

التعرف على أنماط مستضد الكريات البيضاء البشرية في مرضى بيتا ثلاسيميا وعلاقة التغيير الطفري في بيتا جلوبيين جين

عبدالله بن حمزه بن ناير الرادادي

تحت إشراف

أ.د. عادل محمد ابو زنادة

د. عائشة حسن عليمي

المستخلص

مستضد الكريات البيضاء البشرية من أكثر الجينات المتعددة الأشكال في الإنسان. له دوراً هاماً في زراعة الأعضاء، الاستجابة المناعية وكذلك له علاقة في العديد من أمراض المناعة الذاتية والالتهابات. الفحص الجيني لمستضد الكريات البيضاء البشرية له أهمية في مجال الابحاث وتطبيقاتها السريرية من أجل فهم آلية الأمراض المرتبطة بمستضد الكريات البيضاء البشرية وكذلك زراعة الأعضاء. يعتبر مرض بيتا ثلاسيميا واحداً من اضطرابات الدم الوراثية الأكثر شيوعاً في جميع أنحاء العالم وكذلك المملكة العربية السعودية. وأظهرت الدراسات الجزيئية أكثر من ٢٠٠ طفرة مختلفة في جميع أنحاء العالم التي تؤثر على بيتا جلوبيين ومن ضمنها الطفرة IVS-1-5 - و فيها يتم استبدال الحمض الاميني الجوانين بالحمض السابتوسين على الكروموسوم الخامس في بيتا جلوبيين جين - تعتبر الأكثر شيوعاً في المملكة العربية السعودية. اختبارات التوافق النسيجي لمستضد الكريات البيضاء البشرية في مرض بيتا ثلاسيميا مكنت من دعم زراعة خلايا الدم الجذعية للمرضى. يقدر أن ٣٠% فقط من المرضى يمكن لهم العثور من أسرهم على متبرعين يكون فيها مستضد الكريات البيضاء متطابق معهم. لذلك، من الضروري في هذه الحالات المقدره على ايجاد متبرعين مطابقين من خارج الأسرة. الهدف من هذه الدراسة هو فحص مناطق في مستضد الكريات البيضاء البشرية في مرضى بيتا ثلاسيميا الذين يحملون طفرة IVS-1-5 وايضا على متطوعين اصحاء. قمنا بفحص ١٦ موضع D6S291, TAP1, D6S2880, D6S1014, D6S2973, MICA, MOGc, MIB) MIB outer, D6S2674, D6S2959, D6S2908, Ring3CA, D6S2812, D6S248 (D6S2707 لعدد ١٥ عينة مريض بيتا ثلاسيميا و ١٥ عينة من المتطوعين الاصحاء باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل. أظهرت النتائج تباين واسع في الأليلات ومستوى عالي من الأشكال الوراثية. وبالإضافة إلى ذلك، وجدنا مستوى عالي من التماثل في الأليلات في عينات المرضى في ثلاثة مواضع Ring3CA , D6S2812 and D6S248 حيث ان هذا التماثل يرتبط بشكل كبير مع الطفرة IVS-1-5 في مرضى بيتا ثلاسيميا. نخلص إلى ان اختبارات التوافق النسيجي باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل و ١٦ موضع على مستضد الكريات البيضاء البشرية تقنية مفيدة لزراعة الاعضاء وكذلك من الممكن ان تجيب عن تساؤلات التي تثار حول ارتباط تماثل الأليلات مع الطفرات على بيتا جلوبيين جين.

Identification of Human Leukocyte Antigen (HLA) patterns in beta-thalassemia patients and their relevance to the mutational spectrum of the Human Beta-Globin Gene (HBB)

Presented By

Abdullah Hamza Nayer Alraddadi

Supervised By

Prof. Adel Muhammed Abuzenadah

Dr. Aisha Hassan Elaimi

Abstract

Human leukocyte antigen (HLA) is the most polymorphic genes in human. It has an important role in organs transplantation, immune response and also has a relation to several autoimmune and inflammatory diseases. Genotyping of the HLA genes is important in both clinical and research settings in order to understand the mechanism of HLA-associated diseases as well as organ transplantation. Beta Thalassemia is considered as one of the most common inherited blood disorders worldwide as well as the Kingdom of Saudi Arabia. Molecular studies showed more than 200 different mutations around the world affecting the HBB gene thus causing the disease with the IVS-1-5 mutation - substitution of G by C at position 5 of the IVS-I of the HBB gene - is considered the most common mutation in the KSA. HLA matching in beta thalassemia patients can support therapeutic interventions through hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). It is estimated that only 30% of patients can find an HLA identical donor from their families. Therefore, It is necessary in certain occasions to be able to find HLA-matched stem cell donors from outside the patients' families. The aim of this study is to investigate the HLA area in beta- thalassemia patients who carry the IVS-1-5 mutation and in healthy volunteers. We investigated the genetic polymorphism of sixteen Short Tandem Repeat (STR) loci (D6S291, TAP1, D6S2880, D6S1014, D6S2973, MICA, MOGc, MIB, MIB outer, D6S2674, D6S2959, D6S2908, Ring3CA, D6S2812, D6S248 and D6S2707) in 15 beta-thalassemia patients samples who carry the (IVS-1-5) mutation and 15 healthy volunteers samples using a fluorescent-labelled singleplex-PCR STR typing method. The result showed wide variation in alleles and high level of genetic polymorphisms. In addition, we found a high level of homozygosity in fifteen patient samples at three STR loci; Ring3CA , D6S2812 and D6S248 where this homozygosity is significantly associated with beta thalassemia IVS-I-5 mutation (p-value <0.05, <0.001 and <0.001 respectively). We conclude that HLA matching using the fluorescent-labelled singleplex-PCR STR typing method and the 16 STR loci provides a useful technique

supporting HSCT as well as raising questions about the potential association between homozygosity at certain STR markers and particular HBB mutations.