

University of Mosul
College of Pharmacy



**Thalassemia genes detection and its link to
iron regulating genes and antioxidant enzymes
in Mosul young age**

A thesis

**Submitted to the Council of the
College of Pharmacy / University of Mosul
As a partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of
Science in Pharmacy**

By

Nuha Sami Thanoon Abdulrahman

(B.Sc. Pharmacy 200[^])

Supervised By

Supervisor

Asst. Prof. Mohammed KJ Alnori
Ph.D. in Clinical Biochemistry

Co-Supervisor

Asst. Prof. Ali SH Alchalabi
Ph.D. in veterinary Physiology

Abstract

Background: Thalassemia is an autosomal recessive inheritable illness, mainly prevalent in Eastern Mediterranean region. It is prevalent in north of Iraq, mainly Ninawa province specially in Mosul and Talafar districts. For the importance of this medical condition, thalassemia center had been established in Ibn-Alatheer teaching hospital then re-located to Al-hadba'a teaching hospital Specialist in the Mosul City.

Thalassemia complications may include iron metabolism abnormalities, oxidative stress, defective erythropoiesis, hemolysis, heart diseases, hepatosplenomegaly, endocrine glands insufficiency, growth retardation, and bone deformities.

Aim of the study: The goal of this study is to investigate the expression of iron-regulating genes for iron, ferritin, and their relationship to enzymatic antioxidant genes in thalassemic patients, as well as to detect distinct forms of thalassemia using an RT-PCR technique using a presence/absence protocol.

Methods: This case-control study included 50 subjects selected at random who were admitted to Mosul's Al-hadba'a Hospital. Ten healthy subjects (5 females and 5 males) and forty patients (20 females and 20 males) with thalassemia whose range of age is eight to seventeen years. This case-control study was conducted from November 2023 to October 2024. The blood samples were collected using EDTA tubes for molecular processes and serum samples, as gene expression and genomic identification of thalassemia types and serum samples were isolated for biochemical analysis.

Results: According to the findings, male participants had higher levels of iron and ferritin than female participants. Additionally, ferritin and HbF were directly correlated with iron level and gender. The outcomes indicated that the Fork head box protein O1 (FoxO1) gene was significantly increased

expression increase in iron regulation in thalassemia patients compared to healthy participants. FoxO1 but hepcidin gene expression was non-significantly downregulated. Hepcidin expression analysis in healthy rather than thalassemia participants found both down- and up-regulation. Similarly, the enzymatic antioxidant gene expression glutathione peroxidase (GSH-Px1) demonstrated significant downstream regulation expression in thalassemia participants compared to healthy ones, although the expression of superoxide dismutase (SOD1) and catalase(CAT) antioxidant enzyme genes did not differ across investigated patients. Catalase expression is associated inversely with FoxO1 expression. The presence/absence approach showed that 8.4% and 5.1% of patients had positive α -thalassemia based on $\alpha 1$ and $\alpha 2$ mutations in their genomic DNA.

(gDNA) samples, respectively, compared to healthy subjects. 33.6%, 36.5%, and 16.4% of blood samples with an unknown type of thalassemia tested positive for β -thalassemia because their gDNA samples had codon8/9, codon41/42, and IVS-I-5 mutations, respectively.

Conclusion: We found that in both thalassemic and healthy subjects, the gender was associated with the testing of iron, ferritin concentration, and with the genes that regulate them hepcidin and FoxO1 and antioxidant enzymes genes.



جامعة الموصل

كلية الصيدلة

الكشف عن جينات الثلاثيميا وارتباطها بجينات المنظمة للحديد والإنزيمات المضادة للأكسدة لدى صغار السن في الموصل

رسالة مقدمة الى مجلس

كلية الصيدلة / جامعة الموصل

كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل الطالب

نهى سامي ذنون عبدالرحمن

(بكالوريوس صيدلة 2008)

باشراف

المشرف الثاني

أ.م.د. علي سعيد حمودي الجلبي
دكتوراه فسلجة بيطرية

المشرف الاول

أ.م.د. محمد خالد جمال الدين النوري
دكتوراه في الكيمياء الحياتية السريرية

٢٠٢٥ م

١٤٤٦ هـ

الملخص

الخلفية: الثلاسيميا هو مرض وراثي ذا صفة متنحية بشكل رئيسي منتشر في منطقة البحر المتوسط شرقا. و منتشر في شمال العراق بشكل رئيسي في محافظة نينوى خاصة الموصل وتلعفر. لأهمية هذه الحالة المرضية، مركز الثلاسيميا تأسس في مستشفى ابن الاثير التعليمي ثم انتقل الى مستشفى الحدياء التخصصي في الموصل.

مضاعفات الثلاسيميا ربما تتضمن اضطرابات ايض الحديد, اضطرابات جهد التأكسد, تكوّن كريات الدم الحمراء الغير فعالة, تحلل الدم, امراض القلب, تضخم الكبد والطحال, قصور الغدد الصماء, تأخر النمو, تشوه العظام.

الهدف من الدراسة: كان الهدف من هذه الدراسة هو التحقيق في التعبير عن الجينات المنظمة للحديد والفيريتين وعلاقتها بالجينات الأنزيمية المضادة للأكسدة لدى مرضى الثلاسيميا، وكذلك الكشف عن الأشكال المتميزة للثلاسيميا باستخدام تقنية البلمرة باستخدام بروتوكول التحري عن الوجود.

المواد والطرق: شملت هذه الدراسة ٥٠ شخصا تم اختيارهم عشوائيا تم إدخالهم إلى مستشفى الحدياء في الموصل. عشرة أشخاص أصحاء وأربعين مريضا ، ٢٠ أنثى و ٢٠ ذكرا مصابين بالثلاسيميا ، كان متوسط العمر من الثامنة إلى السابعة عشرة عاما ، دراسة حالة وشواهد أجريت من نوفمبر ٢٠٢٣ إلى اكتوبر ٢٠٢٤. تم جمع عينات الدم الذي تم سحبه اخيرا باستخدام للعمليات الجزيئية ، كتعبير جيني وتحديد جيني لأنواع الثلاسيميا.

النتائج: وفقا للنتائج ، كان لدى المشاركين الذكور مستويات أعلى من الحديد والفيريتين من المشاركات الإناث. بالإضافة إلى ذلك ، كان الفيريتين والهيموغلوبين الجنيني مرتبطان ارتباطا مباشرا بمستوى الحديد والجنس. أشارت النتائج إلى أن مورثة الفوكسو كان زيادة غير منظمة بشكل ملحوظ في تنظيم الحديد لدى مرضى الثلاسيميا مقارنة بالمشاركين الأصحاء، أظهر تحليل تعبير مورثة الفوكسو النمط العكسي. لكن تعبير الهيسيدين لم يتم تنظيمه بشكل كبير. وجد تحليل تعبير الهيسيدين في المشاركين الأصحاء بدلا من الثلاسيميا كلا من التنظيم المنخفض والإضافي.

وبالمثل ، أظهر الجين المضاد للأكسدة الأنزيمية الكلوتاثيون تعبيرا كبيرا عن التنظيم النهائي في المشاركين في الثلاسيميا مقارنة بالأشخاص الأصحاء ، على الرغم من حقيقة أن التعبير عن جينات الإنزيم المضاد للأكسدة السوبراوكسايد والكاتالاز لم يختلف بين المرضى الذين تم فحصهم. يرتبط تعبير كاتالاز عكسيا بتعبير مورثة الفوكسو. أظهر التحري عن الوجود أن ٨,٤% و ٥,١% من

الأفراد يعانون من الفا الثلاثي الإيجابية بناء على طفرات الفا ١ والفا ٢ في عينات الحمض النووي الريبي منزوع الاوكسجين الخاصة بهم ، على التوالي ، مقارنة بالمرضى الأصحاء. ٣٣,٦٪ و ٣٦,٥٪ و ١٦,٤٪ من عينات الدم التي تحتوي على نوع غير معروف من الثلاثي كانت إيجابية للثلاثي-بيتا لأن عينات الحمض النووي الخاصة بهم تحتوي على طفرات كودون 8/9 و كودون 41/42 و اي في اس اي ٥ ، على التوالي.

الاستنتاج: نجد أنه في كل من المرضى المصابين بالثلاثي والاشخاص الأصحاء ، ارتبط الجنس باختبار الحديد والفيريتين والجينات التي تنظمهم مورثة الهيسيدين و مورثة الفوكسو والإنزيمات المضادة للأكسدة ، وتشير النتائج التي توصلنا إليها إلى أن نهج البلورة هو الأكثر فعالية لدراسة التعبير الجيني والتحديد الجزيئي لأنواع الثلاثي.