جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التقييم الفسلجي والكيموحيوي والوراثي في مرضى البيتا – ثلاسيميا الكبرى في محافظة نينوى

زينة زهير إبراهيم علي العزاوي

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ الدكتورة منى حسين علي جانكير

1445هـ

2024 م

I

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية 80 مريضاً (ذكوراً واناثاً) مصابين بمرض البيتا – ثلاسيميا الكبرى، من مراجعي مستشفى الحدباء التخصصي لأمراض الدم والثلاسيميا في محافظة نينوى، بعد تشخيص إصابتهم بهذا المرض من قبل أطباء ذوي الأختصاص اعتماداً على الفحص السريري والاختبارات الفسلجية والكيموحيوية، تراوحت اعمارهم بين (1– 15) سنة، تم توزيعهم إلى ثلاثة فئات عمرية (1–5)، (6–10) و(11–15) سنة، استمرت مدة جمع عينات الدم من بداية كانون الاول (2021) ولغاية أيلول (2022)، فضلاً عن 20 شخصا غير مصاب بهذا المرض ولايعانون من أية مشكلة صحية (أصحاء) ومن كلا الجنسين وبنفس الأعمار، وعُدَّت كمجموعة سيطرة. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الإصابة في بعض المتغيرات الفسلجية، إذ شملت مكونات الدم والمتغيرات الهرمونية، فضلا عن بعض المتغيرات الكيموحيوية في المصل ودراسة الكرب التأكسدي الذي تسببه الإصابة بهذا المرض، فضلاً عن الدراسة الجزيئية في الدم.

أظهرت نتائج دراسة مكونات الدم انخفاضٌ معنويٌ عند مستوى احتمالية ($P\leq 0.01$) في نسبة كل من تركيز الهيموكلوبين بنسبة 40% في دم المرضى المصابين بالبيتا – ثلاسيميا الكبرى، وحجم الخلايا المرصوصة بنسبة 40%، متوسط كمية الهيموكلوبين، وكان العدد الكلي لكريات الدم الحمر بنسبة 35%، ومتوسط حجم الكرية الحمراء بنسبة 11%، رافقه إرتفاعٌ معنويٌ عند مستوى احتمالية ($P\leq 0.01$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض بنسبة 125%، الصفيحات الدموية بنسبة 50%، توزيع كريات الدم الحمر بنسبة 57% ومتوسط تركيز الهيموكلوبين في الكرية بنسبة 12% في دم هؤلاء المرضى مقارنة بالأصحاء. وأظهرت نتائج مكونات الدم حسب الفئات العمرية لكلا الجنسين انخفاضاً أكثر أو ارتفاعاً في الفئة العمرية (11 – 15) سنة مقارنة بالأصحاء. كما أظهرت نتائج المتغيرات الهرمونية عند هؤلاء المصابين ارتفاعاً معنوياً في تركيز هرمون الايرثروبيوتين بنسبة 187% ورافقه انخفاضٌ معنويٌ في تركيز كل من هرمون الهيبسيدين أكثر بنسبة 55% وهرمون النمو بنسبة 56%، وأظهرت تلك المتغيرات ارتفاعاً أو انخفاضاً في الذكور المصابين أكثر من الإناث المصابات، ولكلا الجنسين كان في الفئة العمرية (11 – 15) سنة مقارنة بالأصحاء.

كما أظهرت نتائج دراسة تأثير الإصابة بمرض البيتا – ثلاسيميا الكبرى في المتغيرات الكيموحيوية ارتفاعاً معنوياً في فعالية انزيم دلتا – حامض أمينوليفولينيك ديهيدرتيز بنسبة 1467% وتركيز كل من الفيريتين بنسبة 4288% واليوريا بنسبة 69%، رافقه انخفاضٌ معنويٌ في تركيز

الكالسيوم بنسبة 22 %، وأظهرت تلك المتغيرات ارتفاعاً أكثر أو انخفاضاً في الذكور المصابين أكثر من الإناث المصابات، ولكلا الجنسين كان في الفئة العمرية (11 – 15) سنة مقارنة بالأصحاء.

وأحدثت الإصابة بمرض البيتا– ثلاسيميا الكبرى كربا تأكسديا لدى هؤلاء المرضى تمت متابعته من خلال تسجيل ارتفاعٍ معنوي في تركيز كل من المالون ثنائي الالديهايد بنسبة 100% (إذ يمثل أحد النواتج الثانوية النهائية لعملية الأكسدة الفوقية للدهون)، البيليروبين الكلي، المقترن وغير المقترن بنسبة 500% ، 500% و500% على التوالي كمضاد أكسدة غير أنزيمي، رافقه انخفاضٌ معنوي في فعالية مضاد الأكسدة الانزيمي الكاتاليز بنسبة 64%، وفي تركيز كل من الكلوتاثيون كمضاد أكسدة غير أنزيمي بنسبة 73% والخارصين بنسبة 15% مقارنة بالأصحاء. وأظهرت النتائج أن أغلب هذه المتغيرات كانت أكثر ارتفاعاً أو انخفاضاً في الإناث المصابات أكثر من الذكور المصابين، ولكلا الجنسين كان في الفئة العمرية (11 – 15) سنة مقارنة بالأصحاء. وكشفت نتائج الدراسة الجزيئية عن وجود جين طافر وبروتين لهرمون الايرثروبيوتين لأول مرة محليا أدى إلى ارتفاع معنوي في التعبير الجيني لجين هرمون *EPO* لدى هؤلاء المرضى المصابين بالبيتا – ثلاسيميا الكبرى مقارنة بالأصحاء. ويُعد الهرمون هو المسؤول عن تنظيم وتحفيز إنتاج كريات الدم الحمر في نخاع العظم.

تُبيّن نتائج هذه الدراسة، أن سبب الإصابة بالبيتا – ثلاسيميا الكبرى يعود بالدرجة الاولى إلى العوامل الوراثية، وأحدث كربا تأكسديا وخللا في العمليات الفسلجية والايضية من خلال استنفاذ معايير مضادات الأكسدة، بالإضافة إلى ملاحظة تغير ملحوظ في المتغيرات الفسلجية والهرمونية والكيموحيوية في المرضى المصابين بالبيتا – ثلاسيميا الكبرى بسبب زيادة تراكم الحديد الزائد.

Summary

The current study included 80 patients (males and females) with β-thalassemia major, who were referred to Al Hadbaa Blood and BMT Hospital in Nineveh Governorate. after being diagnosed with the disease by specialized doctors based on clinical examination, physiological, and biochemical tests. Their ages ranged from (1-15) years, and they were divided into three age groups: (1-5), (6-10), and (11-15) years. Blood samples were collected from the beginning of December 2021 until September 2022. Additionally, the study included 20 healthy individuals (males and females) of the same age groups, who did not suffer from any health problems and served as a control group. The aim of this study was to assess the impact of the disease on certain physiological variables, including blood components and hormonal changes, as well as some biochemical variables in the serum. The study also examined oxidative stress caused by the disease, in addition to conducting molecular studies in the blood.

The results of the blood components study showed a significant decrease at a probability level of ($P \leq 0.01$) in the concentration of Hemoglobin (Hb) by 40% in the blood of patients with β-thalassemia major, Packed Cell Volume (PCV) by 40%, Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) by 4%, total Red Blood Cells (RBCs) by 35%, and Mean Corpuscular Volume (MCV) by 11%. This was accompanied by a significant increase at a probability level of ($P \leq 0.01$) in the total White Blood Cells (WBCs) by 125%, Platelets (PLT) by 50%, Red Cell Distribution Width (RDW) by 57%, and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) by 12% in the blood of these patients compared to healthy individuals.

The blood component results according to the age groups for both genders showed more significant decrease or increase in the age group (11-15) year compared to healthy individuals. Additionally, the results of the hormonal variables in these patients showed a significant increase in the concentration of Erythropoietin (EPO) by 187%, accompanied by a significant decrease in the concentration of Hepcidin (Hep) by 55% and Growth Hormone (GH) by 56%. These parameters showed more significant increases or decreases in male patients compared to female patients, for both genders in the age group (11-15) year compared to healthy individuals.

The results of the study on the impact of β-thalassemia major on the biochemical variables showed a significant increase in the activity of the enzyme Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) by 1467%, Ferritin concentration by 4288%, and Urea concentration by 69%. This was accompanied by a significant decrease in Calcium (Ca) concentration by 22%. These parameters were more pronounced in male patients compared to female patients, with the most significant differences observed in the age group (11-15) year compared to healthy individuals.

The impact of β-thalassemia major occurrence caused an oxidative stress in these patients which was monitored by recording a significant increase in the concentration of Malondialdehyde (MDA) by 100% (represents one of the final by-products of lipid peroxidation), total Bilirubin, conjugated and unconjugated Bilirubin by 500%, 500%, and 500% respectively, as a non-enzymatic antioxidant. This was accompanied by a significant decrease in the activity of the enzymatic antioxidant Catalase (CAT) by 64%, and in the concentration of non-enzymatic antioxidants such as Glutathione (GSH) by 73% and Zinc (Zn) by 15% compared to healthy individuals. The results indicated that most of these parameters were more significantly increased or decreased in female patients compared to male patients, for both genders in the age group (11-15) year compared to healthy individuals.

Molecular study results revealed the presence of a mutant gene and a protein for Erythropoietin hormone locally for the first time, leading to a significant increase in the gene expression of the *EPO* hormone in these β - thalassemia major patients compared to healthy individuals. This hormone is responsible for regulating and stimulating the production of red blood cells in the bone marrow.

The results of this study indicate that the primary cause of β-thalassemia major is genetic factors. It causes oxidative stress and disruptions in physiological and metabolic processes by depleting antioxidant standards. Additionally, significant changes were observed in physiological, hormonal, and biochemical variables in β-thalassemia major patients due to the increased accumulation of excess iron.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
Mosul University / College of Science
Department of Biology

Physiological, Biochemical and Genetic Assessment of Patients with Major Beta -Thalassemia in Nineveh Governorate

Zeena Zuhair Ibrahim Ali AL-Azzawie

Ph.D. Thesis

Biology /Zoology

Supervised By

Prof. Dr. Muna Hussein Ali Jankeer

1445 A.H. **2024 A.D.**