

علاقة تعدد الأشكال الجينية المضادة للأكسدة ومرض السكري من النوع الثاني في
المجتمع السعودي

اعداد

أمانى محمد طيب حسين قستي

بحث مقدم لنيل درجة الدكتوراه في العلوم (الكيمياء الحيوية)

بإشراف:

أ.د. صفاء يوسف قستي

كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

المملكة العربية السعودية – جدة

1442H – 2021G

علاقة تعدد الأشكال الجينية المضادة للأكسدة ومرض السكري من النوع الثاني في المجتمع السعودي

أماني بنت محمد طيب قستي

المستخلص

كان إلغاء تنظيم إنزيمات مضادات الأكسدة متسبباً في الإصابة ومضاعفات مرض السكري من النوع الثاني (T2DM). هدفت هذه الدراسة إلى استكشاف ارتباط ١٣ متغيراً وراثياً من "ديسموناز الفائق (SOD) ، الكاتالاز (CAT)، الجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) ، الجلوتاثيون S- ترانسفيراز (GST) وسينثاز أكسيد النيتريك (NOS)" مع قابلية السكري من النوع الثاني و البيانات المختبرية السريرية المتاحة. أجريت الدراسة الحالية على ٣٨٤ مشارك سعودي. من مجموعة مرضى السكر (T2DM) ، كان عدد الذكور والإناث متساو في مجتمع الدراسة. ٩٥ أنثى (٥٣,٧٪) مقابل ٨٢ ذكور (٤٦,٣٪). تم توصيف طرز وراثية مختلفة من الجينات المذكورة أعلاه باستخدام مقاييس النمط الجيني TaqMan OpenArray على نظام QauntStudio 12K Flex Real-Time PCR. من بين المتغيرات الـ ١٣ التي تمت دراستها ، كان أليل NOS2 rs2297518 * أكثر تردداً بين مجموعة T2DM (٥٨,١٪ مقابل ٣٥,٤٪ ، $p < 0.001$) وأظهر تأثير استجابة الجرعة ؛ كون متغاير الزيجوت كان مرتبطاً باحتمالات أعلى لتطوير السكري من النوع الثاني (OR = 4.06 ، ٩٥٪ ، CI = 2.13-7.73 ، $p < 0.001$) ، بينما كون متماثل الزيجوت كان له مضاعفة الخطر (OR = 9.06 ، ٩٥٪ ، CI = 3.41-24.1 ، $p < 0.001$). بعد تعديل العمر والجنس ، ارتبط GSTT1 rs1111875 بـ T2DM تحت الزيجوت المتماثل (OR = 3.42 ، ٩٥٪ ، CI: 1.04-11.2 ، $p = 0.031$) ، ومنتحية (OR = 3.57 ، ٩٥٪ ، CI: 1.11-11.4 ، $p = 0.029$) نماذج المقارنة. بعد الجمع بين A * nNOS rs2297518 و A * GSTT1 rs17856199 أو C * كانت الأنماط الجينية أكثر عرضة لتطوير T2DM. كانت الارتباطات المختلفة بالجنس ومؤشر كتلة الجسم وارتفاع السكر في الدم و / أو فرط شحميات الدم واضحة. وفقاً لمؤشر كتلة الجسم ، كان ١٥٤ (٤٠,١٪) من المشاركين يعانون من السمنة المفرطة. من بين المتغيرات المدروسة ، كانت سبعة تعدد الأشكال أكثر انتشاراً بشكل ملحوظ في الأفواج البدنية: (١) GSTM1 rs1056806 ، (٢) SOD1 rs2234694 * أليل (١٠٠٪ مقابل C / T * تغاير الزيجوت (٢١٪ مقابل ١٢٪ ، $p = 0.039$) ؛ (٣) SOD2 rs4880 * G allele (٩٧٪ ، $p = 0.048$) ؛ (٤) SOD3

rs2536512 * أليل (٥٦٪ مقابل ٥١٪ ، $p < 0.001$) ؛ GPX1 rs1800668 * أليل (٢٥٪ مقابل ١٩٪ ، $p = 0.041$) ؛ T / T genotype: ؛ $p = 0.016$ ،٪ vs.96٪T allele: 99) GPX3 rs151028993 * T (٦) ؛ NOS3 rs1799983 * G allele (٧) و ؛ $p < 0.001$ ،٪ vs. 93٪97 .
كشفت نماذج الارتباط بالمورثات أن أربعة أشكال من النيوكليوتيدات SNPs أظهرت مخاطر أعلى للسمنة تحت مقارنة الزيغوت غير المتجانسة (C / T مقابل C / C: OR = 2.02 ، CI = 1.15-3.55 ، $p = 0.015$) والمهيمنة (C / TT / T مقابل C / C: OR = 1.92 ، CI = 1.11-3.31 ، $p = 0.019$) نماذج GSTM1 rs1056806 (C / T) ، تحت نموذج مقارنة الزيغوت المتماثل (G / G مقابل A / A: OR = 1.97 ، CI = 1.0-3.86 ، $p = 0.045$) ، وتحت مقارنة الزيغوت المتماثل (G / G مقابل A / A / AA / G : OR = 2.65 ، CI = 1.11-6.32 ، $p = 0.048$) ومنتحية (G / G مقابل A / G) ، كان SOD3 rs2536512 أقل عرضة للسمنة تحت مقارنة الزيغوت المتغاير (A / G مقابل A / A: OR = 0.47 ، CI = 0.26-0.83 ، $p = 0.033$) والسيطرة (A / GG / G مقابل A / A: OR = 0.53 ، CI = 0.310.91 ، $p = 0.021$) في الختام ، تشير نتائجنا إلى أن الواسمات الجزيئية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي ، GSTT1 rs17856199 ، ومتغيرات NOS2 rs2297518 ، لها ارتباط كبير بمخاطر T2DM والنمط الظاهري ، وأن المحددات الجينية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي يمكن أن يكون لها ارتباط كبير بمخاطر السمنة في الدراسة تعداد السكان.

علاقة تعدد الأشكال الجينية المضادة للأكسدة ومرض السكري من النوع الثاني في المجتمع السعودي

أماني بنت محمد طيب قستي

الملخص

داء السكري من النوع ٢ (T2DM) هو متلازمة غير متجانسة ، متعددة العوامل ، متعددة الجينات تنتج عن خلل في مستقبلات الأنسولين وحالة مزمنة من ارتفاع السكر في الدم المستمر مع اضطرابات الكربوهيدرات والدهون واستقلاب البروتين وكمزيج من مقاومة الأنسولين (انخفاض قدرة الأنسولين تحفيز استخدام الجلوكوز في الجسم) المرتبط بأمراض كبيرة ووفيات مبكرة. تم تحديد العديد من عوامل الخطر لداء السكري من النوع الثاني بما في ذلك عوامل نمط الحياة وعوامل الخطر المعتادة والبيئية والوراثية التي أظهرت ارتباطاً عكسياً مع داء السكري من النوع ٢.

تشير التقديرات إلى أن T2DM تؤثر على حوالي ٤٦٣ مليون فرد على مستوى العالم ، وترتفع إلى ٥٧٨ مليون بحلول عام ٢٠٣٠ وتعتبر المملكة العربية السعودية واحدة من الدول العشر الأولى التي تتميز بارتفاع معدل الإصابة بمرض السكري.

وتشير الأدلة المتراكمة ، بما في ذلك الدراسات السابقة في هذه المنطقة ، إلى أن عوامل الخطر البيئية والوراثية تلعب أدواراً أساسية في علم أمراض المسببات المرضية لـ T2DM وأحد هذه العوامل هو الإجهاد التأكسدي ، الذي تورط في مقاومة الأنسولين ، وخلل خلايا بيتا ، وضعف تحمل الجلوكوز الذي يتطور إلى لـ داء السكري من النوع ٢ أيضاً ، تم ربط الإجهاد التأكسدي بمضاعفات الأوعية الدموية الدقيقة والكلية المختلفة لـ داء السكري من النوع ٢.

من الإنزيمات مضادات الأكسدة الموجودة في الجسم الحي: "ديسموتاز الفائق (SOD) ، الكاتالاز (CAT) ، الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) ، الجلوتاثيون-S- ترانسفيراز (GST) ، سينثاز أكسيد النيتريك (NOS) وتعمل كقوالب للأيضات التفاعلية ، وتحسين الإجهاد التأكسدي الذي تفرضه هذه المواد المتفاعلة على الخلايا. تم التعرف على وفرة من أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) ، والقليل جداً من إنزيمات مضادات الأكسدة وتعدد الأشكال الجينية معروف فيما يتعلق بالارتباط بين مرض السكري من النوع ٢ وزيادة الوزن.

أشارت العديد من الدراسات إلى أن المتغيرات الجينية الوظيفية في هذه الإنزيمات قد تترافق مع انخفاض أو نقص التحفيز . النشاط مع التراكم اللاحق لأنواع الأكسجين التفاعلية ، والتي تلعب دوراً رئيسياً في مقاومة الأنسولين والخلل الوظيفي لخلايا بيتا ؛ المكونان الرئيسيان في تطوير T2DM وزيادة خطر حدوث مضاعفات .

نظراً لأن معظم دراسات الارتباط لهذه المتغيرات تم التحقيق فيها بشكل أساسي في الأفراد من أصل أوروبي ، فقد هدفت هذه الدراسة لاستكشاف المظهر الجيني لعينة من الشرق الأوسط (السكان السعوديون) فيما يتعلق بـ ١٣ موقعاً محتملاً للإصابة بكشف ارتباطهم بمرض السكري من النوع ٢ و / أو النمط الظاهري.

و بالنظر إلى أنه لا توجد بيانات منشورة مسبقاً لاستكشاف ارتباط المتغيرات المذكورة أعلاه بشكل جماعي مع داء السكري من النوع ٢ في نفس مجموعة المرضى في السكان المحليين ، تم إجراء الدراسة الحالية للتحقق من الارتباط المحتمل للمتغيرات المحددة بشكل فردي أو بالاشتراك مع داء السكري من النوع ٢ والبيانات المخبرية المتاحة.

الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقدير التوزيع والعلاقة بين وجود مرض السكري من النوع ٢ وترددات الأليل لخمسة إنزيمات مضادة للأكسدة ؛ ديسموتاز الفائق (SOD) ، الكاتالاز (CAT) ، الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) ، الجلوتاثيون-S ترانسفيراز (GST) ، سينتاز أكسيد النيتريك (NOS) والماتلة في (١٣) SNPs. والهدف الثاني لاجراء احتمالية الاختلافات الجينية المحددة مع التمييز الأليلي وترددات النمط الوراثي لـ ١٣ متغيراً جينياً في الأفواج البدينة وغير البدينة في مجموعة الدراسة بأكملها في مرض السكري من النوع الثاني عن طريق القياس (مؤشر كتلة الجسم).

أجريت هذه الدراسة والشواهد على ٣٨٤ مريضاً ، بما في ذلك ١٤٣ امرأة و ٢٤١ رجلاً بنسبة ٣٧,٢٪ و ٦٢,٨٪ على التوالي. والأعمار (تراوحت بين ٢٣ و ٨٣) سنة. كان جميع المشاركين من السكان البالغين السعوديين. من بين مجموعة مرضى السكر ، تم الإبلاغ عن الذكور والإناث بالتساوي في مجتمع الدراسة ؛ ٩٥ أنثى (٥٣,٧٪) مقابل ٨٢ ذكور (٤٦,٣٪). ومع ذلك ، تم تمثيل المزيد من الذكور في المجموعة الضابطة (١٥٩ ذكر ، ٧٦,٨٪) مقارنة بالاناث المتطوعات (٤٨ أنثى ، ٢٣,٢٪). كان متوسط عمر مجتمع الدراسة ٣٨,٧ ± ١٥,٥ سنة (تراوحت أعمارهم بين ٢٣ و ٨٣ سنة). كانت مجموعات مرضى السكري (٤٤,٦ ± ١٧,٣ سنة) أقدم بكثير من غير المصابين بمرض السكري (٣٣,٨ ± ١١,٧ سنة). مرضى السكري لديهم قيمة أعلى لمؤشر كتلة الجسم من نظرائهم.

استكشفت الدراسة الحالية ارتباط ١٣ متغيرًا جينيًا مرتبطًا بمضادات الأكسدة مع قابلية الإصابة بالنوع الثاني من داء السكري والنمط الظاهري في عينة من سكان الشرق الأوسط. من هذه الأشكال المتعددة التي يجري التحقيق فيها ، فقط C * GSTT1rs17856199 و A * NOS2 rs2297518 كانت مرتبطة بشكل كبير بمخاطر داء السكري من النوع ٢. بصرف النظر عن SNPs المذكورة أعلاه ، لم تكن هناك فروق ذات دلالة إحصائية في توزيع المتغيرات الجينية الأخرى المدروسة ولم يكن هناك تأثير لهذه المتغيرات على المعلمات البيوكيميائية للفوج الحالي. يمكن المساهمة في هذه الاختلافات في الحساسية من خلال عدة عوامل ، بما في ذلك الخلفية الوراثية للسكان المسجلين ، وتصميم الدراسة وحجم العينة ، وطريقة الترميز الجيني ، ووجود مضاعفات مرض السكري ، من بين عوامل أخرى.

ومن المثير للاهتمام ، وجدنا أن وجود كل من A * GSTT1 rs17856199 و NOS2 rs2297518 * كان المتغيران أكثر عرضة للإصابة بمرض السكري من النوع ٢ بمعدل ٣,٩٦ مرة أثناء حمل كلا من C * GSTT1 rs17856199 و A * NOS2 rs2297518 المتغيرات لديها قابلية أعلى بثلاثة أضعاف للإصابة بمرض السكري من النوع ٢. قد يؤثر تفاعل أليلات الخطر في المتغيرات الجينية المرتبطة بمضادات الأكسدة على أنشطة مضادات الأكسدة بشكل عام ، مما يسمح بمزيد من التعرض للإجهاد التأكسدي ويزيد من مخاطر المرض بشكل عام على النحو الذي اقترحه Decharatchakul وزملاؤه.

الأنماط الجينية SOD2 rs4880-GG و SOD3 rs2536512-AA ، على الرغم من أنها لم تظهر ارتباطًا كبيرًا بمخاطر داء السكري من النوع ٢ في المجموعة الحالية ، فقد أظهروا ارتباطًا كبيرًا بمؤشر كتلة الجسم و / أو فرط شحميات الدم ، وأظهر المتغير السابق أيضًا الارتباط بمستويات الجلوكوز في الدم.

حددت الدراسة الحالية أيضًا ارتباطًا كبيرًا بـ NOS2 rs2297518 مع فرط شحميات الدم. بالنظر إلى الأدوار الأساسية التي تلعبها NO ، بما في ذلك تنظيم وظيفة الخلايا البطانية ، وتنشيط نبرة الأوعية الدموية وتكوين LDL-C المؤكسد ، فإن ضعف عدم الإنتاج المرتبط بالمتغير المحدد ، يمكن أن يؤدي إلى مقاومة الأنسولين ، وداء السكري من النوع ٢ ، وارتفاع ضغط الدم وفرط كوليسترول الدم مجتمعة ، على الرغم من أن الدراسة الحالية محدودة بسبب حجم العينة الصغير نسبيًا ، والتصميم المقطعي ، وعدم إدراج المتغيرات الأخرى المرتبطة بالإجهاد التأكسدي ، فإن نتائج الدراسة هي أول من حدد الارتباط المحتمل للإجهاد التأكسدي المرتبط بـ GSTT1 المتغيرات الجينية rs17856199 و NOS2 rs2297518 ، منفردة أو مجتمعة ، مع القابلية لـ T2DM في السكان الحاليين.

أيضاً ، أظهر SOD2 rs4880 و SOD3 rs2536512 و NOS2 rs22975 ارتباطاً كبيراً بمؤشر كتلة الجسم و / أو فرط شحميات الدم. يمكن أن يساعد اختبار ارتباط هذه المتغيرات الجينية مع T2DM والنظر في العوامل الوراثية وغير الجينية الأخرى في التقسيم الطبقي للمريض حسب المخاطر ويتم تحديدها كأهداف جزيئية في العلاج الفردي في المستقبل يوصى بإجراء دراسات متعددة المراكز واسعة النطاق لتأكيد النتائج.

يمكن أن يساعد اختبار ارتباط هذه المتغيرات الجينية مع داء السكري من النوع ٢ والنظر في العوامل الوراثية وغير الجينية الأخرى في التقسيم الطبقي للمريض حسب المخاطر ويتم تحديدها كأهداف جزيئية في العلاج الفردي في المستقبل يوصى بإجراء دراسات متعددة المراكز واسعة النطاق لتأكيد النتائج.

في الختام ، في هذه الدراسة ، تشير نتائجنا إلى أن العلامات الجزيئية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي ، GSTT1 rs17856199 ، و NOS2 rs2297518 كانت مرتبطة بشكل كبير بمخاطر T2DM والنمط الظاهري في مجتمع الدراسة.

**Association of Antioxidant gene polymorphisms and Type 2 Diabetes
Mellitus in Saudi Population**

Prepared by

Amani Mohammed Taib Gusti

**A thesis submitted for the requirements of the degree of Doctor of Philosophy
(Biochemistry)**

Supervised By

Prof. Dr Safaa Yousef Mohammad Qusti

Faculty of Science

King Abdul-Aziz University

Jeddah – Saudi Arabia

1442H-2021G

Association of Antioxidant gene polymorphisms and Type 2 Diabetes Mellitus in Saudi Population

Amani Mohammad Taib Gusti

Abstract

Deregulation of the antioxidant enzymes was implicated in pathogenesis and complications of type 2 diabetes mellitus (T2DM). This study aimed to explore the association of 13 genetic variants of “superoxide dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*), glutathione peroxidase (*GPx*), glutathione-S-transferase (*GST*) and nitric oxide synthase (*NOS*)” with T2DM susceptibility and the available clinical laboratory data. The current study was conducted on 384 Saudi participants. Of the diabetic group (T2DM), males and females were equally reported in the study population; 95 females (53.7%) versus 82 male subjects (46.3%). Different genotypes of the genes mentioned above were characterized using TaqMan OpenArray Genotyping assays on QantStudio 12K Flex Real-Time PCR System. Among the studied 13 variants, the *NOS2* rs2297518*A allele was more frequent among T2DM cohort (58.1% vs. 35.4%, $p < 0.001$) and showed a dose-response effect; being heterozygote was associated with higher odds for developing DM (OR=4.06, 95%CI=2.13-7.73, $p < 0.001$), whereas being AA homozygote had double the risk (OR=9.06, 95%CI=3.41-24.1, $p < 0.001$). After age- and sex-adjustment, *GSTT1* rs17856199 was associated with T2DM under homozygote (OR=3.42; 95%CI:1.04-11.2, $p=0.031$), and recessive (OR=3.57; 95%CI: 1.11-11.4, $p=0.029$) comparison models. Having combined *nNOS* rs2297518*A and *GSTT1* rs17856199*A or *C genotypes were more likely to develop T2DM. Different associations with sex, BMI, hyperglycemia, and/or hyperlipidemia were evident. According to body mass index, 154 (40.1%) of the participants were obese. Among the studied variants, seven SNPs were significantly more prevalent in obese cohorts: (1) *GSTM1* rs1056806*C/T heterozygosity (21% vs 12%, $p=0.039$); (2) *SOD1* rs2234694*A allele (100% vs. 97%, $p=0.048$); (3) *SOD2* rs4880*G allele (52% vs. 43%, $p=0.038$); (4) *SOD3* rs2536512*A allele (56% vs. 51%, $p < 0.001$); (5) *GPX1* rs1800668*A allele (25% vs. 19%, $p=0.041$); (6) *GPX3* rs151028993*T (T allele: 99% vs. 96%, $p=0.016$; T/T genotype: 97% vs. 93%, $p < 0.001$); and (7) *NOS3* rs1799983*G allele (83% vs. 75%, $p=0.029$). Inheritance association models revealed that four SNPs showed a higher obesity risk; under heterozygote comparison (C/T vs. C/C: OR=2.02, 95%CI =1.15-3.55, $p=0.015$) and dominant (C/T-T/T vs. C/C: OR=1.92, 95%CI=1.11-3.31, $p=0.019$) models for *GSTM1* rs1056806 (C/T), under homozygote comparison model (G/G vs A/A: OR=1.97, 95%CI=1.0-3.86, $p=0.045$) for *SOD2* rs4880 (A/G), and under homozygote comparison (G/G vs. A/A: OR=2.65, 95%CI=1.11-6.32,

$p=0.048$) and recessive (G/G vs. A/A-A/G: OR=2.63, 95%CI=1.12-6.18, $p=0.024$) models for *GPX1* rs1800668 (A/G). In contrast, *SOD3* rs2536512 were less likely to be obese under heterozygote comparison (A/G vs A/A: OR=0.47, 95%CI=0.26-0.83, $p=0.033$) and dominant (A/G-G/G vs. A/A: OR=0.53, 95%CI=0.31-0.91, $p=0.021$) models. In conclusion, our results suggest that oxidative stress-related molecular markers, *GSTT1* rs17856199, and *NOS2* rs2297518 variants, have a significant association with T2DM risk and phenotype, and the oxidative stress-related genetic determinants could have a significant association with obesity risk in the study population.