

وراثة أمراض الجلد الخلقية في العائلات السعودية

إعداد: سامي رجاء العلاسي . إشراف دكتور نور أحمد شيخ

المستخلص

تشير الاضطرابات الجلدية الخلقية إلى التشوهات الجلدية الموروثة الموجودة في المرضى عند الولادة ، ولكنها لا تظهر بالضرورة عند الولادة. يعد انحلال البشرة الفقاعي والسماك الخلقى مثالين شائعين على الأمراض الجلدية الخلقية التي أصبحت نماذج أولية للتطورات الناشئة في علم الوراثة الجزيئي للأمراض الجينية. السبب الجيني لما سبق ذكره أن المرضى في العائلات السعودية لم يتم استكشافهما بشكل جيد بعد. ولذلك ، فإن الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأساس الجزيئي لاضطرابات الجلد الخلقية الوراثية النادرة باستخدام مناهج تسلسل الحمض النووي المتطورة من الجيل التالي وتسهيل تفسير النمط الجيني السريري لتمهيد الطريق نحو الطب الشخصي في العائلات السعودية.

في هذه الدراسة ، قمنا بتسجيل عائلتين ، إحداهما مع انحلال البشرة الفقاعي والأخرى مع السماك الخلقى بناءً على التشخيص السريري وتاريخ المرض ونسب العائلة. قدم كل مشارك (أب ، أم ، المريض محل الدراسة وإخوة مصابة إن وجد) من الأسر المسجلة عينات دم وريدية في أنابيب EDTA ، والتي تم استخدامها لاحقاً لاستخراج الحمض النووي الجيني. تم إجراء تسلسل الإكسوم الكامل ومتابعة التحقق من صحة التسلسل باختبار سانجر للطفرات ، متبوعاً بالتحليل الوظيفي الحسابي للطفرات.

في الأسرة A ، حيث تم التعرف على حالة مرضية مصابة بالسماك الصفائحي (العائلة A) ، تم تحديد المرض لكونه ناتجاً عن طفرات مركبة غير متجانسة لم تكتشف من قبل وهي ، $c.1141G > A$ (p.Ala381Thr) ، البديل الموروث من الأب و $c.758-1G > C$ البديل الموروث من الأم. توقع تحليلنا الحسابي أن متغير p.Ala381Pro يسبب العديد من الاضطرابات الهيكلية في بروتين TGM1 ، عن طريق تغيير تكوينه واستقراره وإمكانية الوصول إلى المذبيبات وخصائص ارتباط الهيدروجين. يمكن لمتغير $c.758-1G > C$ إلغاء موقع مستقبل AG العادي عند تقاطع الإنترون-والاكسون ويؤدي إلى الاحتفاظ بالإنترون رقم ٤ وإنتاج حمض ،نووي ريبي طويل ، والذي سيخضع في النهاية للاضمحلال . يمكن أن تتسبب كل من طفرات TGM1 في انخفاض مستويات نشاط الجلوتاميناز الموصل في الجلد وتسبب في الإصابة بالسماك الصفائحي. سيكون للبيانات الجينية TGM1 التي تم إنتاجها في هذه الدراسة آثار مهمة على تشخيص ما قبل الولادة ، والوقاية من المرض في الأفراد المعرضين للخطر وتمهد الطريق للعلاجات المستقبلية التي تستهدف الطب الشخصي.

في الأسرة B مع انحلال البشرة الفقاعي ، لوحظ أن المريض قد ورت طفرة $c.915G > A$ من كلا الوالدين في وضع صبغي جسدي متنحي. تتسبب الطفرة $c.915G > A$ في اقتطاع بروتين سابق لأوانه في الحمض الأميني رقم ٣٠٥ ، ينتج عنهيروتين اقصر بـ ١٦٧ حمضاً أمينياً من الحمض الأميني بدون الطفرة المؤلف من ٤٧٢ حمض اميني فعلي الطويل. يتم اقتطاع بروتين KRT14 قبل الأوان في بقايا الأحماض الأمينية ٣٠٥ الموجودة في مجال B٢ ، ويثبط استقرار الحمض النووي الريبي المرسل ويعزز اضمحلاله. تؤثر طفرة KRT14 (W305X) على لف الخيوط ، التي تتكون بالفعل من K5 و K14 ، بحيث تفشل في الدعم الميكانيكي للخلايا القاعدية في البشرة ، التي تفنقر إلى إنتاج بروتين K14. وبالتالي ، يمكن أن يشكل الفحص الجيني لـ KRT14 أساساً جديداً لتطوير علاجات طبية دقيقة في المستقبل تهدف إلى إدارة مرضى EBS المرضى.

Genetics of Congenital Skin Disorders in Saudi Families

By: Sami Raja Alallasi, Supervisor: Dr. Noor A. Shaik

Abstract

Congenital skin disorders refer to the inherited cutaneous abnormalities, which are present in patients at birth. Epidermolysis Bullosa (EB) and Congenital Ichthyosis (CI) are two common examples of congenital skin conditions which have become the prototypes of emerging developments in molecular genetics of genodermatoses. The genetic cause of the above said two diseases in Saudi families is still not well explored. Therefore, the aim of the present study is to identify, the molecular basis of rare inherited congenital skin disorders using advanced next generation DNA sequencing approaches, and, to facilitate the genotype-clinical phenotype interpretation for paving the way towards personalized medicine in Saudi families.

In this study, we have enrolled two families, one with Epidermolysis Bullosa and one with Congenital Ichthyosis based on their clinical diagnosis, disease history, and family pedigree. Each participant (father, mother, index case and the affected sibling) of the enrolled families have provided venous blood samples in EDTA tubes, which were later used for extracting the genomic DNA. The whole exome sequencing and follow-up Sanger sequencing validation of mutations was performed, followed by computational functional analysis of the mutations.

In family A, where the index case suffering with Lamellar ichthyosis the disease was identified to be caused by novel compound heterozygous mutations (c.1141G>A and c.758-1G>C) in Transglutaminase-1 gene (TGM1), which were inherited from parents. Our computational analysis has predicted that p.Ala381Pro variant causes several structural disturbances in Transglutaminase-1(Tgase-1) protein, by altering its conformation, stability, solvent accessibility and hydrogen bonding properties. The c.758-1G>C variant could abrogate the normal AG acceptor site at exon-intron junction and leads to the retainment of intron-4 retention and produce long mRNA, which would eventually undergo non-sense mediated mRNA decay. Both TGM1 mutations could have caused lower levels of transglutaminase activity in skin and caused the Lamellar ichthyosis. The TGM1 molecular data produced in this study, would have important implications for the prenatal diagnosis, disease prevention in risk group individuals and pave a way for future therapies aimed at personalized medicine.

In family B with Epidermolysis Bullosa, the index was seen to have inherited the c.915G>A mutation from both parents in an autosomal recessive mode. The c.915G>A mutation causes the premature truncation of protein at 305th amino acid, which is 167 amino acids shorter than the actual 472 amino acid long protein. The premature truncation of KRT14 protein at 305th amino acid residue located in 2B domain, and destabilize its mRNA and promotes the non-sense mediated mRNA decay. The KRT14 mutation (W305X) affects the winding of the filaments, which are actually composed of K5 and K14, such that they fail to provide mechanical support to epidermal basal cells, which lacks the expression of K14 protein. Thus, genetic screening of KRT14 could form a new basis for developing future precision medicine therapies aimed at managing the patients EBS patients.