

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي* ، اسماء محمد صالح المهدي* و لى امير ياسر**

*جامعة بغداد - كلية العلوم للنبات - قسم علوم الحياة

**الجامعه المستنصرية - مركز امراض الدم

الخلاصة

مرض السكري – النوع الثاني (Diabetes Mellitus type 2) هو مجموعه من الامراض الاستقلابيه والناجيه عن ارتفاع السكر في الدم بسبب خلل في افراز الانسولين ، عمل الانسولين او كليهما. اجريت هذه الدراسه لتقييم المستوى المصلي للعامل E-selectin لدى مرضى السكري وعلاقته بتعدد الاشكال الوراثيه لجين E-selectin عند الموقع A561C وتقييم العلاقة بين عوامل الخطوره التقليديه والعامل E-selectin . شملت الدراسه (100) عينه لذكور عراقيين. المجموعه الاولى (80) مريض مصاب بالسكري من النوع الثاني والمجموعه الثانيه (20) من الاصحاء اعتمدت كسيطره . تم قياس المؤشرات السريرييه من مصل الدم لكلا المجموعتين وشملت قياس مستوى السكر في الدم والسكر التراكمي و الكوليسترول و الدهون الثلاثيه و الدهون عاليه الكثافه و الدهون واطنة الكثافه و الدهون واطنة الكثافه جدا ومؤشر تصلب الشرايين . السكر في الدم والسكر التراكمي اظهر فروق معنويه بين المرضى والسيطره بينما الكوليسترول والدهون بانواعها اظهر فروق غير معنويه ماعدا الدهون عاليه الكثافه ذات فروق غير معنويه في السيطره مقارنة بالمرضى . تم قياس تركيز جزيء الالتصاق E-selectin في مصل دم المرضى (66) فرد وقورنت بالسيطره (20) فرد باستخدام جهاز الاليزا واطهرت النتائج فروق معنويه عند المرضى مقارنة بالسيطره . اما الدراسه الجزيئيه شملت (74) فرد من المرضى و(20) فرد من السيطره . تضمنت تقنية PCR-RFLP. نتائج الترحيل الكهربائي لجين E-selectin عند الموقع A561C اطهرت وجود البولين هما A,C ووجود ثلاثة تراكيب وراثيه هي (AA,AC,CC), وان تكرار التراكيب الوراثيه (AA,AC,CC) ذات فروق غير معنويه في مجموعه المرضى مقارنة بالسيطره . سجل الاليل A نسبة اعلى من الاليل C في المرضى والسيطره ، واطهر الاليل A فرقا غير معنويا في السيطره مقارنة بالمرضى باستعمال اختبار فشر وبالاعتماد على فترة الثقة وظهر الاليل A كأليل وقائي من المرض ، وان الاليل C اظهر فرقا غير معنويا في المرضى مقارنة بالسيطره باستعمال اختبار فشر وبالاعتماد على مدة الثقة وظهر الاليل C كأليل مرتبط بالمرض. اظهر تكرار الطراز الوراثي AA فرقا غير معنويا في السيطره مقارنة بالمرضى وظهر كنمط وراثي من الاصابه بالمرض ، واطهر تكرار الطراز الوراثي AC فرقا غير معنويا في المرضى مقارنة بالسيطره وظهر كنمط وراثي مرتبط بخطر الاصابه بالمرض ، واطهر تكرار الطراز الوراثي CC فرقا غير معنويا في المرضى مقارنة بالسيطره وظهر كنمط وراثي

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

مرتبط بخطر الاستعداد للاصابه بالمرض . ويمكن الاستفاده منها كمؤشرات لاستعداد افراد المجتمع العراقي من الذكور للاصابه بالمرض .
الكلمات المفتاحية: السكري، عامل E-selectin، A561C .

Polymorphisms of Eselectin gene in the Arab Iraqi patients with Diabetes mellitus Type 2

Amaal Yusif Al Hasnawi*، Asmaa Mohammed Salih Almohaidi* and Luma Ameer Yaser**

* Baghdad University- Thesis College of Science for Women- Baghdad, Iraq

**Al Mustansirya University- Blood disease Center- Baghdad .Iraq

Received 17 August 2016 ; Accepted 27 September 2016

Abstract

Diabetes - Type II (DMT2) is a group of metabolic diseases resulting from high blood sugar because of a defect in insulin secretion, insulin action, or both This study Conducted to evaluate serum level of factor E-selectin in patients with diabetes and its relationship to the Polymorphisms genetic gene E-selectin at the site A561C and assess the relationship between classical factor E-selectin factors . The study included 100 male sample of Iraqi people. The first group (80) patients with diabetes type II and second group (20) of healthy as control samples. Was measured clinical indicators of blood serum for both groups included measuring the level of sugar in the blood and HbA1c and cholesterol and triglycerides and HDL and LDL and VLDL Athergenic Index. Blood sugar and HbA1c showed significant differences between patients and control while the cholesterol and fat of all kinds showed no significant differences, except for fat, high-density non-significant differences compared to control patients. It was measured by the concentration of the adhesion molecule E-selectin in the patients' blood serum (66) and compared to control a person (20) individual using the

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

ELISA device and results showed significant differences in patients than controls. Molecular study parts included (74) individual patients and (20) of individual control. It included PCR-RFLP technique. Electrophoresis results for Jene E-selectin at the site A561C showed the presence of alleles are A, C and the presence of three genotypes are, (AA, AC, CC) and repeat compositions genetic (AA, AC, CC) with no significant differences in the patient group than controls . History allele a higher proportion of allele C in patients and control, and showed allele a no significant difference in control compared to patients using the test Fisher and relying on the Confidence Intervals (CI) and showed a preventive faction (PF) of the disease, and that the allele C showed a no significant difference in patients than controls using test Fisher depending on the Confidence Intervals (CI) and showed that the allele C was Etiological faction (EF). Repeat genotype AA difference is no significant in control compared to patients style of preventive faction (PF) of disease, showed a repeat genotype AC difference is no significant in patients than controls and appeared style of Etiological faction (EF) of disease, showed a repeat genotype CC no significant difference in patients than controls and Etiological faction (EF) of disease.

Key words: Diabetes , E-selectin , A561C

المقدمة

مرض السكري هو مجموعه من الاضطرابات الايضيه التي تتميز بارتفاع السكر في الدم الناتجه عن خلل في افراز الانسولين ، عمل الانسولين او كليهما (1) . تنشأ من التفاعلات المعقده بين العوامل البيئيه والوراثيه المتعدده (2) والعوامل المناعيه (3). التقليديه مثل العمر والسمنه و قلة النشاط البدني ونمط الحياة والتاريخ العائلي و الدهون ومعامل التصلب (4) ويتاثر بالعوامل البيئيه والوراثيه والالتهابيه (5,6). تعتبر العوامل الوراثيه عوامل خطوره لمرضى السكري وترتبط بالتاريخ العائلي والافراد من اقارب الدرجة الاولى معرضون لخطر الاصابه بمرض السكري بصورة اكبر (7) . يتاثر المرض بعوامل التصاق الخلايا (Cellular Adhesion Molecules) التي تزيد من معدل ارتباط الخلايا المناعيه للمفاويه ببطانة الاوعيه الدمويه ومن هذه العوامل E –selectin وهو بروتين سكري يتم تصنيعه من قبل الخلايا البطانيه ويعرض على سطوح اغشيتها ويلعب دورا هاما في التصاق الكريات البيض ببطانة الاوعيه الدمويه وهجرتها من الوعاء الدموي عبر بطانة الاوعيه الشعريه الشريانيه الى موقع الالتهاب (8). لاجل ذلك صممت الدراسه الحاليه لتقييم المستوى المصلي للعامل E –selectin لدى مرضى السكري وعلاقته بتعدد الاشكال الوراثيه وتقييم اثر العلاقة بين عوامل الخطوره التقليديه والعامل E –selectin .

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لمى امير ياسر

المواد وطرائق العمل

اجريت الدراسة على مجموعتين من الذكور العراقيين من تشرين الثاني (2015) ولغاية شباط (2016) من المراجعين الى مستشفى اليرموك التعليمي و مستشفى الامامين الكاظميين (ع) والمركز الصحي في السدييه .المجموعه الاولى (80) مريض مصاب بالسكري من النوع الثاني والمجموعه الثانيه (20) من الاصحاء اعتمدت كسيطره .
تم جمع معلومات من كلا المجموعتين بالنسبه للعمر ومحيط البطن (هو قياس تقريبي من الحافه السفلى للاضلاع الى اعلى عظم الحرقه) والتاريخ العائلي والطول والوزن والتدخين واستبعدنا الذكور المصابين بالضغط والدهون والامراض المزمنه الاخرى. مدة الاصابه بمرض السكري بالنسبه للمصابين كانت لاتزيد عن (10) سنوات وتتراوح اعمارهم 78-25 سنه ومتوسط الاعمار كان (51.11) سنه. والسيطره تراوحت اعمارهم 70-22 سنه ومتوسط الاعمار كان (45.95) سنه. تم اخذ (10) مل من الدم الوريدي لكلا المجموعتين بعد (12) ساعه صيام ، جزء من الدم وضع في انابيب اعتياديه خاليه من ماده المانع للتخثر ووضعت في جهاز الطرد المركزي (3000 دوره/ دقيقه) لغرض جمع مصل الدم (serum) وتم قياس المؤشرات الكيميوحيويه وتركيز E-selectin حسب تعليمات العده لشركة (Boster Biological Technology,USA) وقسم اخر وضع في انابيب اختبار حاويه على ماده مانعه للتخثر(EDTA) تستخدم لتقدير نسبة السكر التراكمي (HbA1c) وقسم اخر وضع بنفس الانابيب وحفظ بدرجة (-20) ليستخدم في الجانب الوراثي .
الدراسه الجزيئيه تم اعتماد تقنية PCR-RFLP حيث تم استخلاص الدنا من الدم حسب تعليمات عده الاستخلاص (Kit) من شركة (Intron/Korea) واجريت عملية الترحيل الكهربائي للكشف عن قطع الدنا و تم تضخيم الدنا بتقنية الـ (PCR) وتسلسل القواعد النيتروجينيه في البوادىء كانت كما في الجدول ادناه :

جدول (1) يبين تسلسل القواعد النيتروجينية لجين E-selectin عند الموقع A561C :

الجين	التسلسل
عند E-selectin	F : 5'- GCTGATGTCTCTGTTGCACACTG -3'
الموقع A561C	R : 5'-CCATATGACACCATCTGCACCAG -3'

تم استخدام العده (Maxime PCR PreMix Kit i-Taq) ، حسب تعليمات الشركة المصنعه (Intron/Korea) ، وحضر محلول التفاعل و حسب الجدول ادناه :

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب
امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

جدول (2) المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل :

المكونات	الحجم
(Master Mix) Maxime PCR PreMix) الخليط الرئيسي	5µl
Template DNA قالب الدنا	2µl
Primers البواديء	1F,IR
Deionized Water الماء المزال الايونات	16µl
Total الحجم النهائي	25µl

مزجت المواد اعلاه ونقلت الى جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل وتم ضبط ظروف التفاعل الخاصه بالقطعه المراد تضخيمها
كما في الجدول ادناه :

جدول (3) برنامج تضاعف جين E-selectin عند الموقع A561C باستخدام تقنية الـ (PCR) :

No.	الخطوات	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
1	Denature template مسخ القالب	95C°	5min.	1
2	Denature المسخ	95C°	30 sec.	35
3	Annealing الالتحام	62C°	45sec.	
4	Extension الاستطالة	72C°	45sec.	
5	Final Extension الاستطالة النهائية	72C°	5min	1
6	Incubation المرحلة النهائية للحضن	4	-	-

تم ترحيل عينات الدنا المضخمه بعد انتهاء التفاعل . وزن الاكاروز (2%) غم/مل . والتأكد من الدنا و استخدام انزيم القطع
(Pst1) من شركة (Intron/Korea) وبتركيز (10,000 units) لهضم عينات الدنا المضخمه الناتجه من تفاعل
الـ (PCR) وكما في الجدول ادناه:

جدول (4) المواد المستخدمة في تقنية PCR-RFLP :

المكونات Component	الحجم Reaction size
Pst1	1 µl
10x H Buffer	2 µl
Substrate DNA	5µl
Sterilized distilled Water	7µl
Total	15µl

تعدد الأشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لمى امير ياسر

مزجت المواد أعلاه ثم نُقلت انابيب جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل وتم ضبط ظروف التفاعل الخاصة بدرجة حرارة (37C°) ولمدة (3) ساعات وخلالها يتعرف الأنزيم على موقع معين ضمن القطعة المتضاعفة وتقطع بالأنزيم القاطع ويتم إجراء الترحيل الكهربائي للعينات المقطوعة للكشف عن مواقع القطع اما وزن الاكاروز المناسب (3%) غم/مل .

التحليلات الإحصائية

استعمل البرنامج الإحصائي SAS- Statistical Analysis System (2012) في تحليل البيانات لدراسة تأثير العوامل المختلفة في الصفات المدروسة باستعمال اختبار (t-Test) ، استخراج معامل الارتباط بين الصفات المدروسة، وحللت تكرارات التراكيب الوراثية واليالتها لاستخراج عامل الخطوره (RR) ومدة الثقة (CI) Confidence Intervals باستخدام اختبار فشر Fisher's Test تحت مستوى احتمالية $P < 0.05$ ، كما حللت النتائج باستخراج القيم المشاهده والمتوقعه باستعمال قانون التوازن هاردي-واينبرك وحسب البرنامج WINPEPI الموجود على الموقع الالكتروني <http://www.brixtonhealth.com>. قورنت الفروق المعنوية بين النسب المدروسة باختبار مربع كاي (Chi-square) باستعمل البرنامج الإحصائي SAS- Statistical Analysis System (2012) .

النتائج

يبين جدول (5) مقارنة متغيرات القياسات البشريه بين المرضى والسيطره. اظهر المرضى زياده غير معنويه في متوسط كتلة الجسم الحيويه (27.94 ± 0.55) مقارنة بالسيطره (26.85 ± 0.86). سجل متوسط محيط البطن زياده غير معنويه لدى السيطره (104.45 ± 2.91) مقارنة بالمرضى (97.71 ± 1.40) .

جدول (5) مقارنة متغيرات القياسات البشريه بين المرضى والسيطره :

قيمة t-Test	المتوسط ± الخطأ القياسي		الصفات
	السيطره	المرضى	
NS 2.385	0.86 ± 26.85	0.55 ± 27.94	كتلة الجسم الحيويه
---	33.89- 20.76	40.62-16.97	المدى
NS 14.79	2.91 ± 104.45	1.40 ± 97.71	محيط البطن (سم)
---	130.00-85.00	125.00-75.00	المدى
* (P<0.05)، ** (P<0.01)، NS: غير معنوي			

جدول (6) يبين مقارنة المتغيرات الكيمائية بين المرضى والسيطره . سجل مستوى السكر في الدم زياده معنويه في المرضى (234.24 ± 13.44) مقارنة بالسيطره (101.05 ± 1.94) . السكر التراكمي سجل زياده معنويه في مصل

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لمى امير ياسر

المرضى (0.82 ± 9.07) مقارنة بالسيطره (0.16 ± 5.63) . سجل الكولسترول زياده غير معنويه في مصل المرضى (4.14 ± 179.20) مقارنة بالسيطره (7.41 ± 169.00) . الدهون الثلاثيه سجلت زياده غير معنويه في مصل المرضى (7.02 ± 177.94) مقارنة بالسيطره (9.96 ± 159.90) . اظهرت الدهون عاليه الكثافه متوسطات متقاربه وبفروق غير معنويه في مصل المرضى (0.81 ± 37.14) مقارنة بالسيطره (1.61 ± 37.90) . الدهون منخفضة الكثافه سجلت زياده غير معنويه في مصل المرضى (3.81 ± 106.47) مقارنة بالسيطره (7.05 ± 99.12) . الدهون منخفضة الكثافه جدا اظهرت زياده غير معنويه في مصل المرضى (1.41 ± 35.59) مقارنة بالسيطره (1.99 ± 31.98) . اظهر مؤشر تصلب الشرايين انخفاض غير معنوي في مصل المرضى (0.17 ± 4.81) مقارنة بالسيطره (0.35 ± 5.07).

جدول (6) مقارنة المتغيرات الكيمياءيه بين المرضى والسيطره :

قيمة t-Test	المتوسط ± الخطأ القياسي		الصفات
	السيطره	المرضى	
** 53.56	1.94 ± 101.05	13.44 ± 234.24	السكر في الدم (mg/dl)
** 3.278	0.16 ± 5.63	0.82 ± 9.07	السكر التراكمي
NS 18.04	7.41 ± 169.00	4.14 ± 179.20	الكولسترول (mg/dl)
NS 29.64	9.96 ± 159.90	7.02 ± 177.94	الدهون الثلاثيه (mg/dl)
NS 3.597	1.61 ± 37.90	0.81 ± 37.14	الدهون عاليه الكثافه (mg/dl)
NS 16.69	7.05 ± 99.12	3.81 ± 106.47	الدهون منخفضة الكثافه (mg/dl)
NS 5.928	1.99 ± 31.98	1.41 ± 35.59	الدهون منخفضة الكثافه جدا (mg/dl)
NS 0.779	0.35 ± 5.07	0.17 ± 4.81	مؤشر تصلب الشرايين

* (P<0.05)، ** (P<0.01)، NS: غير معنوي

جدول (7) يوضح مقارنة مستوى E. selectin بين المرضى والسيطره . سجل زياده معنويه في مستوى E. selectin في مصل المرضى (126.19 ± 1816.85) مقارنة بالسيطره (71.67 ± 834.10) .

جدول (7) مقارنة مستوى E. selectin بين المرضى والسيطره :

قيمة t-Test	المتوسط ± الخطأ القياسي		الصفات
	السيطره	المرضى	
** 470.66	71.67 ± 834.10	126.19 ± 1816.85	(pg/ml) E. selectine

** (P<0.01).

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

جدول (8) يبين الارتباط بين المتغيرات الكيميوحيوية والصفات لمجموعه المرضى . اظهر السكر في الدم وجود ارتباط سالب معنوي (-0.20) مع كتلة الجسم وارتباط سالب غير معنوي مع محيط البطن وعامل E. selectin . السكر التراكمي (HbA1c) اظهر وجود ارتباط سالب معنوي مع محيط البطن وعامل E. selectin ووجود ارتباط سالب مع فروق غير معنويه (-0.11) مع كتلة الجسم الحيويه . اظهر الكولسترول وجود ارتباط معنوي (0.23) مع محيط البطن ووجود ارتباط غير معنوي (0.09) مع كتلة الجسم ويوجد ارتباط سالب معنوي (-0.21) مع عامل E. selectin . سجلت الدهون الثلاثيه وجود ارتباط غير معنوي مع محيط البطن وكتلة الجسم الحيويه ووجود ارتباط سالب غير معنوي (-0.04) مع عامل E. selectine . الدهون عالية الكثافه اظهرت وجود ارتباط سالب غير معنوي مع محيط البطن وكتلة الجسم الحيويه وعامل E. selectin . سجلت الدهون منخفضة الكثافه وجود ارتباط معنوي (0.21) مع محيط البطن ووجود ارتباط غير معنوي (0.12) مع كتلة الجسم الحيويه ووجود ارتباط سالب معنوي (-0.21) مع عامل E. selectin . اظهرت الدهون منخفضة الكثافه جدا وجود ارتباط غير معنوي مع محيط البطن وكتلة الجسم الحيويه ووجود ارتباط سالب غير معنوي (-0.04) مع عامل E. selectin . اظهر مؤشر تصلب الشرايين وجود ارتباط معنوي مع محيط البطن والعامل E. selectin ووجود ارتباط سالب غير معنوي (-0.02) مع كتلة الجسم الحيويه.

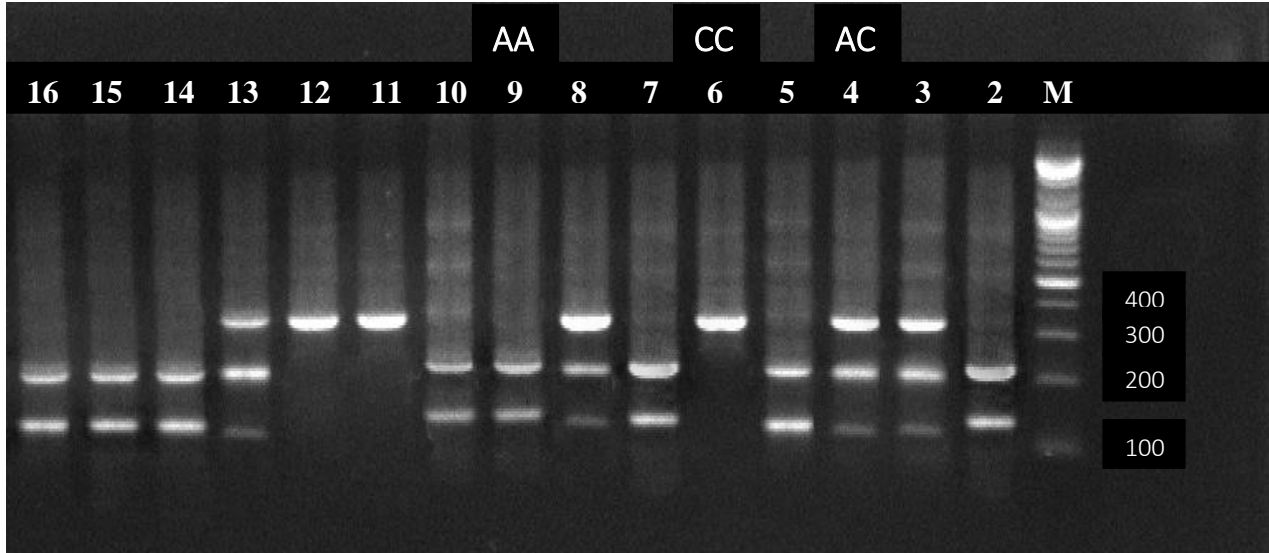
جدول (8) معامل الارتباط بين المتغيرات والصفات المدروسة لدى مجموعة المرضى :

E. selectin	BMI	CO	الصفات
NS 0.12-	* 0.20-	NS 0.08-	السكر في الدم
* 0.21-	NS 0.11-	* 0.20-	السكر التراكمي
* 0.21-	NS 0.09	* 0.23	الكولسترول
NS 0.04-	NS 0.04	NS 0.12	الدهون الثلاثيه
NS 0.07-	NS 0.15-	NS 0.02-	الدهون عالية الكثافه
* 0.21-	NS 0.12	* 0.21	الدهون منخفضة الكثافه
NS 0.04-	NS 0.04	NS 0.12	الدهون منخفضة الكثافه جدا
NS 0.06	NS 0.02-	NS 0.05	مؤشر تصلب الشرايين
* (P<0.05) ، NS: غير معنوي.			

شكل (1) يبين طول قطعة الدنا الناتج (323bp) وبعد الهضم بالانزيم القاطع وبعد الترحيل الكهربائي كانت بطول (204bp) و (119bp) قاعده نتروجينية لتكرار التركيب الوراثي (AA) (homozygote) في حين كانت بطول (323p) ، (204bp) و (119bp) قاعده نتروجينية لتكرار التركيب الوراثي (AC) (heterozygote) واما تكرار التركيب الوراثي (CC) (homozygote) كانت بطول (323bp) قاعده نتروجينية.

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر



شكل (1) التحليل الكهربائي لتعدد الاشكال لجين E-selectin عند الموقع A561C باستخدام PCR-RFLP حيث يتضح التركيب الوراثي AA في المسارات رقم (16,15,14,10,9,7,5,2) والتركيب الوراثي AC في المسارات رقم (13,8,4,3) والتركيب الوراثي CC في المسارات رقم (12,11,6).

جدول (9) دراسة تعدد النمط الوراثي لجين E-selectin عند الموقع A561C في مجموعة المرضى (74) عينه ومجموعة السيطره (20) عينه باستخدام قانون التوازن هاردي واينبرك . في مجموعة المرضى القيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي AA كانت 43 (58.11%) اما القيمة المتوقعه كانت 39.4 (53.25%) ، والقيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي AC كانت 22 (34.38%) والقيمة المتوقعه كانت 29.19 (39.44%) ، والقيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي CC كانت 9 (14.06%) اما القيمة المتوقعه كانت 5.41 (7.3%) ، سجل الاليل A نسبة (72.97%) مقارنة بالليل C نسبة 40 (27.03%) ، قيمة مربع كاي كانت (0.034) وكانت الفروق عالية المعنويه ($P < 0.01$) بين تكرارات التراكيب الوراثيه. مجموعة السيطره القيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي AA كانت 14 (70%) والقيمة المتوقعه كانت 13.61 (68.06%) ، والقيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي AC كانت 5 (25%) اما القيمة المتوقعه كانت 5.77 (28.87%) ، والقيمة المشاهده في تكرار التركيب الوراثي CC كانت 1 (5%) اما القيمة المتوقعه كانت 0.61 (3.06%) ، سجل الاليل A نسبة 33 (82.5%) وسجل الاليل C نسبة 7 (17.5%) ، قيمة مربع كاي كانت (0.548) وكانت الفروق غير معنويه بين تكرارات التراكيب الوراثيه .

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

جدول (9) النسب المشاهدة لتكرار جين E-selectin عند الموقع A561C في مجاميع الدراسة حسب قانون التوازن

هاردي - وينبرك

H-W $X^2 P \leq$	A561C عند الموقع E-selectin					المجاميع			
	C	A	CC	AC	AA	No.	المشاهدة	السكري النوع الثاني	
0.034	40	108	9	22	43	No.	المشاهدة		
	27.03	72.97	14.06	34.38	58.11	%			
	غير مشخص		5.41	29.19	39.4	No.	المتوقعة		
			7.3	39.44	53.25	%			
0.548	7	33	1	5	14	No.	المشاهدة	السيطرة	
	17.5	82.5	5	25	70	%			
	غير مشخص		0.61	5.77	13.61	No.	المتوقعة		
			3.06	28.87	68.6	%			

جدول (10) حول التحليل الاحصائي يبين ان هناك فروق غير معنوية في المرضى مقارنة بالسيطرة باستعمال اختبار فشر، تكرار التركيب الوراثي AA سجل عامل خطوره له (0.59) وظهر كنمط وراثي وقائي من خطر الاصابه بالمرض بلغت قيمته (0.406) واطهر فروقا غير معنويه (0.441) حسب احتمالية فشر وفترة الثقة كانت قيمتها ما بين (0.17-1.89) تحت نسبة 95%. تكرار التركيب الوراثي AC عند التحليل الاحصائي باستعمال اختبار فشر سجل عامل الخطوره (1.27) وظهر كنمط وراثي مرتبط بخطر الاصابه بالمرض وبلغت قيمته (0.212) واطهر فروقا غير معنويه (0.786) حسب احتمالية فشر وفترة الثقة كانت قيمتها ما بين (0.38 - 5.01) تحت نسبة 95% ، عند التحليل الاحصائي باستخدام اختبار فشر اظهر تكرار التركيب الوراثي CC عامل خطوره (2.63) وظهر كنمط وراثي مرتبط بخطر الاصابه بالمرض وبلغت قيمته (0.620) واطهر فروقا غير معنويه (0.683) حسب احتمالية فشر وفترة الثقة كانت قيمتها ما بين (0.32 - 121.29) تحت نسبة 95% ، كما سجل الاليل A عامل خطوره مقداره (0.57) وظهر كإليل وقائي من الاصابه بالمرض (0.427) وبفرق غير معنوي مقداره (0.303) حسب احتمالية فشر وفترة الثقة مقدارها ما بين (1.46 - 0.20) تحت نسبة 95% ، وسجل الاليل C عامل خطوره مقداره (1.75) وظهر كإليل مرتبط بالمرض (0.427) واطهر فرقا غير معنويا وحسب احتمالية فشر (0.303) وكانت فترة الثقة ما بين (5.04-0.68) .

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنواي ، اسماء محمد صالح المهدي و لى امير ياسر

جدول (10) التحليل الاحصائي لتقييم العلاقة بين التركيب الوراثي والاليات لجين E-selectin في مجاميع الدراسه :

التقييم الاحصائي				E-selectin عند الموقع A561C	نوع المقارنة
فترة الثقة %95	احتمالية فشر	العامل الوقائي او العامل الوبائي	عامل الخطورة		
0.17-1.89	0.441 NS	0.406	0.59	AA	مرض السكري مقارنة بالسيطرة
0.38 -5.01	0.786NS	0.212	1.27	AC	
0.32 -121.29	0.683NS	0.620	2.63	CC	
0.20 -1.46	0.303 NS	0.427	0.57	A	
0.68 - 5.04	0.303NS	0.427	1.75	C	

المناقشة

تشير الدراسه الحاليه ان متوسط كتلة الجسم الحيويه اظهر زياده غير معنويه في مجموعة مرضى السكري مقارنة بالسيطره ويتفق مع دراسات محليه اظهرت وجود علاقه بين مرض السكري ومؤشر كتلة الجسم الحيويه (9،10)، ودراسه محليه اخرى بينت عدم وجود اختلاف كبير بين متوسط مؤشر كتلة الجسم الحيويه في المرضى الذين يعانون امراض القلب التاجيه ومرض السكري من النوع الثاني مقارنة بالسيطره (11). دراسه على المرضى الايرانيين بينت ان هناك علاقه بين مؤشر كتلة الجسم ومعدل الاصابه بمرض السكري (12). ولا يتفق مع دراسه محليه استنتجت ان مؤشر كتلة الجسم الحيويه في المرضى اقل مما في السيطره (13). حيث ان ارتفاع كتلة الجسم يعد عامل خطوره للاصابه بالسكري (14). اظهر مؤشر محيط البطن في مجموعة السيطره زياده غير معنويه مقارنة بمجموعة المرضى وهو لا يتفق مع دراسه محليه على النساء المصابات بمرض السكري من النوع الثاني حيث كانت هناك زياده معنويه في متوسط المرضى (30.72 ± 0.76) مقارنة بالسيطره (27.65 ± 0.75) (14)، ودراسه اخرى اظهرت ان زيادة محيط البطن في مرضى السكري تزداد بعد عمر 40 سنة (15)، ودراسات سابقه اظهرت زيادة متوسط محيط البطن يؤدي الى زيادة خطر تطور مرض السكري من النوع الثاني (16، 17). تشير البيانات الحاليه الى ان متوسط السكر في الدم والسكر التراكمي سجل زياده معنويه في مجموعة المرضى مقارنة بالسيطره وهذه النتائج تشابه دراسه اخرى اثبتت ان الجمع بين المتغيرين يحدد الافراد الذين هم في خطر التقدم بمرض السكري (18)، و دراسات محليه اشارت بياناتها ان نسبة السكر في الدم اظهر زياده معنويه في المرضى مقارنة بالسيطره (9،13،14) وتتفق هذه النتائج مع دراسات اخرى (12،19،20،21). اظهرت الدراسه الحاليه بان متوسط مستوى الدهون (الكوليسترول والدهون الثلاثيه والدهون واطئة الكثافه والدهون واطئة الكثافه جدا) في مجموعة المرضى يزداد زياده غير معنويه مقارنة بالسيطره وهذه النتائج تتفق مع نتائج دراسات محليه اخرى توصلت الى عدم زياده مستويات مصل الدم من الدهون في المرضى مقارنة بالسيطره زياده معنويه

تعدد الاشكال لجين E selectin في مرضى السكري من النوع الثاني العراقيين العرب

امال يوسف الحسنوي ، اسماء محمد صالح المهدي و لمى امير ياسر

(12,19,20,21,22). في دراسته الحاليه لم تظهر فروق معنويه بين مستويات الدهون عاليه الكثافه للمرضى والسيطره وبهذا تتفق مع دراسات اخرى بينت عدم وجود فروق معنويه في مستويات الدهون بين المرضى والسيطره (23,24). وقد وجد بان هناك علاقه بين السكري – النوع الثاني واضطراب الشحوم في الدم ، حيث ان مقاومة الانسولين تؤثر في عملية التمثيل الغذائي للدهون وتكوين البروتين الدهني منخفض الكثافه والبروتينات الدهنيه الاخرى في المرضى الذين يعانون من مرض السكري – النوع الثاني وتاخر ازالة الدهون الثلاثيه التي قد تكون اساسا لزيادة مستويات انتاج الدهون الثلاثيه والاحماض الدهنيه الحره ومستويات الكلوز وقلة الدهون عاليه الكثافه (25). البيانات الحاليه تبين زياده مستوى E-selectin في مصل مجموعة الرجال المرضى زياده معنويه عن مجموعة السيطره وتتفق مع نتائج دراسته محليه على النساء مصابات بمرض السكري - النوع الثاني (14). تتفق مع دراسات سابقه اثبتت ان هناك فرق معنوي في عامل E-selectin في مرضى السكري (26,27). دراسته اخرى اظهرت ان عامل E-selectin كان مؤشرا لخطر الاصابه بمرض السكري من النوع الثاني الذي يصيب الرجال والنساء الالمان (28). بينت النتائج الحاليه وجود ارتباط بين الصفات الكيميوحيويه ومحيط البطن وكتلة الجسم الحيويه وعامل E-selectin في المرضى الذين يعانون من مرض السكري ، عدم وجود ارتباط مع فروق معنويه بين السكر التراكمي ومحيط البطن وهي لانتفق مع دراسته سابقه بينت ان هناك علاقه بين تطور المرض ومحيط البطن (14,29)، هناك ارتباط مع فروق معنويه بين محيط البطن والكوليسترول والدهون منخفضة الكثافه وتتوافق مع دراسته اظهرت ان زيادة السكر في الدم وارتفاع الدهون هي عوامل خطوره فعاله تحدث اثار جانبيه في مرضى السكري ومنها الزيادة في محيط البطن ، لان الخلايا الدهنيه في البطن تفرز حركيات خلويه تسبب زياده في العوامل الالتهابيه (16). الدرسته الحاليه اظهرت عدم وجود ارتباط مع فروق معنويه بين مستوى السكر في الدم وكتلة الجسم الحيويه ولاتتوافق مع دراسته محليه اكدت ان هناك ارتباط مع فروق معنويه بين مستوى السكر في الدم وكتلة الجسم الحيويه (29) ، وعدم وجود ارتباط مع فروق معنويه بين مستوى عامل E-selectin والسكر التراكمي والكوليسترول والدهون منخفضة الكثافه وتتوافق مع بعض نتائج دراسته محليه سابقه اكدت وجود ارتباط مع فروق غير معنويه مع نسبة السكر التراكمي وعدم وجود ارتباط مع فروق غير معنويه مع الكوليسترول والدهون منخفضة الكثافه (14). ورغم وجود ارتباط لكن هناك زياده غير معنويه في كل العوامل المذكوره اعلاه اذ وجد ان ارتفاع مستوى السكر في الاوساط الزراعيه يحفز تعبير جينات E-selectin مقارنة بالمستوى الطبيعي للسكر في المزارع الخلويه (30). عوامل الالتصاق منها E-selectin لها دور بزيادة خطورة المرض (31). عامل E-selectin هو بروتينات غشائيه على سطوح الخلايا البطانيه (32) ، له دور في عملية التصاق الكريات البيض الموجوده في الخلايا البطانيه في الاوعيه الدمويه (33) والذي يقود الى سلسله من الالتهابات التي تقود الى حدوث مرض السكري وتصلب الشرايين ومجموعه من امراض الاوعيه الدمويه (34). اشار مصدر ان معامل الانحدار المتعدد يشير الى وجود علاقه عامه بين التباين الوراثي لعامل E-selectin وعوامل خطوره في امراض شرايين القلب الاكليليه مجتمعه ، وهذا يتفق مع ظهور الارتباط الموجب بين مؤشر تصلب الشرايين وعامل E-selectin (35). ان تكرار التراكيب الوراثيه (AA,AC,CC) لتعدد الاشكال في

جين E-selectin كان هناك زياده معنويه في مجموعة المرضى مقارنة مع السيطره وهي مخالفه للنتائج المتحققه في دراسته على مرضى ايرانيين (8) حيث كان تكرار الطراز المتغاير AC اقل في مرضى السكري مقارنة بالسيطره ، وتتفق مع دراسته اجرية في اليابان (36)، ودراسه اخرى وسط الصين (37) ، ودراسه اجرية في السعوديه (38). بينت نتائج التوزيع التكراري ان هناك فرقا بين القيم المشاهده والمتوقعه حسب قانون التوازن هاردي- واينبرك وان هناك فرقا غير معنويا بين المرضى والسيطره ، وان الاليل C اظهر فرقا غير معنويا لدى المرضى مقارنة بالسيطره باستعمال اختبار فشر مع فترة الثقة تحت نسبة 95% وكانت نسبته كاليل مسبب ومرتبب بالمرض ، بينما اظهر الاليل A فرقا غير معنويا لدى السيطره مقارنة بالمرضى باستعمال اختبار فشر ونسبته كاليل وقائي من المرض . اظهر الطراز الوراثي الطبيعي البري للاليل الاكثر شيوعا المتماثل للاليلين السائدين AA فرقا معنويا لدى السيطره مقارنة بالمرضى باستعمال اختبار فشر وظهر كنمط وراثي وقائي من خطر الاصابه بالمرض ، واطهر الطراز الوراثي المتغاير AC فرقا معنويا لدى المرضى مقارنة بالسيطره وباستعمال اختبار فشر وظهر كنمط مرتبط مع خطر الاصابه بالمرض ، واطهر الطراز الوراثي للاليل الطافر CC فرقا معنويا في المرضى مقارنة بالسيطره وظهر كنمط وراثي مرتبط مع خطر الاصابه بالمرض ، وتبين ان الطراز الوراثي AC والطراز الوراثي CC يرتبطان مع خطر وتطور الاصابه بالمرض وان ارتباط AC مع خطر الاصابه اعلى من ارتباط CC ، وان AC يعتمد عليه كمؤشر لخطر الاصابه ، وايضا ان الطراز الوراثي AA اقل خطوره للمرض وله اهميه كنمط وراثي وقائي من الاصابه بمرض السكري – النوع الثاني . والدراسه تتفق مع دراسته محليه على مرضى السكري من النوع الاول ، حيث ظهر ان الطراز الوراثي الطبيعي البري فرقا معنويا في السيطره مقارنة بالمرضى باستعمال اختبار فشر كما ظهر كنمط وراثي وقائي من الاصابه بالمرض . وظهر ان الطراز الوراثي المتغاير باستعمال اختبار فشر يختلف معنويا في عينة المرضى مقارنة بالسيطره وكنمط وراثي مرتبط بالمرض . اظهر الطراز الوراثي الطافر لا يوجد اختلاف معنوي بين المرضى والسيطره وكنمط وراثي مرتبط بالمرض (39). العوامل الوراثيه المختلفه من ضمنها التغيرات الوراثيه (single nucleotide polymorphisms) تلعب دورا في نشوء الامراض ،(SNP) نيوكليوتيده واحده تحل محل نيوكليوتيده اخرى من تركيب الجين ، تنشأ في الجين في منطقه بالقرب من الجين ، تلعب دور مباشر بحصول المرض وتشمل تأثيرها وظيفة الجين وبسبب تبديل حامض اميني (Serine) في تركيب البروتين بحامض اميني اخر (Arginine) وهذا يؤدي الى تغيير في فعالية البروتين (40) .

المصادر

1. The Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2003; 26: 3160-3167.
2. Sree , K.; Yadav, K . H.; Rao, Y. V. 2013. Pharmacogenomics in Diabetes Mellitus: Pathway to Personalized Medicine . Helix ;1:215-220.

3. King, G. L.2008 The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetes and Its Complications. *J Periodontol.* ;79(8):1527-1534.
4. Dunger, D.B.; Sperling, M.A.; Acerini,C.L.; Bohn, D.J.; Daneman, D. and Danne,T.P.2004.ESPE/LWPES consensus statement on diabetic ketoacidosis in children and adolescents. *Arch Dis Child.*; 89 (2): 188-194.
5. Harvest F.G.;Ma J.;Gu T.K.;and Brismar K.2013. Association of intracellular adhesion molecules 1(ICAM 1)with diabetes and diabetic nephropathy. SE-17176.
6. Zethelius, B.2002. Proinsulin and Insulin Sensitivity as Predictors of type 2Diabetes Mellitus and Coronary Heart Disease Clinical Epidemiological Studies with up to 27 years of follow-up .MSc Thesis Faculty of Medicine .Upsaliensis U.
7. American **Diabetes** Association.2012 . Standards of Medical Care in Diabetes **Diabetes Care** ; 35 (1) :S11-S49.
8. Nakhaee A, Afzali M, Tabatabaei SP, Tirgar Fakheri K, Hashemi M..2013. Association Between A561C Polymorphism of E-Selectin Gene and Coronary Arterial Disease in Southeastern Iranian Population . *Health Scope*; 2(1): 47-51.
9. Abbas Z.KH.2013. . Some Biochemical Immunological and Genetical Aspects in a Sample of Iraqi patients with Type 2 Diabetes Mellitus. MSc Thesis College of Science for Women at University of Baghdad.
10. Abtahi, F.; Naghshzan, A.; Zibaenezhad, MJ.; Heydari, ST.; Khosropanah, Sh.; Zamirian, M.; Aghasadeghi, K. and Moaref , AR . 2010. The Relationship between Body Mass Index and Pre-Diabetes In Teachers Residing in Shiraz-Iran. *Iranian Cardiovasc. Res. J.*; 4 (3): 112-117.
11. Hind, S.A.2012. Assessment of Apolipoproteins A-1, E, Insulin Resistance as a Diagnostic Marker, and Trace Elements Status in Some Iraqi Male Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Complications. MSc Thesis College of Science for Women at University of Baghdad.

12. Al-Musawi, Y.S.A.2011. Antioxidant Status in Coronary Heart Disease Patients, Hypertension and Type 2 Diabetes Mellitus in Missan Town. MSc Thesis Collage of Science. Al-Mustansiriya University.
13. Rasheed.R.H.2015. The Association of Glutathione –S-Transferase (GSTP1) Genetic Polymorphism in Iraqi Patients with Diabetes MellitusType2. MSc Thesis College of Science for Women at University of Baghdad.
14. AL-Mammory .R.M.K.2013. The association between ABO/Rh Blood Groups and Endothelial Inflammatory Parameters in Iraqi Arab Females with Diabetic Mellitus Type 2. MSc Thesis College of Science for Women at University of Baghdad.
15. Odegaard O.A.;Koh P. W.;Vazquez G.;Arakawa K.;Lee P.H.;Pereira A.M.2009.BMI and Diabetes risk in Singaporean Chinese . j. Diabetes care .32(6)1104-1106.
16. Meigs J.B.; Hu F.B. ;Rifai, N.;and Manson J.E. 2004.Biomarkers of endothelial dysfunction and Risk of type II diabetes mellitus. J.Jama. (16):1978-86.
17. Guteier A.; Roussel R.; Duclouzeau P.;vole S.;Balkau B.;and bonet F.;2010.Increasis in waist circumference and weight as predictors of type 2 Diabetes in individuals with Impaired Fasting Glucose:Influence of baseline BMI. J. Diabetes care: 33 (8)1850-1852.
18. Inoue K.; Matsumoto, M. and Akimoto, K.2008. Fasting plasma glucose and. HbA1c as risk factors for Type 2 diabetes. Diabet Med.;25(10):1157-1163.
19. Al-Tai A.F.2011. "Study of Some Acute Phase Proteins, Interleukin- 8 and Oxidative Stress in Type II Iraqi Diabetic Patients". College of Education (Ibn-AL-Haitham). Thesis University of Baghd .
20. Ahmed N.; Jadoon, S.A.; Khan, R.M.; Duha, M.U. and Javed, M. 2008. Type 2 Diabetes mellitus: How well controlled in our patients. J. Ayub Med. Coll Abbottabad; 20(4): 70-72.
21. Bid H.K.; Konwar, R. and Saxena, M.2010. Association of glutathione S-transferase (GSTM1, T1 and P1) gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in north Indian population. J. Postgrad Med; 56(3): 176–181 .

22. Al-Tai R.A. A.2013 "Evaluating the Levels of Interleukin-33 (IL-33), Oxidative Stress, and Some Biochemical Parameters in Type 2 Diabetic and Nephropathic Patients". MSc Thesis College of Education /Ibn Alhaitham. University of Baghdad.
23. Al-Rawi, K. A. ; Jassim, A. J.; Al- Ani, N.; Al-Diwan, J. K. and Hussain, A. J.2007. Lipid Profile among Diabetics in Al-Ramadi City, Iraq. The Iraqi Postgraduate MED. J.; 6(2): 109-112.
24. Otieno, CF.; Mwendwa, FW.;Vaghela, V.; Ogola, EN.and Amayo, EO.2005. Lipid profile of ambulatory patients with type 2 diabetes mellitus at Kenyatta National Hospital, Nairobi. East Afr Med J. ;82(12):S173-179.
25. Mukherjee, B.; Hossain, C.M.; Mondal, L.; Paul, P. and Ghosh, M.K. 2013.Obesity and Insulin Resistance: An Abridged Molecular Correlation. Lipid Insights; 6(2): 1–11.
26. Song Y.;Joann.M.E. Tinker I.;Rifai N.;Cook R.N.;Hu B F.;Hotamisligal S.G.;Ridker M.P.;Rodregerz L.B. ;Margolis L.K.;Obterman A.;and Liu S.2007.Circulating levels of endothelial adhesion molecule and risk of diabetes in an ethnically diverse cohort of women. J Epub 56(7):1898-904
27. Qi L.; Cornelis M.C.; Kraft P.; Jensen M.; van Dam R .M.; Sun Q.; Grman C.J.; Laurie C .C.; Mirel, D.B.; Hunter, D.J.; Rimm, E.; and Hu. F.B. 2010. Genetic variants in ABO blood group region, plasma soluble E-selectin levels and risk of type 2 diabetes. J. Hum Mol Genet. 1; 19(9):1856-62.
28. Thorand B.;Baumert J.;Kolb I.;Meisinger C.;Chambless I.Koenig W.;and He C.2002 Sex Differences in the Prediction of Type 2Diabetes by T Inflammatory Markers. J. Diabetes care. 30(4):854-60.
29. Al-Obaidy R A K.2016. Biochemical Study on Thyroid Peroxidase in Type 2 Diabetic patients in relation with Thyroidism. College of Science for Women / Baghdad University.

30. Baumgartner-Parzer SM, Wagner L, Pettermann M, Gessl A, Waldhäusl W (1995) Modulation by high glucose of adhesion molecule expression in cultured endothelial cells. *Diabetologia* 38: 1367±1370
31. Belay B, Belamarich P, Racine AD. 2004. Pediatric precursors of adult atherosclerosis. *Pediatr Rev.* 4;25(1):4-16 .
32. Stocker CJ, Sugars KL, Harari OA, Landis RC, Morley BJ and Haskard DO. 2000. TNF-alpha, IL-4, and IFN-gamma regulate differential expression of P- and E-selectin expression by porcine aortic endothelial cells. *J Immunol*; 164: 3309-3315.
33. Galkina E and Ley K. 2007. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 27: 2292-2301.
34. Andreotti F, Porto I, Crea F and Maseri A. 2007. Inflammatory gene polymorphisms and ischaemic heart disease: review of population .
35. Tripathi R, Singh P K , Tewar S, Tamhankar P M, Ramesh V, Agarwal S. 2009. Genetic predisposition of E-selectin gene (S128R) polymorphism in patients with coronary artery disease (CAD). . pp 423-427.
36. Yoshida M, Takano Y, Sasaoka T, Izumi T, Kimura A. 2003. Eselectin polymorphism associated with myocardial infarction causes enhanced leukocyte-endothelial interactions under flow conditions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 23 : 783-8.
37. Wang Z, Moul J. 2001. SNPs, protein structure, and disease. *Hum Mutat.*; 17(4):263-70.
38. Abu-Amero KK, Al-Boudari OM, Mohamed GH, Dzimiri N. 2007. E-selectin S128R polymorphism and severe coronary artery disease in Arabs. *BMC Med Genet*; 7 : 52-5.
39. Abed Nasser A. 2016. Immunological and genetic study of type 1 diabetes mellitus in a sample of Iraqi patients. College of Education (Ibn-AL-Haitham). PhD Thesis University of Baghdad .
40. Ng PC, Henikoff S. 2003. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. Vol. 31, No. 13 .