سمية والتهابية بالاعتماد على الجرعة المستخدمة . |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية  |
| اسم المشرف |  زهرة محمود الخفاجي أ.م.د. مشتاق طالب صالح |
| اسم الباحث | اسراء عدنان عبد الجميل |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |   مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد   | √ استاذ√√√√√√√√√√√√√√ |
|  |   ماجستير  |  دكتوراه√√√√ |
| عنوان الاطروحة | تصميم حاسىبي لمركباث دوائية جديدة تستهدف مسار التخليق الحيوي لحامض Mycolic لبكتريا المتفطرات السلية. |
| السنة | 2016  |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة | تعد المتفطرة السلية *Mycobacterium tuberculosis*  مسبب الرئيس لمرض الرئوي والذي يصيب نحو 1.8 بليون شخص سنويا اي ما يقارب ثلث اعداد البشر في العالم والتدرن الرئوي يعد واحدا من اكثر الامراض خطورة على مستوى العالم والذي يزيد الامر تعقيدا انتشار السلالات المقاومة للادوية بنوعيها وهذا مايتطلب ايجاد ادوية جديدة تؤثر في هذه البكتريا.هدف هذه الدراسة محاولة اكتشاف مثبط جديد لمسار تخليق المايكوليك حامض للمتفطة السلية والذي يعد هدفا رئيسا للقضاء على هذه البكتريا وذلك باستهداف جين والذي يؤدي دورا حيويا في الخطوات الاولى في الخطوات الاولى في مسار تخليق الحامض اعلاه ولتحقيق هذا الهدف تم استخلاص ال DNA وتنقيته من 50 عينة من بكتريا التدرن الرئوي التي عزلت وشخصت من بعض المرضى العراقيين واستعمل الحامض النووي في تجارب الكوثرة , تم استعمال جينات للتشخيص الجزيئي لهذه البكتريا . جميع العينات اعطت فحصا موجبا عينة اعطت فحصا موجبا لل والاخير يعد مهما في تفريق عن انواع الاخرى من بكتريا التدرن. لهذا السبب تم تضخيمه وتحديد تسلسل نيوكليوتيداته وتثبيته في القواعد العالمية بارقام تسجيليه , تم استعمال برامج الحاسوب لتصميم ازواج بوادئ لتضخيم الجين الهدف وتم معرفة توالي نيوكليوتيداته . واستعملت 8 من هذه التواليات لاكمال الدراسة الحاسوبية , تم صف وعنقدة هذه التواليات مع السلالات العالمية وتثبيتها في القواعد العالمية وبارقام تسجيلية على التوالي .وبقد تم ترجمة التواليات النيوكليوتيدية الى تواليات بروتينية والتاكد من انتمائها ل تمهيدا لاستخدامها في برامج تصميم الادوية . التواليات البروتينية لل للسلالة العالمية والسلالات العراقية ضمن الدراسة لاتمتلك تركيب ثلاثي الابعاد في القاعدة العالمية لذا وجب استخدام التصميم بالمحاكاة وذلك باستخدام ال وبالاعتماد على تراكيب ثلاثية الابعاد لبروتينات قريبة الشبه من البروتين المراد الاستعلام عنه وتم اختبار الموديلات الناتجة واختيار الموديل الافضل والذي استعمل ببرامج الارساء . اختبرت قابليته على الارتباط مع الجزيئات التي مصدرها طبيعي والادوية المستعملة في علاج مرض التدرن الرئوي (22 جزيئة ) تم جمعها من المراجع . تم اختيارالمعقدات التي اعطت طاقة ارتباط عالية السالبية وتم اختيار خمسة جزيئات لاسنخدامها في بناء الجزيئة الحاملة للصفة الدوائية , والاخيرة استخدمت في البحث عن جزيئات ذات صفات مشابهه لمواصفاتها باستخدام برنامج وتم الحصول على على مايقارب جزيئة مشابهه لل وتم تصفيتها بالاعتماد على ,وجمعت هذه الجزيئات وادخلت لبرامج الارساء واختيرت الجزيئات التي اعطت طاقة ارتباط عالية السالبية . |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف |  محمد أبراهيم نادر د. بتول حسن الغرابي |
| اسم الباحث | امنة محمد علي |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد  |  استاذ√ |
|  |   ماجستير  |  دكتوراه√ |
| عنوان الاطروحة | تكرار جينات الصنف الثاني لأنتيجينات كريات الدم البيضاء البشرية و نمط السايتوكينات في عينة من النساء العراقيات المصابات بمرض هجرة بطانة الرحم . |
| السنة | 2016 |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة | التهاب بطانة الرحم هو مرض مزمن من أمراض النساء يتجلى في وقوع بؤر خارج الرحم من أنسجة بطانة الرحم في تجويف الحوض و / أو المبيض. اسباب هذا المرض لا تزال غير مفهومة بشكل جيد لكن هناك جزء كبير ومتزايد من الأدلة تشير الى أن العوامل الوراثية والتغاير المناعي يلعبان دورا في هذا المرض. أجريت هذه الدراسة للتحقيق في ارتباط التنميط الجيني لمستضدات كريات الدم البيض البشرية الصنف الثاني مع التعرض لألتهاب بطانة الرحم، وكذلك التحقيق فيما إذا كان تقدير المستويات المصلية للسيتوكينات (العامل المنخر للورم-الفا, والانترلوكين -17 والانترلوكين -10 ) يمكن أن تستخدم كاختبار تشخيصي غير جراحي لبطانة الرحم وكذلك للكشف عن الهرمونات الاستروجين والبروجيستيرون. شملت الدراسة قبل خمسون امرأة مريضة مصابة بمرض هجرة بطانة الرحم تراوح اعمارهن بين (19-46) سنة و 30 امرأة سليمة كسيطرة وكانت اعمارهم مطابقة مع اعمار المريضات.شخص المرضى من قبل الكادر الطبي الاستشاري، الذي تم بناء على نتائج الفحوصات السريرية والموجات فوق الصوتية. والتنظير البطني الجراحي. جمعت عينات الدم 5 مل من المرضى و السيطرة، وقسمت إلى قسمين: 2 مل من الدم للتنميط الجيني و 3 مل المتبقي من الدم استخدم لإجراء فحوصات المناعة والكيمياء الحيوية. استخلص الدنا من عينات الدم ثم اجري التنميط الجيني لمستضدات كريات الدم البيض البشرية عن طريق تفاعل سلسلة البلمرة-قليل النيوكليوتايد ذو تسلسل محدد بينما استخدم فحص الانزيم الممتز المناعي وذلك لقياس السايتوكينات والهرمونات في مجموعتي الدراسة.  اظهرت نتائج التنميط الجيني لمستضدات كريات الدم البيضاء البشرية الصنف الثاني ان تكرار الأليالات الثلاثة كان مرتفع معنويا بين المرضى (22٪، 34٪ و 24٪) مقارنة مع السيطرة (0.0٪) DRB1\*0307، DRB1\*0701 ,DQB1\*0301من ناحية أخرى، لوحظ أن HLA-DRB1 \* 0323 في وتيرة عالية بين الأفراد الأصحاء (23.3٪) مقارنة بالمرضى (0.0٪)؛وبنسبة معنوية (0.001P<). فضلاً عن ذلك؛ أظهرت هذه الدراسة أن متوسط مستويات المصل من ​​TNF-α و IL-17A كانت مرتفعة في المريضات بالمقارنة مع الإناث السليمات (0.001P<)، في حين أن مستويات المصل لل IL-10 و البروجسترون والاستروجين لم تظهر أي فروق ذات دلالة إحصائية بين مجموعتي الدراسة (0.05P>).  وفيما يتعلق بمراحل المرض، كشفت نتائج الدراسة الحالية أن هناك اختلافات معنوية عالية (0.001P<) في مستويات IL-17A بين مراحل المرض، ووجد ان اعلى تركيز في المرحلة 4 . ولم تظهر أي فروق ذات دلالة إحصائية (P<0.05) في مستويات TNF-α، IL-10 و البروجسترون والاستروجين بين مراحل المرض . وفي الختام توضح هذه الدراسة أن الأليلات HLA- DRB1\* 0307، DRB1\* 0701\* 0301 وDQB1 قد تسهم في زيادة قابلية التعرض لألتهاب بطانة الرحم، في حين الأليل HLA-DRB1\* 0323 قد يمنح آثار وقائية ضد المرض، مما يشير إلى ان الامراضية مختلفة استنادا لأنتيجينات كريات الدم البيضاء البشرية HLA. علاوة على ذلك؛ فأن مستوى المصلي لـ IL-17A قد يلعب دورا هاما في التسبب في المرض، ويمكن أيضا أن يكون له دور هام في البحث عن علاجات جديدة لهذا المرض.  |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | هــدى سلمان نصيف العجيلي |
| اسم الباحث | نورية عبد الحسين علي |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |   مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد  |  استاذ√ |
|  |   ماجستير  |  دكتوراه√ |
| عنوان الاطروحة | التفريق الجزيئي بين المكورات الذهبية المقاومة للميثيسيلين المكتسبة من المجتمع والاخرى المكتسبة من المستشفيات. |
| السنة | 2016 |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة | تم جمع 210 عينة من مصادر مختلفة للمرضى ومن مختلف الفئات العمرية وللفترة من بداية كانون الثاني 2015 ولغاية حزيران 2015 وتم الحصول على العينات من مستشفيات مختلفة من بغداد (مستشفى ابن البلدي ,اليرموك,مستشفى بغداد التعليمي و الكندي).استخدمت الاوساط الزرعية للعزل الاولي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية ومنها Blood agar, Brain heart agar وايضا الوسط الزرعي التفريقي للمكورات العنقودية الذهبية .Mannitol salt agar اعتمدت الصفات الزرعية والفحوصات الكيموحيوية للتشخيص الاولي للبكتريا حيث تم الحصول على 150 عزلة تعود لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية  *S.aureus*, وبالاعتماد على التشخيص بنظامApi staph . تم استخلاص الحامض النووي DNA لجميع العزلات باستخدام Presto mini DNA bacterial kit  وقياس نقاوته باستخدام جهاز المطياف الضوئي حيث كانت النسبة مساوية ل 1.95 ممايدل على نقاوة الاستخلاص.أعتمدت الطرائق الجزيئية في التشخيص حيث أستخدم الجين *nuc* في التشخيص التاكيدي لبكتريا *S.aureus* وقد اثبتت النتائج عائدية 150عزلة لهذا النوع من البكتريا في حين أستخدم الموروث *fem*B gene و*mec*A gene لتاكيد تشخيص بكتريا *S.aureus* بالإضافة الى قابليتها على مقاومة المثيسييلين, حيث اكدت النتاىج عائدية 137 عزله لها. ومن ناحية اخرى تم التحري عن الموروث *femB* بأعتباره عاملا مكملا وساندا للموروث ,*mec*Aوقد كانت نسبة تواجده في العزلات 100% بالاعتماد على تقنية السلسلة المتبلمرة المتعدده الاحادية والثنائية . اجري فحص الحساسية لمضادات الحياة لعشرين نوع منها وهي كالاتي:-(Amikacin, Amoxicillin, Ampicillin, Azithromycin, Cefoxitin, Ciproflaxacin, Clarerythromycin, Clindamycin, Clorophenicol, Erythromycin, Gentamycin, Methicillin, Norfloxacin, Oxacillin, Penicillin, Rifampin, Teicoplanin, Tetracycline, Tobromycine, Vancomycine ) و بينت النتائج ان اعلى نسبة مقاومة كانت ضمن مجموعة مضادات البيتا لاكتام حيث كانت النسبة 100% لمقاومه المضادات Ampicillin و Penicillin و نسبة 91 % و 86.66 % و 86.66% لمقاومه المثيسيلين و الاوكساسلين و الاموكسلين على التوالي وأقل نسبة مقاومة كانت ضمن مجموعة مضادات Aminoglycosides وقد كانت نسب المقاومه 37.77% و 31.11% و 35.55 % للمضادات اميكاسين و توبرامايسين و جنتامايسين على التوالي في حين اختلفت بقية الانواع من المضادات في تاثيراتها.تمت دراسة عوامل الضراوه للبكتريا قيد الدراسة لعدد من الموروثات المسؤوله عن أنتاج بعض عوامل الضراوة و بأستخدام بوادئ خاصة لكل موروث وشملت*pvl, van, ,mec*A *,fem*B *SCCmec I , SCCmecII, SCCmecIII, SCCmecIV , SCCmecV*.حيث أشارت النتائج الى تواجد موروث *Pvl* في 120 عزلة من مجموع 137 عزلة مقاومه للمثيسيلين ويعد علامة دالة في تميزبكتريا المكورات العنقودية الذهبية الى المكورات المقاومة للمثيسيلين المكتسبة من المجتمع و المكورات المقاومة للمثيسيلين المكتسبة من المستشفيات .اعتمد الموروث *SCCmec* كطريقة ثانية في التمييز مابين النوعين اعلاه ,وبالاعتماد على تواجده مع الموروث *Pvl* في العزلة البكتيرية اذ تم أستخدام خمسة انواع من *SCCmec* وبالاعتماد على تقنية السلسلة المتبلمرة المتعددة الاحادي والثنائي والثلاثي تفاوتت النسب لتواجد الانواع الخمسه *SCCmec* مع المورث *pvl* وكانت النتاىج تواجد المورث *pvl* مع النوع الرابع والخامس من *SCCmec* في 45(37.5%) عزلة بينما كانت 13 (10.83%) عزلة تحتوي على النوع الاول والخامس *SCCmec* بالاضافه الى جين *pvl* و 6 (5%)عزلات تحتوي النوع الرابع والاول مع جين *pvl* واثنان( 1.66%) فقط من العزلات تحتوي على النوع الرابع والثالث من *SCCmec* مع جين *pvl*  و ثلاث (2.3%) عزلات تحتوي على النوع الثالث والخامس من *SCCmec* مع جين *pvl* و 25(20%) اخرى تحتوي على النوع الخامس فقط من SCCmec مع جين *pvlو* اثنان(1.66%) فقط تحتوي النوع الاول *SCCmec* مع جين *pvl* , كما وجدت 24(20%) من العزلات تحتوي فقط على جين *pvl* بدون وجود اي نوع من مورثات *SCCmec* معها. |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | إسماعيل عبد الرضا عبد الحسن |
| اسم الباحث | عدي عدنان مهدي  |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |   مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد  |  استاذ√ |
|  |   ماجستير  |  دكتوراه√ |
| عنوان الاطروحة | التحري الجزيئي عن بعض التغيرات في الدنا المايتوكونديري للنطف لمرضى يعانون من وهن حركة النطف  |
| السنة | 2016 |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة |  من خلال البحوث والدراسات التي اجريت على اسباب وهن حركة النطف لدى الرجال الا انه هناك عدد من المسببات لم تحدد والى الوقت الحاضر. الا انه بالرغم من ذلك بعض الدراسات تشيربأن العامل الوراثي يلعب دور في ذلك والمتمثل بعضيات المايتوكوندريا والحاوية على الدنا المايتوكونديري والمسؤول عن توفير الطاقة اللازمة لحركة النطف والمتمثلة بالمركب ATP الذي يكون بمثابة الوقود الذي تستهلكه النطف في حركتها للوصول الى البويضة واتمام عملية الاخصابلذا اجريت هذه الدراسة للوقوف على التغيرات التي من الممكن ان تحدث في الدنا المايتوكونديري والتي شملت ( الحذف الشائع ، محتوى الدنا المايتوكوندري في الخلايا والطفرات في الجينين 8ATPase و(ATPase6.اذ تضمنت هذه الدراسة جزئين الجزء الاول تم بخطوتين الخطوة الاولى اجريت على71 عينة لاشخاص يعانون من وهن حركة النطف و12 عينة لاشخاص لديهم حركة نطف طبيعية مجموع العينات كان 83 عينة لاجل دراسة الحذوف ومحتوى النطف من الدنا المايتوكونديري من ناحية تم اخذ 66 عينة والتي تضمنت 56 عينة لاشخاص يعانون وهن في حركة النطف و10 عينات لا شخاص ذوي حركة نطف طبيعية وذلك لدراسة تتابعات الجينين ATPase8 و ATPase6 اذ قسمت عينات المرضى الى 5مجموعات اعتمادا على النسبة المئوية لحركة النطف بموجب التصنيف المعتمد من قبل منظمة الصحة العالمية(1999) بالاضافة لمجموعة السيطرة اي ان انها اصبحت 6 مجموعات اما الخطوة الثانية فقد تضمنت استخدام تقنية الفصل التدريجي المتقطع والذي هوعبارة عن طبقيتن 40% و 80% اذ تم فصل كل النطف المتحركة عن الواهنة الحركة بحيث اصبح مجموع العينات 166 عينة اذ تم جمعها وفحصها في مستشفى كمال السامرائي لعلاج العقم واطفال الانابيب في بغداد وذلك للفترة من شباط 2012 الى تشرين الاول 2013.جزء الثاني شمل اجراء الفحوصات الجزيئية بعد ان تم استخلاص الدنا من الخلايا وهذا الجزء تضمن ثلاثة خطوات الخطوة الاولى كانت متمثلة بالتحري عن الحذف الشائع في الدنا المايتوكونديري حيث اظهرت النتائج ان النسبة الاجمالية للحذف للعينات في المجموعة ( 0-5) في النطف واهنة الحركة كانت 81.25 % والتي تراوحت مابين 6.8% to 74.7% في حين كانت النسبة بين المجموعات الاخرى 6-10 ، 11-15،16-20 و21-25 حيث كانت النتائج75، 35.72، 28.5،36.3 و 12% لمجموعة السيطرة والتي كانت نسبة الحذف فيها اقل مما هو عليه في باقي لمجاميع المرضى. 75, 35.72 , 28.5 , 36.3 , and 12% في حين مجموعة السيطرة اظهرت اعلى نسبة للحذف 12% حيث لوحظ لبعض العينات هناك فرقا معنويا على مستوى(*P*<0.05) الا ان بعض العينات لم تظهر فرقا معنويا ما بين المتحركة والضعيفة الحركة . الخطوة الثانية هي التحري عن المحتوى للدنا المايتوكونديري لنفس المجاميع حيث اظهرت النتائج ان محتوى الدنا في النطف واهنة الحركة كان عاليا مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث سجل في بعض العينات اعلى مستوى للتعبير الجيني (246.9) نسخة لكل خلية في المجموعة(0-5)اما باقي المجموعات فقد اظهرت مستويات اقل (6-10)، (11-15)،(16-20)و(21-25) كانت(203.1 )،(180.7) ،(133.53) و ( (128.24 نسخة لكل خلية اما اعلى مستوى لمحتوى الدنا لمجموعة السيطرة فقد كان (94.7)نسخة لكل خلية ، ايضا كان هناك فرق معنوي على مستوى (*P*<0.05) بين النطف المتحركة المعزولة من الطبقة 80% والنطف الضعيفة الحركة المعزولة من الطبقة (40%). اما الخطوة الثالثة والتي تضمنت الكشف عن الطفرات من خلال تحليل التتابعات للجنين ATAase8 وATPase6 حيث تم توثيق 59 طفرة والتي كانت على نوعين 23 missense و36 silent حيث سجلت والتي كانت جميعها Heteroplasmic polymorphism عدا طفرة واحدة من نوع missense (8860A>G) والتي كانت Homoplasmic mutation حيث ظهرات في جميع النسخ بالنسبة لمجموعات المرضى والاصحاء والنطف المتحركة والضعيفة الحركة. من خلال هذه الدراسة تم الكشف عن طفرات جديدة لم تسجل سابقا حيث وجد 3 طفرات جديدة من نوع (missense) في الجين ATPase8 في المواقع التالية (8378, 8483 and 8558),والتي كانت ناتجة من تغير في القواعد النايتروجينية A>G, A>C, A>C and A>C على التوالي، والتي احدثت تغيير في الحوامض الامينية للبروتين والتي كانت Asparagine to Aspartic acid, Leucine to Proline and Proline to Alanine. نتائج هذه الدراسة اظهرت وجود طفرتين جديدة من نفس النوع في الجين ATPase6 في الموقع(8822 و 9055) والناتجة من تغير في القواعد النايتروجينية C>T)و G>A) على التوالي ، والتي تسبب تغيير في الحوامض الامينية للبروتين (Serine to Phenylalanine and Alanine to Threonine).يضا من خلال هذه الدراسة كشفت طفرات جديدة من النوع الصامت (Silent mutation) والتي توزعت ما بين الجين ATPase6 و ATPase8 فقد تم الكشف عن طفرة في الموقع (8371) للجين ATPase8 من خلال الاستبدال الحاصل في القاعدة النايتروجينية (C>T) لكنها لا تسبب تغيير في الحامض ألأميني.بينت نتائج الدراسة لتتابعات الجين ATPase6 وجود ثلاثة طفرات جديدة من النوع الصامتة heteroplasmic mutation في المواقع (8899, 9048 and 9060) بسبب حالة الاستبدال الحاصلة في القواعد النايتروجينية C>T, T>C and C>A)) على التوالي والتي لا تسبب تغيير الحوامض الامينية للبروتين. |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية  |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف  | أ.م.د. أ اسماعيل حسين عزيز أ.د. ندى عبد الصاحب العلوان |
| اسم الباحث | محمد إبراهيم مزعل  |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس  |  استاذ مساعد √ |  استاذ |
|  |   ماجستير  |  دكتوراه√ |
| عنوان الاطروحة | التشخيص الجزيئي والتنميط لفايروس الورم الحليمي البشري والتنبؤ بسرطان عنق الرحم بين النساء اللواتي يعانين من مسحة عنق الرحم غير الطبيعية في بغداد |
| السنة | 2016 |
| اللغة | انكليزي |
| الخلاصة |  فايروس الورم الحليمي البشري(HPV) هو اكثر انواع الفايروسات عدوى في الجهاز التناسلي . سرطان عنق الرحم الى حد بعيد ذو صلة بفايروس الورم الحليمي البشري . تقريبا ان جميع حالات سرطان عنق الرحم سببها فايروس الورم الحليمي البشري(HPV) النوع 16 و 18 وهي المسؤلة عن حوالي 70 % من كل الحالات . أجريت هذه الدراسة للتشخيص الجزيئي والتنميط الوراثي لفايروس الورم الحليمي البشري ( HPV) بأستخدام طريقتين مختلفتين : * الطريقة المصممة- تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي ذو النهاية المحددة (Endpoint real time PCR) لتشخيص فايروس الورم الحليمي البشري ( HPV) والتنميط الوراثي للنوعين (16 و 18) .
* تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي (RT-PCR) للكشف النوعي والتنميط الوراثي لفايروس الورم الحليمي البشري (سكاسي , أيطاليا) .

 بالإضافة الى الكشف عن ميثلة مورث PAX1 (منطقة الممهد ) المسؤولة عن اسكات الجينات الكابتة للورم كعلامات مميزة للورم ذات قيمة متزايدة للكشف المبكر عن سرطان عنق الرحم شملت الدراسة 90 عينة مسحة عنق الرحم من النساء اللواتي يعانين من مسحات عنق الرحم غير طبيعية و 10 امرأة يتمتعن بصحة جيدة كمجموعة سيطرة , تم جمعها من العيادات الاستشارية للنسائية مستشفى بغداد (المدينة الطبية)، مستشفى الأورام التعليمي ومستشفى الامل (في بغداد)، خلال الفترة من أبريل 2015 إلى أبريل 2016. وقد تراوحت أعمار النساء 16-60 عاما. قد أظهرت أول طريقة الكشف الجزيئي (Designed PCR) في دراستنا إلى أن 35٪ من النساء لديهن أصابة بالفايروس الورم الحليمي البشري و أظهرت الطريقة الثانية (RT-PCR- Sacace, Italy) أن 23٪ من النساء لديهن أصابة بالفايروس الورم الحليمي البشري. وجدنا ان هناك تباين في نتائج تفاعل البلمرة بالاعتماد على الفحوصات النسيجية , ان هنالك فروقات ذات دلالات احصائية بين (RT-PCR and designed PCR) في الفحوصات النسيجية (WNL,CIN II, CIN III and normal) .لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين (RT-PCR and designed PCR) في الفحوصات النسيجية (CIN I and carcinoma). ان هنالك فروقات ذات دلالات احصائية بين (RT-PCR and designed PCR) في الفحوصات الخلوية (ASC-US, WNL and HSIL) , لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين (RT-PCR and designed PCR) في الفحوصات الخلوية (LSIL and carcinoma). ان نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل ذو الميثلة المحددة (MSP) تشير الى حزمة متطابقة عائدة الى منطقة الممهد(البادئ) لمورث (PAX1) . ان المنطقة التي تم تضخيمها في تفاعل البلمرة المتسلسل ذو الميثلة المحددة (MSP) العائدة للمورث (PAX1) اظهرت وزن جزيئي حوالي 121 زوج قاعدة للنمط المميثل و 122 زوج قاعدي للنمط الغير مميثل بالاعتماد على البادئات المصممة (Methylated primer and Un methylated primer ) . من خلال متابعة تسلسل القواعد النتروجينية المعتمد على البايوسولفيت (Bisulfate sequencing) للعينات ذات النمط المميثل وجد بأن هنالك تغييرات في معدل ( نسبة) الميثلة بالاعتماد على الفحوصات النسيجية , ان اعلى نسبة للميثلة كانت في الحالات السرطانية carcinoma (100%) , تليها CIN III (41,66-58,33% ) , CIN II (25-50% ) , CIN I (8,33-25 % ) , WNL (0 – 25 %) وان اقل نسبة ميثلة في النساء الطبيعيات (0 – 16,66%) . كما تشير النتائج ايضا الى الحالات السرطانية carcinoma هي ذات صله ( علاقة ) اكبر بالميثلة (Methylation ) يليها CIN III , CIN II , CIN I , WNL وان الحالات الطبيعية Normal هي اقل صلة (علاقة ) بالميثلة . تشير الدراسة الى هنالك علاقة بين الفحوصات الخلوية وحالة الميثلة في النساء اللواتي يعانين من مسحات عنق رحم غير طبيعية , ان الحالات السرطانية carcinoma هي اكثر علاقة (صلة ) بالميثلة , يليها HSIL , LSIL , ASC-US وان WNL هي اقل صلة او علاقة بالميثلة . أن النتائج الموجبة للإصابة بفايروس الورم الحليمي (HPV ) لها ارتباط او صلة قوية بحالة الميثلة (زيادة الميثلة بوجود أصابة للفايروس) بالمقارنة مع الحالات السالبة في كلا نوعي تفاعل البلمرة المتسلسل (RT-PCR and designed PCR) . أشارت الدراسة الى ان الفئة العمرية الاكثر من 40 سنة هي اكثر صلة بالميثلة ( زيادة الميثلة) , تليها الفئة العمرية التي هي مابين 30 – 40 سنة , وان الفئة العمرية التي هي اقل من 30 سنة هي اقل ارتباطا أو أقل صلة بالميثلة . وأخيرا، وهذا التغير في أنماط مثيلة مهم جدا في عملية حدوث السرطان. فيروس الورم الحليمي البشري- عالي الخطورة له دور مباشر في زيادة التعبير الجيني للإنزيم المسؤول عن عملية الميثلة (DMNT)، مما يسبب اسكات العديد من المورثات اهمها مورث PAX1 الذي يعتبر من السمات المميزة والقيمة المحتملة للكشف المبكر والتحري عن سرطان عنق الرحم. |