Molecular study for Paraoxonase 1gene(PON1)and lipid profile in artherosclrosis Patients

دراسة جزيئية لجين Paraoxanase (PON1) و مرتسم الدهون في مرضى تصلب الشرايين

إنتصار كاظم غالب أ.م.د. ياسمين خضير خلف أ. حسين علي عبد اللطيف
قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

البحث مستل من رسالة الباحث الاول

المستخلص

اجريت الدراسة للمرضى والسيطرة بين شباط 2015 –كانون الثاني 2016في وحدة العناية المركزة للقلب /مستشفى الزهراء التعليمي في محافظة كربلاء ومختبر التحليلات المرضية لمستشفى الحسين التعليمي . شملت الدراسة 150 مريض يتضمن (75) مريض بأحتشاء العضلة القلبية (57 ذكر و18 أنثى) و(75) مريض بالذبحة الصدرية (50 ذكر و25 أنثى) وتراوحت أعمارهم بين (31-88 سنة)، بينما اشتملت الدراسة على 50شخصا من الأصحاء والتي تضمن(35 ذكور و15 أنثى) وتضمنت الدراسة مرتسم الدهون : كتركيز الكوليسترول الكلي في الدم (Total cholesterol (TCوالكليسيريدات الثلاثية TG والبروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول HDL-C والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول LDL-C والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً للكوليسترول VLDL-C وأستخدمت تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل (PCR) لتحديد الجين الطافر في مرضى تصلب الشرايين.

أظهرت نتائج الدراسة أرتفاع معنوي($P<0.05$) في مستويات LDL-C , TG, TC و VLDL-Cوأنخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوىHDL لمرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية لكلا الذكور والاناث .

لوحظ من الدراسة الحالية أن نسبة ظهور الجين الطافر PON1 ناتج (bp 99) بنسبة (45.33) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية وبنسبة (37.33) لمرضى الذبحة الصدرية وبينت النتائج عن وجود علاقة للتأريخ العائلي لدى المرضى وأرتفاع خطورة الاصابة بالمرض وظهور الجين PON1 . كما أظهرت الدراسة الحالية وجود تأثير للتدخين على ظهور الجين الطافر PON1 في زيادة خطورة الاصابة باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية . وبينت النتائج ان نسبة ظهور الجين الطافر PON1 بنسبة أعلى في المرضى المصابين بضغط الدم وبداء السكري مقارنة بالمرضى غير المصابين .

Abstract

This study was a case-control study conducted from AL-Zahraa Teaching Hospital in February 2015 to January 2016. The study was carried out at the coronary care unit / in Kerbala province/Iraq and Pathological laboratory analyzes Hussein Teaching Hospital by taking 150 patients consist of (75) myocardium infarction patients (57 male and 18 female) and (75) angnia pectoris patients with an average age (31-88 year),.Also, the study included 50 apparently healthy individuals who were (35 male and 15 female). the study included measurement of lipid profile total Cholesterol (TC) concentration in the blood and Triglycerides (TG) and the concentration of the High Density Lipoproteins for cholestrol (HDL-C) and Low Density Lipoproteins for cholestrol (LDL-C) and Very Low Density Lipoproteins for cholestrol (VLDL-C) . In this study,the polymerase chain reaction (PCR) was used for mutant PON1 gene identification in artherosclorosis patients. The present study showed significant increase $P<0.05$ in TC ,TG ,HDL-C ,VLDL-C and significant decrease $P<0.05$ in HDL for myocardium infarction and angnia pectoris patients both males and females. The present study identified PON1 gene (99bp) ratio (45.33) in Myocardium infarction patients and (37.33) in angnia pectoris patients. The present study showed positive relationship between family history for both genes occure also showed effect of smoking ,high blood pressure and diabetes on occure of PON1 genes in all patients.

المقدمة

يعد مرض تصلب الشرايين Atherosclerosis هوأحد الاسباب الرئيسية للوفاة في العالم ، وتزايدت نسبته بشكل كبيرفي العالم. للفترة من عام 1990-2010، حيث ارتفعت نسبة الوفيات الناجمة عن أمراض القلب والأوعية الدموية بنسبة تزيد على 30 %في جميع أنحاء العالم (2,1).ويعد تصلب الشرايين مرضا مزمنا معقدا يحدث في الشرايين الكبيرة والمتوسطة الحجم من خلال ترسب مادة دهنية او شمعية بهيئة لويحات Plaques في الطبقة الداخلية والمتوسطة من جدار الشريان (3)وفي العراق على الرغم من القيود على إحصائيات الوفيات هناك ادلة تشير إلى أن امراض القلب الوعائية تحتل المرتبة الأولى كسبب للوفاة (4) و تتوقع منظمة الصحة العالمية أن ترتفع نسب الوفيات بسبب امراض القلب الوعائية بشكل كبير بحيث تصل عام 2030 إلى 23.4 مليون حالة وفاة سنويا (5) .

ينتج مرض تصلب الشرايين من تراكم المشتقات الدهنية والتي تتكون اصلا من الكوليسترول في جدران الشرايين التاجية .يؤدي هذا الترسب الى حدوث التهاب موضعي وزيادة تراكم الخلايا الالتهابية والنسيج اللمفي ممايؤدي الى ضيق وانسداد الشرايين ويؤدي كذلك الى اعتلال بطانة الاوعية الدموية مع زيادة القابلية للتجلط يؤدي في احيان كثيرة الى انسداد مفاجئ بالشريان قد تنتج عنه النوبة القلبية او الوفاة المفاجئة . تصلب الشرايين هو مرض تدريجي يتميز بتراكم الدهون والعناصر الليفية في الشرايين الكبيرة (6)

أحتشاءالعضلة القلبية Acute Myocardial Infarction هوحدوث نخر في خلايا العضلة القلبية ممايؤدي الى نقص التروية للخلايا بشكل مستمر وكبير(8,7) و هو احد الاسباب الرئيسية للوفاة في العالم (9)

اهم العلامات لمرض أحتشاء العضلة القلبية AMI ألم الصدر الذي يوصف بأنه احساسًا عاليًا بالضغط او (عصره) في الجزء الوسطي من التجويف الصدري (القفص الصدري) ، وانتشار الالم الى الفك، والاسنان، والكتف، والذراع، والى الظهر ،قصر التنفس، تقئ، تعرق، سعال، وخفقان وقد يتوقف القلب بشكل مفاجيء (11,10)

تصلب الشرايين هو أحد الامراض التي تصيب الشرايين ويحدث نتيجة لتداخل العديد من العوامل البيئية والوراثية. و كشف التقدم في التقنيات الوراثة الجزيئية بان الاساس الوراثي يؤثر بشكل كبير على الاصابة بالأمراض الأوعية للشرايين. بالاضافة الى ذلك تم اجراء العديد من البحوث على الأمراض الوراثية و الجينات المرشحة والتعدد المظهري للجين المرتبط بمرض تصلب الشرايين في السنوات الأخيرة حيث يزداد عددها بشكل سريع (12).

يوجد ثلاثة انواع من الاشكال الجينية لجين إلـPON :PON1 ، PON2، وPON3. جميعها تمتلك خصائص مضادة للأكسدة وتتشابه بـ65% على مستوى الأحماض الأمينية، ألا ان تعبيرها يختلف في الانسجة،PON3 وPON1 ويوجد بصورة خاصة في الكبد وينتقل في البلازما الدم ويترتبط بـ PON2،HDL ويوجد في الخلايا البطانية للإنسان وخلايا العضلات الملساء للشريان الأبهر في الإنسان (14,13) .

PON1،PON2 وPON3 جميعها تعمل على الحماية من الاصابة بمرض تصلب الشرايين وذلك بمنع اكسدة الدهون البروتينة ذات الكثافة الواطئة (LDL) (15).

جينPON1 ينتمي إلى عائلة باراأوكسينيز paraoxinaseوهي عائلة متعددة الجينات. وتقع جنبا إلى جنب على الذراع الطويل للكروموسوم 7 للانسان (7q21.3-q22.1) وتسلسل الحمض النوويDNA وكشف أن هذا الجين PON1 يتكون مايقارب 26 kB كيلو زوج القاعدة يتضمن 9 الإكسونات و8 إنترونات.(18,17, 16)

يعبر جينPON1 عن انزيم يسمى أيضا باراأوكسينيز paraoxinase ، هو بروتين يشترك في منع أكسدة LDL (19) . ويعزى النشاط مكافحة تصلب الشرايين من HDL أساسا إلى أنزيم مضاد للأكسدة باراأوكسينيز paraoxinase المرتبطة (21,20)

جين PON1 يشفر لانتاج بروتين سكري الذي يعتمد على الكالسيوم يتم تصنيعه في الكبد و يفرز في البلازما ويرتبط بالبروتينات الدهنية عالية الكثافة(HDL) high-density lipoproteins . وهويرتبط مع غشاء الخلية ويتم ازالة PON1من الغشاء، وهو يمنع البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة(LDL) وبيروكسيد الدهون من الاكسدةوله دور في الحماية من الاصابة بمرض تصلب الشرايين (24,23,22)بالاضافة الجينين PON2 وPON3.(25)

اثبتت العديد من الدراسات دور PON1 في امراض القلب والشرايين سواء على مستوى النمط الجيني ومستوى النشاط وهومؤشر على ان المرض وراثي (28, 27, 26)

يؤثر PON1 بالاصابة بمرض تصلب الشرايين والأمراض المرتبطة بتقدم السن، اكثر شكل لجين PON1هوفي كودون (Q192R) 192تم دراسته الكلوتامين glutamine استبدال بألارجينين(arginine) يعد الشكل Q192R يرتبط بمرض الشرايين التاجيةcoronary artery disease والسكتة الدماغية وفرط كوليسترول الدم العائلي familial hypercholesterolemia، مرض باركنسونParkinson's disease، وظهور ارتفاع ضغط الدم(29) يرتبط L55 ايضا مع وجود اختلافات في مستويات البلازما الكلي والكوليسترول LDL ومستويات PON1، والبروتين، وفعالية البارأكسيون، ولكن يؤثرايضا مع مجموعة متنوعة من الحالات المرضية مثل السكتة الدماغية ومرض الشرايين التاجية (CAD)، ومرض باركنسون(29)

يشترك PON1 في ايض للدهون. وهو يحلل البيروكسيدات الدهنية في جدران الشرايين، ومنع اكسدة البروتينات الدهنية المنخفضة الكثافة، ويثبط نشاط LDL المشتقة من اكسدة الدهون الفوسفاتية ويمنع أكسدة HDL من الدهون الفوسفاتية (30)وبالتالي هوحماية من الاصابة بتصلب الشرايين (31).

هدفت الدراسة الحالية الى التحري عن ظهور جين Paraoxonase (PON) ودراسة بعض الجوانب الفسيولوجية المتعلقة به لدى مرضى تصلب الشرايين في محافظة كربلاء .

المواد وطرائق العمل :

أجريت هذه الدراسة على المرضى المراجعين لوحدة العناية المركزة للقلب cronary care unit(ccu) في مستشفى الزهراء (ع) التعليمي في محافظة كربلاءالمقدسة بعد أخذ موافقتهم ،وكذلك مختبر التحليلات المرضية التابع لمستشفى الحسين التعليمي ومختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة –كلية العلوم جامعة كربلاءوللفترة من 20 شباط لغاية 30 كانون الثاني 2016.

أخذت عينات الدم من الاشخاص الذين ادخلوا ردهة العناية القلبية لأصابتهم بالالام في الصدر التي أستمرت لأكثر من 30 دقيقة ،وجود تغيرات في تخطيط القلب الكهربائي (ECG)وارتفاع بعض الدلائل الحياتية القلبية ،وبالاعتماد على تشخيص الطبيب المختص بأمراض القلب في تشخيص الحالة المرضية للمرضى لتحديد المجاميع التي شملتها الدراسة ،حيث شملت الدراسة (200)فردا من كلا الجنسين بلغ عدد الذكور(142)وعدد الاناث (58)،وتراوحت اعمارهم من 31-88 سنة.

تم سحب (10 مل) من الدم الوريدي من كل شخص مصاب بأحتشاء العضلة القلبية ، الذبحة الصدرية والاصحاء مجموعة السيطرة بواسطة محاقن طبية نبيذه، بعد سحب الدم وضع 2مل منه في أنابيب مانعة للتخثر EDTA إذ تم رجها بشكل خفيف لمنع تخثر الدم وحفظت العينات تحت درجة حرارة -4 مْ نقلت بوساطة صندوق مبرد إلى مختبر الدراسات العليا– قسم علوم الحياة– كلية للعلوم في جامعة كربلاء بوقت لايتعدى (24)ساعة لإجراء الفحوصات الجزيئية لها تم استخلاص DNA حسب عدة (kit) لشركة Geneaid واجراء تفاعل البلمرة المتسلسل PCR استخدم البواديء Primers لجين الطافر

Forward:5′- GAAGAGTGATGTATA GCCCCAG -3′ و Reverse: 5′-TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC -3′ (32)

،والجزء المتبقي من الدم (8)مل في أنابيب بلاستيكية تحتوي على مادة الجل لعزل المصلGel tube بغية الحصول على الكمية الكافية من المصل وتركت الانابيب لمدة 15دقيقة،ثم نبذت الانابيب مركزياً بسرعة 4000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق لفصل المصل وقسم المصل في عدة انابيب ابندروف appendroff tubes وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة-20 مْ لغرض الاختبارات الفسلجية وتم قياس مرتسم الدهون والتي شملت TC، TG، HDL،LDL ، VLDL واستخدم تحليل التباين حسب تصميم التام العشوائي لغرض دراسة تأثيرنوع المرض على مرتسم الدهون. تم التحليل الإحصائي باستعمال البرنامج Statistical Analysis System (SAS) V 6.12 /2001 (33)

جدول رقم (1) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن جين PON1 بواسطة تفاعل PCR

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	3min.	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	30
3	Annealing	58C°	30sec.	
4	Extension	72C°	40sec	
5	Final Extension	72C°	5min.	1
6	Final hold	4	-	

النتائج :

بينت نتائج الجدول (2) وجود أرتفاع معنوي (P<0.05) بمستوى الكوليسترول الكلي (TC)(235.12) والبروتينات الدهنية الواطئة الكثافة (LDL-C) (169.44) في مرضى الذبحة الصدرية من الذكور مقارنة مع مرضى أحتشاء العضلة القلبية(214.19)،(146.64)على التوالي ومجموعةالسيطرة(176.60)،(107.51)على التوالي ،ويلاحظ من النتائج أن هناك أرتفاع معنوي (P<0.05) بمستوى (TC)و(LDL-C) لدى المرضى المصابين بأحتشاء العضلة القلبية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج الجدول (2)أرتفاع معنوي (P<0.05) بمستوى (TG)و(VLDL-C) لدى مرضى أحتشاء العضلة القلبية من الذكور(192.24)،(38.44) مقارنة مع مجموعة المرضى المصابين بالذبحة الصدرية (172.24)،(34.16) على التوالي ومجموعة السيطرة (109.20)،(23.21) على التوالي ،في حين أن هناك أرتفاعا معنويا(P<0.05) في مستوى (TG)و(VLDL-C) لدى المرضى المصابين بالذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

بينت نتائج الجدول(2) أنخفاضا معنويا (P<0.05) في مستوى (HDL-C) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (29.14) والذبحة الصدرية (28.44) من الذكور مقارنة مع مجموعة السيطرة (46.51) ،ويلاحظ من النتائج أن هناك أنخفاضا في مستوى

(HDL-C) لدى مجموعة المرضى المصابين بالذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة المرضى المصابين بأحتشاء العضلة القلبية ألا أن الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية (P>0.05).

جدول (2)تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للذكور

المتغيرات / العينات	Triglycerie (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL –C (mg|dl)	LDL -C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
السيطرة	109.20 ± 6.48 a	176.60 ± 10.15 a	23.21 ± 1.52 a	107.51 ± 5.12 a	46.51 ± 4.55 a
أحتشاء العضلة القلبية	192.24 ± 11.75 b	214.19 ± 8.60 b	38.44 ± 2.70 b	146.64 ± 8.63 b	29.14 ± 2.63 b
الذبحة الصدرية	172.24 ± 9.15 c	235.12 ± 13.28 c	34.16 ± 2.50 c	169.44 ± 10.56 c	28.44 ± 2.61 b

المعدل ± الخطأ القياسي
الحروف المختلفة الصغيرة بالاتجاه العمودي تدل وجود فروقات معنوية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول(3)أرتفاعا معنويا (P<0.05)بمستويات TCوLDL-C لدى المرضى المصابين بالذبحة الصدرية من الاناث(242.36)،(178.00) على التوالي مقارنة مع مرضى أحتشاء العضلة القلبية(215.66)،(154.72) على التوالي ومجموعة السيطرة(166.26)،(101.53) على التوالي ، ويلاحظ من النتائج ان هناك ارتفاع معنوي (P<0.05) بمستويات TC وLDL-C لدى المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية مقارنة مع مجموعة السيطرة .

بينت نتائج الجدول (3) ارتفاع معنوي (P<0.05) بمستويات TG و VLDL-C لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية (146.83)،(29.35) على التوالي والمصابين بالذبحة الصدرية من الاناث(134.16)،(26.87) على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (87.06)،(17.36) على التوالي ،في حين كان الارتفاع أكثر لدى المصابين بأحتشاء العضلة القلبية.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تحديد الجين الطافر الـ PON1حجم الناتج (99bp) جدول (4) لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (45.33%)،(37.33%) على التوالي .

بينت النتائج الموضحة في الجدول ذاته ظهور الجين الطافر PON1 حجم الناتج (99bp) بنسبة (38.59%) في الذكور و(66.66%) في الاناث في مرضى احتشاء العضلة القلبية بينما كانت نسبة ظهور الجين في مرضى الذبحة الصدرية بنسبة (40%) في الذكور و (32%) الاناث .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول(4) نسبة ظهور الجين الطافر في المرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن يملكون تاريخ عائلي بالاصابة كانت النسب (47.61%) ،(43.58 %) على التوالي. بينما المرضى الذين لايملكون تاريخ العائلي لأصابة بالامراض القلبية كانت نسبة ظهور الجين الطافر في مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (42.42%)(30.55%)على التوالي .

بينت النتائج في الجدول أعلاه أن الاشخاص المدخنين في كل من مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية كانت نسبة ظهور الجين (56.81%) ،(51.21%) على التوالي ،بينما كانت نسبة ظهور الجين الطافرفي الاشخاص المرضى غير المدخنين (29.03%) ، (20.58%) على التوالي ويلاحظ ظهور الجين الطافربنسبة اعلى في المرضى المدخنين مقارنة بالمرضى غيرالمدخنين

جدول (3) تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للاناث

المتغيرات / الامراض	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL -C (mg|dl)	LDL -C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
السيطرة	87.06 ± 5.67 a	166.26 ± 11.67 a	17.36 ± 1.14 a	101.53 ± 7.53 a	49.06 ± 3.91 a
أحتشاء العضلة القلبية	146.83 ± 9.10 b	215.66 ± 7.32 b	29.35 ± 2.62 b	154.72 ± 9.95 b	29.55 ± 1.07 b
الذبحة الصدرية	134.16 ± 8.72 c	242.36 ± 12.33 c	26.87 ± 3.54 c	178.00 ± 9.69 c	29.28 ± 2.89 b

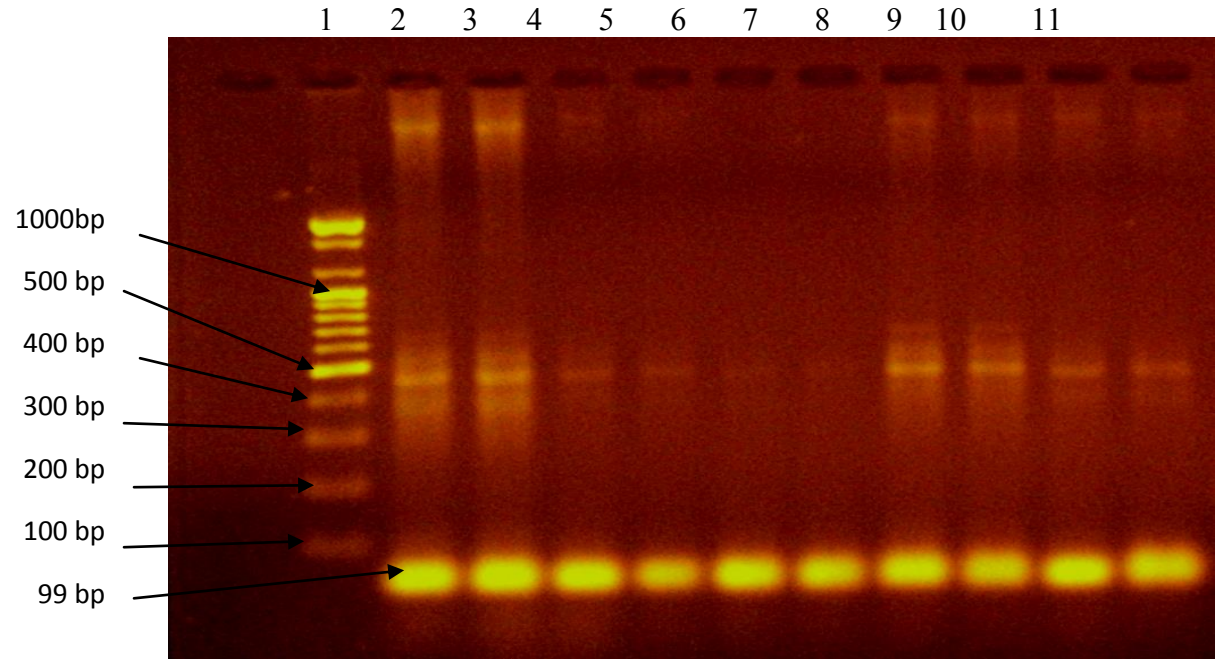
المعدل ± الخطأ القياسي
الحروف المختلفة الصغيرة بالاتجاه العمودي تدل وجود فروقات معنوية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المرضى باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بالضغط كانت نسبة ظهور الجين الطافر (57.89%)(43.90%) على التوالي، بينما كانت نسبة ظهور الجين الطافر في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض الضغط فكانت النسب (32.43%) ،(29.41%) على التوالي.

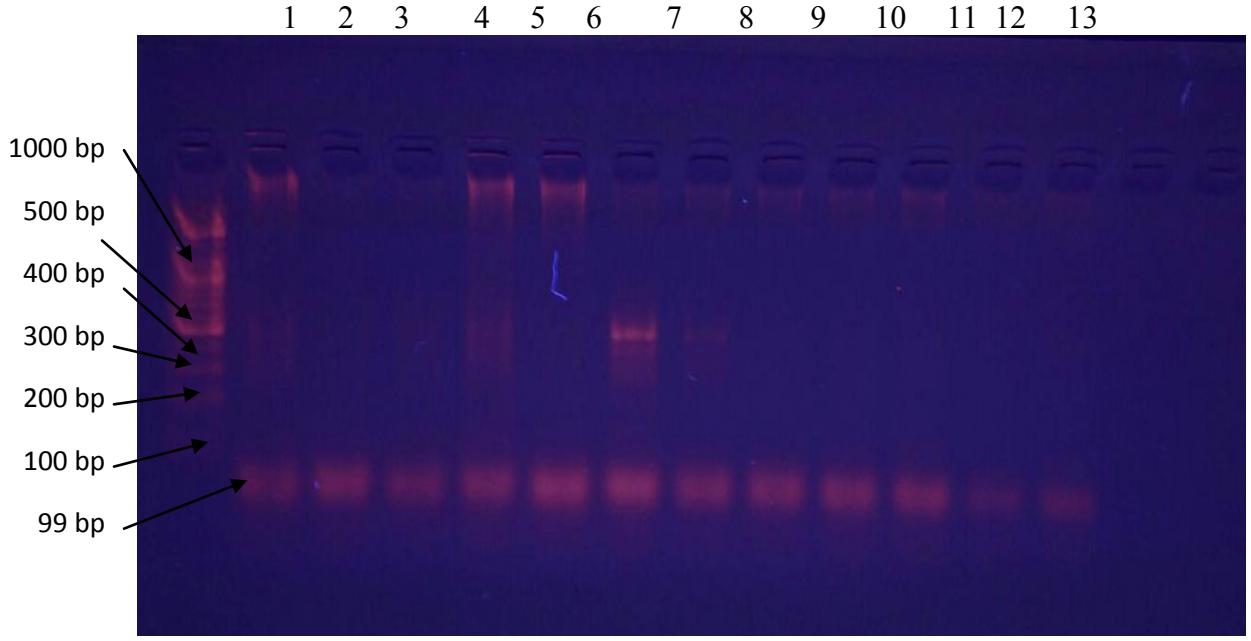
بينت نتائج الجدول أعلاه أن المرضى باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بداء السكري كانت نسبة ظهور (58.06%) ، (60%) على التوالي ، بينما كانت نسبة ظهور الجين الطافرفي مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض السكري فكانت النسب (36.36%)(26%) على التوالي .

جدول (4) يوضح النسبة المئوية للاصابة بالطفرة الوراثية في جين PON1(99 bp) لعدد من المتغيرات المشمولة في الدراسة

المتغيرات	احتشاء العضلة القلبية		الذبحة الصدرية	
	عدد المرضى	عدد ظهور الطفرة	عددالمرضى	عدد ظهور الطفرة
نسبة الكلية للجين	75	n(34)(%45.33)	75	n(28) (%37.33)
الجنس				
ذكر	57	n(22)(38.59%)	50	n(20)(40%)
انثى	18	n(12)(66.66%)	25	n(8)(32%)
تأريخ العائلي				
موجود	42	n(20)(47.61%)	39	n(17)(43.58%)
غائب	33	n(14)(42.42%)	36	n(11)(30.55%)
التدخين				
مدخن	44	n(25)(56.52%)	41	n(21)(51.21%)
غير مدخن	31	n(9)(29.03%)	34	n(7)(20.58%)
ضغط الدم				
مصاب	38	n(22)(57.89%)	41	n(18)(43.90%)
غير مصاب	37	n(12)(32.43%)	34	n(10)(29.41%)
داء السكري				
مصاب	31	n(18)(58.06%)	25	n(15)(60%)
غير مصاب	44	n(16)(36.36%)	50	n(13)(26%)



إذ يوضح الشكل (1) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON1)ناتج 99 bp في مرضى احتشاء العضلة القلبية باستخدام 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف حيث يمثل العمود الأول المعلم الحجمي (Size marker) بحجم (100-2000) زوج قاعدة، بينما تظهر الأعمدة (11,10,9,8,7,6,5.4) الحزم بحجم 99 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر بها الجين، أما الأعمدة (3,2) فتمثل العينات لمجموعه السيطرة وظهور الجين ايضا



إذ يوضح الشكل (2) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON1) ناتج 99 bp في مرضى الذبحة الصدرية باستخدام 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف حيث يمثل العمود الأول المعلم الحجمي (Size marker) بحجم (100-2000) زوج قاعدة، بينما تظهر الأعمدة(2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13) الحزم بحجم 99 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر بها الجين، بينما الاعمدة (13,12) عينات مجموعة السيطرة.

المناقشة :

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول(3,2) أرتفاع مرتسم الدهون (TC,TG,LDL,VLDL) للمجاميع المرضية مقارنة مع مجموعة السيطرة لدى كل من الذكور والاناث وجاءت هذه النتائج موافقة لما وجده(34) في دراسة على مرضى في جنوب الهند بالامراض القلبية حيث بين زيادة في مستوى مرتسم الدهون (TC,TG,LDL,VLDL) وأنخفاض في مستوى HDL مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يتفق ايضا لما جاء به كل من (35) أذ أشاروا الى ان المصابين بامراض القلب يكونون اكثر عرضة لتراكم الدهون في اوعيتهم الدموية مؤدية الى تصلب الشرايين. ويرجع االى ان الانخفاض بتركيز HDL يعد من اهم العوامل في زيادة خطر الاصابة بالامراض القلبية (36)وهذه النتيجة تتفق مع نتائج (37).

بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة معنوية بمستوى كل من TG,TC و LDL-C وانخفاض معنوي في مستوى HDL-C في كلا مجموعة الذكور ومجموعة الاناث المصابين بأحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة وجاءت هذه النتائج متفقة لما جاء به(37) في دراسته على المرضى بأمراض الشرايين التاجية في مصرحيث بين ارتفاع معنوي في مستويات TC,TG و LDL-C وانخفاض في مستوى HDL-C في المرضى مقارنة بمجموعة السيطرةوهذا يتفق مع نتائج كل من(39,38) حيث تعد التغذية من العوامل التي تسبب ارتفاع تراكيز الدهون في البلازما اذ يرتفع مستويات الكوليسترول والكليسريدات الثلاثية وينخفض مستويات HDL-C بسبب تناول الغذاء الحاوي على نسبة عالية من الدهون المشبعة والكاربوهيدرات العالية (40). وتتفق نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لمستوى TGو HDL-C مع نتائج (42,41) ويرجع سبب انخفاض مستويات الكليسيريدات الثلاثية الى تأثير هرمون الجنسي الاستروجين (Estrogen) لدى النساء أذ يعمل على تقليل مستويات الكليسيريدات الثلاثية عن طريق زيادة معدل الايض الهدمي لها مما يسبب أنخفاض مستوياتها لدى النساء مقارنة بالذكور (43) .

جاءت نتائج الدراسة الحالية لمستوى VLDL-C متفقة مع النتائج التي حصل عليها الشمري (2009)(44) الى ان الزيادة المعنوية في مستوى VLDL-C في المرضى الذكور مقارنة بالاناث المصابات بالامراض القلبية وان المكون الرئيسي للكليسيريدات الثلاثية هو الـ (VLDL-C) لذلك فأن ارتفاع الكليسيريدات الثلاثية يؤدي الى أرتفاع VLDL-C (45) ،كما أن أرتفاع الـ (VLDL-C) قديكون ناتج عن خلل في عمل أنزيم Lipoprotein Lipase (LPL) الذي يعمل على تحويل TG الى أحماض دهنية وفي هذه الاثناء يتكون الـ Intermediate Density Lipoprotein (IDL) الذي سرعان مايتحول الى LDL-C الذي سوف يؤدي الى أرتفاع مستواه في مصل الدم (46).

بينت نتائج الدراسة جين الطافر PON1 ناتج(bp 99) يكون ظهوره مرتبط بحدوث طفرة Q192R من خلال دراسة DNA الجينيوم ممايدل على ضرورة الدراسة لهذا الاليل لتقصي أنتشاره في المرضى العراقيين وبالذات في محافظة كربلاء المقدسة ونتائج الدراسة الحالية جاءت مطابقة لما جاء به دراسة (47) حيث تم الاستقصاء عن هذه الطفرة في المرضى الايرانيين عند التقصي عن وجود هذه الطفرة في المرضى وبعد ذلك دراسة تعدد الاشكال لانزيم PON1 وتحديد الطفرات والاليلات Q192R .

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4) ظهور الجين الطافر نسبة اصابة الذكور اعلى من الاناث وذلك لان بداية تصلب الشرايين في النساء يتأخر زمنيا عن الرجال (34)

تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج(34) ان جين PON1 الطافر له دور في الاصابة بامراض الشرايين التاجية .

تتفق نتائج الدراسة الحالية لجين PON1 الطافر حيث ترتفع نسبة ظهور الجين الطافر في المرضى المدخنين مقارنة بغير المدخنين مع نتائج (49) حيث تزداد نسبة الاصابة بالامراض القلبية لدى المدخنين وذلك لان التدخين له اثر كبير على تعديل النمط الجيني وله دور في خطر الاصابة بامراض الشرايين التاجية ويقلل من نشاط PON1 واكسدة الدهون وذلك لقدرته لمنع الاكسدة(50) ،هنالك أدلة على أن الخلل في الاغشية الوظيفية لاوعية الدموية المتصلبة لدى المدخنين يترافق مع نقص في L-arginine (51)، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي جاء بها (52) حيث كان ظهور الجين الطافر PON1(192R) في المرضى المدخنين في شمال الهند اعلى نسبة من غير المدخنين وذلك حيث ان تدخين السجائر يحتوي على العديد من الجذور الحرة، و يكون المدخنون عادة مضادات الأكسدة أقل قدرة من غير المدخنين. لذلك، تتأكسد جسيمات LDL من المدخنين تولد أكثر منتجات بيروكسيد من LDL من غير المدخنين.

واظهرت نتائج الدراسة الحالية ان جين الطافرPON1 ان خطورة الاصابة بمرض احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية تزداد لدى المرضى الذين يعانون من مرض السكري وتتفق مع نتائج (53) وذلك نتيجة الى التغيرات الجينية والايضية حيث ان الانماط الوراثية تكون مرتبطة جزئيا بمرض السكري نتيجة الانشطة الانزيمية لحماية ضد الاكسدة (55,54) وهذا يتطابق مع ماأشار له (56) في دراسته الى تعدد الاشكال الجينية مرتبطة بحدوث طفرة Q192R و L55M لجين Paraoxinase تترافق مع الامراض القلب التاجية ومرضى السكري في دراسته على الهنود الاسيويين المصابين بأحتشاء العضلة القلبية وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لجين PON1 حيث ترتفع نسبة الاصابة بمرض أحتشاء العضلة القلبية أكثر في المرضى المصابين بداء السكري.

وقد أثبتت العديد من الدراسات السابقة ان الجين الطافرPON1 يكون مرتبط بالاصابة بالامراض القلبية CAD في عامة الناس وقد يرجع سبب ذلك الى دور انزيم PON1 في التمثيل الغذائي للدهون (52).

المصادر

1- Schunemann,H.J.;Oxman,A.D.;Brozek,J.;Glasziou, P.;Jaeschke, R.; Vist,G.E.;Williams, J.W ; Kunz, R. ; Craig, J. ;Montori, V.M.; Bossuyt, P. ; Guyatt ,G.H. (2008). Grading quality of evidence and strength of recommenddations for diagnostic tests and strategies. BMJ 336: 1106_1110.

2- Moran, A.E.; Oliver, J.T.; Mirzaie, M.; Forouzanfar, M.H.; Chilov, M.; Anderson, L.; Morrison, J.L.; Khan, A.; Zhang, N.; Haynes, N.; Tran, J.; Murphy, A.;Degennaro, V.;Roth, G.; Zhao, D.; Peer, N.; Pichon-Riviere, A.; Rubinstein, A.; Pogosova, N.; Prab-hakaran, D.; Naghavi, M.; Ezzati, M.; Mensah, G.A. (2012). Assessing the globalburden of ischemic heart disease: Part 1: Methods for a systematic review of theglobal epidemiology of ischemic heart disease in 1990 and 2010. Glob. Heart 7(4), 315–329.

3- Tovori,H.; Aviram,M. ;Khatib, S. (2009).“Human carotidatherosclerotic plaque increases oxidative state of macrophagesand low-density lipoproteins, whereas paraoxonase1 (PON1) decreases such atherogenic effects,” Free Radical Biology and Medicine. 46(5) 607–615.

4- Alaadin Alwan , (2004). MD, FRCP, FFPH,Ministry of Health Second Edition, December.

5- World Health Organization, (2008) . World Health Statistics.

6- Beltowski, J.; Wojcicka, G.; Marciniak, A.(2002).Species and substratespecifi c stimulation of human plasma paraoxonase1 (PON1) activity by high chloride concentration. Acta Biochimica Polonica; 49: 927-36.

7- Alpert, J.S.; Thygesen, K. A (2007).new global definition of myocardial infarction for the 21st century. Pol Arch Med Wewn.117: 485–6.

8- Seropian I. M.; Toldo S.; Van Tassell, B W.; Abbate, A. (2014)Anti-Inflammatory Strategies for Ventricular Remodeling Following ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction.< Journal of the American College of Cardiology. VOL:63:1593–603.

9- Bethesda, MD: NIH; (2012). National Heart Lung and Blood Institute. Morbidity and Mortality: Chart Book on Cardiovascular and Lung Diseases.

10- Thygesen, K.; Alpert, J. S.; White, H. D.; Jaffe, A. S.; Apple, F. S.; Galvani, M.; Katus, H. A.; Newby, L. K.; Ravkilde, J.; Chaitman, B.; Clemmensen, P.M.; Dellborg, M. and Hod, H.; Porela, P.; Underwood, R.; Bax, J.J.; Beller, GA.; Bonow, R.; Van der Wall, EE.; Bassand ,J.P.; Wijns, W.; Ferguson, T.B.; Steg ,PG.; Uretsky, B.F.; Williams ,D.O.; Armstrong, P.W.; Antman ,E.M.; Fox, K.A.; Hamm ,C.W.; Ohman ,E.M.; Simoons, M.L.; Poole-Wilson, P.A.; Gurfinkel ,E.P.; Lopez-Sendon, J.L.; Pais, P.; Mendis, S.; Zhu , J.R.; Wallentin, L.C.; Fernández-Avilés, F.; Fox, K.M.; Parkhomenko ,A.N.; Priori ,S.G.; Tendera, M.; Voipio-Pulkki, L.M.; Vahanian, A.; Camm, A.J. ;De Caterina, R.; Dean ,V.; Dickstein, K.; Filippatos ,G.; Funck-Brentano ,C.; Hellemans, I.; Kristensen, S.D.; McGregor ,K.; Sechtem, U.; Silber ,S.; Tendera , M.; Widimsky, P.; Zamorano, J.L.; Morais, J.; Brener ,S.; Harrington ,R.; Morrow, D.; Lim, M.; Martinez-Rios, M.A.; Steinhubl, S.; Levine, G.N.; Gibler, W.B.; Goff, D.; Tubaro ,M.; Dudek ,D.; Al-Attar, N. (2007). Universal definition of myocardial infarction. *Circulation,*116: 2634–2653.

11-Matam K.; Khan I. A. ; Hasan Q. ; Rao P. (2014) .Coronary artery disease and the frequencies of MTHFR and PON1 gene polymorphism studies in a varied population of Hyderabad, Telangana region in south India< Journal of King Saud University – Science. Page (1-8)

12- Kovacic, S. ; Bakran,M. (2012). Genetic Susceptibility to Atherosclerosis, Volume 2012, Article ID 362941, 5 pages doi:10.1155/2012/362941.

13- Hong-Liang, L.; De-Pei, L.;Chihj-Chuan, L. (2003). Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases, J Mol Med, 81, 766-779.

14-Aviram, M.; Rosenblat, M. (2004). Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. Free Radical Biology & Medicine, 37, 1304–1316.

15- Reddy. ST; Devarajan. A; Bourquard. N; Shih. D; Fogelman AM.(2008).Is it just paraoxonase 1 or are other members of the paraoxonase gene family implicated in atherosclerosis? Curr Opin Lipidol. 19: 405-8.

16-Primo-Parma, S.L; Sorenson, R.C.; Teiber, J.; La Du, B.N. (1996): The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. Genomics 33, 498–509.

17-Costa ,LG.; Cole, TB.; Furlong, CE. (2005) Paraoxonase (PON1): from toxicology to cardiovascular medicine. Acta Biomed. 76 Suppl 2:50-7.

18- Gupta, N.; Gill, K.; Singh, S.(2009).Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease.< Indian J Med Res; 130: 361-8.

19- Mackness, M. I.;Mackness, B.;Durrington, P. N.; Connelly, P. W. ; Hegele, R. A. (1996).Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins, Curr Opin Lipidol. 7: 69-76.

20-Christiansen L., Bathum L., Frederiksen H. and Christensen. K.(2004). *European Journal of Human Genetics.***12**, 843.

21-Hofer, S. E.; Bennetts, B.; Chan, A. K.; Holloway, B. ; Karschimkus, C.; Jenkins, A. J.; Silink M. and Donaghue, K. C. (2006). *Journal of Diabetes and Its Complications.*, **20**, 322.

22-TOMAS. M; LATORRE .G; SENTI. M;MARRUGAT J.(2004).The antioxidant function of high density lipoproteins: a new paradigm in atherosclerosis. Rev Esp Cardiol 57: 557-569.

23- Moren, **X.;** Deakin, S.; Liu, ML.; Taskinen ,MR.; James, RW.(2008). HDL subfraction distribution of paraoxonase-1 and its relevance to enzyme activity and resistance to oxidative stress. J Lipid Res. *49 : 1246-53.*

24- She, Z.-G.; Chen, H.-Z.; Yan, Y.; Li, H.; Liu, D.-P.(2012). The Human Paraoxonase Gene Cluster as a Target in the Treatment of Atherosclerosis. Antioxid Redox Signal 16(6):597-632.

25- Macharia, M.; Hassan, M.S.; Blackhurst, D.; Erasmus, R.T.;Matsha,T.E. (2012). The growing importance of PON1 in cardiovascular health: a review. J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown) 12, 443–453.

26- **Mackness, B**.;Davies, G.K.; Turkie, W.;Lee, E.;Roberts, D.H. ;Hill, E. ;Roberts, C.; Durrington, P.N.; Mackness, M.I. (2001). Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 21: 1451– 1457.

27- **Zhao, Y.**; Ma, Y.; Fang, Y.; Liu, L.; Wu, S.; Fu, D.; Wang, X. (2012).Association between PON1 activity and coronary heart disease risk: a meta-analysis besed on 43 studies. Mol. Genet. Metab.; 105:141–148.

28-Bayrak, T.; Bayrak, A; Volkan-Salancı, B.; Deniz, A.; Tokgözoğlu, S. L.; Yavuz, B.; Alikaşifoğlu, M.; Demirpençe,E.(2012). Relationship of *PON2* gene Ser311Cys polymorphism and serum paraoxonase activity with coronary artery disease in Turkish population<Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem:37 (2) ; 150–155.

29-Marchegiani F, M. MARRA, F. OLIVIERI, M. CARDELLI, R.W. JAMES, M. BOEMI, C. FRANCESCHI (2008). Paraoxonase 1: genetics and activities during aging. Rejuv Res *11*(1) 113-127.

30-Costa L.G., Cole ,T.B.; JARVIK, G.P.; FURLONG C.E. (2003): Functional genomics of the paraoxonase(PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease and drug metabolism. Annu Rew Med *54*:371–392.

31-Durrington, P. N.;Mackness, B. and Mackness, M. I. (2001). Paraoxonase and atherosclerosis, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21: 473-480.

32-HAZAR, A.; DİLMEC, F.; GOZ, M.; KOCARSLAN, A.; AYDIN M. S.; DEMİRKOL ,A. H. (2011).Th e paraoxonase 1 (*PON1*) gene polymorphisms in coronary artery disease in the southeastern Turkish population. < Turk J Med Sci.41 (5): 895-902.

33-SAS (2001). SAS/STAT‟ user ”Guide for personal compaters, release 6.12 SAS institute Inc, Cary, N.C., USA.

34-Matam K.; Khan I. A. ; Hasan Q. ; Rao P. (2014) .Coronary artery disease and the frequencies of MTHFR and PON1 gene polymorphism studies in a varied population of Hyderabad, Telangana region in south India< Journal of King Saud University – Science. Page (1-8)

35-Bahrami, M.; Barati, H .; Jahani, M. M.; Fatemi, A. ; Sharifi, Z.; Eydi, A.; Alipoor .; Golmohammadi, T.(2015). Lipoprotein lipase gene variants: Association with acute myocardial infarction and lipid profiles<The Egyptian Journal of Medical Human Genetics (16): 327–332

36-Chatterjea,M.;and Shinde,R.,(2005),"Textbook Of Medical Biochemistry" ,6th Edition,Jaypee Brothers Medical Pubication Ltd.,New Delhi, India,p.561-565.

37-Elmadbouh I; Elghobashy Y.; Eman Abd-Allah, Reda A.A.; Fathe A.; TayelS.; Abd-Elhakim T. (2013) Relationship of apolipoprotein E polymorphism with lipid profiles in atherosclerotic coronary artery disease<The Egyptian Heart Journal .vol(65): 71–78

38-Dias AM, Reis AF, Saud CG, Chilinque MG, Leite RF, Abdalah RN, et al. (2009).Severity of angiographic coronary obstruction and the apolipoprotein E polymorphism in acute coronary syndromes. Arq Bras Cardiol.93:221–30.

39-Dasgupta, J.; Dasgupta, S. ; Gayen, R. ; Mahata, M.; Rajni; Banerjee, I .(2015) Study of Lipid Profile in Patients of Coronary Artery Disease among Rural Population. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS) e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676. Volume 10, Issue 1 Ver. II* Page *51-54*

40- Gupta ,R.; Gupta, VP.; Sarna, M.; Bhatnagar ,S.; Thanvi, J.; Sharma, V.; Singh, AK.;Gupta ,JB.; Kaul, V. (2002).Prevalence of coronary heart disease and coronary risk factors in urban Indian population: Jaipur Heart Watch -2. Indian Heart J; 54:59-66.

41-Jabara R, Namouz S, Kark JD, Lotan C. (2007)Risk characteristics of Arab and Jewish women with coronary heart disease in Jerusalem. Isr Med Assoc J IMAJ(9):316–20.

42- Weiss, R.; Nassar, H.;Sinnreich, R.;Kark, JD.(2015).Differences in the triglyceride to HDL cholesterol ratio between Palestinian and Israeli adultsPLoSOne;10(1):e0116617.

43- Bishop, M.; Engelkirk, J.L.; Fody, E.P. (2000).Clinical Chemistry 4th ed. Lippincott Company. Chapter (9, 20) pp: 185-200; and 433-437.

44-الشمري ،وسن سرحان عبيد ،(2009)،"دراسة معدل التكسر الازموزي لكريات الدم الحمر وعلاقته بعدد من مكونات الدموية والمتغيرات الكيموحيوية لدى المرضى المصابين ببعض أمراض القلب"،رسالة ماجستير ،كلية العلوم،جامعة تكريت.

45-Crawford, M. H ; John,P.;Dimarco; and Walter,J.P.,(2004), "Cardiology", 2nd Edition,Mosby Int. Ltd.,Spain.

46-Guyton,A.C.;and Hall,E.J., (2006),"Text Book Of Medical Physiology",Int.Edition,Elsevier Inc.

47-Chehari .K;Sepahvand. F; Ghobadi. S; Ismaili. A and Alavy4 E. R. (2014).Study of Paraoxonase -1 Gene Polymorphism in a Healthy Population of Khorramabad, Iran<Journal of Applied Biotechnology Reports, Vol (1), Issue 2, Spring 2014; 81-85.

48-Bellasi ,A.,Lacey ,C. &Taylor,A.J.(2007).Comparison of prognostic Usefulness o f coronary artery calcium i men versus women (result from a meta- and pooled analysis estimating all-cause mortality and coronary heart disease death or myocardial infarction) Am J Cardiol 100:409-414.

49-Robertson. K. S.; Hawe. E; Miller G. J.; Talmud. P. J.;. Humphries S. E. (2003) Human paraoxonase gene cluster polymorphisms as predictors of coronary heart disease risk in the prospective Northwick Park Heart Study II.<Biochimica et Biophysica Acta .(1639) 203– 212.

50-Talmud, P.J.; Humphries, S.E. (2002) Gene:environment interaction in lipid metabolism and effect on coronary heart disease risk, Curr. Opin. Lipidol. 13:149– 154.

51-Siasos, G., Tousoulis, D., Vlachopoulos, C., Antoniades, C., Stefanadi, E., Ioakeimidis,N., Zisimos, K., Siasou, Z., Papavassiliou, A.G., Stefanadis, C.(2009). The impact oforal l-arginine supplementation on acute smoking-induced endothelial injuryand arterial performance. Am. J. Hypertens. 22, 586–592.

52- Agrawal, S. ;Tripathi, G.; Prajnya, R.; Sinha, N.; Gilmour, A.; Bush, L. **;** Mastana,s. (2009).Paraoxonase 1 gene polymorphisms contribute to coronary artery disease risk among north Indians. Indian J Med Sci.VOL(63): 335-344.

53- Ganesan, M.; Bhaskar, S.; Mani, R.; Idris, M. M.; Khaja, N.; Gulla,S.; Kumar, U.; Moova, S.; Vattam, K. K.; Eppa,K.; Hasan, Q.; Pulakurthy U. R. (2011). The relationship of ACE and CETP gene polymorphisms with cardiovascular disease in a cohort of Asian Indian patients with and those without type 2 diabetes. J. Diabetes Complications 25, 303–308.

54- Ranade ,K.; Kirchgessner, TG.; Iakoubova, OA.; Devlin, JJ.; Delmonte, T.; Vishnupad, P.;Hui, L.; Tsuchihashi, Z.; Sacks, FM.; Sabatine, MS.; Braunwald, E.; White, TJ.; Shaw, PM.;D Racopolinc.(2005): Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase 1 gene is associated with increased risk of stroke. *Stroke* **36**: 2346-2350.

55-FLEKAČ. M.; ŠKRHA .J., ZÍDKOVÁ .K.; LACINOVÁ. Z., HILGERTOVÁ. J. (2008). Paraoxonase 1 Gene Polymorphisms and Enzyme Activities in Diabetes Mellitus *Physiol. Res.* 57: 717-726.

56-Lakshmy R.; Ahmad D.; Abraham R. A.; Sharma M.; Vemparala K.; Siuli D. K.; Reddy S. & Prabhakaran D.(2010)Paraoxonase gene *Q192R* & *L55M* polymorphisms in Indians with acute myocardial infarction & association with oxidized low density lipoprotein.< Indian J Med Res 131, pp 522-529 .