جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة جزيئية لجيني PON1 وPON2 وعلاقته ببعض المتغيرات الفسلجية في مرضى أحتشاء القلب والذبحة الصدرية غير المستقرة في محافظة كربلاء

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير في علوم الحياة- علم الحيوان

من قبل الطالبة
انتصار كاظم غالب الشبلي

ماجستير في علوم الحياة- علم الحيوان

بإشراف

أ.م.د ياسمين خضير خلف

أ. حسين علي عبد اللطيف

شوال - 1437هـ

أب- 2016 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة/ الآية 11

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن أعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة جزيئية لجيني PON1 وPON2 وعلاقته ببعض المتغيرات الفسلجية في مرضى أحتشاء القلب والذبحة الصدرية غير المستقرة في محافظة كربلاء) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي جزءٌ من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

التوقيع:

الاسم : ياسمين خضير خلف

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربيةللعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2016

التوقيع:

الاسم : حسين علي عبد اللطيف

المرتبة العلمية :استاذ

العنوان:كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التأريخ : / / 2016

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذين المشرفين ، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:

الاسم : زهير حميد عبود

المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2016

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة جزيئية لجيني PON1 وPON2 وعلاقته ببعض المتغيرات الفسلجية في مرضى أحتشاء القلب والذبحة الصدرية غير المستقرة في محافظة كربلاء) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم :م.د. نبراس هاشم ياس

المرتبة العلمية:الدكتور المدرس

الكلية والجامعة:التربية للعلوم الصرفة |جامعة كربلاء

التأريخ: / /2016

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة

إقرار لجنـة المناقشـة

نحن رئيس و أعضاء لجنة المناقشة أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ(دراسة جزيئية لجينـي PON1 وPON2 وعلاقتـه ببعض المتغيرات الفسلجية فـي مرضـى أحتشـاء القلب والذبحـة الصدرية غير المستقرة في محافظة كربلاء) والمقدمة من قبل الطالبة (إنتصـار كـاظم غالـب الشبلي) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا انها جديرة بالقبول بتقدير (**امتيـاز**) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

رئـيس اللجنة
التوقيع :
الاسم : أ**.د. علي حمود السعدي**
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : جامعة بابل – كلية العلوم
التاريخ : / /2016

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم : أ**.د. أرشد نوري الدجيلي**
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : جامعة الكوفة / كلية العلوم البيطري
التاريخ : / / 2016

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم : **أ.م.د . عايد حميد حسن**
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
مكان العمل : جامعة كربلاء /كلية الطب
التاريخ : / /2016

عضو اللجنة (المشرف)
التوقيع :
الاسم :أ **. حسين علي عبد اللطيف**
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل :جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : / /2016

عضو اللجنة (المشرف)
التوقيع:
الاسم:**أ.م.د.ياسمين خضير خلف**
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
مكان العمل:جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ: / / 2016

مصـادقة عميد كليـة التربيـة للعلوم الصرفة
أُصادق على مـا جـاء في قـرار اللجنـة أعلاه
التوقيع :
الاسم : **د. نجم عبد الحسين نجم**
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية العلوم الصرفة
التاريخ : / /2016

الإهداء

إلى معلم البشرية الاول المبعوث رحمة للعالمين نبياً وقائدا وشفيعا . . . سيدنا محمد (ﷺ)

إلى من أحمل أسمك بفخر . . . وأفتقدك منذ الصغر . . .

يامن يرتعش قلبي لذكرك . . . . . أبي

إلى من أرضعتني الحب والحنان . . . إلى رمز الحب وبلسم الشفاء

إلى ينبوع الصبر والتفائل . . . . . إلى القلب الناصع بياضاً . . . . والدتي الحبيبة

إلى من أشدد بهم أزري . . . إلى من مدوا يد العون لي . . . أخوتي وأخواتي

إلى من أمدوني بالعلم والمعرفة الزاخرين . . . . أساتذتي الأفاضل

أهدي لهم قطاف جهدي المتواضع

إنتصار

شكر وتقدير

الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحاً لذكره وخلق الأشياء ناطقةً بحمده وشكره,والصلاة والسلام على نبيه محمدٍ المشتق اسمه من اسمه المحمود, وعلى آله الطاهرين أولي المكارم والجود. أعلام الهدى والعروة الوثقى واولي الحجة والنهى ... الحمد لله الذي جعل العلم ضياءً والقران نورا ورفع الذين اتوا العلم درجات عاليات إنه كان ذلك في الكتاب مسطورا ... الهي مابي من نعمة فمنك وحدك لاشريك لك فلك الحمد والشكر على ذلك . أما بعد ,

أوجه شكري وتقديري إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة للجهود المبذولة في تذليل كثير من العقبات خلال مسيرة البحث.

فلا يسعني إلا أن أتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى أساتذتي المشرفين الدكتورة ياسمين خضيرخلف والأستاذ حسين علي عبد اللطيف لاقتراحهما مشروع هذا البحث وابدائهما النصائح القيمة والتوجيهات السديدة لإتمام مشروع البحث ومتابعتهما المستمرة وإشرافهما المباشر.

كما لايسعني ألاّ أن أقدم شكري الجزيل إلى منتسبي وحدة العناية المركزة للقلب في مستشفى الزهراء (ع) التعليمي في محافظة كربلاءالمقدسة وإلى الدكتور حيدر سلوم و الدكتورة زينة محمد والدكتورة آيات ناصرومنتسبي الوحدة امال ربيع ورغد حسين وشيماءعلوان وسلام عبد القاسم ومصطفى عبد الرسول ومحمود جميعهم لمساعدتهم ومساندتهم الأخوية الكبيرة, ، وأسأل الله أن يمن على جميع المرضى بالصحة والعافية.

كذلك اتقدم بالشكر الجزيل إلى قسم علوم الحياة –كلية العلوم –جامعة كربلاء لموافقتهم على اجراء جزء العملي بمختبراتهم .كما أتقدم بالعرفان والإمتنان والشكرالجزيل إلى الأستاذ مساعد الدكتورثامركريم الجنابي عميد كلية الزراعة في جامعة كربلاء لما أبداه لي من مساعدة في إتمام جميع العمليات الاحصائية الخاصة بالدراسة .

والاعتزاز والتقدير للأخوة الاعزاء زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا.

وأخيرا إلى الأكف البيض التي طالما دفعتني للسير قدماً في طريق العلم وزرع في نفسي روح المجاهدة وصولا الى تحقيق الهدف المنشود. إلى من كانوا سندي في الحياة وافر محبتي واعتزازي ...لعائلتي وأخي الذي لم تلده إمي مختار فاهم .

وأخيرا شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وبقي حسن عمله ,الى كل من مد يد العون والمساعدة ولم يبخل عليّ بنصيحة أو دعاء . وأسأل الله العلي العظيم الموفقية للجميع...

إنتصار

الخلاصة

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

اجريت الدراسة للمرضى ومجموعة السيطرة بين شباط 2015 –كانون الثاني 2016في وحدة العناية المركزة /مستشفى الزهراء التعليمي في محافظة كربلاء ومختبر التحليلات المرضية لمستشفى الحسين التعليمي. شملت الدراسة 150 مريض منهم (75) مريض كانوا مصابين بأحتشاء العضلة القلبية (57 ذكر و18 أنثى) و(75) مريض مصاب بالذبحة الصدرية (50 ذكر و25 أنثى) وبعمريتراوح بين (31-71 سنة),بينما اشتملت الدراسة على 50شخصا من الأصحاء والتي تضمن(35 ذكور و15 أنثى) وتضمنت الدراسة محوريين رئيسين:

1-الدراسة الفسيولوجية تم قياس تركيز انزيم الباروأوكسينيزPON1 , ومستوى فعالية إنزيمات الكبد Aspartate transaminase (AST) ، Alanine transaminase (ALT)، وقياس مرتسم الدهون : تركيز الكوليسترول الكلي في الدم Total cholesterol (TC) والكليسيريدات الثلاثية Trigycerides والبروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول HDL-C) high-density lipoprotein cholesterol) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً للكوليسترول Very low density lipoprotein (VLDL-C).

أظهرت نتائج هذه الدراسة لمرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية للذكور والاناث والمرضى المصابين بداء السكري والمرضى المدخنين أنخفاض معنوي ($P<0.05$)في مستوى أنزيم Paraoxonase (PON1) مقارنة مع مجموعة السيطرة,كما بينت الدراسة الحالية أرتفاع معنوي في مستويات Alanine transaminase (ALT) و Aspartate (AST) transaminase و الكوليسترول الكلي في الدم Total cholesterol (TC) والكليسيريدات الثلاثية Trigycerides والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول low-(LDL-C) density lipoprotein cholesterol والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً للكوليسترول Very low density lipoprotein (VLDL-C) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية لكلا الذكور والاناث .

وبينت الدراسة الحالية أرتفاع معنوي (P<0.05) لمستويات (Aspartate (AST transaminase و الكوليسترول الكلي في الدم (Total cholesterol (TC والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية للمرضى المصابين بالضغط ,بينما بينت النتائج أرتفاع معنوي في مستويات Aspartate transaminase (AST) و الكليسيريدات الثلاثية Trigycerides والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً للكوليسترول Very low (VLDL-C) density lipoprotein في المرضى المدخنين و المرضى المصابين بداء السكري .وأظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في مستويات TG , TC و VLDL-C لدى المرضى في الفئات العمرية من (41-71 سنة). بينما بينت النتائج وجود فروق معنوية (P<0.05) في مستوى والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول low-density (LDL-C) lipoproteinفي الفئات العمرية وأكبر مستوى في الفئة العمرية (31-40) سنة.

وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أنخفاض معنوي (P<0.05) في مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمرضى المدخنين , وأعلى أنخفاض في مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول (HDL-C) high-density lipoprotein cholesterol في الفئة العمرية الرابعة.

2-الدراسة البايلوجية الجزيئية :

في هذه الدراسة أستخدمت تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل Polymerase chain (PCR) reaction لتحديد الجين الطافر في مرضى تصلب الشرايين وهما جين (PON1) و(PON2).أوضحت الدراسة الحالية لجين PON1 الطافرناتج (bp 99) بنسبة (45.33) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية وبنسبة (37.33) لمرضى الذبحة الصدرية بينما جين PON1 الطافرناتج (bp 171) بنسبة (53.33) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية وبنسبة (41.33) لمرضى الذبحة الصدرية أعلى نسبة من ظهور جين PON2الطافربنسبة (29.33) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية وبنسبة (20) لمرضى الذبحة الصدرية.

بينت النتائج وجود علاقة للتاريخ العائلي لدى المرضى وأرتفاع خطورة الاصابة بالمرض ووجود الجين PON1الطافر و2 PON .

كما أظهرت الدراسة الحالية وجود تأثير للتدخين في وجود الجين الطافر PON1 و PON2 في زيادة خطورة الاصابة باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية .

وبينت النتائج أن نسبة وجود الجين الطافر PON1 و PON2 بنسبة أعلى في المرضى المصابين بضغط الدم وبداء السكري مقارنة بالمرضى غير المصابين .

قائمة المحتويات

الموضوع	الصفحة
قائمة المحتويات	I
قائمة الاشكال	V
قائمة الجداول	VI
قائمة المختصرات	VIII
الفصل الأول :- المقدمة	
المقدمة	1
الفصل الثاني :- استعراض المراجع	
1-2 تصلب الشرايين Atherosclerosis	4
1-1-2 عوامل الخطورة لمرض تصلب الشرايين Rick factor for Atherosclorosis	5
2-1-1-1-1-ارتفاع الكوليسترول Hypercholesterolemia	5
2-1-1-2العمر Age	6
2-1-1-3-الجنس Gender	6
2-1-1-4-التدخين Smoking	6
2-1-1-5 إرتـفـاع ضغـط الـدم Hypertension	7
2-1-1-6- داء السكري Diabetes Mellituses	8
2-1-1-7-السمنة Obesity	8
2-1-1-8-التاريخ العائلي Family History	8

2-2 أحتشاء العضلة القلبية الحاد Acute Myocardial Infarction(AMI)	9
2-3 الذبحة الصدرية Angina pectoris(AP)	10
2-3-1. الذبحة الصدرية المستقرة Stable angina	10
2-3-2. الذبحة الصدرية غير المستقرة Un Stable angina	10
2-3-3 الذبحة الصدرية التشنجية Varint angina	10
2-4 الانزيمات الكبدية Liver enzymes	11
2-5 البايلوجية الجزيئية لمرض تصلب الشرايين	12
2-5-1الاسس الوراثية لاحتشاء العضلة القلبية	12
2-6.جينات الباراوكسينيز PON	13
2-6-1جين paraoxonase (PON1)	14
2-6-2جين(PON2) Paraoxonase 2	19
2-6-3(PON3) Paraoxonase 3	19
الفصل الثالث:-المواد وطرائق العمل	
3- المواد وطرائق العمل Materials & Methods	21
3-1 المواد والاجهزة المستخدمة	21
3-1-1.المواد الكيميائية Chemical materials	21
3-1-2 الادوات المستخدمة	22
3-1-3 الاجهزة المستخدمة	23
3-2 طرائق العمل Methods	24
3-2-1 عينات الدراسة	24
3-2-2 تصميم التجربة Experiment Design	25

3-2-3 مجاميع التجربة	25
4-2-3 جمع عينات الدم collection of Blood sample	26
3-2-3- 5 قياس المعاييرالفسلجية	27
3-2-5-2-1تقدير تركيز انزيم باراأوكسينيز في مصل الدم Determination of serum paraoxonase Level	30
3-2-5-2 تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم Total Cholesterol(TC)	30
3-2-5-3 :تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدمTriglycerol(TG)	32
3-2-5-4: تقدير تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا في المصل Very low density lipoprotein (VLDL-C)	33
3-2-5-5: تقدير تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة في مصل الدم High Density Lipoprotein (HDL-C)	33
3-2-5-6: حساب تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة في مصل الدم Calculation of serum Low density lipoprotein – cholesterol Concentraction(LDL-C) :	35
3-2-5-7تقدير فعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في المصل Aspartate transaminase (AST) and Alanine transaminase (ALT)	35
3-2-5-8 تقدير مستوى التروبونين Troponin leves	37
3-2-5-9 تقدير مستوى الكلوكوز Determination of Glucose level	38
3-2-5-10 قياس ضغط الدم Blood pressure	39
3-2-6 أستخلاص الـ DNA DNA Extraction	40
3-2-6-1 ترحيل إلكهربائي للـ DNAعلى هلام الأكاروز	41

Agarose Gel Electrophoresis	
3-2-6-2التوصيف الجزيئي للجينات المدروسة	42
3-2-6-3 تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل لجيني PON1 و PON2	43
3-2-6-4تحميل ناتج تفاعل البلمره المتسلسل والترحيل الكهربائي Loading PCR product & Electrophoresis	45
3-2-7التحليل الإحصائي	45
الفصل الرابع:- النتائج	
4-النتائج Results	46
4-1 الدراسة الفسلجية : physiological study	46
4-1-1 تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للذكور	46
4-1-2 تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للأناث	48
4-1-3 تاثير نوع المرض على بعض المعاير الكيموحيوية للذكور والاناث	49
4-1-4 تأثير الجنس على بعض المعايير الكيموحيوية	51
4-1-5 تأثير الاصابة بأرتفاع ضغط الدم الشرياني على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	52
4-1-6 تأثير الاصابة بداء السكري على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	53
4-1-7 تأثير التدخين على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	54
4-1-8 تأثير العمر على بعض المعايير الكيموحيوية	55
4-1-9 التغيرات في التروبونين لدى مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.	57
4-2 الدراسة البايلوجية الجزيئية : Molecular study	58
4-2-1 دراسة جين Paraoxanase 1 PON1 gene حجم الناتج (99bp)	58

2-2-4 دراسة جين Paraoxanase 1 PON1 gene حجم الناتج (171bp)	59
3-2-4 دراسة جين Paraoxonase2 (PON2) حجم الناتج (226bp)	61
4-2-4استخلاص الدنا الكروموسومي	63
الفصل الخامس : المناقشة	
1-5 الدراسة الفسلجية	71
2-5 الدراسة الجزيئية	76
الاستنتاجات والتوصيات	
الاستنتاجات	79
التوصيات	80
المصادر	81-110
المصادر العربية	81
المصادر الاجنبية	82-115

قائمة الاشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
1-2	خطر عوامل التقليدية والبيئية على مخاطر المتغيرات الجينية التي تؤثر على مخاطر التعبير الجيني أو الوظيفي والتي تسبب امراض القلب التاجية و احتشاء العضلة القلبية	13
2-2	يبين موقع جين PON	14
3-2	التأثير البايلوجي PON1	16
4-2	1-يبين التطور الطبيعي لتصلب الشرايين . 2-الحماية من تصلب الشرايين عن طريق PON1	17
1-3	شكل الشريحة المستعملة في اختبار الـ Troponin	37

1-4	الترحيل الكهربائي لحزم الـ DNA الكروموسومي على 0.8% جل الاكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة.	64
2-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 99 bp في مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	65
3-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 99 bp في مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	66
4-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 171 bpفي مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	67
5-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة PON1 ناتج 171 bpفي مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	68
6-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON2 ناتج 226 bpفي مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	69
7-4	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON2 ناتج 226 bpفي مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف	70

قائمة الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
1-3	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة.	21
2-3	الادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة	22

3-3	الأجهزة المستخدمة في الدراسة	23
4-3	عدة مكونات كت الاليزا لانزيم PON1	27
5-3	البوادئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الجينات المدروسة	42
6-3	مواد التفاعل لتقنية Polymerase chain reaction	43
7-3	البرنامج المستخدم للكشف عن جين PON1	44
8-3	البرنامج المستخدم للكشف عن الجين PON1	44
9-3	البرنامج المستخدم للكشف عن الجين (PON2)	45
1-4	مقارنة بين أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في بعض المعايير الكيموحيوية للذكور	47
2-4	مقارنة بين أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في بعض المعايير الكيموحيوية للاناث	49
3-4	مقارنة الذكور والاناث على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	51
4-4	مقارنة الجنس على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	52
5-4	مقارنة الاصابة بأرتفاع ضغط الدم الشرياني على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	53
6-4	تأثير الاصابة بالسكري على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	54
7-4	تأثير التدخين على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	55
8-4	تأثير العمر على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى	56
9-4	التغيرات في التروبونين لدى مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة	57
10-4	النسبة المئوية الجين PON1(99 bp) لعدد من المتغيرات في المرضى	59
11-4	النسبة المئوية لظهور جين PON1(171 bp)لعدد من المتغيرات في المرضى	61
12-4	النسبة المئوية الجين2 PON (226 bp) لعدد من المتغيرات في المرضى	63

قائمة المختصرات

الرمز	المصطلح
AMI	Acute Myocardial Infarction
ALT	Alanine transaminase
AP	Angina pectoris
T_A	Annealing temperature
R	arginine
AST	Aspartate transaminase
Bp	Base pair
CVD	cardiovascular diseases
Chol.	Cholesterol
CAD	coronary artery disease
CCU	coronary care unit
D. W.	Deionized water
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECG	Electrical Cardio Gragh
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EDTA	Ethylene diamin tetra acetic acid
FH	Familial hypercholesterolemia
F	Forward

Q	glutamine
HDL-C	high-density lipoprotein cholesterol
IDL	Intermediate Density Lipoprotein
Kb	Kilo base pair
kDa	kilodalton
L	leucine
LPL	Lipoprotein Lipase
LDL-C	low-density lipoprotein cholesterol
TM	Melting temperature
M	methionin
µl	Microliter
MI	Myocardial Infarction
PON1	Paraoxonase 1 gene
PON2	Paraoxonase 2 gene
PON3	Paraoxonase 3 gene
PCR	Polymerase chain reaction
ROS	Reactive oxygen species
R	Revers
SAS	Statistical analyse system
q	The long arm of chromosome
TC	Total Cholesterol
TG	Trigycerides

TBE	Tris – Borate – EDTA
VLDL-C	Very low density lipoprotein
WHO	World Health Organization

المقدمة **Introduction**

يعد مرض تصلب الشرايين Atherosclerosis هو أحد الاسباب الرئيسية للوفاة في العالم ، وتزايدت نسبته بشكل كبيرفي العالم. للفترة من عام 1990-2010، أذ ارتفعت نسبة الوفيات الناجمة عن أمراض القلب والأوعية الدموية بنسبة تزيد على 30 % في جميع أنحاء العالم .(Schunemann *et al.,* 2008 ;Moran *et al*., 2012) ويعد 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 (Tovori,*et al*.,2009) وفي العراق على الرغم من قيود إحصائيات الوفيات هناك أدلة تشير إلى أن امراض القلب الوعائية تحتل المرتبة الأولى كسبب للوفاة (Alwan , 2004) 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 (WHO , 2008) .

وتشير إحصائيات الأمم المتحدة إلى أنّ معدلات الإصابة بأمراض القلب التاجية تتجاوز 14 مليون شخص بين مصاب باحتشاء العضلة القلبية (AMI) Acute Myocardial Infarction أو الذبحة الصدرية Angina pectoris(AP) (Wang, 2005)

وفي العراق وتحديداً في السنوات العشرين الأخيرة لوحظ ارتفاع في حالات الإصابة بأمراض القلب التاجية (coronary heart disease (CHD وتوقف القلب cardiac arrest لدى الشباب في سن الثلاثينات والأربعينات وقد أصيبوا بمرض احتشاء العضلة القلبية الحاد AMI او الذبحة الصدرية AP (شمسي، 2006).

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 ينتج عنه في أحيان كثيرة أنسداد مفاجئ بالشريان قد تنتج عنه النوبة القلبية او الوفاة المفاجئة . تصلب الشرايين هو مرض تدريجي يتميز بتراكم الدهون والعناصر الليفية في الشرايين الكبيرة (Beltowski ,*et al*.,2002) .

يعد من اوسع امراض القلب انتشارا بعد مرض ارتفاع ضغط الدم وهو اكثر حدوثا لدى الرجال من النساء (Roberts *et al*.,1990).

تشمل عوامل الخطورة للاصابة بامراض الشرايين التاجية عوامل لايمكن السيطرة عليها مثل العمر والجنس، والعوامل الوراثية ,وعوامل يمكن السيطرة عليها مثل التدخين والسمنة وقلة

النشاط البدني، واضطراب الدهون وارتفاع ضغط الدم والسكري(Park,2004) . فضلا العوامل النفسية زائدا التوتر والانفعالات العصبية (Rozanski *et al* ,2005)

تلعب الانزيمات دورا هاما في حدوث الاصابة بمرض تصلب الشرايين ومن اهمها انزيم الـ paraoxonase (PON) أي PON1، PON2، PON3 الذي ينتمي الى مجموعة من الانزيمات التي تحلل الفوسفات العضوية واللاكتونات (Draganov *et al*,2005 Gupta *et al*,2009 and Aharoni *et al*, 2004;) وهو أنزيم مضاد للأكسدة ومرتبط ارتباط وثيقاً بالكوليستيرول ذو الكثافة العالية HDL (Vekic *et al*., 2007 and Gupta *et al*., 2011) و لهُ خاصية التأكسد بحماية الكوليستيرول المنخفض الكثافة LDL من التغيرات المؤكسدة وبالتالي يمنع تصلب الشرايين
(Gupta *et al*.,2009).

أثبتت الدراسات إن العوامل الوراثية دورا مهما في الاصابة بالمرض (Van *et al* 2011,)من المرجح أن هناك العديد من الجينات يمكن أن تسهم في قابلية الاصابة والتسبب في مرض تصلب الشرايين. وقد كشفت التطورات في مجال علم الوراثة الجزيئية إلى أن تعدد الأشكال الجينية قد تؤثر بشكل كبير في التعرض لتصلب الشرايين. في السنوات الأخيرة قد تم تحديد عدد كبير من الجينات المرشحة، تعدد الأشكال الجينية ، وعددها بتزايد سريع. ويجري استخدام طريقتين لفهم دور هذه الجينات: الأول يطبق التكنولوجيا الجينومية والبروتين لدراسة التعبيرو وظائف وتفاعلات الجينات في نماذج من تصلب الشرايين والطريقة الثانية هو دراسة المجتمعات البشرية للاختلافات الجينية التي ترتبط مع وربما تحديد فروق في معدلات تصلب الشرايين في السكان، فإن التوريث من تصلب الشرايين (جزء من المرض يفسره علم الوراثة) عالية في معظم الدراسات، وكثيرا ما تتجاوز 50%
(Tuomisto,*et at*,2005).

ينتمي جين PON إلى عائلة باراأوكسينيز paraoxinase هي عائلة متعددة الجينات ,يوجد بثلاثة انواع هي: PON1، PON2 وPON3. وتقع جنبا إلى جنب على الذراع الطويل للكروموسوم 7 (7q21.3-q22.1) في الانسان Ali *et al*., 2003and Gupta *et al*,2009)

يلعب PON1 دورا هاما في تثبيط اكسدة البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL ، مما يقلل من تصلب الشرايين و أمراض القلب والأوعية الدموية. عند زيادة نشاط PON1 يسهم في زيادة مستويات اكسدة البروتينات الدهنية العالية الكثافة HDL(Souza, *et al*.,2015).

أظهرت الدراسات ان انزيم باراأوكسينيز (PON1) من مضادات الاكسدة ويحمي البروتين الدهني المنخفض الكثافة low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C) من التأكسد ، وهويرتبط بالبروتين الدهني عالي الكثافة high-density lipoprotein (HDL-C) cholesterol والتي تستطيع أن تحلل وتخفض البروتينات الدهنية المؤكسدة في الشرايين (Mackness *et al*.,1993;Aviram *et al*., 2005; Wang *et al*.,2010;Kumar.,2013)

يرتبط نشاط PON1 في المصل عكسيا مع الأمراض القلبية الوعائية أن الأفراد المصابين بأمراض الشرايين السباتية carotid artery أو الشرايين التاجية و احتشاء عضلة القلب تبين أن لديهم انخفاض في نشاط PON1 (Jayakumari and Thejaseebai , 2009 and Shekhanawar *et al*., 2013) وتم تحديد باراأوكسينيز paraoxinase 1 كجينات مرشحة تفسر النزوع الفردي لأمراض القلب والأوعية الدموية (2009 and Precourt *et al*.,2011 (Soran *et al*.,

هناك علاقة بين االتغيرات الوراثية التي تحدث في العائلة باراأوكسينيز paraoxinase وبين تطور أمراض القلب التاجية (Ito *et al*.,2002 and Eom *et al*.,2011)خاصة تصلب الشرايين لعلاقتهما الوثيقة بالبروتينات الدهنية العالية الكثافة والبروتينات الدهنية الواطئة الكثافة وهذه التغيرات الوراثية الحاصلة لدى المرضى تؤدي في نهاية المطاف إلى ألاصابة بمرض تصلب الشرايين الذي يؤدي الى حدوث الذبحة الصدرية واحتشاء العضلة القلبية وغيرها من الأمراض وهذا مابينته العديد من الدراسات في هذا المجال .

الهدف من الدراسة :

1- التقصي عن العلاقة بين ظهور أمراض القلب وبعض الجينات

2- نسبة ظهور الامراض القلبية في محافظة كربلاءوعلاقتها ببعض المعايير الحيوية .

استعراض المراجع Literature Review

1-2 تصلب الشرايين Atherosclerosis

تصلب الشرايين **Atherosclerosis**مصطلح طبي يطلق على ترسب المواد الدهنية والليفية والكالسيوم ومواد أخرى في الطبقة المبطنة لجدار الشريان وتكون هذه الترسبات على هيئة نتوءات تبرز إلى داخل التجويف تدعى اللويحات Plaques ومع مرور الوقت تصبح أكثر كثافة وقوه وتسبب في تضييق الشرايين بصورة تدريجية وربما انسدادها مما يؤدي إلى ضعف تدفق الدم عبر هذا الشريان إلى العضو الذي يغذيه (Mallinson, 2010).

وأن مظاهر التصلب تظهر من خلال تكون العصيدة الشريانية Atheroma، فعند تعرض الطبقة الداخلية للشريان (Intima Tunica) إلى تلف (Injured) أو جرح بسبب ترسب الدهون وتأكسد الجزيئات الغنية بالكوليسترول (LDL) فيها فان كريات الدم البيض Macrophage الحبيبية (Nutrophil) وغير الحبيبية (Monocyte) في الدم تهاجر إلى الانسجة (منطقة الضرر) إذ تهاجم جزيئات LDL المؤكسدة مكونة معها خلايا رغوية (Foam cells)، وبزيادة الدهون المترسبة وLDL في الطبقة الداخلية يزداد الالتصاق والتماسك بالخلايا الدموية البيضاء ويزداد الضرر بالزيادة الناتجة من تكاثر أعداد خلايا العضلات الملساء ولحمية النسيج الضام في المادة الأساس الذي يحتوي على الكولاجين والألياف المطاطة والبروتوكلاندين ويستمر نمو الضرر باتجاه تجويف وعاء دموي محدثاً فيه تآكلاً في الطبقة الوسطى لجدران الشريان (Media Tunica) وتنتج عن ذلك زيادة تكون العضلات الملساء باتجاه الطبقة الداخلية محدثة زيادة في سمكها، وعند انفجار الخلايا البلعمية (Macrophage) تطرح مكوناتها من الشحوم خارج الخلايا (extracellular) مؤدية إلى تكون اللويحة Plaque (Wyngaarden and Smith, 1988). وتتكون اللويحة من لب مؤلف من شحوم خارج خلايا محاطة بخلايا العضلات الملساء وألياف مطاطة وتنفصل اللويحة عن تجويف الشريان بواسطة غلاف من نسيج ليفي كولاجيني وعند تمزق اللويحة أو عند تعرضها للانفتاق تتحرر محتوياتها فتسمح للدم بالدخول وتمزيق جدار الشريان مما يعرضه إلى تكوين الخثرة الدموية (Thrombosis) ويزداد ضرر التصلب بزيادة عدد اللويحات ودرجة نموها وتمزقها مع تقدم العمر إذ تعمل اللويحة على انسداد الوعاء الدموي المؤدي إلى مرض CHD (Braunwald *et al*, 2001). وتزداد نسبة عدد اللويحات بارتفاع مستوى تركيز الدهون والضغط الدموي والتدخين وداء السكري (Fuster *et al*, 2001).

تعد امراض الشرايين التاجية coronary artery disease (CAD) امراض القلب والأوعية الدموية (cardiovascular diseases (CVD هي السبب الرئيسي للوفيات

والأمراضية في العالم,ومن ضمنها مرض تصلب الشرايين هو السبب الرئيسي لأمراض القلب (Lang *et al*.,2010 ; Go *et al*.,2013; Hsu *et al*.,2013).

يلعب تصلب الشرايين دورا رئيسيا بالاصابة بامراض الشرايين التاجية coronary artery disease وهو السبب الرئيسي للوفاة، ما يقارب 30٪ من الوفيات في جميع أنحاء العالم ,أذ تلعب العوامل الوراثية و البيئية دورا مهماً في الإصابة وتطور الإمراض القلبية(Ahmed,2012; Moran *et al*., 2012; Liu *et al*,2014)

تشمل المظاهر السريرية لامراض الشرايين التاجية مجموعة من الحالات الحادة والمزمنة مثل الذبحة الصدرية المستقرة،متلازمة الشريان التاجي الحادة وفشل القلب heart failure, تساهم العوامل الوراثية بشكل كبير في خطر امراض الشرايين التاجية CAD (Liu and Qiu, 2013)

كما تشمل الأمراض القلبية الوعائية مرض الشرايين التاجية (CAD) هي السبب الرئيسي للوفيات على حد سواء في البلدان المتقدمة وفقا لمنظمة الصحة العالمية (Libby Wang, 2005 *et al*.,2002;), وتحتل أمراض الشرايين التاجية المرتبة الاولى في البلدان النامية, وبحلول عام 2020 تكون السبب الرئيسي للموت في جميع أنحاء العالم ;Murray& Lopez,1997 (Tunstall-Pedoe *et al*.,2000)

2-1-1عوامل الخطورة لمرض تصلب الشرايين Rick factor for Atherosclorosis

هناك العديد من عوامل الخطورة لامراض الشرايين التاجية وتتضمن عوامل ثابتة لايمكن السيطرة عليها هي العوامل الوراثية والبيئية والجنس والعمر وعوامل يمكن السيطرة عليها هي التدخين, ارتفاع ضغط الدم ,السمنة, داء السكري, العوامل النفسية, الافتقار إلى التمارين الرياضية ورتابة نمط الحياة, ارتفاع الدهون, الكوليستيرول ,Schaefer) 2002; Kannel, 2002; Riccioni and Sblendorio, 2012) . ومن اهم هذه العوامل:-

2-1-1-1-ارتفاع الكوليسترول Hypercholesterolemia

يتأثر تركيز الكوليسترول في الدم بعوامل مختلفة منها وراثية وبيئية مثل نوع وكمية الدهون في النظام الغذائي والسمنة والنشاط البدني.تؤكد الدراسات السابقة أن هناك أدلة قوية على وجود ارتباط بين ارتفاع الكولسترول وزيادة خطر الأمراض القلبية الوعائية(CVD), أن فرط كوليسترول الدم العائلي Familial hypercholesterolemia (FH) هو اضطراب وراثي جسمي سائد يتميز بأرتفاع مستوى الكولسترول ذات البروتينات الدهنية واطئة الكثافة (LDL-

C في البلازما,حيث أن المطفرات في تشفير الجين لمستقبلات LDL، تكون نتائجه واضحة في LDL المشوه وزيادة خطر أمراض القلبي الوعائية السابق لأوانه (Goldstein and Brown, 2009) أن من اهم العوامل التي تؤدي الى حصول تصلب الشرايين المبكر هو ارتفاع مستوى الكولستيرول نتيجه الاكثار من تناول الاطعمة الدسمة وخصوصا الدهون الحيوانية ودهون منتجات الألبان والذي يزيد من خطر الاصابة (Goldstein and Brown ,2009)

2-1-1-2- العمر Age

يعد تقدم العمر من العوامل المهمة المسببة لامراض القلب. اذ ترتفع الاصابة بتصلب الشرايين التاجية بعد سن الخمسين وفي كلا الجنسين , أن للعمر علاقة بارتفاع ضغط الدم وارتفاع نسبة الدهون في الجسم (Myres,2005) وان المحتوى الدهني لدى الإنسان يزداد بزيادة العمر

.(Bonethi and Lerman, 2003)

2-1-1-3-الجنس Gender

يعد من العوامل الخطرة للاصابة بمرض تصلب الشرايين، فالذكور أكثر عرضة للاصابة مقارنة بالاناث وذلك بسبب الهرمونات الجنسية أذ ان الهرمون الذكري (Testosterone) يعمل على زيادة كمية الشحوم المحمولة في الدم وزيادة ترسب اللويحة (Plagues)ألمسببة لتصلب الشرايين(Lawrence,*et al*., 2002) وتزداد نسبة الاصابة عند النساء بعد سن 50 بسبب انخفاض نسبة هرمون الاستروجين (Gierach *et al*., 2009) . estrogen ، وقد أوضح (Fuster, 1994) تأثير هرمون الأستروجين في إنخفاض نسبة الوفيات بأمراض القلب إلى 50% لأنه يعمل على رفع مستوى HDL-C بنسبة 15% وخفض مستوى LDL-C بنسبة 15% ومن دون حدوث تغيير في أيض الدهون.

2-1-1-4-التدخين Smoking

يعد التدخين من العوامل الرئيسية للاصابة بتصلب الشرايين عن طريق زيادة بيروكسيد الدهون Lipid peroxidation الذي بدوره يؤدي الى زيادة الضرر ببطانة الشرايين

وبذلك يرتبط التدخين مع زيادة خطرتكوين اللويحة والحد من استقراراللويحة (Bazzano, *et al*.,2003 ;Valkonen and Kuusit,1998) إن التجارب التي اجريت على الحيوانات والبشر أثبتت بأن التعرض للنيكوتين يسهم في تفعيل الأليات التي تؤدي إلى أمراض الأوعية القلبية بما فيها تصلب الشرايين وإحداث ضعف في بطانة الشريان وإنتاج Reactive oxygen species (ROS) وحدوث التهابات وإنخفاض في النشاط الحيوي لاوكسيد النتريك (NO) (Rahman and Laher, 2007). إن تدخين التبغ هو أحدعوامل الخطر القوية جدا للأصابة بأمراض الذبحة الصدرية ويسبب ضيق الأوعية الدموية لتصبح شبه مسدودة مما يؤدي الى حدوث نقص فى وظيفة القلب وإذا كان التدخين بشكل مفرط Havey smokers فأنه يؤدي إلى إحتشاء عضلة القلب (Europen Commisson, 2004). التدخين وبمستوى 1 - 4 سجائر في اليوم الواحد يسهم بارتفاع خطر الأصابة بأمراض الأوعية القلبية (Bjartveit and Tverdal,2005).

5-1-1-2 إرتفاع ضغط الدم : Hypertension

هو الضغط على جدران الشرايين الذي يولده دفع الدم من القلب وأليها وهو من العوامل الماعدة في حدوث تصلب الشرايين التاجية (Benetos *et al*.,2002) هو وصول ضغط الدم الانقباضي systolic blood pressure الى مايزيد عن 140ملم زئبق والضغط الانبساطي diastolic blood pressure أعلى من 90 ملم زئبق , والذي يسرع تصلب الشرايين ومخاطر الاصابة بأمراض القلب وأمراض الاوعية الدموية (Han *et al*.,1999 and Blann *et al*.,1997) ان الزيادة في ضغط الدم والكولسيترول تزيد من الاصابة بالامراض القلبية الوعائية لدى الأشخاص من الفئات العمرية ألمتوسطة والمتقدمة ويسبب لهم الموت المفاجئ (CDC,2001 and Clarke *et at*., 2002) وخاصة ألذبحه الصدرية وأحتشاء العضلة القلبية لأنه يسبب عدم انتظام تدفق الدم خلال الشريان مما يؤدي إلى تغيرات داخل بطانة الشريان وبالتالي يزيد من حدوث مرض تصلب الشرايين (Basile,2002 and Fadle *et al*,2003) و يعد إرتفاع ضغط الدم أحد العوامل الرئيسية للوفاة في العالم (Ezzati *et al* ., 2002). وهو إضطراب صامت يحدث تقريبا بصورة عرضية ويؤدي إلى عواقب كبيرة مسببا لأمراض القلب والشرايين ومضاعفات أخرى بما في ذلك إحتشاء عضلة القلب الحاد (MI) وتلف ألأنسجة والموت (Nichols , 2005).

2-1-1-6- داء السكري Diabetes Mellituses

يعد داء السكري واحد من اهم الامراض الخطرة في العالم بعد امراض القلب والسرطان (Betteridage ,2001) اذ ان حوالي 50% من حالات الوفا ة بأمراض الشرايين التاجية تحدث في المرضى المصابين بداء السكري من النوع الثاني غير المعتمد على الأنسولين (Huang *et al*.,2001; Marino,*et al*.,2004 and Marieb,*et al*.,2005)

2-1-1-7-السمنة Obesity

هناك علاقة قويه تربط السمنة بمرض تصلب الشرايين (Castro *et al.* ,2001) وذلك لان السمنة يصاحبها اضطراب أيضي لنمط توزيع الدهون في الجسم فتؤدي الى زيادة خزن الدهون وتزيد من عملية تصلب الشرايين وكذلك ارتفاع تركيز الكوليسترول (C- LDL)-low density lipoprotein و(VLDL-C) (Ko *et* 2001; Goldman and Ausiello,2004) .(*al*.,

2-1-1-8-التاريخ العائلي Family History

يعد من اهم العوامل الوراثية التي لها دورا في الاصابة بالمرض, فأذ كان أحد أفراد العائلة من الدرجة الأولى مصابا بتصلب الشرايين قبل سن 45 سنة فأن احتمالية حدوث امراض القلب تكون اكثر من درجة القرابة الثانية (Micheal *et al*, 2000) , تصلب الشرايين في كثير من الأحيان يحدث اكثر في العوائل التي لديها تأريخ عائلي اونمط حياة اوعوامل بيئية .(Braunwald , *et al*., 2005).ان للوراثة دورا مهما للاصابة بأمراض تصلب الشرايين وامراض القلبية (Van *et al*., 2011 and Liu and Qiu, 2013)

أن نسبة المخاطر الزائدة التي يمنحها التاريخ العائلي لأحتشاء عضلة القلب تكون مستقلة عن جميع عوامل الخطرالتقليدية الأخرى للمرض ومقدارالخطورة له علاقة بعمر الشخص أثناء بداية المرض وعدد أفراد الأسرة المتضررين (Lloyd-Jones *et al*., 2004).

بين Bennett (1999) ان الأشخاص الذين لديهم أقارب يعانون من أمراض معينة مثل أمراض القلب والسكري هم أكثر عرضة لتطور هذه الأمراض لديهم . وفي دراسة أخرى لمخاطر مرض الشريان التاجي المرتبطة بالتأريخ العائلي وبالاخص أحتشاء عضلة القلب اجريت على 19390 شخص من الرجال والنساء كان التأريخ العائلي يمثل نسبة استعداد للأصابة بمقدار 75 % لدى الرجال و 84 % لدى النساء بالأضافة إلى إرتفاع في

مستويات الدهون الثلاثية وإنتشار فرط ضغط الدم , كما إنه ومن خلال الدراسة تمت المقارنة بين الرجال الذين لايمتلكون تاريخ عائلي مع أولئك الذين لديهم تاريخ عائلي من الأم فقط أو من الأب فقط أو من الأم و الأب معا وجد أن الخطركان بمقدار(1.85) و (1.4) و(1.71) على التوالي (Andresdottir *et al*., 2001) .

2-2أحتشاء العضلة القلبية الحاد Acute Myocardial Infarction (AMI)

أحتشاءالعضلة القلبية Acute Myocardial Infarction هو تطور سريع لنخر عضلة القلب الناجم من اختلال التوازن بين العرض والطلب على الأوكسجين من قبل عضلة القلب , وهذا يحصل نتيجة تمزق اللويحة Plaque مع تشكيل الخثرة في الوعاء التاجي , مما يؤدي إلى انخفاض حاد في امدادات الدم الى جزء من عضلة القلب وبالتالي انخفاض تجهيزها بالأوكسجين (Alpert and Thygesen, 2007; Seropian *et al*.2014) و هو احد الاسباب الرئيسية للوفاة في العالم (WHO,2008 and Bethesda , 2012)

أن انسداد الشريان وتركه دون علاج لمدة (20-40) دقيقة يسبب تلف او موت نسيج العضلة القلبية (Badiman *et al*., 2004). هناك مدى واسع من العلامات المرضية للنوبة القلبية ممكن ان تظهر واحدة او اكثر في أي وقت ، ومع ذلك في بعض الحالات ممكن ان تمر عملية احتشاء العضلة القلبية من دون ان تلاحظ فتسمى النوبة القلبية الصامتة Silent Myocardial infraction ومرضى السكري هم الاكثر عرضة لهذا النوع مما يسبب موت الكثير منهم، إذ انّ العلامات المرضية تعطي تحذير كافٍ لحدوث النوبة القلبية وامكانية وعلاجها (Davies., 2004 and Ant man, 2007) .

أهم العلامات لمرض أحشاء العضلة القلبية AMI ألم الصدر الذي يوصف بأنه احساسًا عاليًا بالضغط أو (عصره) في الجزء الوسطي من التجويف الصدري (القفص الصدري) ، وانتشار الألم الى الفك، والأسنان، والكتف، والذراع، والى الوراء ,قصر التنفس، تقئ، تعرق، سعال، وخفقان وقد يتوقف القلب بشكل مفاجئ (Storrow and Gibler, 2000; Kosuge *et al.,* 2006;Thygesen *et al*.,2007; and Mallinson , 2010)

3-2 الذبحة الصدرية Angina pectoris(AP)

هي عبارة عن الم صدري حاد ومفاجئ يحدث بسبب وجود تضيق جزئي في الشريان التاجي أو بسبب حدوث تشنج في هذا الشريان ينتج عنه نقص في التروية الدموية للعضلة القلبية (Ischemic heart disease) (Michal, 2004 and Wan,*et al*.,2010) .

أن مصطلح Angina مشتق من كلمة اغريقية تعني الاختناق Campbell *et al*., (2000) . ومن المهم معرفة أن الذبحة الصدرية تختلف عن احتشاء العضلة القلبية ، فالذبحة الصدرية لا تسبب تلفاً في نسيج العضلة القلبية وتحدث عندما تزيد حاجة القلب للدم أو الأوكسجين عن الكمية المتاحة وهذا يحدث أثناء الحركة والنشاط أو بسبب الضغوط النفسية أو بعد تناول وجبة دسمة أو الإحساس بالحر أو البرد الشديدين (Gundu and Thnikachalam , 2005) .

وتقسم الذبحة الصدرية إلى ثلاثة أنواع تبعاً لخطورتها واختلاف الاعراض (Kumar., 2002 and Arnold , 2001) :

2-3-1. الذبحة الصدرية المستقرة :- Stable angina

تتميز بآلالام المتواترة إلى حد ما ,تحصل عند الجهد وتتوقف عند إيقاف الجهد أو مع تناول دواء مناسب . (Kumar., 2002 and Arnold , 2001)

2-3-2. الذبحة الصدرية غير المستقرة :- Un Stable angina

تحصل الآلام على العموم أثناء الجهد وفي حالة الراحة وهي تنبئ على أمد قصير بخطر كبير لحصول انسداد جزئي في شرايين عضلة القلب (Koulaouzidis *et al*.,2012).

2-3-3. الذبحة الصدرية التشنجية : Variant angina

تحصل في أثناء الراحة ، ولاسيما في الليل أو في الصباح الباكر، و عندما تكون حادة فإنها ترتبط غالباً باختلاجات وتستدعي الذهاب إلى المستشفى . يحدث آلم في الجانب الأيسر من الصدر وخلف عظمة القص ، يكون الألم من النوع الضاغط وقد يمتد إلى الكتف الأيسر و أسفل الرقبة والفك الأسفل والى اليد اليسرى و أحيانا قد يمتد إلى الظهر أو أعلى البطن ، وفي معظم

الحالات يحدث الألم مع الجهد ويزول بعد ذلك مع الراحة (Lawrence *et al*., 2005 and Kumor and Cannon , 2009).

4-2 الانزيمات الكبدية Liver enzymes

إنزيمات تعرف بوصفها ناقلة لمجموعة الامين ، وهي Aspartate amino transferase (AST) و Alanine amino transferase (ALT) التي تتحرر عند حصول تحطم في الكبد (Simon, 2003). كلا الانزيمين يتواجدان بتركيز عالي في الكبد (DeRitis *et al* ., 1972) يوجد إنزيم (AST) في أنسجة الجسم المختلفة إذ يوجد بتراكيز عالية في القلب ,الكبد, العضلات الهيكلية , والكلية (Kaplan,*et al*.,2003; Daze, 2007) وبسبب وجوده بتراكيز عالية في القلب فإن أي ضرر يحصل لعضلة القلب يؤدي الى تحرر كمية كبيرة من الأنزيم ويرتفع تركيزه في مصل الدم (Crawford, *al et*.,2004) لقد أكدت الدراسات أن ارتفاع مستوى فعالية انزيم AST يحصل عادةً في المرضى الذين يعانون من فشل البطين الأيمن المزمن في القلب و في مرضى احتشاء العضلة القلبية في حين بقيت نسبة فعالية انزيم ALT من غير تغيير (Damjanove 1996 and Nanji *et al*., 1986) . إنّ ارتفاع مستوى انزيم AST ذات صلة بعضلة القلب إذ يبدأ تركيزه بالارتفاع خلال (6-8) ساعات ويصل إلى أعلى مستوى بعد 24 ساعة ويعود للانخفاض إلى المستويات الطبيعية في يومين (Hay *et al*.,1989) حيث لوحظ ارتفاع مستوى انزيم AST في المصل لدى الاشخاص المصابين بالامراض القلبية وامراض الكبد المزمن (Krishnamurthy *et al*., 2009 and Lee *et al*.,2011) .

إن حصول مرض إحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية تتبع بزيادة سريعة للانزيم AST في مصل الدم إذ تعد زيادة مستواه مؤشرا في إثبات أعراض الذبحة الصدرية (المنسي والشريدة,2000),في حين أشار (Varley, *et al*.,1988) الى ان فعالية الانزيم تكون طبيعية لدى المرضى المصابين بالذبحة الصدرية,أما(الخطيب وأخرون,2000) فقد أشار الى أن مستوى الإنزيم يرتفع عند المرضى المصابين بإحتشاء العضلة القلبية. يوجد إنزيم (ALT) في أنسجة مختلفة من جسم الانسان , ولكن يكثر تواجده في الكبد،وعند اصابة خلايا الكبد بأي ضرر فأن ذلك يؤدي الى افراز ALT بكثرة الى الدورة الدموية ، فضلا عن الكبد فأنه يتوزع في انسجة اخرى ،فأنه يتواجد في الكلية والقلب و خلايا العضلة الهيكلية ، ولكن مستواه اقل (AI- Shammaa,*et al*.,2011) يرتفع تركيز مستوى انزيمALT في حالات اصابة الكلى،وتحطم الكبد وأحتشاء العضلة القلبية (Vozarova,*et al*.,2002)

5-2 البايلوجية الجزيئية لمرض تصلب الشرايين:

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 بأمراض الأوعية والشرايين. 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 Kovacic and (Bakran,2012).

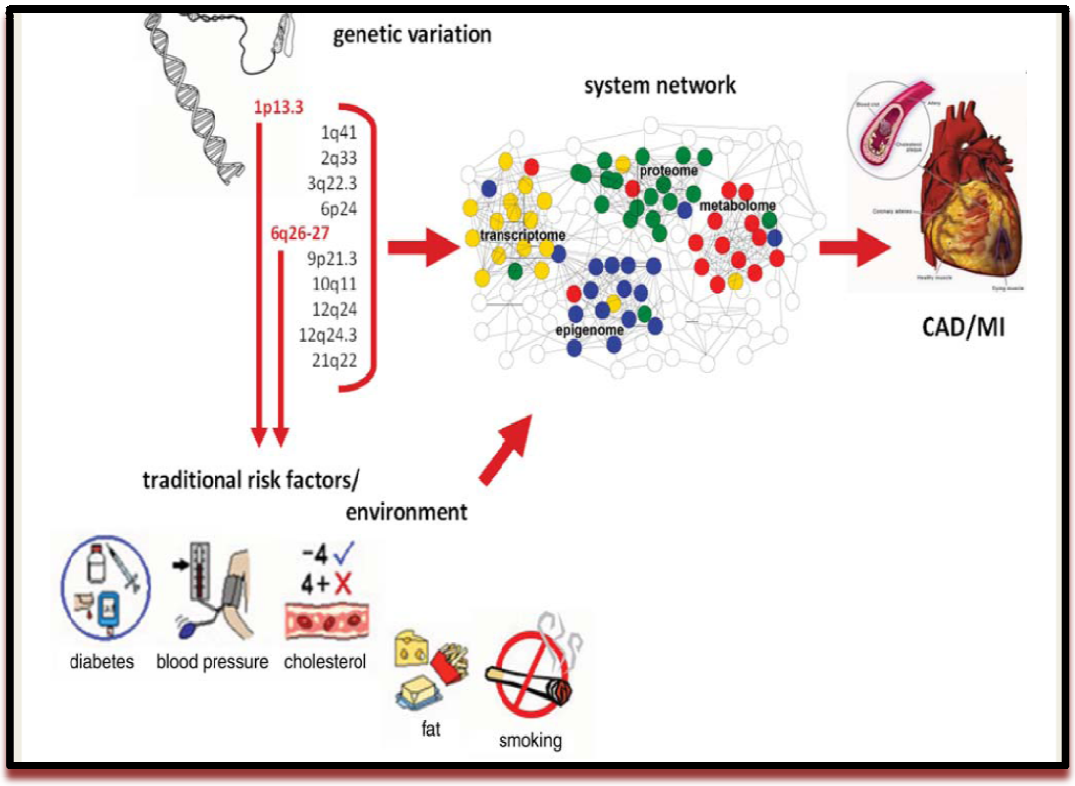
1-5-2 الاسس الوراثية لاحتشاء العضلة القلبية

تعتبرالأدلة الوراثية لحدوث احتشاء العضلة القلبية (MI) مرتبطة بصورة أيجابية مع التاريخ العائلي للأصابة بهذا المرض (Wang *et al* .,2004).وتعد الاصابة بمرض أحتشاء العضلة القلبية من الصفات المعقدة نسبيا ويكون متعلق بتفاعل الجينات مع بعضها أومن خلال الظروف الأخرى التي تؤثر في حدوث الاصابة على عكس العديد من الصفات المندلية والتي تعتبر الاصابة بها بسيطة أو متوارثة بطريقة بسيطة مثل الصفات الجسمية المتنحية ،الصفات المرتبطة بالجنس أو المرتبطة بوراثة المايتوكوندريا (Hirschhorn and Daly, 2005).

في دراسة Willett (2002) بين أن أكثرمن 80% من الأصابة بأمراض القلب التاجية coronary heart disease تكون على أساس نمط الحياة، مثل الوزن ،الغذاء، التمارين الرياضية بالأضافة الى السيطرة على عوامل الخطورة للأصابة بأمراض القلب التاجية مثل ضغط الدم والتدخين في حين بين أن العامل الوراثي مهم ايضا من خلال الدراسات في مجال تحديد الجينات المرتبطة بزيادة خطرالاصابة بأحتشاء العضلة القلبية الحادة(acute myocardial infarction AMI) وأمراض القلب التاجية Coronary artery disease (CAD) فقد تبين من خلال ذلك أن مرض احتشاء العضلة القلبية يعتبر من الامراض المعقدة بسبب التداخل بين العوامل الوراثية والبيئية الشكل (2-1) (Schadt ,2009).

على الرغم من وجود العديد من الجينات التي تشفر لبروتينات معروفة تكون المسؤولة عن امراضية تصلب الشرايين وتشيراغلب الدراسات التي اجريت حول علاقة العامل الوراثي والعامل المظهري على مجاميع صغيرة لم تكن ذات اهمية عند تطبيقها على المجاميع الكبيرة ، الجينات التي تسبب المرض تكون جينات متعددة والياتها مختلفة في احداث المرض مثل تفاعل الجينات مع

البيئة ، عدم تجانس السكان ويمكن ان يزداد خطر هذه الجينات عند فئة معينة مثل الرجال المدخنين في منتصف العمر ويعتبر التدخين والبيئة من عوامل الخطورة التي تتداخل مع عمل الجينات.(Stephens and Humphries, 2003)



شكل (2-1) خطر العوامل التقليدية والبيئية على مخاطر المتغيرات الجينية التي تؤثر على مخاطر التعبير الجيني أو الوظيفي والتي تسبب امراض القلب التاجية و احتشاء العضلة القلبية (Schadt,2009).

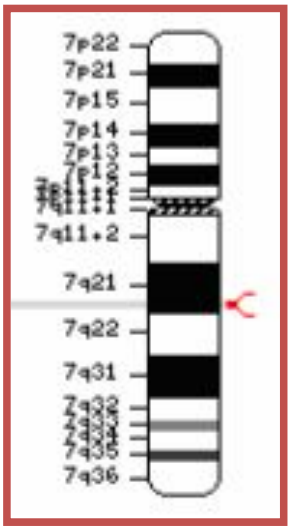
2-6.جينات الباراوكسينيز PON

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, وأن PON3 وPON1 يوجد بصورة خاصة في الكبد وتجري في البلازما ويترتبط بـ HDL, بينما PON2 توجد فقط في الخلايا (الخلايا البطانية للإنسان وخلايا العضلات الملساء للأبهر بالإنسان) (Hong-Liang *et al*., 2003 and Aviram and Rosenblat, 2004)

جميع هذه البروتينات PON1، PON2 وPON3 تعمل على الحماية من الاصابة بمرض تصلب الشرايين وذلك بمنع اكسدة البروتينات الدهنية ذات الكثافة الواطئة (LDL) (Reddy *et al*., 2008). وتوجد الانواع الثلاثة من الجينات في انسجة الثدييات (Rodriguez-Sanabria *et al*.,2010)

2-6-1جين paraoxonase (PON1)

ينتمي جين PON1 إلى عائلة باراأوكسينيز paraoxinase وهي عائلة متعددة الجينات. وتقع جنبا إلى جنب على الذراع الطويل للكروموسوم 7 للانسان (7q21.3-q22.1) وكشف أن هذا الجين PON1 يتكون من مايقارب 26 kBكيلوبايت يتضمن 9 الإكسونات و8 إنترونات.شكل رقم(2-2) (Primo-parmo *et al.,* 1996; Costa *et al*. , 2005 and Gupta *et al*., 2009)



PON1

شكل رقم(2-2) موقع جين PON (Strachan and Read ,1999)

يحتوي جين PON1 في تركيبه على جزيئتين كالسيوم Ca^{2+} واحدة على قاعدة للموقع النشط (المجاور إلى أيون فوسفات) وهي تشارك في آلية تحفيزية. ويعتقد أن جزيئة الكالسيوم الاخرى تشارك في استقرار الانزيم (Harel *et al*., 2004, 2007)

يوجد شكلين لجين PON1 تم دراستها بشكل كبير هما: (Q192R) هو استبدال الاحماض الامينية من الكلوتامين glutamine (Q) ألى ألارجينين arginine (R) و(L55M)هو استبدال الاحماض الامينية من لايسين leucine (L) الى الميثيونين methionine (M) (Humbert,*et*

al.,1993; Adkins *et al*.,1996; Davies,*etal*,1996; Leviev,*et al*.,1997; Deakin and James.,2004; Costa *et al.*, 2005 and Macharia *et al*., 2012)

يؤثر PON1 بالاصابة بمرض تصلب الشرايين والأمراض المرتبطة بتقدم السن، يرتبط الشكل Q192R والشكل L55M بمرض الشرايين التاجية coronary artery disease والسكتة الدماغية وفرط كوليسترول الدم العائلي familial hypercholesterolemia، مرض باركنسون Parkinson's disease، وظهور ارتفاع ضغط الدم (Marchegiani *et al*., 2008)

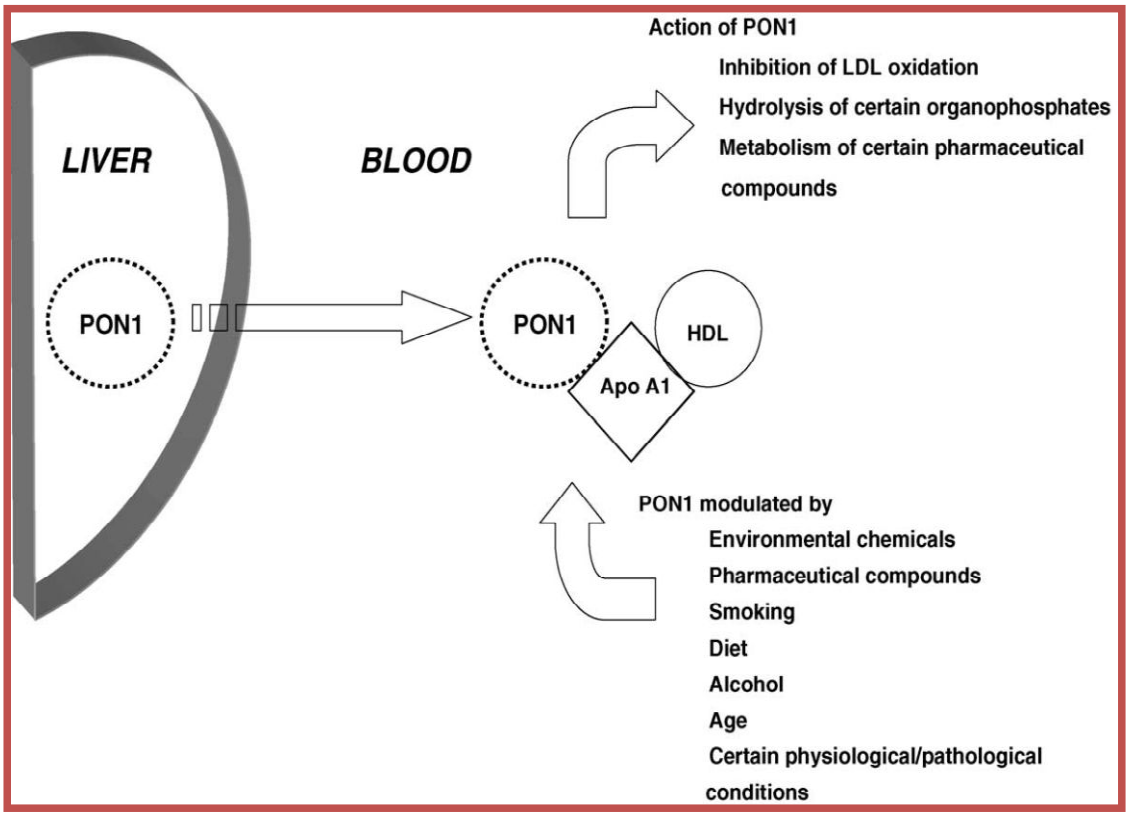
اثبتت العديد من الدراسات دور PON1 في امراض القلب والشرايين سواء على مستوى النمط الجيني ومستوى النشاط وهومؤشر على ان المرض وراثي (Jarvik *et al*., 2000; Mackness *et al*., 2001; Zhao *et al*., 2012; Bayrak *et al*., 2012a)

يعبر جينPON1 عن انزيم يسمى أيضا باراأوكسينيز paraoxinase ، هو بروتين يشترك في منع أكسدة LDL (Mackness *et al.,* 1996).

جين PON1 يشفر لانتاج بروتين سكري وزنه الجزيئي 45-43 كيلو دالتون يتم تصنيعه في الكبد و يفرز في البلازما ويرتبط بالبروتينات الدهنية عالية الكثافة high-density lipoproteins (HDL) ,

PON يحلل مائيا الى كل من arylesterase وparaoxonase (Başkol & Köse, 2004) .اسم باراأوكسينيز paraoxinase يأتي من استخدامه للمادة الاساسية الفسفور العضوي organic phosphorous paraoxanes (Gülcü and Gürsu, 2003) ,هو يرتبط مع غشاء الخلية ويتم ازالة PON1 من الغشاء, وهو يمنع البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة (LDL) وبيروكسيد الدهـون من الاكسدة ولــه دور في الحمـــاية من الاصابــة بمـرض تصـلب الشــراييـــن (La DU,1996 ; Tomas *et al*.,2004; Moren *et al*.,2008 ; She *et al*.,2012) بالاضافة الجينين PON2 وPON3.(Macharia *et al*., 2012) الشكل رقم (3-2)

يعزى نشاط مكافحة تصلب الشرايين إلى أنزيم باراأوكسينيز paraoxinase مضاد للأكسدة يرتبط بالبروتينات الدهنية العالية الكثافة HDL Christiansen *et al*.,2004; Hofer,*et al*. (,2006)

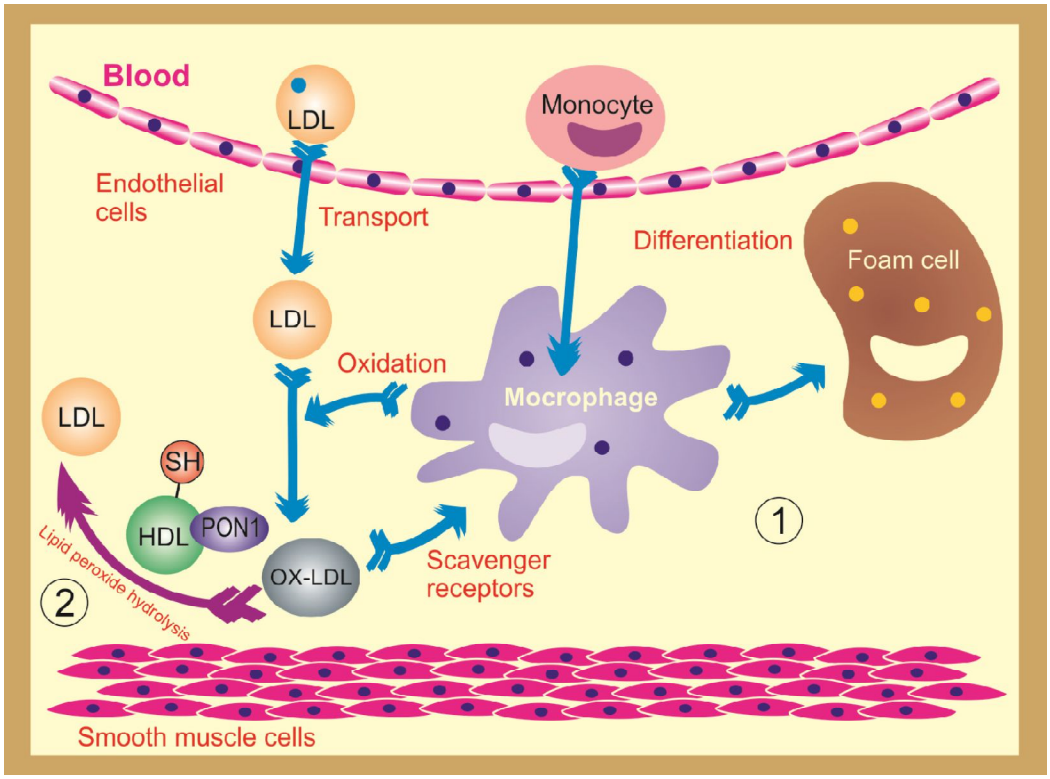


الشكل رقم(2-3) التأثير البايلوجي لـ PON1 (Costa *et al*., 2005)

وصف PON1 لاول مرة في عام في 1940من قبل الباحث Mazur ، حيث وجد إنزيم باراأوكسينيز في الأنسجة الحيوانية والذي يمتلك القدرة على تحلل الفوسفات العضوية .(Mazur,1946)

لم يتم العثور على PON1 في دماء الطيور والأسماك والزواحف، وصنف وحدد الانزيم باراأوكسينيز paraoxinase 1(PON1) في المصل البشري من قبل Norman Aldridge في أوائل عام 1950 (Aldridge, 1953) .

يشترك PON1 في ايض الدهون وهو يحلل الدهون المؤكسدة في جدران الشرايين، ويمنع اكسدة البروتينات الدهنية المنخفضة الكثافة، ويثبط نشاط LDL المشتقة من اكسدة الدهون الفوسفاتية ويمنع أكسدة HDL من الدهون الفوسفاتية (Costa *et al*., 2003 and Li *et al.* 2005) وبالتالي هوحماية من الاصابة بتصلب الشرايين .(Durrington *et al*., 2001) الشكل (4-2)



شكل (2-4) :1- التطور الطبيعي لتصلب الشرايين . 2-الحماية من تصلب الشرايين عن طريق PON1 (Mackness ,*et al*.,2002a)

يرتبط انزيم باراأوكسينيز paraoxoinase (PON) مع HDL مع القدرة إلى إعاقة أكسدة البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL عن طريق منع توليد بيروكسيد الدهون. تباين السكان في نشاط الإنزيم وذلك يعود إلى تعدد الأشكال الجينية في باراأوكسينيز paraoxoinase وعلى سبيل المثال، تعدد الأشكال في كودون 192 و 55 من جينات الباراأوكسينيز paraoxonase وقد اثبت انها ترتبط بامراض القلب التاجية ومرض السكري بين المجموعات العرقية المختلفة. (lakshmy *et al*.,2010) كما يقلل من تراكم الدهون المؤكسدة في البروتين الدهني المنخفض الكثافة (LDL) وذلك بسبب قدرته على الحد من hydroperoxides (Kinumi *et al*,. 2005)

يرتبط نشاط PON1عكسيا مع مخاطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية

(Getz and Reardon, 2004; Mackness and Mackness., 2004 and Ng *et al*., 2005) وقد عرف انخفاض نشاط PON1 الـ كعامل خطر للإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية وسمية الفوسفات العضوي (Aviram *et al*., 1998 a,b; Deakin and James, 2004 and Chait *et al*., 2005)

باراأوكسينيز paraoxinase 1 هو انزيم متعددة الأغراض التي اثبت لأدائه مجموعة متنوعة من الوظائف في الجسم، بما في ذلك تخليص الشرايين من تكتلات تشكيل اللويحة plaqueمن البروتينات الدهنية الواطئةLDL التي تؤدي إلى تصلب الشرايين artheriosclerosis، والمواد الكيميائية السامة مثل المبيدات الحشرية وغازات الأعصاب (Pejin Grubiša *et al*.,2010)

تلعب فعالية PON1 دورا كبيرا في تقليل الاصابة بامراض تصلب الشرايين وأمراض القلب والأوعية الدموية الأخرى (Mackness *et al.,* 2004; Agrawal *et al*.,2009; Mohamed *et al*.,2013)

جين PON1 يكون له وظيفة مضادة تصلب الشرايين، وقد تبين أنه يحمي البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة (LDL) و البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL من الأكسدة ويدمر الدهون المؤكسدة النشطة بيولوجيا في البروتينات الدهنية وخلايا الشرايين (Aviram, 2004) العوامل الوراثية، والأشكال في المناطق التشفيرولبروميتر لجين PON1 ، جنبا إلى جنب مع مختلف العوامل غير وراثية تؤثر على النشاط PON1 (Deakin and James,2004; Costa, *et al*.,2005)

الميكانيكية التي يقوم بها PON1 في التأثير على أكسدة LDL هي غير مثبتة لحد الان, ولكن قد تتضمن التحلل المائي لاحماض الدهنية المتأكسدة المتفرعة oxidised fatty acids من الدهون الفسفورية phospholipid،استرات الكوليسترول cholesterylester والدهون الثلاثية triglyceride hydroperoxides يؤدي إلى إنتاج lysophospholipids، الكولسترول cholesterol، ثنائي الكليسيريد diglyceride والأحماض الدهنية المؤكسدة (Mackness and Mackness, 2012, 2014; Tavori *et al*., 2011)

اكتشف وجود علاقة بين PON1 وتصلب الشرايين من خلال دراسة عدد من المرضى الذين يعانون احتشاء العضلة القلبية حيث كانت نسبة PON1 منخفضة مقارنة بمجموعة السيطرة ,المستويات المنخفضة منPON1 في المصل تعتبر من عوامل الخطورة للأصابة بالامراض القلبية المختلفة بالاعتماد على تركيز البروتينات الدهنية العالية الكثافةHDL (Mackness *et al*., 2003a; Bhattacharyya *et al*., 2008; van Himbergen *et al*., 2008)

اشار Shah(2010) أن البروتين الدهني عالي الكثافة HDL له دور في الحماية من تصلب الشرايين,ووضح الدور الرئيسي للـ HDL في نقل الكولسترول العكسي ، فإن عملية نقل فائض الكولسترول من الأنسجة الضامة المحيطة لجدار الشرايين بشكل خاص إلى الكبد للتخلص منها.

هناك علاقة مباشرة بين تركيز البروتين الدهني واطئي الكثافة LDL وخطر الإصابة بتصلب الشرايين (Durrington,1995).

كما أظهرت الدراسات الوبائية وجود علاقة عكسية قوية بين تركيز الكولسترول HDL في المصل وتطوير تصلب الشرايين (Gordon *et al*., 1989)

لم تتوصل الدراسة العشوائية للوراثة المندلية أيضا إلى إيجاد علاقة بين احتشاء عضلة القلب والمتغيرات الجينية المشتركة المرتبطة فقط مع مستويات HDL-C (Fisher *et al*., 2012)

المستوى الطبيعي من HDL له القدرة على اعاقة أكسدة LDL لمنع تصلب الشرايين (Mackness *et al*., 1993a) هناك بعض البروتينات المرتبطةبـ HDL لها دور في اعاقة عملية الاكسدة مثل PON1 (Mackness and Mackness, 2012 and 2014)

2-6-2 جين(PON2) Paraoxonase 2

يعرف بأنه البروتين داخل الخلوي يبلغ وزنه الجزيئي تقريبا 44 كيلودالتون يتواجد بشكل مطلق في كل الأنسجة تقريبا وبشكل اكثر في الكبد والكلى والدماغ والرئة والمشيمة، والخصية، والقلب(Bayrak *et al*., 2005). ويوجد أيضا في خلايا العضلات الملساء الأبهرية (Hong-Liang *et al*., 2003) تعمل على خفض المواد المؤكسدة داخل الخلية ومنع أكسدة LDL في الخلايا ،كثير من الخلايا التي لديها تعبيرعن PON2 أقل قدرة على أكسدة LDL-C عندما تتعرض لـ H_2O_2 أو الدهون الفوسفورية المؤكسدة. وبالتالي تحمي الخلايا من الأكسدة. وإن الآلية التي تنتج هذا التأثير ليست مفهوما بشكل واضح (Ng *et al*., 2001) ، وله دور مهم في نشاط مضادات الأكسدة في البطانة والخلايا البطانية الوعائية (Bayrak *et al*., 2005) بينت بعض الدراسات علاقة PON2 بامراض الشرايين التاجية (Li *et al*.,2003 and Ng *al*.,2005) ويمتلك خصائص مضادة للاكسدة ويكون قادر على تأخير اكسدة البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL المتأكسدة المتكونة بشكل طفيف(Ng *et al*., 2001) وتكون وظيفته بمثابة مضادات للاكسدة الخلوية وحماية الخلايا من الاكسدة (Ng *et al*., 2005)

3-6-2 Paraoxonase 3 (PON3)

PON3 يتوسط بين PON1 وPON2 في المجموعة الجينية PON وهي الأقل دراسة مقارنة PON1 وPON2. PON3هو بروتين وزنه الجزيئي 40 كيلو دالتون المرتبطة HDL. على النقيض من PON1 فان PON3 يقتصر على نشاط arylesterase .PON3 تخلق بشكل

رئيسي في الكبد (Draganov *et al.,* 2000; Reddy *et al.,* 2001). تلعب PON بانواعها الثلاثة دورا مهما في الوقاية من تصلب الشرايين (Precourt *et al.,* 2011).

المواد وطرائق العمل Materials & methods

1-3 المواد والاجهزة المستخدمة

1-1-3.المواد الكيميائية Chemical materials

جدول (3-1) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة.

ت	المادة الكيميائية	الشركة المصنعة	المنشأ
1	عدة استخلاص DNA Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured cell) Cat.No GB100/300)	Geneaid	USA
2	أكاروزAgarose	BIO BASIC	Canada
3	محلول بفر منظم 10X TBE Buffer Solution	BIO BASIC	Canada
4	معلمات الحجم-100)DNA ladder Marker 2000 bp)	Bioneer	Korea
5	صبغة برومو فينول الزرقاء Bromo phenol blue	Bioneer	Korea
6	بوادئ Primers	Bioneer	Korea
7	ماستر مكسPCR PreMix	Bioneer	Korea
8	بروميد الاثيديومEthidium Bromide	BIO BASIC	Canada
9	أيزوبروبانولIsopropanol	BIO BASIC	Canada
10	كحول مثيلي مطلقAbsolute Methanol	Scharlau	Spain
11	بروتينيز proteinase k	Promega	USA
12	عدة قياس PON	Elabscience Biotechnology co.,Ltd	China
13	عدة الكوليسترول Total Cholesterol Enzymatique PAP CAT. No. 0045.	Giesse diagnostics	Italy

14	عدة فحص كليسيريدات الثلاثية Triglycerides Enzymatic Colorimetric test (Gpo-PAP)	Biomaghereb	Germany
15	عدة فحص HDL-c Enzymatic cholorimetric method. CAT. No. 0056	Giesse Dianostic	Italy
16	عدة فحص انزيم ALT	RANDOX	United Kingdom
17	عدة فحص انزيم AST	RANDOX	United Kingdom
18	ماء مزال الأيونDeionized water	Aquarama	Canada

3-1-2 الادوات المستخدمة :

جدول (3-2) الادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة

ت	الادوات	الشركة المصنعة	المنشأ
1	أنابيب فصل المصل Gel and clot tube	AFMA	Jordan
2	أنابيب بلاستيكية حاويةعلى مانع للتخثر EDTA coated tube EDTA	AFMA	Jordan
3	محقنه طبية Medical Syringe	AFMA	Jordan
4	أنابيب ابندروف Eppendrofs tubes		China
5	Pipets tips		China
6	مايكروبايبيت micropipette	Slamed	Germany

3-1-3 الاجهزة المستخدمة :

جدول (3-3) الأجهزة المستخدمة في الدراسة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	حافظة مبردة لنقل العينات		China
2	الكابينة المعقمةLaminar air flow Cabinet		U.K
3	حمام مائيWater bath	Julabo	Japan
4	منظومة الاليزا ELISA	Awareness	USA
5	جهاز النبذ المركزيCentrifuge	Hereaus	Germany
6	جهاز النبذ المركزي المبردCooling Centrifuge	Labtech	Germany
7	ميزان الكتروني حساسElectrical sensitive balance	Sartorius	Germany
8	محراك مغناطيسيMagnetic stirrer	Labtech	Korea
9	جهاز تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل Thermal cycler DAN incubator	Labnet	USA
10	جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis apparatus	Labnet	USA
11	جهاز التوثيق الفوتوغرافي Photo documentation system	Labnet	USA
12	مجهز الطاقة الكهربائية المستمر supply Electrophoresis constant power	Labnet	USA
13	جهاز مطياف الأشعة الفوق UV light transillminator البنفسجية	Labnet	USA
14	مازجVortex	Dubuque	USA
15	spectrophotometer	Shemadzu	Japan
16	الموصدة Autoclave	Labtech	Germany

2-3 طرائق العمل Methods

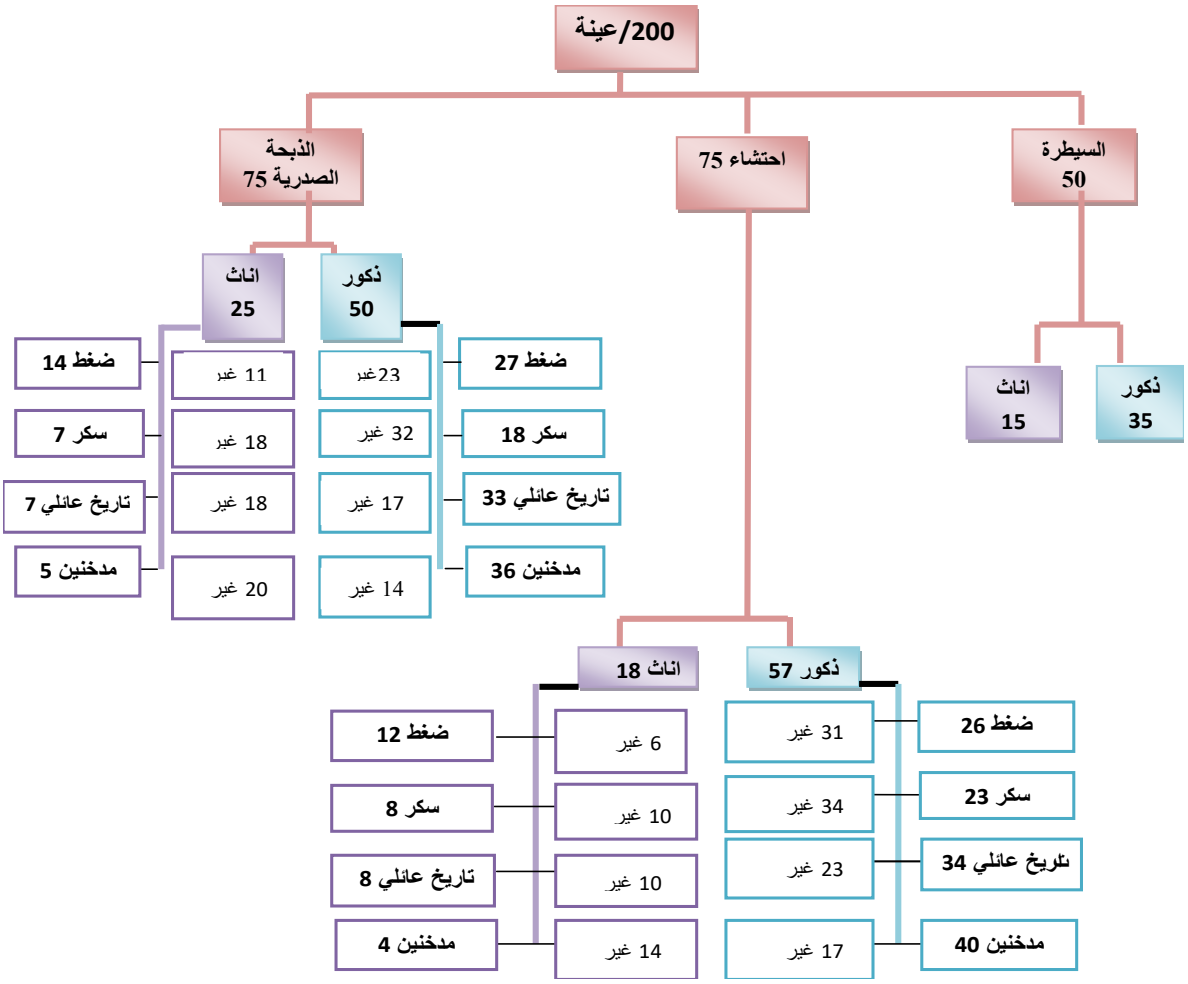
1-2-3 عينات الدراسة

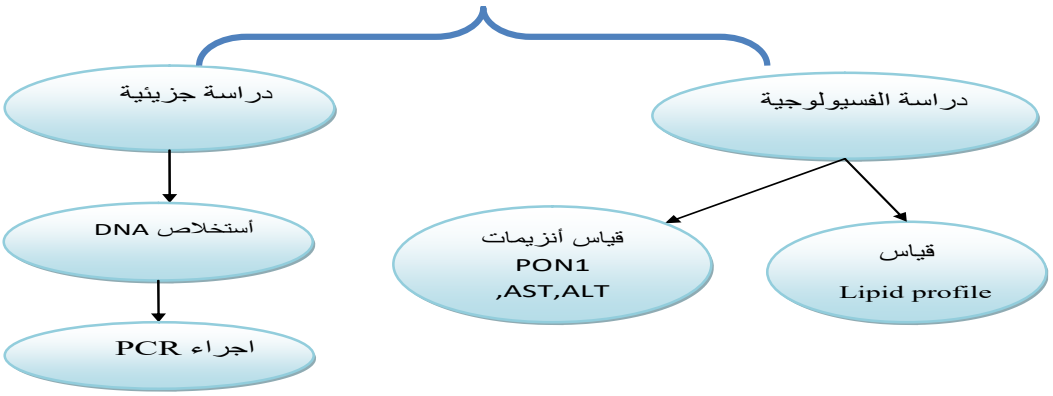
أجريت هذه الدراسة على المرضى المراجعين لوحدة العناية المركزة للقلب cronary care unit(ccu) في مستشفى الزهراء (ع) التعليمي في محافظة كربلاءالمقدسة بعد أخذ موافقتهم ,وكذلك مختبر التحليلات المرضية التابع لنفس المستشفى ومختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة –كلية العلوم جامعة كربلاء وللفترة من 20 شباط 2015 لغاية 30 كانون الثاني 2016.

أخذت العينات من الاشخاص الذين ادخلوا ردهة العناية القلبية لأصابتهم بالالام في الصدر ,وتم تسجيل عمر الاشخاص ,والجنس (ذكر,انثى) ومعرفة فيما أذ كانوا مصابين بالسكري وضغط الدم أو غير مصابين ولم يتعرضوا الى الاصابة بأحتشاء العضلة القلبية أو الذبحة الصدرية سابقا, والتأريخ العائلي للاصابة بأمراض القلب ,ومعرفة هل انهم من المدخنين او غير المدخنين .

تم تشخيص الحالات المرضية للمرضى بناءا على ماأشارت أليه منظمة الصحة العالمية منها استمرار ألم الصدر لأكثر من 30 دقيقة ,ووجود تغيرات في تخطيط القلب الكهربائي (ECG) وارتفاع مستوى بعض الدلائل الحياتية القلبية قياس التروبونين ,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 30سنة الى71 سنة.

2-2-3 تصميم التجربة Experiment Design





3-2-3 مجاميع التجربة

1- المجموعة الاولى:المرضى المصابين بأحتشاء العضلة القلبية Acute Myocardial Infarction (AMI) و عددهم (75)مريض عدد الذكور (57) وعدد الاناث (18).

2- المجموعة الثانية المرضى المصابين بالذبحة الصدرية Angina pectoris(AP) وعددهم (75) مريض عدد الذكور (50) وعدد الاناث (25) .

3- المجموعة الثالثة :مجموعة السيطرة control وهم من الاشخاص الاصحاء غير مصابين بأمراض القلب والسكري والضغط وغير مدخنين وكان عددهم (50) فردا عدد الذكور(35) وعدد الاناث (15).

3-2-4 جمع عينات الدم Collection of Blood sample

تم سحب (10 مل) من الدم الوريدي من كل شخص مصاب بأحتشاء العضلة القلبية , الذبحة الصدرية والسليم بواسطة محاقن طبية نبيذه, ثم وضع 2مل منه في أنابيب مانعة للتخثر EDTA و 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,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 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق لفصل المصل وقسم المصل في عدة أنابيب ابندروف Eppendroff tubes وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة-20 مْ لغرض أجراء الاختبارات الفسلجية والتي شملت قياس مستوى إنزيم باراأوكسينيزPON1 Human ومرتسم الدهون والتي شملت مستوى الكوليسترول TC,مستوى الدهون الثلاثية TG,مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL,و البروتينات الدهنية الواطئة الكثافةLDL ,و البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة جداً VLDLومستوى إنزيمات الكبد AST وALT .

3-2- 5 قياس المعاييرالفسلجية

3-2-5-1تقدير تركيز انزيم باراأوكسينيز في مصل الدم Determination of serum paraoxonase level

مبدأعمل العدة التشخيصية

استخدام عدة الاليزا enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) والمجهزة من شركة Elabscience Biotechnology co.,Ltd وهذه الطريقة تسمى معقد الشطيرة Sandwich complex ترتبط العينات مع الأجسام المضادة PON1 المغلفة لسطح الحفر Wellsإذتحتوي الصفيحة على 96 حفرة Wells كل منها مغطى بالاجسام المضادة antibody ، هذا الاختبار يعتمد على مبدأ عمل إضافة النموذج Sample المراد تحديده بوجود الضد النوعي سيؤدي إلى التصاقه بالجدار الداخلي ويرتبط مع الاجسام المضادة pon1 ثم يضاف abiotinylated detection Abويحضن وبعدها تغسل الحفر باستخدام محلول الغسل Wash solutionالذي سيؤدي إلى إزالة الجزء غير المرتبط من النموذج وبعد الغسل يضاف محلول الاقتران الذي يتكون من (Avidin-Horseradish peroxidase HRP-conjugated) وبعد فترة الحضن ،تغسل الحفر مجددا لإزالة محلول الاقتران solution Conjugated غير المقترن تتبعها خطوة إضافة محلول المادة الأساسSubstrate solution إلى الحفر والتي تؤدي بتفاعلها مع محلول الاقتران إلى ظهور كاشف لوني والذي يظهر بعد الإضافة والحضن, يتم إيقاف التفاعل بإضافة محلول التوقيف Stop solution إذ يؤدي هذا المحلول إلى إيقاف التفاعل وتغير اللون من الازرق الى الاصفر. بعدها يتم قياس تركيز1 PON بواسطة الطيف الضوئي spectrophotometrically على الطول الموجي (450 nm) ،حيث تتناسب شدة اللون الظاهر طرديا مع كمية العامل المراد قياس تركيزه.

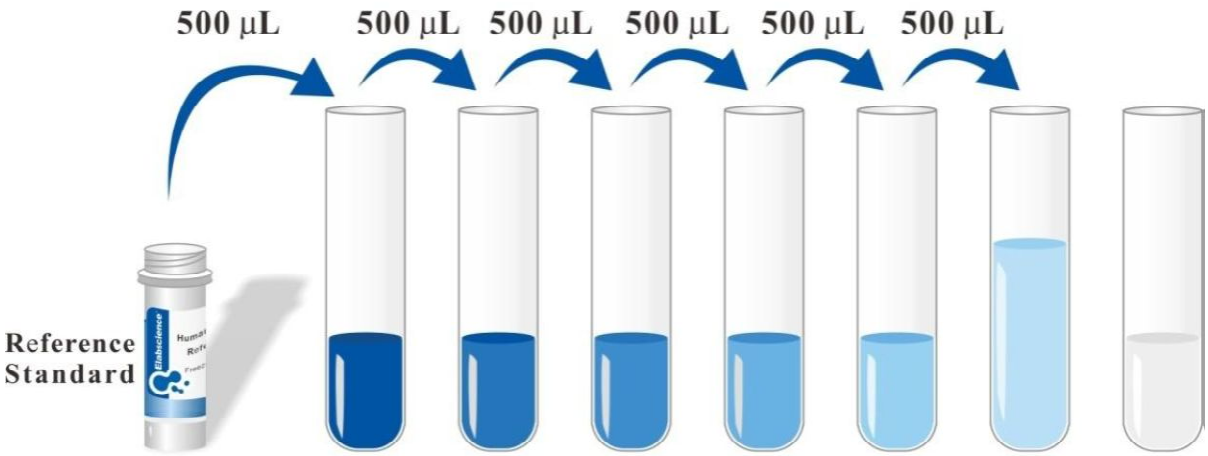
جدول(3-4) يوضح عدة مكونات الاليزا لانزيم PON1

Storage	Specifications	Item
4℃	8 wells ×12 strips	Micro ELISA Plate
4℃	2 vials	Reference Standard
4℃	1vial 20mL	Reference Standard & Sample Diluent

4°C	1vial 120µL	Concentrated Biotinylated Detection Ab
4°C	1vial 10mL	Biotinylated Detection Ab Diluent
4°C(shading light)	1vial 120µL	Concentrated HRP Conjugate
4°C	1vial 10mL	HRP Conjugate Diluent
4°C	1vial 30mL	Concentrated Wash Buffer (25×)
4°C(shading light)	1vial 10mL	Substrate Reagent
4°C	1vial 10mL	Stop Solution
	5pieces	Plate Sealer
	1 copy	Manual
	1 copy	Certificate of Analysis

تحضير الكواشف:

1. المحلول القياسيStandard Solution:حضربإضافة 1مل من Reference standard and sample Dluentالى الانبوب الحاوي على Human PON1 Standard يصبح تركيز 10ng\mlو لعمل سلسلة التخافيف باضافة 500مايكروليتر من Reference standard كالاتي (10, 5, 2.5, 1.25, 0.63,0.31 ,0.16 , 0)ng/ml.



1	2	3	4	5	6	7	8	tube
10	5	2.5	1.25	0.625	0.313	0.156	0	ng/mL

2. محلول الاقتزانconcentrated HRP conjugate: خففت العينة بإضافة ما موجود في العبوة concentrated HRP-conjugated 120مايكروليترمع10مل من HRP conjugate Diluent اي تخفيف 1:100

3.Biotinylated Detection Ab : خففت العينة بإضافة ما موجود في العبوة concentrated Biotinylated Detection Ab 120مايكروليترمع10مل من Biotinylated Detection Ab Diluentاي تخفيف 1:100

4. محلول الغسل Wash solution: حضر بإضافة 750مل من الماء المنزوع الايون Deionized water إلى 30 مل (عبوة واحدة vial) من Wash Buffer Concentration بالتخفيف إلى (25x) باستخدام المازج Magnetic stirrer للخلط أو التجانس ويكون استعماله آنيا.

5. محلول المادة الاساسsubstrate Reagent: يحتوي على 10مل ويكون حساس للضوء

6. محلول التوقف Stop Solution : يتكون من10 مل من Sulfuric acid.

طريقة العمل:

1.تم تحضير كل الكواشف ووضعت في مكان نظيف تحت درجة حرارة الغرفة قبل الاستخدام.

2.ثبتت الصفيحة Strips على مكان مستوي.

3.أضيف 100 مايكرو ليتر من كل من المحلول القياسي Standard Solution،العينة Sample إلى كل الحفر Wells وغطيت جيدا وحضنت لمدة 90 دقيقة بدرجة37C.

4.تم إزالة السائل الزائد من كل حفرة ولا تغسل

5.أضيف 100 مايكرو ليترمن Biotinylated Detection Ab إلى كل حفرة وغطيت جيدا Wells.

6. حضنت لمدة 1 ساعة تحت درجة 37C° محمول على هزاز الأطباق المناعية Shakergentle.

7.ثم غسل كل الحفر ثلاث مرات من خلال:

- أضيف 350 مايكرو ليتر من محلول الغسل إلى كل حفرة.
- إزالة كل المكونات من الحفر بقلب الصفيحة على ورق نشاف نظيف.

8.أضيف 100 مايكرو ليترمن محلول الاقتران HRP conjugate المحضر حديثا إلى كل حفرة وغطيت جيدا وحضنت الصفيحة لمدة 30 دقيقة بدرجة 37C°

9. كررت عملية الغسل لخمس مرات بنفس الطريقة.

10.أضيف 90 مايكرو ليتر من محلول المادة الاساس Standard Solutionإلى كل حفرة وغطيت جيدا وحضنت الصفيحة لمدة 15 دقيقة بدرجة 37C°

11.أضيف 50 مايكرو ليتر من محلول التوقيف Stop solution إلى كل حفرة. ويتغير لونهامن الازرق الى الاصفر

12. قرأ طيف الامتصاصية عند طول موجي(450 nm)

2-5-2-3 تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم Total Cholesterol(TC)

تم تقدير الكوليسترول بالطريقة الإنزيمية وذلك باستخدام عدة التحليل المجهزة من قبل شركة(BIOLABO) الفرنسية (Tietz,*et al*., 1999) إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O_2) وأنزيم Cholesterol Oxidase اللذين يعملان على أكسدة الكوليسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest-4en-3one) و (Hydrogen Peroxid) وهذا الأخير يتفاعل مع الفينول (phenol) و 4–) aminoantipyrinel) وبوجود أنزيم Peroxidase ليكون كيتون أمين quinoneimine وردي اللون ومثلما هو موضح في المعادلات الآتية:

$$cholesterol.ester + H_2O \xrightarrow{cholesterol\ \ esterase} cholesterol + Fattyacid$$

$$cholesterol + O_2 \xrightarrow{cholesterol\ oxidase} choles-4-en-3-one + H_2o_2$$

$$2H_2O_2 + phenol + 4-a\min oantipyrin \xrightarrow{Peroxidase} quinonei\min e + 4H_2O$$

طريقة العمل(procedure):

تم استخدام ثلاثة أنابيب اختبار هي (العينة Sample, المحلول القياسي Standard, الكفء Blank)

Solution	Blank	Standard	Sample
Reagent(A)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
Blank	10 µl		

وبعدها أضيف (1.0) من (Reagent A) إلى العينة والمحلول القياسي والكفئ تمزج المحاليل بشكل جيد وتترك لمدة (5) دقائق في الحمام المائي عند درجة حرارة (37 C°) او (10) دقائق عند درجة حرارة الغرفة وبعدها يتم قياس الامتصاصية عند طول موجي مقداره (500nm) نانوميتر مقابل محلول الكفء.. اذ ان شدة اللون تبقى مستقرة لمدة ساعة .

الحسابات:

تم حساب تركيز الكولسيترول الكلي وفقاً للقانون الآتي:

$$\text{Total cholesterol} = \frac{\text{Sample}}{\text{Standerd}} \times \text{N}$$

$$mg/dL$$

إذ أن:

N= 200، و هو تركيز standard

sample= امتصاصية النموذج

standard = امتصاصية المحلول القياسي

3-5-2-3 :تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدمTriglycerol(TG):

تـم تقـدير الكليسـيرات الثلاثيـة فـي مصـل الـدم اعتمـادا علـى طريقـة (Fassati & principe,1982) وذلك باستخدام عدة التحليل المجهزة من قبل شركة(BIOLABO) الفرنسية ,إذ تعتمـد هـذه الطريقـة علـى تحويـل الكليسـيرات الثلاثيـة الموجـودة فـي مصـل الـدم انزيميـا الـى الكليسيرول حسب المعادلات الاتية:

$$Triglycerides \xrightarrow{Lipoprotein\ Lipase} Glycerol + Fatty\ acids.$$

$$Glycerol + ATP \xrightarrow{GlycerolKinase,\ Mg^{++}} Glycerol - 3 - phosphate + ADP$$

$$Glycerol\ 3 - phosphate + O_2 \xrightarrow{3Glycerol\ phosphate\ oxidase} Dihydroxya\ cetone - phosphate + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4aminophenazone + Para\ chlorophenol \xrightarrow{Peroxydase} quinonimine + 2H_2O$$

طريقة العمل:

استخدامت ثلاثة أنابيب اختبار هي (العينة Sample, المحلول القياسي Standard, الكفـاء Blank).. اذ احتوت كل منها على المحاليل المثبتة ادناه:

solution	Blank	Standard	Sample
WorkingReagent	1 ml	1 ml	1 ml
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
Blank	10 µl	-	-

بعدها أضيف (1) مل من محلول العمل Working Reagent إلى العينة والمحلـول القياسـي والكفـاء مزجت المحاليل بشكل جيد وتتـرك لمدة (5) دقـائق فـي الحمـام المـائي عنـد درجـة حـرارة (37 C°) او (10) دقائق عند درجة حرارة الغرفة وبعدها يتم قياس الامتصاصية عند طـول مـوجي مقداره (500nm) نانوميتر مقابل محلول الكفـاء.. اذ ان شدة اللون تبقى مستقرة لمدة ساعة .

الحسابات:

تم حساب تركيز T G وفقاً للقانون الآتي:

$$Triglycerides \quad concentration = \frac{Sample}{\text{Standerd}} \times N$$

$$(mg / dL)$$

إذ أن:

N = 200 ويمثل قيمة المحلول القياسي

sample= امتصاص النموذج.

Standard= امتصاصية المحلول القياسي

3-2-5-4: تقدير تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا في المصل Very low density lipoprotein (VLDL-C)

تم حساب تركيز VLDL بالاعتماد على القانون الموصوف من قبل (Friedwald *et al*., 1972)

VLDL(mg/dl) =Triglyceride /5

3-2-5-5: تقدير تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة في مصل الدم High Density Lipoprotein (HDL-C):

تم تقدير HDL- cholesterol بالطريقة الأنزيمية وفقا لطريقة (Bursten, 1970)

تعتمدهذه الطريقة على ترسيب دقائق الأستحلاب (الكيلوسية) و(LDL) و(VLDL) والموجود في مصل الدم و يتم ذلك بإضافة حامض الفوسفوتنكستك معامل الترسيب (Precipitating- A) إلى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علماً أن المحلول الناتج بعد عملية الترسيب يكون رائقاً ويحوي على HDL فقط والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليسترول .

طريقة العمل:

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL- cholesterol خطوتين هما:

1-الترسيب:

ولقد استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك بإضافة (0.5) مل من محلول الترسيب Reagent 1 إلى (0.5) مل من مصل الدم ويمزج جيداً ويترك لمدة (5) دقائق في درجة حرارة الغرفة ومن ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة (10) دقائق وبسرعة (3000) دورة\ دقيقة.

2- تقدير تركيز الكوليسترول لل (HDL-C): تؤخذ ثلاثة أنابيب اختبار هي (النموذج، المحلول القياسي، الكفءBlank) اذ احتوى كل منها على المحاليل المثبة ادناه:

المحاليل	Blank	Sample	Standard
محلول الرائق من Sample		0.5µl	
Standard			0.5µl
Blank	0.5µl		
Reagent A	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

وبعدها أضيف (2.0) مل من Reagent A إلى الأنابيب الثلاثة المذكورة أعلاه ومزجت جيداً ثم تركت لمدة (5) دقائق في الحمام المائي عند درجة حرارة (37) مئوي وبعدها تقرأ الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي مقداره (510) نانوميتر.

الحسابات:

تم حساب تركيز HDL- cholesterol من القانون الآتي:

$$HDL-cholesterol\ \ concentration = \frac{Sample}{\text{Standard}} \times C.STD \times 2$$

$$mg/dL$$

إذ أن:

C. STD: قيمة المحلول القياسي ومقداره 50 mg/dL

(2): عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب (Precipitating A)

3-2-5-6: حساب تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة في مصل الدم

Calculation of serum Low density lipoprotein – cholesterol : Concentraction(LDL-C)

تم تقدير مستوى LDL –cholesterol باستخدام القانون التالي (Tietz,*et al*.,1999) وهو:

$$LDL - C(mg/dl) = (TotalCholesterol) - (HDL - C) - (VLDL - C)$$

3-2-5-7تقدير فعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في المصل

Aspartate transaminase (AST) and Alanine transaminase (ALT)

تم قياس تركيز فعالية إنزيمي Aspartate transaminase (AST)، و Alanine transaminase (ALT) في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit بالطريقة اللونية (Reitman *et al*., 1957) وعلى أساس التفاعلين الآتين:

α-oxoglutarate + L-alanine $\xrightarrow{ALT}$ L-glutamate + Pyruvate

α-oxoglutarate aspartate $\xrightarrow{AST}$ L-glutamate + Oxaloacetate +L-

إذ يعتمد تقدير فعالية الإنزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الأنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين ,وكذلك تم تقدير فعالية الإنزيمAST من الاوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة الأنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين، وأجريت التجربة كما هو مبين أدناه :

المحاليل	العينة	المحلول الكفئ
العينة (المصل) محلول الفوسفات الدارئ	0.1 ml 0.5 ml	- 0.5ml
مزجت محتويات الأنابيب جيداً وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 م°		
محلول ثنائي فنيل الهايدرازين	0.5 ml	0.5 ml

العينة (المصل)		
مزجت محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة20–25 مº		
محلول هيدروكسيد الصوديوم	5.0 ml	5.0 ml

بعد مزج محتويات الأنابيب جيداً تترك لمدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة ،وبعدها تم قياس الامتصاص لها عند الطول الموجي546 نانوميتر.

واستخدمت المحاليل في التجربة وتشمل :

1-المحلول الفوسفات الدارئ:

أ -الإنزيم ALT:يتكون من الالنين (200 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

ب-الإنزيم AST:يتكون من حامض الاسبارتيك (100 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

2 - محلول 4.2 ثنائي نايتروفنيلهيدرازين (2.0 mM) .

3 - محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 N): تم تخفيف هذا المحلول عشر مرات بواسطة الماء المقطر قبل استعماله.

4 -محلول البايروفيت القياسي (2.0 mM).

المحلول	**انبوبةالعينةSample**	**انبوبة المحلول القياسيStandard**	**انبوبة الكفؤBlank**
المحلول القياسي Standard	-	10	-
العينةSample	10	-	-
المحلول الدارئReagent R1	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
رجت الانابيب جيدا ثم تركت لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة ثم اضيف لكل من هذه الانابيب			
محلول هايبوكلوريدR2	200	200	200

8-5-2-3 تقدير مستوى التروبونين Troponin leves

يعدّ هذا الاختبار من الاختبارات المناعية الكرموغرافية Asolid- phase chromatographic immune assay.

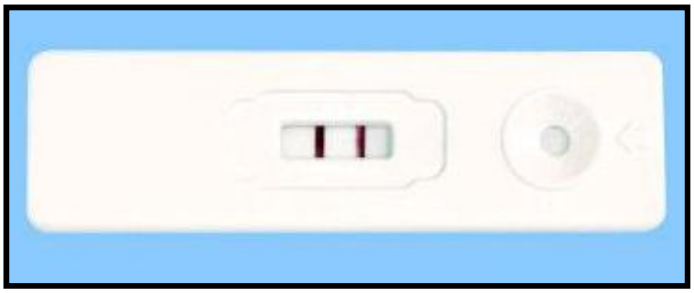
يستخدم في تقدير تركيز و Troponin I,T تقديرا كميا لعينات مأخوذة من دم الإنسان أو البلازما أو المصل لتشخيص مرض احتشاء العضلة القلبية (AMI) لمرضى القلب. وقد استعملنا المصل في هذه الدراسة لقياس تركيز كل من Troponin .

أساس العمل Principle of Method

يعتمد هذا الاختبار على التفاعل الذي يحدث بين المؤشرات الكيموحياتية القلبية (Troponin) الموجودة في مصل العينة والأجسام المضادة لها في Reagents لتكون روابط معقـــدة تهاجر على طول مساحة شريحة الاختبار (Specific antibody- dye conjugates).

طريقة العمل Procedure

1- نجهز الشريحة المستعملة في الاختبار.
2- يفضل استعمال شريحة جديدة لكل عينة من المصل وعدم استعمالها لعينات أخرى ولا نستعمل الشريحة إذا كانت فاسدة أو انتهت مدة استعمالها.
3- بما أنّ بروتينات القلب غير ثابتة أو مستقرة لذا يفضل استخدام عينات مأخوذة خلال 4 ساعات من المرضى وتكون Fresh sample ليعطي أفضل النتائج ويفضل استعمال Pipette tip لكل عينة مصل.
4- إذا كانت عينات المصل مجمدة يجب تركها لتصل إلى درجة حرارة الغرفة ثم استعمالها للاختبار ويجب أن تكون شرائح الاختبار قبل استعمالها مباشرة محكمة الغلق.
5- نضيف 150 µ/l من مصل العينة على شريحة الاختبار.
6- نقرأ النتائج خلال ربع ساعة فقط ولا نأخذ النتيجة بعد هذه المدة لأنها تعطي نتيجة موجبة خاطئة.



صورة رقم (3-1) توضح شكل الشريحة المستعملة في اختبار الـ Troponin

النتائج Result

إذا كان تركيز Troponin قريبة أو أعلى من القيمة المحددة لكل مؤشر وهي Troponin cut off (0.5 ng/ml)

سوف تظهر حزم وردية اللون على شريحة الاختبار وتكون النتيجة موجبة (+ve) أما في حالة عدم ظهور هذه الحزم الوردية تكون النتيجة سالبة (-ve) ولا يحدث تفاعل بين Troponin الموجودة في المصل والمواد الفعالة Reagents الموجودة في شريحة الاختبار . (Brogan *et .a.l*, 1997 ; Sylven *et al*., 1998)

9-5-2-3 تقدير مستوى الكلوكوز Determination of Glucose level

المبدأ الأساس Principle

يحدد الكلوكوز Qlucose الموجود في العينة Sample حسب الميكانيكية الاتية وفقا لطريقة (Huggett and Nixon.,1997)

$$Glucose + H_2O + O_2 \xrightarrow[Oxidase]{Glucose} H_2O_2 + Gluconate$$

$$2H_2O_2 + Phenol + 4\text{- Amine- antipyrine} \xrightarrow{Peroxidase} 4H_2O + Quinonimine$$

طريقة العمل Procedure

تم استعمال ثلاثة أنابيب اختبار (Sample العينة، المحلول القياسي Standard، الكفيء Blank).

المحاليل	Blank	Standard	Sample
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
Blank	10µl	-	-
Working reagent	1 ml	1ml	1 ml

تمزج المحاليل جيدا وتوضع في الحافظة لمدة (10 دقائق) أو يترك بدرجة حرارة الغرفة (20- 25°C) لمدة نصف ساعة ومن ثم تقرأ الامتصاصية بواسطة المطياف الضوئي عند طول موجي مقداره (505) نانوميتر وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الـ Blank.

الحسابات Calculation

يتم حساب تركيز الكلوكوز في العينة وفقا للقانون الآتي:

$$\text{Glucose conc.} = \frac{\text{(O. D) Sample}}{\text{(O. D) Standard}} \times N$$

إذ إن:

N= 100، وهو تركيز المحلول القياس (mg/L)

N= 5.56 mmol/L

N= 1 g/L

(O. D) Sample= امتصاصية العينة.

(O. D) Standard= امتصاصية المحلول القياس.

القيم الطبيعية في مصل الانسان (0.70- 1.05 g/L)، (3.89- 5.84 mmol/L)، (70- 105 mg/dl

10-5-2-3 قياس ضغط الدم Blood pressure

طريقة قياس ضغط الدم:(Macleod *et al*.,2009)

1-الجلوس على مقعد مستندا الظهر الى الخلف لمدة خمس دقائق مع جعل القدميين مسطحتين على الارض قبل القياس ووضع الاطراف العلوية على نفس مستوى القلب .

2-مقياس ضغط الدم المعتاد عرض المثانة 12.5 سنتيمتر وطوله 3-35 سنتيمتر يتم ربط الحزام على اليد (فوق المرفق) بشكل جيد بحيث يكون طرف الحزام عند الخط الذي يظهر عند مفصل الكوع

3-ضع السماعة تحت الحزام وثبتها برفق –فوق أفضل مكان يسمع فيه الشريان (اسفل الساعد مباشرة فوق مفصل الكوع وللداخل قليلا) -يجب ان لاتضغط بشدة – أو تلمس السماعة مثانة قياس الضغط أو الخرطوم.

4-أغلق صمام الهواء

5-ثم انفخ المثانة الخاصة بجهاز قياس الضغط واستمر في نفخ الحزام حتى يتوقف الدم في الجريان سيتمكن سماع صوته في السماعة عندها حدد النقطة (الرقم) التي تسمع عندها صوت متكرر واضح على جهاز القياس ,هذا الضغط الانقباضي للدم

6-تفريغ المثانة ببطء (2-3ملم زئبق |ثانية) حتى تسمع صوت التنصت العادية تسجل القراءة الى اقرب 2مم زئبق .هذا هو الضغط الانقباضي

7-مواصلة تفريغ المثانة ببطء حتى تختفي الاصوات

8-تسجيل الضغط الذي فيه الاصوات تختفي تماما هوو الضغط الانبساطي

6-2-3 أستخلاص الـ DNA DNA Extraction

تم أستخلاص الـ DNA من الدم ا حسب عدة (kit) لشركة Geneaid (الطرد المركزي كان بسرعة 14000-16000 دورة / دقيقة) وكما مبين بالخطوات التالية:

1-اضيف 200مايكروليتر من الدم الى انبوب بندروف 1.5ملليتر.

2-اضيف 30 مايكروليتر من proteinase K (10mg/ml) الى الدم ويمزج قليلاً . ثم يحضن الخليط لمدة 15 دقيقة في الحمام المائي بدرجة $60\ c^0$.

3-اضيف GB Buffer وبكمية 200 مايكروليتر مع الرج لدقائق .

4-حضن المزيج بدرجة حرارة $70c^0$ في الحمام المائي لمدة 15 دقيقة وخلال الحضن ترج الأنابيب كل 3 دقائق .

5-حضر (Elution buffer) من خلال وضع 100 مايكروليترلكل عينة في أنبوبة بندروف نظيفة و تحضن في الحمام المائي بدرجة حرارة $70c^0$.

6-اضيف 200 مايكروليتر من الايثانول المطلق Absolute الى النموذج مع الرج المباشر لمدة 10 ثواني.

7- وضع عمود GB في أنبوب التجميع 2 µl.

8-يوضع عمود GB اذا وجدت اي ترسبات يجب التخلص منها قبل نقلها الى عمود GB .

9-نبذت الانابيب لمدة 5 دقائق .

10 -تلف السائل الموجود في أنبوب الجمع.

11- أضيف 400 مايكروليتر من Buffer الى أنبوب GB tube بعدها نبذت الانابيب لمدة دقيقة واحدة.

12-يتم التخلص من السائل الموجود في أنبوب الجمع وترجع ال GDالى انبوب الجمع.

13-أضف 600 µl من Wash buffer الى GDتيوب ونبذت الانابيب لمدة دقيقة واحدة.

14-أهمل السائل الموجود في أنبوب الجمع ويرجع عمود GD الى انبوب الجمع مرة ثانية ونبذت الانابيب مرة ثانية لمدة 3 دقائق لتجفيف العمود.

15-وضع الـGD في أنبوبة بندروف نظيفة ومن ثم يضاف 100 µl من Elution buffer ويترك لمدة 3 دقائق وبعدها يطرد مركزياً لمدة 30 ثانية.

16-تلف الانبوب GD وحفظ الانابيب التي تحتوي على DNA بدرجة حرارة (20 ^{o}-) في المجمدة (Freezer).

3-2-6-1 الترحيل الكهربائي للـ DNA على هلام الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis

بعد استخلاص الـ DNA اعتمدت طريقة (Sambrook *et al.*,1989) للتأكد من وجود إلـ DNA المستخلص من الدم

* الترحيل الكهربائي Protocol of Gel Electrophoresis

A-تحضير جل الأكاروز

1-تم إذابة (0.8غم) من الأكاروز في (100 مل) من 1 X TBE بواسطة تسخين المزيج إلى درجة الغليان باستخدام صفيحة حرارية إلى أن تم إذابة كل دقائق الجل إذ يبدو المزيج صافي من دون أي دقائق عالقة من المسحوق .

2-تم إضافة (2مايكروليتر) من بروميد ألاثيديوم Ethidium Bromide إلى سائل الأكاروز

3- حرك سائل الأكاروز لكي يمتزج ولتجنب حدوث فقاعات

4-صب المزيج في صفيحة ألإسناد وبعد غمس المشط comb قرب أحدى نهايتي الصفيحة

5-ترك المزيج ليتصلب في درجة حرارة الغرفة

6-تم إزالة المشط بهدوء وكذلك مساند الصفيحة

7-وضعت الصفيحة في مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي ثم غطيت ببفر الترحيل 1X TBE وعلى ارتفاع (1 ملم) فوق سطح الجل .

B-تحميل إلـ DNA والترحيل الكهربائي DNA and Electrophoresis loading

مزج (10 مايكروليتر) من الـ DNA مع (3مايكروليتر) من صبغة البروموفينول الزرقاء Bromophenol Blue إذ حملت العينات في الحفر. تم ترحيل العينات على طاقة كهربائية مقدارها (70 فولت) ولمدة ساعة، إذ تم الترحيل من الكاثود (-) إلى ألانود (+)، ثم تم استخدام جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية UV light transillminator لغرض مشاهدة حزم الـ DNA، وان الحزم الملونة بصبغة بروميد الاثيديوم صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوعرافي Photo documentation system.

3-2-6-2التوصيف الجزيئي للجينات المدروسة

أولا:اختيار البوادئ

تم اختيار البوادئ Primers وكما موضح في الجدول رقم (3-5) لغرض أجراء الكشف الجزيئي على الطفرات المدروسة (Hazar *et al*.,2011 and Han *et al*.,2013)

جدول رقم (3-5) يوضح البوادئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الجينات المدروسة

(Hazar *et al*.,2011;Han *et al*.,2013)

Primers		Primer sequences	Length	Tm
PON1	F	5′- GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG -3′	22	51.9ºC
	R	5′-TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC -3′	24	55ºC
PON1	F	5′-TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG -3′	22	56.3ºC
	R	5′-CACGCTAAACCCAAATACATCTC -3′	23	54.4 ºC
PON2	F	5'-AAGATTGGTAACTGCTAT-3′	18	37.5ºC
	R	5'-GGCTACAGAACTTCCTTG-3'	18	43.7ºC

Tm = Melting Temperature F = Forward

R = Reverse

ثانيا:تخفيف البوادئ Primers Dilution

جُهزت البوادئ جميعها من شركة Bioneer Company/ Korea كمسحوق Lyophilized product بتراكيز مختلفة، تم تحضير محلول الاصيل Stock solution ومحلول العمل Working solution بحسب تعليمات شركة Bioneer. حُضر محلول الاصيل وذلك بإضافة الماء المزال الأيون Deionized water للحصول على التركيز النهائي للعالق (100بيكومول /مايكروليتر). أما محلول العمل Working solution فقد تم تحضيره بواسطة أخذ(10مايكروليتر) من محلول الاصيل (100بيكومول /مايكروليتر) وتخفيفه بـ (90 مايكروليتر) من الماء المزال الأيون للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل والذي هو (10بيكومول /مايكروليتر) .

3-6-2-3 تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل لجيني PON1 و PON2

Polymerase Chain Reaction (PCR) for PON1,PON2 genes

تم إضافة المواد بحسب ماموضح في الجدول (3-6) إذ تمزج المواد فـي أنبوب PCR وكما موضح في أدناه :

الجدول (3-6) مواد التفاعل لتقنية Polymerase chain reaction

Volume	Chemicals
2µL	Primer Forward .
2µL	Primer Reverse.
4µL	DNA

D. W.	12µL
Total volume	20 µL

بعد ذلك تم مزج المواد بواسطة المازج Vortex ثم نُقلت ألأنابيب إلى جهاز **إلـ** PCR، وتوضح الجداول التالية البرامج المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تقنية **إلـ** PCR بحسب نوع الجينات المدروسة

جدول رقم (3-7) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن جين PON1

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	-	

جدول رقم (3-8) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن الجين PON1

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	3min.	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	30
3	Annealing	63C°	30sec.	
4	Extension	72C°	40sec	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

جدول رقم (3-9) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن الجين (PON2)

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	3min.	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	30
3	Annealing	54C°	30sec.	
4	Extension	72C°	40sec	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

3-2-6-4تحميل ناتج تفاعل البلمره المتسلسل والترحيل الكهربائي

Loading PCR product & Electrophoresis

تم تحميل (3مايكروليتر) من الـ DNA ladder و(10مايكروليتر) من نواتج PCR في جل الأكاروز وبتركيز (2%) (1X TBE Buffer) إذ تم الترحيل على طاقة كهربائية مقدارها (70V) ولمدة ساعة ونصف صُبغ الجل بصبغة بروميد ألاثيديوم السائلة وبكمية (2مايكروليتر) تم مشاهدة الحزم بواسطة مطياف الأشعة الفوق البنفسجية UV transiluminater، وتم تصويرها باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي Photo documentation system.

3-2-7التحليل الإحصائي

تم التحليل الإحصائي باستعمال البرنامج Statistical Analysis System (SAS) V 2001/ 6.12 وأستخدم تحليل التباين بتصميم عشوائي كامل (CRD) وأختبار t-test لعينتين مستقلتين ,كما استعمل اختبار دنكن للمدى المتعدد Duncans Multiple Range Test عند مستوى المعنوية 0.05 .

النتائج Results:

1-4 الدراسة الفسلجية : physiological study

1-1-4 تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للذكور

أوضحت نتائج الجدول(4-1) وجود أنخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى انزيم (PON1) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (12.71) والذبحة الصدرية (11.71) من الذكور مقارنة مع مجموعة السيطرة (35.46) ويلاحظ من الجدول ذاته وجود أنخفاض في مستوى أنزيم (PON1) لمجموعة الذكور المصابين بالذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة الذكور المصابين بأحتشاء العضلة القلبية ألا أن هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$).

أظهرت نتائج الجدول (4-1) وجود أرتفاع معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (AST) في مصل الدم لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (53.47) والذبحة الصدرية (54.46)من الذكور مقارنة مع مجموعة السيطرة(17.54) وعلى الرغم من أرتفاع في مستوى أنزيم (AST) لمرضى الذبحة الصدرية مقارنة مع المرضى المصابين بأحتشاء العضلة القلبية ألا أن هذا الارتفاع لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$).

بين الجدول (4-1) وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) بمستوى أنزيم (ALT) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (45.07) من الذكور مقارنة مع مرضى الذبحة الصدرية (34.20) ومجموعة السيطرة (17.54) ,وبينت النتائج أن هناك أرتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (ALT) لمرضى الذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

بينت نتائج الجدول (4-1) 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 ومجموعة السيطرة (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 (4-1) 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 (4-1) 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 (4-1)مقارنة بين أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في بعض المعايير الكيموحيوية للذكور المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الامراض	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglycered (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL –C (mg|dl)	LDL - C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
السيطرة 35	35.46 ± 0.75 a	17.54 ± 1.60 a	17.54 ± 2.57 a	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 57	12.71 ± 0.42 b	45.07 ± 3.13 b	53.47 ± 4.04 b	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 50	11.71 ± 0.35 b	34.20 ± 2.94 c	54.46 ± 4.27 b	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

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-2 تأثير نوع المرض على بعض المعايير الكيموحيوية للأناث

بينت نتائج الجدول (4-2) أنخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (PON1) لمرضى الذبحة الصدرية من الاناث (8.29) مقارنة مع مرضى أحتشاء العضلة القلبية (12.91) ومجموعة السيطرة (30.70), ويلاحظ من النتائج أن هناك أنخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (PON1) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية مع مجموعة السيطرة .

أوضحت نتائج الجدول (4-2) وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (ALT) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (45.55) من الاناث مقارنة مع مرضى الذبحة الصدرية (28.44) ومجموعة السيطرة (16.26), وبينت النتائج أن هناك أرتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (ALT) لمرضى الذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-2) وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (AST) في مصل الدم لمرضى أحتشاء العضلة القلبية (44.44) والذبحة الصدرية (39.68) من الاناث مقارنة مع مجموعة السيطرة (16.00) ويلاحظ من الجدول ذاته وجود أرتفاع في مستوى أنزيم (AST) لمجموعة الاناث المصابات بأحتشاء العضلة القلبية مقارنة مع مجموعة الاناث المصابات بالذبحة الصدرية ألا أن هذا الارتفاع لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (4-2) 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 (4-2) 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.

اظهرت نتائج الجدول (4-2) الى وجود انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى (HDL-C) لمرضى احتشاء العضلة القلبية(29.55) والذبحة الصدرية (29.28)من الاناث مقارنة مع

مجموعة السيطرة(49.06), وعلى الرغم من انخفاض في مستوى (HDL-C) لمرضى الذبحة الصدرية مقارنة مع المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية الا ان هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$) .

جدول (4-2)مقارنة بين أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في بعض المعايير الكيموحيوية للاناث المعدل±الخطأ القياسي

المتغيرات / الامراض	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL -C (mg|dl)	LDL - C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
السيطرة 15	30.70 ± 1..09 a	16.26 ± 2.93 a	16.00 ± 1.56 a	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 18	12. 91 ± 1.57 b	45.55 ± 4.30 b	44.44 ± 3.52 b	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 25	8.29 ± 0.80 c	28.44 ± 2.07 c	39.68 ± 2.19 b	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

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-3 تاثير نوع المرض على بعض المعاير الكيموحيوية للذكور والاناث

اوضحت نتائج الجدول (4-3) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى انزيم (AST) لمرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية من الذكور والاناث مقارنة مع مجموعة السيطرة ويلاحظ من الجدول ذاته وجود ارتفاع معنوي في مستوى انزيم (AST) لمجموعة الذكور والاناث المصابين باحتشاء العضلة القلبية مقارنة مع مجموعة الذكور والاناث المصابين بالذبحة الصدرية الا ان هذا الارتفاع لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$).

أظهرت نتائج الجدول (4-3) الى وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (ALT) في مصل الدم لمرضى أحتشاء العضلة القلبية من الذكور والاناث مقارنة مع مرضى الذبحة الصدرية ومجموعة السيطرة ,وبينت النتائج أن هناك بأرتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (ALT) لمرضى الذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يلاحظ من الجدول (4-3) أنخفاضا معنويا ($P<0.05$) بمستوى أنزيم (PON1) لمرضى الذبحة الصدرية من الذكور والاناث مقارنة مع أحتشاء العضلة القلبية ومجموعة السيطرة ,وبينت النتائج أن هناك أنخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (PON1) لمرضى أحتشاء العضلة القلبية ومجموعة السيطرة .

يبين الجدول (4-3) الى وجود ارتفاع معنوي بمستوى TCوLDL-C لدى المرضى المصابين بالذبحة الصدرية من الذكور والاناث مقارنة مع مرضى أحتشاء العضلة القلبية ومجموعة السيطرة , ويلاحظ من النتائج ان هناك ارتفاع معنوي ($P<0.05$) بمستوى TC وLDL-C لدى المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أظهرت نتائج الجدول (4-3) ارتفاع معنوي ($P<0.05$) بمستوى TG و VLDL-C لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية من الذكور و الاناث مقارنة مع مجموعة المرضى المصابين بالذحة الصدرية ومجموعة السيطرة ,وبينت النتائج ان هناك ارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى TG و VLDL-C لدى المرضى المصابين بالذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أوضحت نتائج الجدول(4-3) وجود انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستوى (HDL-C) لمرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية من الذكور والاناث مقارنة مع مجموعة السيطرة ويلاحظ من الجدول ذاته وجود انخفاض في مستوى (HDL-C) لمجموعة الذكور والاناث لمرضى المصابين بالذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة الذكور والاناث المصابين باحتشاء العضلة القلبية الا ان هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية ($P<0.05$) .

جدول (4-3)مقارنة الذكور والاناث على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى

المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الامراض	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL –C (mg|dl)	LDL - C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
السيطرة 50	33.44 ± 0.56 a	17.16 ± 0.50 a	17.08 ± 0.44 a	102.56 ± 5.80 a	173.50 ± 8.82 a	21.45 ± 2.17 a	105.72 ± 9.57 a	47.28 ± 5.23 a
أحتشاء العضلة القلبية 75	12.33 ± 0.33 b	45.18 ± 3.01 b	51.30 ± 3.08 b	181.34 ± 9.71 b	215.09 ± 11.33 b	36.26 ± 3.54 b	148.58 ± 11.52 b	29.24 ± 2.54 b
الذبحة الصدرية 75	10.77 ± 0.39 c	32.28 ± 3.78 c	49.53 ± 2.32 b	159.54 ± 7.68 c	237.53 ± 13.04 c	31.73 ± 3.55 c	172.92 ± 11.44 c	28.72 ± 2.50 b

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-4 تأثير الجنس على بعض المعايير الكيموحيوية

أظهرت نتائج الجدول (4-4) الى وجود أرتفاع معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (AST) و(ALT) في مصل الدم في مجموعة الذكور مقارنة مع مجموعة الاناث.

أوضحت نتائج الجدول (4-4) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم (PON1) في مجموعة الاناث مقارنة مع مجموعة الذكور.

يلاحظ في الجدول (4-4) ارتفاعا معنويا ($P<0.05$)بمستوى TCو LDL-C في مجموعة الاناث مقارنة مع مجموعة الذكور.

يبين الجدول (4-4) الى وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى TG وVLDL-C في مجموعة الذكور مقارنة مع مجموعة الاناث.

أظهرت نتائج الجدول(4-4) الى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في مستوى HDL-C بين مجموعة الذكور والاناث.

جدول (4-4)مقارنة الجنس على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الجنس	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL –C (mg|dl)	LDL - C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
الذكور 107	12.19 ± 0.26 a	39.99 ± 3.91 a	53.93 ± 4.81 a	182.89 ± 10.67 a	224.35 ± 12.42 a	36.44 ± 3.36 a	157.29 ±10.60 a	28.81 ± 1.44 a
الاناث 43	9.71 ± 0.57 b	35.60 ± 3.72 b	41.67 ± 3.55 b	139.46 ± 8.24 b	231.18 ± 9.37 b	27.91 ± 2.44 b	168.25 ± 7.65 b	29.39 ± 2.67 a

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-5 تأثير الاصابة بأرتفاع ضغط الدم الشرياني على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى

بينت النتائج الموضحة في الجدول (4-5) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) بمستوى TC,AST و LDL-C في المرضى المصابين بالضغط (53.56),(229.34) و(163.58)على التوالي مقارنة مع مجموعة المرضى غير المصابين بالضغط (50.29),(222.94) و(156.94) على التوالي .

أظهرت نتائج هذة الدراسة الى عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات ALT ,PON1, HDL-C , TG و VLDL-C بين المرضى المصابين بالضغط (11.93) , (172.39) ,(28.55) و(34.31) على التوالي والمرضى غير المصابين بالضغط (10.98) ,(168.28) ,(29.45) و(33.65) على التوالي .

جدول(4-5)مقارنة الاصابة بأرتفاع ضغط الدم الشرياني على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الاصابة بالضغط	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL –C (mg|dl)	LDL -C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
مصاب 79	11.93 ± 0.32 a	40.82 ± 3.06 a	53.56 ± 4.92 a	172.39 ± 9.57 a	229.34 ± 8.56 a	34.31 ± 2.32 a	163.58 ± 8.88 a	28.55 ± 3.52 a
غير مصاب 71	10.98 ± 0.42 a	38.78 ± 1.16 a	50.29 ± 2.30 b	168.28 ± 7.39 a	222.94 ± 10.91 b	33.65 ± 2.67 a	156.94 ± 7.10 b	29.45 ± 3.51 a

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-6 تأثير الاصابة بداء السكري على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4-6) وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST, TG وVLDL في المرضى المصابين بداء السكري (52.12) ,(178.05) و(35.60) على التوالي مقارنة مع المرضى غير المصابين بداء السكري (40.57) , (165.91) و (33.04) على التوالي .

بينت نتائج الجدول (4-6) أنخفاضا معنويا ($P<0.05$) بمستوى أنزيم (PON1) لمرضى المصابين بداء السكري(10.14) مقارنة مع المرضى غير المصابين بداء السكري (11.69) .

أظهرت نتائج الجدول أعلاه عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في مستوى ALT, TC, HDL-C و LDL-C في المرضى المصابين بداء السكري (40.60) , (228.12) , (28.48) و (163.46) على التوالي مقارنة مع المرضى غير المصابين بداء السكري (37.61) , (225.23) , (29.27) و (160.12) على التوالي .

جدول (4-6) تأثير الاصابة بالسكري على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الاصابة بالسكري	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL – C (mg|dl)	LDL - C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
مصاب 56	10.14 ± 0.40 a	40.60 ± 3.30 a	52.12 ± 4.08 a	178.05 ± 7.52 a	228.12 ± 10.79 a	35.60 ± 2.70 a	163.46 ± 7.95 a	28.48 ± 2.59 a
غير مصاب 94	11.69 ± 0.35 b	37.61 ± 2.06 a	40.57 ± 2.17 b	165.91 ± 5.51 b	225.23 ± 7.67 a	33.04 ± 2.51 b	160.12 ± 7.90 a	29.27 ± 2.47 a

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-7 تأثير التدخين على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى

بينت النتائج الموضحة في الجدول (4-7) وجود أرتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستويات AST, TG و VLDL-C في المرضى المدخنين(53.35) , (181.37) , (36.10) على التوالي مقارنة مع المرضى غير المدخنين (46.58) , (156.15) و(31.24) على التوالي .

أظهرت النتائج الدراسة الحالية للجدول أعلاه وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات PON1 وHDL-C في المرضى المدخنين (10.29) و (27.49) على التوالي مقارنة مع المرضى غير المدخنين (12.40) و (29.87) على التوالي .

أظهرت نتائج الجدول أعلاه عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات TC,ALT وLDL-C في المرضى المدخنين (39.30) , (228.20) و (161.61) على التوالي مقارنة مع المرضى غير المدخنين (37.98) و (224.87) و (159.41) على التوالي .

جدول(4-7) تأثير التدخين على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات التدخين	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL – C (mg|dl)	LDL -C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
مدخن 85	10.29 ± 0.40 a	39.30 ± 2.04 a	53.35 ± 3.95 a	181.37 ± 7.14 a	228.20 ± 11.82 a	36.10 ± 2.46 a	161.61 ± 10.26 a	27.49 ± 1.37 a
غير مدخن 65	12.40 ± 0.31 b	37.98 ± 3.34 a	46.58 ± 2.40 b	156.15 ± 5.20 b	224.87 ± 9.69 a	31.24 ± 2.63 b	159.41 ± 8.83 a	29.87 ± 2.51 b

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

8-1-4 تأثير العمر على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى

أوضحت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-8) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم PON1 وكان اعلى أنخفاض معنوي في الفئة العمرية الرابعة (61-70) (8.32) مقارنة بالفئات العمرية الاخرى (11.79) و (10.38) و(9.06) على التوالي .

أظهرت نتائج الموضحة في الجدول (4-8) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى ALT و AST في الفئة العمرية الاولى (28.62) ,(31.66) على التوالي مع الفئات العمرية الاخرى على التوالي (32.23) ,(41.49) و (34.12) ,(45.78) و (38.78) ,(48.22) على التوالي . بينما لم يلاحظ وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى ALT و AST في الفئتين العمريتين الاخيرتين (34.12) ,(45.78) و(38.34) و (48.22) على التوالي .

بينت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى TC وTG و VLDL في الفئات العمرية الثلاثة الاخيرة . بينما يوجد فرق معنوي بين الفئة العمرية الاولى مع الفئات العمرية الثلاثة .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في مستوى LDL في الفئة العمرية الاولى والثانية بينما لوحظ انخفاض معنوي في مستوى LDL الثالثة مع باقي الفئات

العمرية .ولوحظ ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى LDL في الفئة العمرية الرابعة مقارنة مع باقي الفئات العمرية.

أظهرت نتائج الجدول (4-8) عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى HDL في الفئة العمرية الاولى والرابعة بينما كان هناك انخفاض معنوي ($P<0.05$) في الفئة العمرية الاولى والرابعة مقارنة بالفئتين الثانية والثالثة.

جدول (4-8)تأثير العمر على بعض المعايير الكيموحيوية للمرضى المعدل ±الخطأ القياسي

المتغيرات / الفئات العمرية	PON1 (IU|L)	ALT (IU|L)	AST (IU|L)	Triglyceride (mg|dl)	Total cholesterol (mg|dl)	VLDL – C (mg|dl)	LDL -C (mg|dl)	HDL-C (mg|dl)
31-40 سنة	11.79 ± 0.45 a	28.62 ± 2.18 c	31.66 ± 2.84 c	131.80 ± 7.08 b	196.28 ± 5.24 b	27.39 ± 2.74 b	161.87 ± 12.64 a	30.14 ± 2.68 c
41-50 سنة	10.38 ± 0.54 ab	32.23 ± 1.68 bc	41.49 ± 2.21 b	154.18 ± 9.10 a	217.20 ± 9.72 a	30.87 ± 2.01 a	156.21 ± 13.31 ab	40.75 ± 4.06 a
51-60 سنة	9.06 ± 0.52 bc	34.12 ± 1.38 ab	45.78 ± 2.20 ab	162.26 ± 9.82 a	218.22 ± 9.30 a	32.13 ± 2.99 a	119.42 ± 7.51 c	34.03 ± 4.23 b
61-70 سنة	8.32 ± 0.67 c	38.34 ± 1.95 a	48.22 ± 1.91 a	163.33 ± 10.53 a	218.67 ± 7.12 a	32.65 ± 2.70 a	146.38 ± 9.71 b	29.93 ± 2.82 c

الحروف المختلفة الصغيرة في الاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية

4-1-9 التغيرات في التروبونين لدى مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

يبن جدول رقم (4-9) ارتفاع نسب النتائج التشخيصية الموجبة للتروبونين Trponin في المجاميع (MI ، AP) إذ كانت النسب كالاتي: (92%)، (82%) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

ويوضح الجدول انخفاض نسب النتائج التشخيصية السالبة لكل من التروبونين في المجاميع المجاميع (MI ، AP) إذ كانت النسب كالاتي: (8%)، (17%) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (100%) .

جدول (4-9) التغيرات في التروبونين لدى مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

التشخيص / الحالة المرضية	العدد الكلي للعينات	Troponin	عدد العينة	النسبة المئوية
Control	50	+	0	
		_	50	%100
MI	75	+	69	%92
		_	6	%8
AP	75	+	62	%82
		_	13	%17

2-4 الدراسة البايلوجية الجزيئية : Molecular study

1-2-4 دراسة جين Paraoxanase 1 PON1 gene حجم الناتج (99bp)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تحديد الجين الطافر الـ PON1 حجم الناتج (99bp) جدول (4-10) لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (45.33%),(37.33%) على التوالي .

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

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول(4-10) نسبة وجود الجين في المرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم تاريخ عائلي بالاصابة كانت النسب (47.61%) ,(43.58 %) على التوالي. بينما المرضى الذين لايملكون تاريخ العائلي لأصابة بالامراض القلبية كانت نسبة ظهور الجين 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 في الاشخاص المرضى غير المدخنين (29.03%) , (20.58%) على التوالي ويلاحظ ظهور الجين بنسبة اعلى في المرضى المدخنين مقارنة بالمرضى غيرالمدخنين

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المرضى باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بالضغط كانت نسبة ظهور الجين (57.89%)(43.90%) على التوالي, بينما كانت نسبة ظهور الجين 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 وجود الجين في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض السكري فكانت النسب (36.36%)(26%) على التوالي .

جدول (4-10) يوضح النسبة المئوية الجين PON1(99 bp) لعدد من المتغيرات في المرضى

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				
نعم	42	n(20)(47.61%)	39	n(17)(43.58%)
لا	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%)

4-2-2 دراسة جين PON1 gene Paraoxanase 1 حجم الناتج (171bp)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تحديد الجين الطافر الـ PON1حجم الناتج(171 bp)جدول (4-11) لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (53.33%),(41.33%) على التوالي .

بين الجدول أعلاه وجود الجين PON1 حجم الناتج(171 bp) بنسبة (50.87%) في الذكور و(61.11%) في الاناث في مرضى احتشاء العضلة القلبية بينما كانت نسبة ظهور الجين في مرضى الذبحة الصدرية بنسبة (50%) في الذكور و (24%) الاناث .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية نسبة وجود الجين في المرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن يملكون تاريخ عائلي بالاصابة كانت النسب (69.04%) ,(61.53%) على التوالي. بينما المرضى الذين لايملكون تأريخ العائلي لأصابة بالامراض القلبية كانت نسبة وجود الجين في مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (33.33%) , (38.88%)على التوالي .

بينت النتائج الدراسة الحالية أن الاشخاص المدخنين في كل من مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية كانت نسبة وجود الجين (72.72%) ,(48.78%) على التوالي ,بينما كانت نسبة وجود الجين في الاشخاص المرضى غير المدخنين (25.80%) , (32.35%) على التوالي ويلاحظ وجود الجين بنسبة اعلى في المرضى المدخنين مقارنة بالمرضى غيرالمدخنين

أظهرت نتائج الدراسة في الجدول اعلاه أن المرضى بأحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بالضغط كانت نسبة وجود الجين (78.94%), (56.09%) على التوالي, بينما كانت نسبة وجود الجين في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض الضغط فكانت النسب (27.02%) ,(23.52%) على التوالي.

بينت نتائج الدراسة الحالية أن المرضى باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بداء السكري كانت نسبة وجود (83.87%) , (72%) على التوالي , بينما كانت نسبة وجود الجين في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض السكري فكانت النسب (31.81%),(26%) على التوالي .

جدول (4-11)يوضح النسبة المئوية لظهور جين PON1(171 bp)لعدد من المتغيرات في المرضى

المتغيرات	احتشاء العضلة القلبية		الذبحة الصدرية	
	عدد المرضى	عدد ظهور الطفرة	عددالمرضى	عدد ظهور الطفرة
النسبة الكليةللجين	75	n(40) (%53.33)	75	n(31) (%41.33)
الجنس				
ذكر	57	n(29) (% 50.87)	50	n(25) (%50)
انثى	18	n(11) (%61.11)	25	n(6) (%24)
تأريخ العائلي				
نعم	42	n(29) (%69.04)	39	n(24) (%61.53)
لا	33	n(11) (%33.33)	36	n(14) (%38.88)
التدخين				
مدخن	44	n(32) (%72.72)	41	n(20) (%48.78)
غير مدخن	31	n(8) (%25.80)	34	n(11) (%32.35)
ضغط الدم				
مصاب	38	n(30) (%78.94)	41	n(23) (%56.09)
غير مصاب	37	n(10) (%27.02)	34	n(8) (%23.52)
داء السكري				
مصاب	31	n(26) (%83.87)	25	n(18) (%72)
غير مصاب	44	n(14) (%31.81)	50	n(13) (%26)

4-2-3 دراسة جين Paraoxonase2 (PON2) حجم الناتج (226bp)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تحديد الجين الطافر الـ PON2 حجم الناتج (226 bp) جدول (4-12) لدى مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (29.33%),(20%) على التوالي .

بينت النتائج الموضحة في الجدول أعلاه وجود الجين PON 2 حجم الناتج (226 bp) بنسبة (29.82%) في الذكور و(27.77%) في الاناث في مرضى احتشاء العضلة القلبية بينما

كانت نسبة وجود الجين في مرضى الذبحة الصدرية بنسبة (18 %) في الذكور و (24%) الاناث .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية نسبة وجود الجين في المرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن يملكون تأريخ عائلي بالاصابة كانت النسب (33.33%) ,(23.07%) على التوالي. بينما المرضى الذين لايملكون تأريخ العائلي لأصابة بالامراض القلبية كانت نسبة ظهور الجين في مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية (24.24%),(16.66%)على التوالي .

بينت النتائج في الجدول أعلاه أن الاشخاص المدخنين في كل من مرضى احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية كانت نسبة وجود الجين (34.09%) ,(24.39%) على التوالي ,بينما كانت نسبة ظهور الجين في الاشخاص المرضى غير المدخنين (22.58%) , (14.70%) على التوالي ويلاحظ وجود الجين بنسبة اعلى في المرضى المدخنين مقارنة بالمرضى غيرالمدخنين

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بالضغط كانت نسبة وجود الجين (36.84%),(26.83%) على التوالي, بينما كانت نسبة وجود الجين في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض الضغط فكانت النسب (21.62%) ,(11.76%) على التوالي.

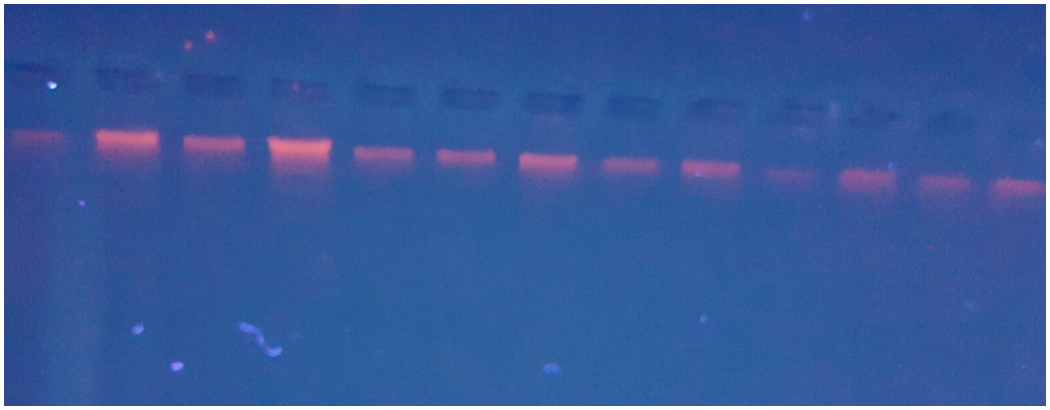
بينت نتائج الجدول ذاته أن المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية ممن لديهم أمراض مرافقة فالمرضى المصابين بداء السكري كانت نسبة وجود (51.61%) , (36%) على التوالي , بينما كانت نسبة وجود الجين في مرضى أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية الذين غير مصابين بمرض السكري فكانت النسب (13.63 %),(12%) على التوالي .

جدول (4-12) يوضح النسبة المئوية الجين2 PON (226 bp) لعدد من المتغيرات في المرضى

المتغيرات	احتشاء العضلة القلبية		الذبحة الصدرية	
	عدد المرضى	عدد ظهور الطفرة	عددالمرضى	عدد ظهور الطفرة
النسبة الكلية للجين	75	n(22) (29.33)	75	n(15) (20)
الجنس				
ذكر	57	n(17) (%29.82)	50	n(9) (%18)
انثى	18	n(5) (%27.77)	25	n(6) (%24)
تأريخ العائلي				
نعم	42	n(14) (%33.33)	39	n(9) (%23.07)
لا	33	n(8) (%24.24)	36	n(6) (%16.66)
التدخين				
مدخن	44	n(15) (%34.09)	41	n(10) (%24.39)
غير مدخن	31	n(7) (%22.58)	34	n(5) (%14.70)
ضغط الدم				
مصاب	38	n(14) (%36.84)	41	n(11) (%26.82)
غير مصاب	37	n(8) (%21.62)	34	n(4) (%11.76)
داء السكري				
مصاب	31	n(16) (%51.61)	25	n(9) (%36)
غير مصاب	44	n(6) (%13.63)	50	n(6) (%12)

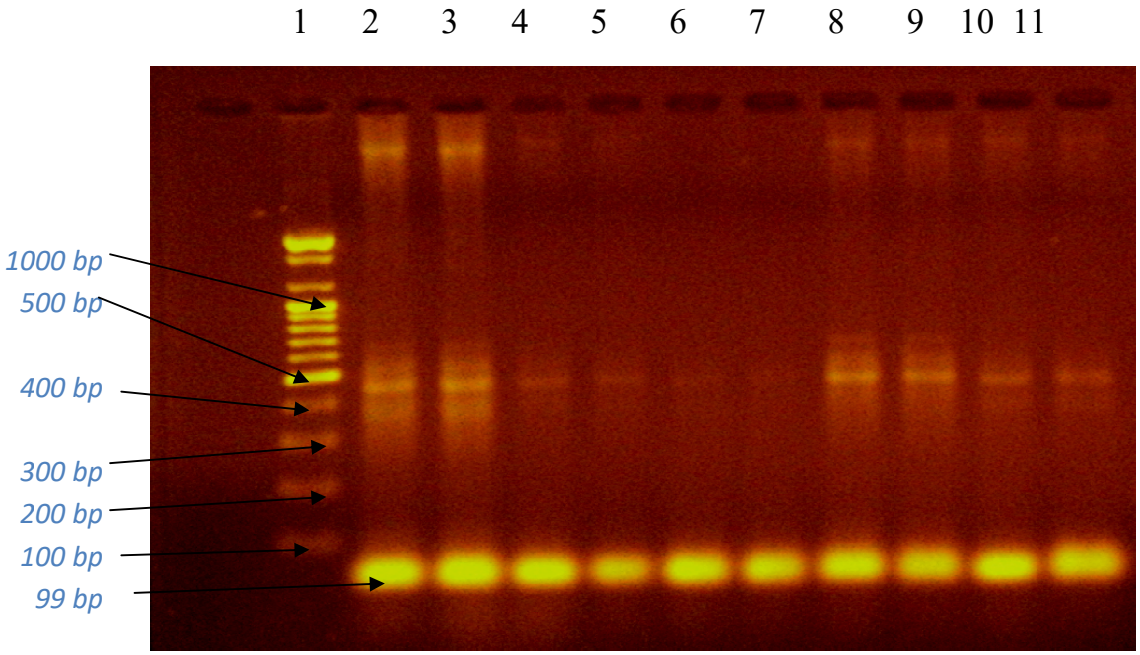
4-2-4 استخلاص الدنا الكروموسومي

تم استخلاص الـ DNA من عينات الدم لجميع العينات المشمولة بالدراسة، وتم أجراء الترحيل الكهربائي للتأكد من وجود حزم الـ DNA الكروموسومي على جل الاكاروز وبتركيز (0.8%) عند 70 فولت ولمدة ساعة ومشاهدتها باستخدام جهاز الاشعة فوق البنفسجية بعد صبغها بالاثيديوم بروميد، إذ أظهرت النتائج شكل (4-1)، وجود حزم الـ DNA الكروموسومي في معظم العينات المستخلصة



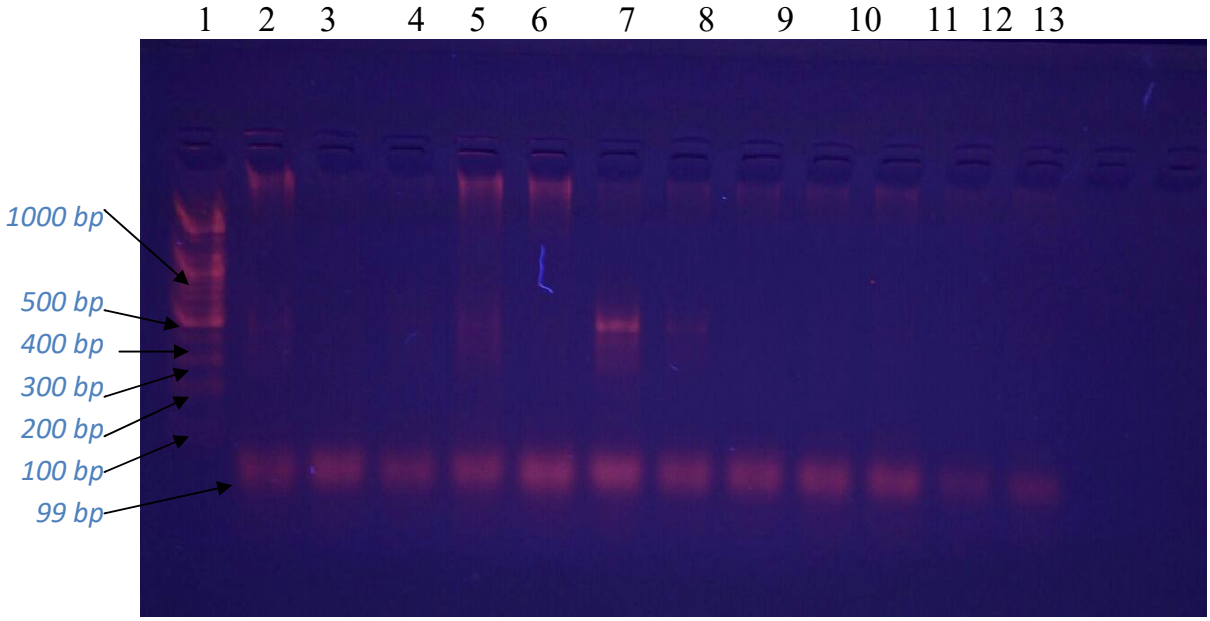
الشكل (4-1) الترحيل الكهربائي لحزم الـ DNA الكروموسومي على 0.8% جل الاكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة.

تم أجراء التوصيف الجزيئي باستخدام تقنية PCR للجينين مشمولين بالدراسة وهما PON1,PON2، إذ يوضح الشكل (4-2) 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 الدليل الحجمي (Size marker) بحجم (100-2000) زوج قاعدة، بينما تظهر الأعمدة (4,5,6,7,8,9,10.11) الحزم بحجم 99 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر بها الجين، أما الأعمدة (2,3) فتمثل العينات لمجموعه السيطرة وظهور الجين ايضا



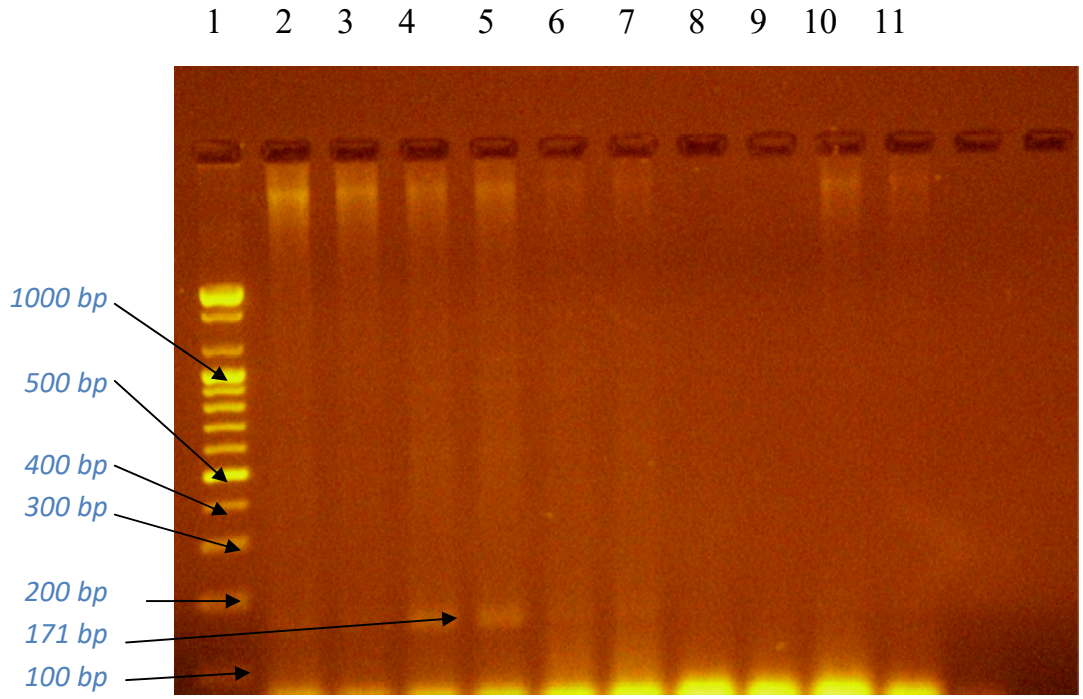
شكل (4-2) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 99 bp في مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

يوضح الشكل (4-3) 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.



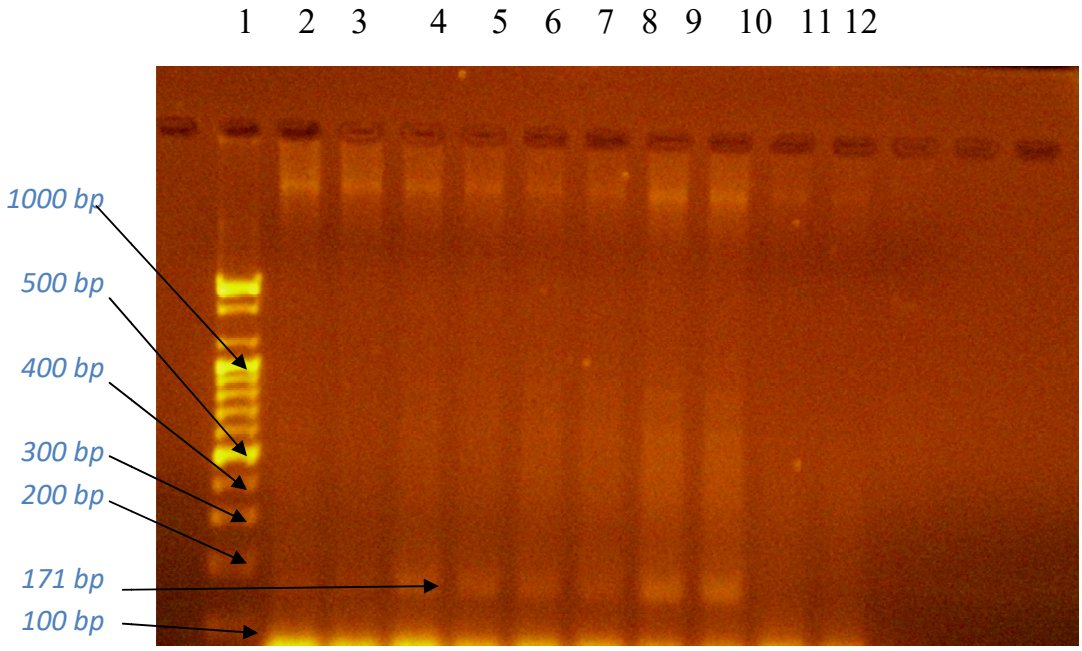
شكل (4-3) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 99 bp في مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

يوضح الشكل (4-4) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON1)ناتج 171 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 (2)الى 7 الحزم بحجم 171 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر بها الجين، أما الأعمدة (8,9) فتمثل العينات التي لم يظهر فيها الجين اما الاعمدة (10,11) تمثل عينات مجموعة السيطرة لم يظهر فيها الجين .



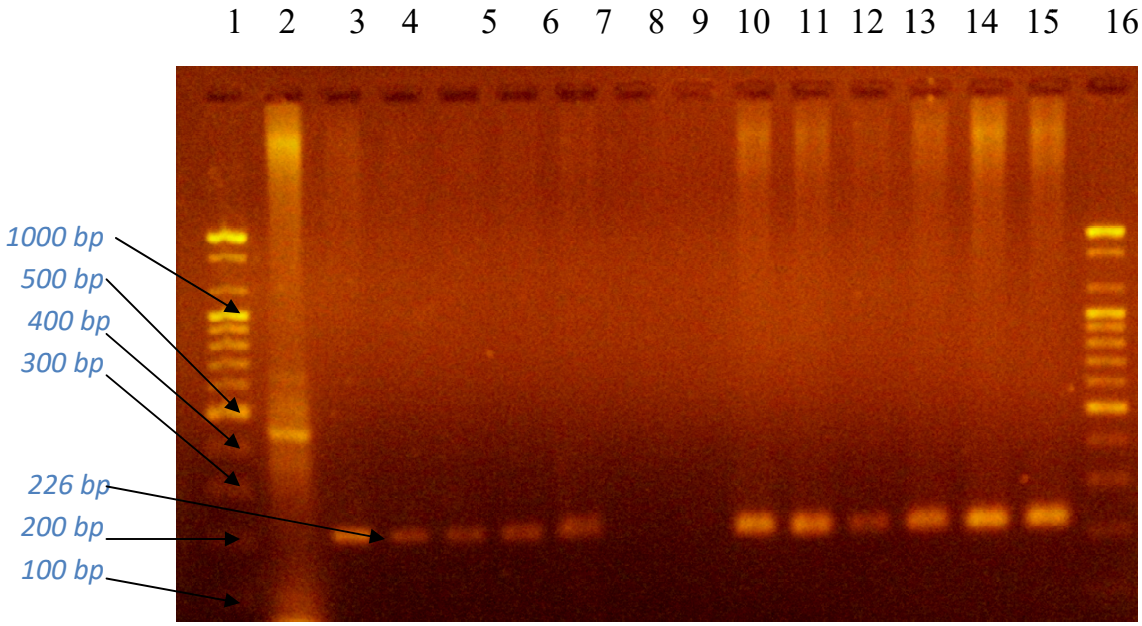
شكل (4-4) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON1 ناتج 171 bpفي مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

يوضح الشكل (4-5) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON1)ناتج 171 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)الى 9 الحزم بحجم 171 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر فيها الجين ، أما الأعمدة (10) فتمثل العينة التي لم يظهر فيها الجين اما الاعمدة (11,12) تمثل عينات مجموعة السيطرة لم يظهر فيها الجين



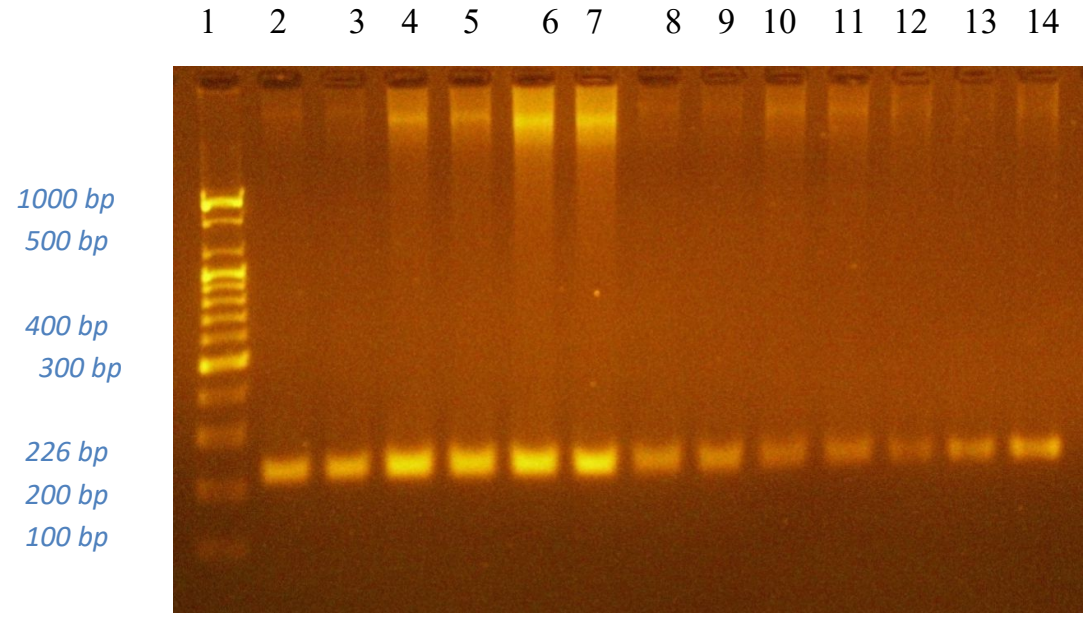
شكل (4-5) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة PON1 ناتج 171 bp في مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

يوضح الشكل (4-6) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON2)ناتج 226 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(3.4.5,6,7,10,11,12.13.14.15)الحزم بحجم 226 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر فيها الجين ، أما الأعمدة(8.9) فتمثل العينات التي لم يظهر فيها الجين اما العمود (2) تمثل عينة مجموعة السيطرة لم يظهر فيها الجين.



شكل (4-6) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON2 ناتج 226 bpفي مرضى احتشاء العضلة القلبيةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

يوضح الشكل (4-7) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين (PON2) ناتج 226 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 4 الى 14الحزم بحجم 226 زوج قاعدة والتي تمثل العينات التي ظهر فيها الجين، أما الأعمدة(2,3) فتمثل العينات مجموعة السيطرة التي تظهر فيها الجين .



شكل (4-7) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين PON2 ناتج 226 bpفي مرضى الذبحة الصدريةعلى 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف

1-5 الدراسة الفسلجية

يلعب الباراأوكسينيز دورا مهما في الفسيولوجية المرضية لتصلب الشرايين وان العديد من الدراسات بينت دور PON1 للحماية من تصلب الشرايين وذلك من خلال قدرته على منع اكسدة الدهون الحد من تطور مرض تصلب الشرايين (Richter,*et al*.,2010; Mackness and Mackness.,2013 ; Aviram and Vaya.,2013)

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-1,2, 3) أنخفاضا معنويا في مستوى أنزيم PON1 في مصل الدم للمجاميع المرضية مقارنة بمجموعة السيطرة لدى كل من الذكور والاناث ,وقد جاءت هذه النتائج متفقة مع النتائج التي حصل عليها (Durrington *et al*.,2001; Tang *et al*.,2012 ;and Doneva.Basheva.*et al*.,2013) وقد يرجع الى علاقة أنزيم PON1 بالبروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL وارتباطها بسطحها وان الدهون المؤكسدة سوف تؤثر على ارتباط PON1 بـHDL وبذلك ينخفض نشاط PON1.

أظهرت نتائج جدول (4-4) وفيما يخص تأثير الجنس على مستوى أنزيم PON1 حيث يلاحظ أنخفاض معنوي في مستوى الانزيم في الاناث مقارنة بالذكور وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Sutherland واخرون (2001) وقد يرجع السبب الى تأثير هرمون الاستروجين (Estrogen)الذي ينخفض عند النساء عندما يبلغن سن اليأس.

جاءت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-6) متفقة مع ماتوصل أليه (Gugliucci *et al*.,2015) في دراسته على السكان العرب الذي وجد أنخفاض نشاط أنزيم Paraoxinase لدى المرضى المصابين بالامراض القلبية والسكري من الفلسطينين وهذا مأظهرت نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لتأثير مرض داء السكر على مستوى أنزيم PON1 وهذا موافق مع الدراسات أخرى (Boemi *et at*.,2001;Mackness *et al*.,2002 and Gupta. *et al*.,2012) حيث تنخفض فعالية أنزيم PON1 لدى الاشخاص المصابين بالامراض القلبية وداء السكري وذلك نتيجة لزيادة السكر في الدم ويؤدي الى تثبيط نشاط انزيم PON1 وزيادة بيروكسيد الدهون في LDL(Ferretti *et al*.,2001) ويرجع سبب انخفاض فعالية الانزيم لدى الاشخاص المصابين بالامراض القلبية والسكر الى زيادة عملية glycation وهي عملية ارتباط جزيئة السكر مع الدهون او البروتينات الدهنية HDL الذي يكون اقل بكثير في الاشخاص المصابين بالامراض القلبية (Hedrick *et al.* 2000 and Gupta.,*et al*.,2012)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-7) أنخفاضا معنويا في مستوى أنزيم PON1 في مصل الدم للمرضى المدخنين وهذه النتائج تتفق مع نتائج (James *et al*.,2000 ;Jarvik *et al*.,2002 ; Sent *et al*.,2003 ; Ferre *et al*.,2003; Kumar and Biswas,2011) حيث ان التدخين يخفض نشاط وفعالية انزيم PON1 لدى المدخنين مقارنة بغير المدخنين وبالاخص الاشخاص المصابين بالامراض القلبية واحتشاء العضلة القلبية,ويعمل التدخين على زيادة المواد المؤكسدة والجذور الحرة في الدم والتي لها تأثير كابح يقلل نشاط وفعالية أنزيم PON1 الذي له دور مضاد للاكسدة ويرجع ذلك الى خفض القدرة على حماية البروتينات الدهنية من الاكسدة (Kumar and Biswas, 2011).

ومن الجدير بالذكر أن نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج (Seres *et al*.,2004 and Jaouad *et al.,* 2006) حيث ينخفض نشاط الانزيمPON1 مع التقدم في العمر ,ويرجع ذلك إلى أن كبار السن يتعرضون الى زيادة قابلية LDL للاكسدة ويرجع سبب ذلك الى ان الاشكال الجينية مختلفة لجين PON1 تلعب دورا في فقدان هذا النشاط بسبب الشيخوخة (Senti *et al*.,2001).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-4,3,2,1) أرتفاعا معنويا في مستوى أنزيم AST للمجاميع المرضية مقارنة بمجموعة السيطرة لدى كل من الذكور والاناث ومجموعة الذكور والاناث وتأثير الجنس على مستوى أنزيم AST وهذه النتائج متفقة مع نتائج التي حصل عليها Crawford واخرين (2004),العبيدي (2005) , والنيساني (2011) اذ اشارت هذه الدراسات إلى أن المصابين باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية يكون تركيز الانزيم مرتفع لديهم بينما يكون تركيز الانزيم في الحالات العادية منخفض وان هذا الانزيم يتحرر وينطلق الى مصل الدم عند حدوث تحطيم شديد للخلايا كما في عضلة القلب عند اصابتها بالاحتشاء القلبي والذبحة الصدرية .

أما بالنسبة لتأثير ضغط الدم على أرتفاع مستوى أنزيم AST فأن نتائج الدراسة الحالية أتفقت مع النتائج التي توصل اليها الاسدي (2008) في حين أختلفت مع نتائج النيساني (2011) حيث أن الزيادة في مستوى أنزيم AST ناجمة عن ارتفاع الضغط الذي يعاني منه غالبية مرضى القلب والذي قد يؤثر على الكبد بحدوث تلف او انحلال او تنخر لبعض خلاياه وتسرب هذا الانزيم بعد ذلك الى الدورة الدموية وزيادة مستواه وفعاليته في مصل الدم (Varley and Lemann,1991 and Choen *et al*.,1984)

وبينت نتائج الدراسة الحالية زيادة معنوية في مستويات أنزيم AST لدى المدخنين وهذه نتائج موافقة لنتائج (Cheung *et al*.,2009; Alsalhen and Abdalsalam,2014) وذلك لان دخان السكائر له تأثيرات كبيرة على وظائف الكبد ,بسبب احتوائه على الجذور الحرة مما يؤدي الى أحداث جهدا تأكسديا ويزيد من الاكسدة الشحمية وكذلك بسبب فرط اوكسيد النتريك (Abaul-Razaq and Ahmed,2013).

بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة معنوية في مستوى أنزيم ALT للمجاميع المرضية مقارنة بمجموعة السيطرة لدى كل من الذكور والاناث أذ أتفقت هذه النتائج مع النتائج التي حصل عليها السامرائي (2001) والاسدي (2008) قد تكون اسباب الارتفاع غير مباشرة ناتجة من تأثير امراض القلب في الكبد اذ تعزى زيادة فعالية الانزيم الى تغير في الوظائف الايضية الكبدية حيث يتم تصنيعه في الكبد (Duford *et al*.,2001).

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-2,1) أرتفاع مرتسم الدهون (TC,TG,LDL,VLDL) للمجاميع المرضية مقارنة مع مجموعة السيطرة لدى كل من الذكور والاناث وجاءت هذه النتائج موافقة لما وجده (Matam *et al*.,2014)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(Hazar *et al*., 2011; Bahrami *et al*., 2015) 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 (Chatterjea and Shinde ,2005) وهذه النتيجة تتفق مع نتائج (Elmadbouh. *et al*.,2013).

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-4,3,2,1) زيادة معنوية بمستوى كل من TG,TC و LDL-C وانخفاض معنوي في مستوى HDL-C في كلا مجموعة الذكور ومجموعة الاناث ومجموعة الذكور والاناث ومجموعةالجنس المصابين بأحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة وجاءت هذه النتائج متفقة لما جاء به (Elmadbouh *et al*.,2013) 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 السيطرة وهذا يتفق مع نتائج كل من (Dias *et al*.,2009 and Dasgupta *et al*.,2015)

حيث تعد التغذية من العوامل التي تسبب ارتفاع تركيز الدهون في البلازما اذ ترتفع مستويات الكوليسترول والكليسريدات الثلاثية وينخفض مستويات HDL-C بسبب تناول الغذاء الحاوي على نسبة عالية من الدهون المشبعة والكاربوهيدرات العالية (Gupta *et al*.,2002). وتتفق نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لمستوى TGو HDL-C مع نتائج (Jabara *et al*.,2007 and Weiss *et al*.,2015) 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 يســـبب أنخفاض مستوياتها لــدى النساء مقارنة بالذكور (Bishop *et al*.,2000) .

جاءت نتائج الدراسة الحالية لمستوى VLDL-C متفقة مع النتائج التي حصل عليها الشمري (2009) 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 (Carwford *et al*.,2004) ,كما أن أرتفاع الـ (VLDL-C) قد يكون 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 (Guyton and Hall,2006)

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-5) زيادة معنوية في مستوى LDL-C وTC في مرضى المصابين بارتفاع ضغط الدم مقارنة مع المرضى الذي يكون لديهم ضغط الدم معتدل وتتفق هذه النتائج مع نتائج التي حصل عليها (Ibrahim *et al*.,2013) وتتفق نتائج هذه الدراسة بالنسبة لمستوى LDL-C مع نتائج (Han *et al*.,2013) في حين أختلفت النتائج مع نتائج النيساني (2011) وان من اهم الاسباب المؤدية الى حدوث أمراض القلب هو اتباع نظام غذائي غير صحي وعدم ممارسة النشاط البدني الذي يؤدي الى أرتفاع ضغط الدم ونسبة الكلوكوز والدهون في الدم وزيادة الوزن (منظمة الصحة العالمية ,2011).

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول(4-6) زيادة معنوية في مستوى TG و VLDL-C في المرضى المصابين بداء السكري مقارنة بالمرضى غير المصابين بداء السكري وهذه النتائج تتطابق مع نتائج السامرائي (2001) و Owoyele وآخرين (2005) و Ene وآخرين (2007) والنيساني (2011) أذ أشاروا الى أن أرتفاع TG لدى مرضى المصابين بداء السكري ويرجع

سبب ذلك الى أن نقص الانسولين يؤدي الى تنشيط انزيم Lipase في الخلايا الدهنية مسببا زيادة تحلل الكليسيريدات المخزونة وتحرر كميات كبيرة من الاحماض الدهنية والكوليسترول الى الدم والتي عند انتقالها الى الكبد يعاد تصنيع الكليسيريدات الثلاثية .اما بالنسبة لارتفاع المعنوي في مستوى VLDL في المرضى المصابين بمرض السكري ويكون ذلك بسبب انخفاض في فعالية انزيم لايبو بروتين لايبيز (LPL) الذي يسبب زيادة في تركيز الكليسيريدات الثلاثية وفي نفس الوقت يؤدي إلى ارتفاع تركيز VLDL-C (Pikup and Willams, 2003) .

بينت نتائج الدراسة الحالية أرتفاع معنوي في مستوى TG و VLDL-C لدى المرضى المدخنين مقارنة مع المرضى غير المدخنين وهذه النتائج تتطابق مع نتائج الدراسات السابقة Blanco وجماعته (2002) والنيساني (2011) حيث أشاروا الى ان التدخين يعمل على زيادة تراكيز الكليسيريدات والـ VLDL-C وتتفق نتائج هذه الدراسة لمستوى TG و HDL-C مع نتائج التي حصل عليها (Kumar,2011) ويعزى الى أن التدخين له تأثير على التمثيل الغذائي وعلى وظيفة الخلايا الشريانية والتي تسرع من تصلب الشرايين (Gepner *et al*.,2011).

أوجدت الدراسة الحالية لمستويات TC, TG و VLDL-C وجود فروق معنوية في الفئة العمرية (31-40) سنة بينما لايوجد فرق معنوي في بقية الفئات العمرية وهذه النتائج تتطابق مع نتائج النيساني (2011) وبينت نتائج هذه الدراسة وجود فروق معنوية بين جميع الفئات العمرية لمستوى TC,TG,LDL و VLDL-C وتتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج (Ibrahim *et al*.,2013) وتعد التغذية من العوامل المهمة التي في أرتفاع تراكيز الدهون في البلازما وأتباع نظام غذائي معين(Ibrahim *et al*.,2013),وقد يرجع السبب إلى تأثير العوامل الأخرى من أرتفاع الضغط والسكر الذي يؤثر على مستويات الدهون في الجسم مع تقدم العمر.

بينت النتائج الدراسة الحالية جدول (4-9) ارتفاع النتيجة التشخيصية الموجب للـ Tropnin في المجاميع MI ، AP مقارنة مع مجموعة السيطرة . وهذا يوضح اهمية التروبونين في تشخيص امراض الشرايين التاجية CHD تعدّ هذه الانزيمات هي الاكثر حساسية والاكثر خصوصية في تشخيص CHD وخاصة مرض احتشاء العضلة القلبية MI ومرض الذبحة الصدرية ، لان هذه الانزيمات توجد بكميات كبيرة في العضلة القلبية إذ تتحرر إلى الدورة الدموية عند حدوث تليف او تنخر او احتشاء في خلايا العضلة القلبية ، وهذه النتائج تتفق مع (Muler-Bardoff *et al.* , 1997) .

2-5 الدراسة الجزيئية

جين الطافر PON1 ناتج (99 bp) يكون وجوده 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 وكذلك جين الطافرPON1(171bp) الذي يكون وجوده مرتبط بظهور طفرة L55M ايضا ونتائج الدراسة الحالية جاءت مطابقة لما جاء به دراسة (Chehari *et al*.,2014) حيث تم الاستقصاء عن هذه الطفرات في المرضى الايرانيين عند التقصي عن وجود هذه الطفرات في DNA وبعد ذلك دراسة تعدد الاشكال لانزيم PON1 وتحديد الطفرات والاليلات Q192R و L55M .

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-12,11,10) في أغلب الجينات نسبة اصابة الذكور اعلى من الاناث وذلك لان بـداية تصـلب الشـرايين في النساء يتأخر زمنيا عن الرجال (Bellasi *et al*.,2007) لايعرف السبب الدقيق لكون النساء محميات من امراض القلب التاجية قبل انقطاع الطمث ,ولكن يبدو أن الامر مرتبط على الارجح بالهرمونات التي تختفي بمجرد توقف الطمث .

تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج(Matam *et al*.,2014) ان جين PON1 له دور في الاصابة بامراض الشرايين التاجية .

تتفق نتائج الدراسة الحالية لجين PON1 حيث ترتفع نسبة ظهور الجين الطافر في المرضى المدخنين مقارنة بغير المدخنين مع نتائج (Robertson *et al*.,2003) 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 (Talmud and Humphries,2002) ,هنالك أدلة على أن الخلل في الاغشية الوظيفية لاوعية الدموية المتصلبة لدى المدخنين يترافق مع نقص في L-arginine (Siasos *et al*.,2009), وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي جاء بها (Agrawal *et al*.,2009) حيث كان ظهور الجين PON1(192R) في المرضى المدخنين في شمال الهند اعلى نسبة من غير المدخنين وذلك اذ ان تدخين السجائر يؤدي الى ظهور 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 لجين PON1 ان خطورة الاصابة بمرض احتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية تزداد لدى المرضى الذين يعانون من مرض السكري وتتفق مع نتائج (Ganesan *et al*.,2011) وذلك نتيجة الى التغيرات الجينية والايضية حيث ان الانماط الوراثية تكون مرتبطة جزئيا بمرض السكري نتيجة الانشطة الانزيمية لحماية ضد الاكسدة Jarvik *et al*.,2000 ; Ranade *et al*.,2005 ; Fleka *et al*.,2008) وهذا يتطابق مع ماأشار إليه (Lakshmy *et al*.,2010) في دراسته الى تعدد الاشكال الجينية مرتبطة بحدوث طفرة Q192R و L55M لجين Paraoxinase تترافق مع امراض 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.

وتتفق نتائج الدراسة الحالية بان الجينين PON1, PON2 يعتبران عاملين خطيرين خطراً كبيراً للاشخاص المصابين بالامراض القلبية مع أرتفاع ضغط الدم مع نتائج (Rontu *et al*.,2003,2004; Han *et al*.,2013).

وقد أثبتت العديد من الدراسات السابقة ان الجين PON1 يكون مرتبط بالاصابة بالامراض القلبية CAD في عامة الناس وقد يرجع سبب ذلك الى دور انزيم PON1 في التمثيل الغذائي للدهون (Agrawal,*et al*.,2009).

جين PON2 ناتج (226 bp) يرتبط ظهوره بحدوث طفرة ser 311cys من خلال دراسة DNA والتقصي عن أنتشاره في المرضى العراقيين وبالذات في محافظة كربلاء المقدسة ونتائج الدراسة الحالية متفقة لماجاء به (Bayrak *et al*., 2012b) حيث تم الاستقصاء عن هذه الطفرة في المرضى الاتراك المصابين بأمراض الشرايين التاجية.

تتفق نتائج الدراسة الحالية لجين PON2 باعتباره عامل خطر للاصابة بأمراض الشرايين التاجية والذين لديهم ارتفاع في ضغط الدم مع نتائج (Han *et al*.,2013) وأن الجين PON2 يمكن أن يؤدي الى تغيرات في بنية ووظيفة الانزيمات PON2 التي من شأنها أن تؤثر على أستقلاب الدهون ويسبب انخفاض في HDL مضاد للاكسدة وتعزيز التغيرات الكيموحيوية في تطور تصلب الشرايين .

وتتفق نتائج هذه الدراسة لكل من PON1,PON2 مع نتائج (Guxens *et al* ., 2008) حيث يرتبطان بشكل مستقل مع زيادة خطر الاصابة بمرض احتشاء العضلة القلبية حيث ترتفع نسبة الاصابة بالنسبة للاشخاص المرضى المصابين بالسكري والضغط والمدخنين.

وتتفق نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لعلاقة جين PON2 مع المدخنين المصابين بأحتشاء العضلة القلبية مع نتائج (Martinelli *et al*.,2004) وذلك ان المواد الكيميائية المطفرة الموجودة في دخان السكائر تسبب ضرر للـ DNA في الانسجة وتؤكسد البروتينات وتعمل على زيادة تصلب الشرايين (Yamaguchi *et al*.,2001)

ونتائج هذه الدراسة لجين PON2 لاتتفق مع نتائج كل من (Leus *et al*.,2001; Iami *et al*.,2001) وان الاختلافات في هذه النتائج قد يكون بسبب حجم العينة والاختلافات العرقية والعوامل البيئية.

الاستنتاجات

1-وجود علاقة بين حدوث الامراض القلبية التاجية وبين انخفاض مستوى أنزيم PON1

2- وجود علاقة بين أنخفاض مستوى HDL وأنزيم PON1 وحدوث الاصابة بالامراض القلبية وتصلب الشرايين.

3-وجود علاقة بين ظهور الجين PON1 وPON2 وحدوث تصلب الشرايين

4-نسبة ظهور الجين PON1 ناتج (99bp , 171 bp) أعلى في المرضى المدخنيين والمصابين بالضغط وبداء السكري .

5-أرتفاع تركيز أنزيم ناقل أمين الاسبارتيت (AST) في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بالضغط ,داء السكري والمدخنين وارتفاع تركيز الانزيم في الفئات العمرية الاكبر.

وأرتفاع تركيز أنزيم ناقل أمين الانين(ALT) في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث وارتفاع تركيز الانزيم في الفئات العمرية الاكبر.

6-أنخفاض في تركيز أنزيم PON1 في مجموعة الذبحة الصدرية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بالضغط ,داء السكري والمدخنين وانخفاض تركيز الانزيم في الفئات العمرية الاكبر.

7- أرتفاع تركيز الكوليسترول الكلي في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بالضغط

و أرتفاع تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مجموعة أحتشاء العضلة القلبية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بداء السكري والمدخنين . و أرتفاع تركيز VLDL في مجموعة أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بداء السكري والمدخنين . و أرتفاع تركيز LDL في مجموعة أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمصابين بالضغط .

8- أنخفاض في تركيز HDL في مجموعة أحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية في مجموعة الذكور ومجموعة الاناث والمدخنين وفي الفئات العمرية الكبيرة (من 61 سنة فما فوق) .

التوصيات

1-أستمرار الدراسات حول الانواع الاخرى لأنزيم الـ paraoxoanase وبالذات انزيم paraoxoanase 2 وانزيم paraoxoanase3 .

2- دراسة علاقة الجين PON3 بالامراض القلبية.

3-دراسة انواع اخرى من الامراض القلبية مثل التهاب الشرايين تاكايسو Takayasus' artritis وعلاقته بهذا الانزيم من الناحية الجزيئية الوراثية.

4- أستخدام تقنية RFLP في تحديد الطفرات في جين PON1 و PON 2

المصادر References

أولا: المصادر العربية

الاسدي,مواهب بشير جاسم (2008)," العلاقة بين تدهور وظائف القلب وبعض التبدلات الكيموحيوية لمرضى الجهاز الوعائي الدموي في كربلاء",رسالة ماجستير ,كلية التربية ،جامعة كربلاء .

البدراوي,يوسف,(1989),"الكيمياء الحيوية"دار المستقبل للنشر والتوزيع ,عمان ,الاردن.

الخطيب ,عماد أبراهيم ؛ الخطيب ,هشام أبراهيم ؛والخطيب,خلود ابو رمان ,(2000),"الكيمياء الحيوية",الطبعة الاولى ,دار الثقافة للنشر والتوزيع ,عمان,الاردن.

السامرائي, زينة لفته حسن(2001) ,"دراسة مستويات الدهون وبعض الانزيمات في المصابين بالامراض القلبية في محافظة صلاح الدين", رسالة ماجستير ,كلية التربية للبنات ,جامعة تكريت.

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.

شمسي، حسان (2006)؛ امراض الشرايين التاجية. (انترنيت).

العبيدي,رشا عبد الامير جواد ,(2005),"دراسة سريرية لمرضى الشرايين التاجية في محافظة كربلاء ",رسالة ماجستير ,كلية التربية ،جامعة كربلاء .

المنسي,عرسان؛والشريدة,محمد,(2000),"مقدمة في الكيمياء الحيوية",دار وائل للنشر,عمان,الاردن.

منظمة الصحة العالمية (2011): أمراض القلب الوعائية , صحيفة الوقائع رقم 317 , جنيف ,سويسرا .

منظمة الصحة العالمية. (2004). دليل الطرائق الاساسية في المختبرات الطبية، جنيف/ سويسرا (1983) الطبعة العربية الصادرة عن المكتب الاقليمي لشرق العربية، (1983)، ص (65-123).

النيساني ,منى أحمد لفته ,(2011),"دراسة الجهد التأكسدي لدى المرضى المصابين ببعض أمراض القلب",رسالة ماجستير ,كلية التربية ,جامعة تكريت .

ثانيا: المصادر الاجنبية

Abdul-Razaq, S. N. and Ahmed, B. M.(2013). Effect Of Cigarette Smoking On Liver Function Test and Some Other Related Parameters . Zanco J. Med. Sci., 17: 556-562.

Adkins, S.; Gan, K.N.; Mody, M. ;LaDu, B.N. (1993).Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. Am. J. Hum. Genet. 53:598–608.

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

Aharoni, A.; Gaidukov, L.; Yagur, S.;Toker, L.; Silman ,I.; Tawfik, D.S. (2004).Directed evolution of mammalian paraoxonases PON1 and PON3 for bacterial expression and catalytic specialization. Proc Natl Acad Sci USA. 101 : 482-7.

Ahmed, I.M., (2012). Letter by Ahmed regarding article, ‘‘Second internal thoracic artery versus radial artery in coronary artery bypass grafting: a long-term, propensity score-matched follow-up

Aldridge, W.N. (1953). Serum esterases 2 — an enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenylphosphate(E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. Biochem. J. 53, 117–124.

Ali, A.B.; Zhang, Q.; Lim, Y.K.; Fang, D.; Retnam, L.(2003). Expression of major HDLassociated antioxidant PON-1 is gender and regulated during inflammation, Free Rad Bio & Med, 34, 824-829.

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

Alsalhen, K. S. and Abdalsalam, R. D.(2014). Effect of cigarette smoking on liver functions: a comparative study conducted among smokers and non-smokers male in El-beida City, Libya. International Current Pharmaceutical Journal., 3: 291-295.

Al-Shammaa, N. M. J. ; Al- Wihaly, B. H . and Abass, E. A.A.(2011). Effect Of Some Enzymes Activity In Liver Diseases From Patients Of Salmonella Paratyphi A With Iraqi Woman .Ibn Al- Haitham J. For Pure and Appl. Sci.,24:1-9.

Alwan, A., (2004). MD, FRCP, FFPH,Ministry of Health Second EditDecember.

Andresdottir,M.;Sigurdsson,G.;Sigvaldason,H.;Gudnason,V.(2001). Fifteen percent of myocardial infarctions and coronary Revascularization explained by family history unrelated to conventional risk factors : The Reykjavik Cohort Study. Eur.

Antman E. M. (2007).ST- elevation myocardial in fraction management. In: Libbyp; Bonow R. O.; Mann D. L. and Zipes D. P. eds; Braunwalds Heart Disease: AText book of cardiovascular Madicine. 8th ed. Saunders: 51.

Arnold M. K. (2001).Physiology of the heart. USA. 3th ed.: 63. artery disease. Mol. Biol. Rep. 40, 6097–6105.

Aviram M. (2004).Introduction to the serial review on paraoxonases, oxidative stress, and cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med:37:1301–3.

Aviram, **M** .;Vaya J. (2013).Paraoxonase 1 activities, regulation, and interactions with atherosclerotic lesion. Current opinion in lipidology. 24:339-344.

Aviram, M.; Billecke, S.; Sorenson, R.; Bisgaier, C.; Newton, R.; Rosenblat, M.; Erogul ,J.; Hsu ,C.; Dunlop, C.; La Du, B. (1998a). Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulphydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase alloenzymes Q and R. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 10, 1617–1624.

Aviram, M.; Kaplan, M.; Rosenblat, M.; Fuhrman, B.(2005). Dietary antioxidants andparaoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. Handb.Exp. Pharmacol. 170, 263–300.

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.

Aviram, M.; Rosenblat, M.; Bisgaier, C.L.; Newton, R.S.; Primo-Parmo, S.L.; La Du, B.N.(1998b). Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. J. Clin. Invest. 101, 1581–1590.

Badiman J. J.; Zaman, A. ; Helft, G. (2004): A cut coronary syndromes. Patho physiology and preventive priorities thromb. Haemostas. 82: 997.

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

Basile, J.(2002).hypertension in the elderly a review of the importance of systolic blood pressure elevation. J- Cilnhypertens-(Greenwich),4(2):108-119.

Başkol, G.; Ķse, K.(2004). Paraoksanase: Biyokimyasal ̧zellikleri, fonksiyonları ve kliniķ nemi, Erciyes Medical Journal, 26 (2), 75-80.

Bayrak, A.; Bayrak, T.; Tokgozoglu, S.L.; Vlokan-Salanci, B.; Deniz, A.; Yavuz, B.; Alikasifoglu, M.; Demirpence, E.(2012a)Serum PON1 activity but not Q192R polymorphism is related to the extent of atheriosclerosis. J. Atheroscl.

Bayrak, T.; Bayrak, A.; Demirpençe, E.; Kılınç, K.(2005). Yeni kardiyovasküler belirteç adayı: Paraoksonaz, Hacettepe Medical Journal, 36,147-151.

Bayrak, T.; Bayrak, A; Volkan-Salancı, B.; Deniz, A.; Tokgözoğlu, S. L.;Yavuz, B.; Alikaşifoğlu, M.; Demirpençe,E.(2012b). 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.

Bazzano, LA.; He, J.; Muntner, P.; Vupputuri, S.; Whelton, PK. (2003) Relationship Between Cigarette Smoking And Novel Risk Factors For Cardiovascular Disease In The United States. Ann Intern Med;138:891-7.

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.

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.

Benetos, A; Thomas, F; Bean, K; Gautier, S; smulyan, H& Guize, L (2002): prognostic value of systolic and diastolic blood pressure in treate hypertensive men. Arch –Intern- Med. 162 (5): 577- 81

Bennett, R.L.(1999) . Thepragtical guid to the genetic family history New York,NY:John Wiley and Sons, Inc.

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

Bethesda,M D.(2006). Childhood acute myeloid leukemia .National cancer Institute .9.25-39.

Betteridge, D.J.(2001).Lipid-lowering trials in diabetes. Curr –opin-Lipidol., 12(6):619-623.

Bhattacharyya, T.; Nicholls, S.J.; Topol, E.J.; Zhang, R.; Yang, X.; Schmitt, D.; Fu, X.; Shao, M; Brennan, D. M.; Ellis, S. G.; Brennan, M.L .; Allayee, H.; Lusis, A. J.; Hazen, S. L. (2008). Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. JAMA 299, 1265–1276.

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

Bjartveit, K;.Tverdal, A.(2005). Health consequences of smoking1-4 Cigarettes per day. Tobacco Control 14: 315-320.

Blanco ,C. L.; Daviglus, M.L.; Garside, D.B.; Liu, K.;pirzada, A.;stamler, j.; Greenland, p. (2002).Relation of cigarette smoking to 25- year mortality middle –aged men with low serum cholesterol :the Chicago heart Association Detection project in Industry.Am.J.epidemiol.,155(4):54-60.

Blann,A,D.;Steele,C. and McCollum ,C.N.(1997).The influence of smoking on soluble adhesion molecules and endothelial cell markers.Thromb.Rws.,85:433-438

Boemi, M.; Leviev, I.; Sirolla, C.; Pieri, C.; Marra, M.; James, RW.(2001). Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to nondiabetic, first degree relatives. Influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. Atherosclerosis;155:229–35.

Boneth,P.o.; Lerman, A.(2003).Endothelial dysfunction a marker of atherosclerostic risk. Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular Biology 23. 168.

Braunwald, E.; Zipes, D. ; Libby, P.(2001). Heart Disease : A Textbook of Cardiovascular Medicine. 6th ed., W.B. Saunders company, U.S.A., 1010p., 1022p., 1024p.

Brogan G. X. (1997): Evaluation of cardiac STATus ^{TM}CKO- MB/ myoglobin x device for rapidly testing for cardiac troponintor tropomin I. New Eng. J. Med. 337: 1648.

Burstein, M.J (1970): measurement of HDL. Lipid Res. 11: 583.

Castro, C.M.; Halkes,C.J.; Erkelens,D.W. (2001).Obesity and free fatty acids.double trouble. Nutr.Metab. cardiovasc_Dis.,11(2):34-42.

Centre for disease control and prevention CDC. (2001).Cigarette smoking in 99 metropolitan areas-united states. 2000. MMWR-Mortal-wkly-Rep.50(49):11-13.

Chait, A.; Han, C.Y.; Oram, J.F.; Heinecke, J.W.(2005). Lipoprotein-associated inflammatory proteins: markers or mediators of cardiovascular disease? J. Lipid Res. 46, 389–403.

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

Chehari ,K.;Sepahvand, F.; Ghobadi, S.; Ismaili,A. ;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 : 81-85.

Cheung, B. M. ; Ong, K. L. ; Wong, L. Y. (2009). Elevated Serum Alkali Phosphatase and Peripheral Arterial Disease In The United States National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004. Int. J. Cardiol., 135: 156-161.

Choen, E.P. ; Lemann, J. (1991) .Alkaline phosphatase enzyme . Clin . Chem.J., 37 : 785-800 .

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

Clarke,R.; Lewington, s.; Youngman,L.;sherliker, p.; peto, -R .; Collins, R. (2002). Underestimation of the importance of Eur-Heart. J.23(4):286-293.

Collinson, P.O. ; Rosalki, S.B . (1992) .Early diagnosis of myocardial infarction by CK-MB mass measurement . Annual Clin. Biochem .J., 29 : 43-47.

Compbell N. A; Mitchell L. G.; Reece J. B. (2000); Biology concepts and connections. 3rd ed.: 472.

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

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.

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

Damjanove, I. (1996) . Pathology For The Health Related Profession. Philadelphia : 95.

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*

Davies, H.G.; Richter, R.J. ; Keifer, M.; Broomfield, C.A. ; Sowalla, J. ; Furlong C.E. (1996). The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin, Nat. Genet. (14) 334– 336.

Davies, MJ. (2004). Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture. Circulation, 94: 2013-2020.for coronary heart disease. *Ann Intern Med,*141(2):137-147.

Daze, D.C.(2007). "The Role Of Existind and Novel Cardiac Biomarkers For Cardioprotection", Curr. Opin. Investi. Drugs. , 8: 711-717.

Deakin, S.; Leviev, I.; Gomaraschi, M.; Calabresi, L.; Francesshini, G.; James, R.W. (2002). Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. J. Biol. Chem. 277, 4301–4308.

Deakin, S.P.; James, R.W.(2004). Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. Clin. Sci. 107, 435–447.

DeRitis, F. ; Coltorti, M. ; Giusti, G . (1972). Serum transaminase activities in liver disease lancet . Zhejiang . Univ. Sci.J., 11 : 685-689 .

Dias, AM.; Reis, AF.; Saud, CG.; Chilinque, MG.; Leite, RF.; Abdalah, RN.; Leite, R. F.; Abdalah, R. N; Fiqueiredo, M. F; Ribeiro, G. S.; Faria, C.A.(2009).Severity of angiographic coronary obstruction and the apolipoprotein E polymorphism in acute coronary syndromes. Arq Bras Cardiol.93:221–30.

Doneva-Basheva ,K.; Anastasov, A.; Postadzhyan ,A.; Kamenova, Z.; Vlaykova, T.(2013). serum paraoxonase and arylesterase activity of PON1 in acute coronary syndromes Trakia Journal of Sciences, No 1, pp 39-49 .

Draganov, D. I.; Stetson, P. L.;Watson, C. E.; Billecke, S. S. ; La Du, B. N.; Rabbit. (2000).serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation, J Biol Chem, 275: 33435-33442.

Draganov, DI.;Teiber, JF.; Speelman, A.; Osawa, Y.; Sunahara, R.; La Du, BN. (2005).Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res*. *46* : 1239-47.

Duford, D. ; Lott, J. ; Henry, J . (2001) . Clinical biochemistry: Clinical Diagnosis Of Management By Laboratory Methods . 20th ed. W.B. Saundres company : 281 .

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

Durrington, P.N. (1995). Hyperlipidaemia. Diagnosis and Management. 2nd edition. Butterworth Heinemann, London.

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

Ene,A.C.;Nwankwo,E. A.; Samdi, L. M. (2007)."Alloxan - Induced DiabeteRats And The Effects Of Blak Caraway (*Carum Carvi L.*) Oil On Their Body Weight",Research J.Of Medicine And Medical Science,2(2):48-52.

Eom, SY.; Kim, YS.; Lee, CJ.; Lee, CH.; Kim, YD.; Kim, H.(2011). Effects of Intronic and Exonic Polymorphisms of Paraoxonase1 (PON1) Gene on Serum PON1 Activity in a Korean Population. J Korean Med Sci. 26: 720-725.

European Commission, (2004) . Tobacco or health in the European Union - Past, present and future,Office for Official Publicati- ons of the European Communities, Luxembourg, pp. 25-68.

Ezzati, M.; Lopez, A.D.;Rodgers, A.;Vander,H. S. ; Murray,C.J. (2002). Comparative Risk Assessment Collaborating Group . Selected major risk factors and global and regional burden of disease. Lancet 2; 360: 1347-1360.

Fadle, Y.Y.; Zarebaw,M.A.; Victor,J. (2003).History of Hypertension and enhanced thrombogenic activity in post infarction patient. Hypertension,.41:43.

Fassati, p.; principe, L. (1982): measurement of Triglyceride. clin. Chem. 28: 2077.

Ferre`, **N**.; Camps, J.; Fernandez-Ballart, J.; Arija ,V.; Murphy, MM.; Ceruelo, S.; Biarnés, E.; Vilella, E.; Tous, M.;Joven, J. (2003).Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional and lifestyle factors in the general population. Clin Chem(49):1491–7.

Ferretti ,**G.;** Bacchetti, T.; Marchionni , C.;Caldarelli, L.; Curatola, G.(2001).Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol*. *38* : 163–9.

Fisher, E.A.; Feig, J.E.; Hewing, B.; Hazen, S.L.; Smith, J.D. (2012). High-density lipoprotein function, dysfunction and reverse cholesterol transport. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 32, 2813–2820.

Flekac, M.; Škrha,J.; Zidkova,K.; Lacinova, Z.; Hilgertova, J. (2008). Paraoxonase 1 Gene Polymorphisms and Enzyme Activities in Diabetes Mellitus *Physiol. Res.* 57: 717-726.

Friedewald ,W.T; Levy, R.I; Fredrickson, D.S (1972): clin. Chem. 18: 199

Fuster, L (1994): conner Memorial Lecture. Circulation vol 90. No 4

Fuster, V; wayne, R. A; Robert,A. (2001): O, Rourke- HURST' s The heart. Ed10. U.S. A.

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.

Gepner, A.D.; Piper, M.E.; Johnson, H.M.; Fiore, M.C.; Baker, T.B.; Stein, J.H. (2011).Effects of smoking and smoking cessation on lipids and lipoproteins: outcomesfrom a randomized clinical trial. Am. Heart J. 161, 145–151.

Getz, G.S.; Reardon, C.A.(2004). Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. Curr. Opin. Lipidol. 15, 261–267.

Gierach,G.;Johnson,B.;Merz,C.;Kelsey,S.;Bittner,V.;Olson,M.;Shaw,L.;Mankad,S.;Pepin,C.;Reis,S.;Rogers,W.;Sharaf,B.; Sopko,G.(2009).Hypertention menopause and conorary artery disease risk-in the wamens ischemia syndrome evaluation (WISE) study.J.Amer .College.Cardial.,47 (3):50-58.

Go, **AS.;** Mozaffarian, D.; Roger ,VL.; Benjamin, EJ.; Berry, JD.; Borden,WB.; Bravata, DM.; Dai ,S.; Ford ,ES.; Fox, CS.; Franco, S.; Fullerton, HJ.; Gillespie, C.; Hailpern, SM.; Heit, JA.; Howard, VJ.; Huffman, MD.; Kissela, BM.; Kittner, SJ.; Lackland, DT.; Lichtman, JH.; Lisabeth, LD.; Magid, D.; Marcus, GM.; Marelli, A.; Matchar, DB.; McGuire, DK.; Mohler ,ER.; Moy, CS.; Mussolino ,ME.; Nichol ,G.; Paynter ,NP.; Schreiner, PJ.; Sorlie, PD.; Stein, J.; Turan, TN.; Virani ,SS.; Wong, ND.; Woo, D.; Turner, MB. (2013).AmericanHeart Association Statistics Committee and Stroke

Statistics Subcommittee. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2013 update: a report from the American Heart Association. Circulation:127(1):143–52.

Goldman, L.; and Ausiello, D.,(2004), "Cecil Text Book Of Medicine ", 22nd Edition ,Saunders,USA,Vol. 1,p.58-59.

Goldstein,J.L.;Brown,M.S.(2009). The LDL receptor. Atherioscler Thromb VascBiol, 29: 431.

Gordon, D.J.; Probstfield, J.L.; Garrison, R.J.; Neaton, J D.; Castelli, W P.; Knoke, J D.; Jacobs, Jr D R; Bangdiwala, S.; Tyroler, H .A. (1989). High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. Circulation 79, 8–15.

Gugliucci, A.; R. Caccavello, H. ;Nassar, W. ;Abu Ahmad, R.; Sinnreich, J.D. Kark. (2015) Low protective PON1 lactonase activity in an Arab population with high rates of coronary heart disease and diabetes >clinica chimica Acta.v(445) ,41-47.

Gülcü, F.; Gürsu, F.M. (2003). Paraoksanaz ve Aril Esteraz Aktivite lçümlerinin Standardizasyonu, Türk Biyokimya Dergisi, 28 (2), 45-49.

Gundu H. R. ; ThnikachLm S. (2005): coronary Aretery disease. Risk promoters, pathophysiology and prevention, Newdelhi. 1st ed.

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.

Gupta, N.; Binu, K.B.K.; Singh, S.; Nagarjuna, V. Maturu ; Yash P. Sharma; Bhansali, A.; Gill, K. D. (2012). Low serum PON1 activity: An independent risk factor for coronary artery disease in North–West Indian type 2 diabetics< Gene (498) 13–19.

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

Gupta, N.; Singh, S.; Maturu, VN.; Sharma, YP.; Gill, KD. (2011).Paraoxonase 1(PON1) Polymorphisms, Haplotypes and Activity in Predicting CAD Risk in North-West Indian Punjabis. PLoS ONE: 6 (5).

Guxens, **M.;** Tomàs, M.; Elosua, R.; Aldasoro, E.; Segura, A.; Fiol, M.; Sala, J.; Vila, J.; Fullana, M.; Sentí ,M.; Vega, G.; Rica, M. de la; Marrugat, J. (2008). Association Between Paraoxonase-1 and Paraoxonase-2 Polymorphisms and the Risk of Acute Myocardial Infarction. 61(3):269-75.

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

Han, L.; Xu, X.J.; Liang, X.H. and Ma, J. (2013). Association of paraoxonase polymorphisms with carotid artery atherosclerosis in essential hypertension patients.12 (4): 5174-5185.

Han,Y.; Runge,M.S. and Brasier,A.R.(1999). Angiotensin II induces interleukin -6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors.Circ.Res.,84:695-70

Harel, M.; Aharoni, Gaidukov, L.; Brumshtein, B.; Khersonsky, O.; Mayeb, R.; Dvir ,H.; Ravelli ,RB.; McCarthy, A.; Toker, L.; Silman, I.; Sussman, JL.; Tawfik, DS. (2004). Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. Nat. Struct. Mol. Biol. 11, 412–419.

Harel, M.; Brumshtein, B.; Meged, R.; Dvir, H.; Ravelli, R.B.; McCarthy, A.; Toker, L.; Silman, I.; Sussman, JL. (2007). 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystalizability. Arh. Hig. Rada Toksikol. 347–353.

Hay, J.; Czaja, A. and Rakela, J. (1989).The nature of un explaind chronic amino transferase elevations of amild to moderate degree in asymotomatic paitients Hepatology J., 9 : 255-300 .

Hazar, A.; Dilmec, F.; Goz, M.; Kocarslan, A.; Aydin M. S.; Demirkol ,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.

Hedrick C.C, Thorpe S.R; Fu mx; Harper C.M; Yoo. J; Kim, S.M.; WONG H, PETERS L.(2000). Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia* **43**: 312-320.

Hirschhorn, J. ; Daly, M. (2005). Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet,*6: 95–108.

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

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

Hsu, S.;Ton, V.-K.; Dominique Ashen, M.; Martin, S. S.; Gluckman, T. J.; Kohli, P.; Sisson, S. D.; Blumenthal, R. S. ; Blaha, M. J. (2013), A Clinician's Guide to the ABCs of Cardiovascular Disease Prevention: The Johns Hopkins Ciccarone Center for the Prevention of Heart

Disease and American College of Cardiology Cardiosource Approach to the Million Hearts Initiative. Clin Cardiol, 36: 383–393.

Huang, F.S.; Meigs, J.B.; singer,D.E.(2001).the effect of in terventions to prevent cardiovascular disease in patients with type 2diabctes Mellitus. Am-j-Med.,111(8):633-42.

Huggett C ;and Nixon D.(1997):Use of glucose oxidase peroxide and odianisine in the determination of blood and urine glucose.Lancet 2:368-72.

Humbert, R.; Adler, D.A.; Disteche, C.M.; Hassett, C.; Omiecinski, C.J.; Furlong, C.E. (1993). The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism, Nat. Genet.(3) 73–76.

Ibrahim, M. M.; Ibrahim, A.; Shaheen, K. ; Nour M. A. (2013) Lipid profile in Egyptian patients with coronary artery disease. The Egyptian Heart Journal . 65, 79–85.

Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashi Y, Yazaki Y. (2000). Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 149: 435-442.

internal thoracic artery versus radial artery in coronary artery

Ito, **T.;** Yasue,H.; Yoshimura, M.; Nakamura, S.; Nakayama ,M.; Shimasaki, Y.; Harada, E., Mizuno, Y., Kawano, H., Ogawa, H.(2002).Paraoxonase gene Gln192Arg (Q192R) polymorphism is associated with coronary artery spasm. Hum Genet.110:89–94.

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.

James, R. W., I. Leviev, and A. Righetti.(2000). Smoking Is Associated With Reduced Serum Paraoxonase Activity and Concentration in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation* **101**: 2252-2257.

Jaouad, L.; de Guise, C.; Berrougui, H.; Cloutier, M.; Isabelle, M.; Fulop, T.; Payette, H.; Khalil, A. (2006). Age related decrease in high-density lipoproteins antioxidant activity is due to alteration in the PON1's free sulphydryl groups. Atherosclerosis 185, 191–200.

Jarvik, **GP.;** Trevanian , Tsai N.; McKinstry, LA.; Wani ,R.; Brophy, VH.; Richter, RJ.; Schellenberg, G D. ; Heagerty, P J.; Hatsukami, T S.; Furlong,C E.(2002).Vitamins C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. Arterioscler Thromb Vasc Biol.22:1329–33.

Jarvik, G.P; Rozek, L.S; Brophy, V.H; Hatsukami, T S.; Richter, RJ.; Schellenberg, G. D; Furlong,C E.(2000). Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1192 or PON155 genotype, Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 2441-2447.

Jayakumari N, Thejaseebai G.(2009).High prevalence of low serum paraoxonase-1 in subjects with coronary artery disease. J Clin BiochemNutr.45:278–84.

Kannel, W. B (2002): coronary heard diseases risk factor in the erderly. Am –J- Geriatr –cardiol. 11(2): 101- 7.

Kaplan, L.A. ; Amadeo, J. P. and Steven, C. K. (2003). "Methods In Clinical Chemistry". 4th Ed. Mosby – U.S.A., P113.

Kinumi, T.; Ogawa, Y.; Kimata, J.; Saito, Y.; Yoshida, Y.; Niki, E.(2005).Proteomic characterization of oxidative dysfunction in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by exposure to oxidized LDL. *Free Radic Res 39: 1335-1344.*

Ko,G.T,. Cockram, C.S., Woo,J. C.(2001). Obesity in sulin resistance and isolated Low HDL cholesterol in Chinese subjects. Diabet-Med. ,18(8): 63-66.

Kosuge M; Kimura K. and Ishikawat. (2006): Differences between men and women in terms of clinical features of ST-Segment elevation acute Myocardial in farction.

Koulaouzidis, G.; Powell, A.; Arthur ,T.; Jenkins, PJ.; Roper, DB. (2012)Computed tomography coronary angiography as initial work-up for unstable angina pectoris. Eur J Gen Med.9(2):111–7.

Kovacic, S. ; Bakran,M. (2012). Genetic Susceptibility to Atherosclerosis, Vol. 2012, Article ID 362941, 5 pages .

Krishnamurthy ,**S.;** Korenblat, K.; Scott, M.(2009).Persistent increase in aspartate aminotransferase in an symptomatic patient. Clin Chem.55:1573–7.

Kumar A.(2013). Paraoxonase: The boon against oxidative stress and lipid peroxidation< Journal of Biomedical Sciences. Vol. 2 No. 1:1.

Kumar, A.(2010) Effect of simvastatin on paraoxonase 1 (PON1) activity and oxidative stress. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine .pag:310-314.

Kumar, **A**.; Cannon, CP. (2009)Acute coronary syndromes: diagnosis and management. Mayo Clin Proc;84(10):917–38.

Kumar, A.and Biswas, U. K. (2011).Smoking is associated with reduced serum paraoxonase, antioxidants and increased oxidative stress in normolipidaemic acute myocardial infarct patients.

Kumar, D. V. (2002): Texbook of Medicine. Newdelhi. 4th ed: 2.

La Du, B. N., (1996). Structural and functional diversity of paraoxonases. Nat Med 2:1186-7.

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 .

Lang , C. C.; Gupta, S.; Kalra , P. ;Keavney, B.; Menown , I.; Morley, C. ; Padmanabhan ,S. (2010*).* Elevated heart rate and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease: clinical evidence and pathophysiological mechanisms. *Atherosclerosis.* 212, 1.

Lawrence, M. T.; Stephen, J. M.; Maxine, A. P. (2002). Current Medical diagnosis & Treatment. EdI.U.S.A .

Lawrence, M.; Stephen, J. ; Maxine, A. (2005): Current medical diagnosis and treatment. Willy and son. International edition 44th ed: 332.

Lee, **M**.; Vajro ,P.; Keeffe, E. (2011).Isolated aspartate aminotransferase elevation: think macro-AST. Dig Dis Sci.56:311–3.

Leus, **F.R.;** Zwart, M.; Kastelein, J.J.; Voorbij, H.A .(2001). PON2 gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis* 154: 641-649.

Leviev, **I.;** Negro, F.; James, R.W. (1997).Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA. An explanation for differences in serum concentrations of paraoxonase associated with the (Leu-Met54) polymorphism. Arterioscler Thromb Vasc Biol.17:2935–9.

Li , B.;Sedlacek, M.; Manoharan,I.; Boopathy, R.; Duysen e,G.; Masson, P.; Lockridge, O.(2005). Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem Pharmacol* **70**: 1673-1684.

Li ,HL.; Liu, DP.; Liang, CC.(2003).Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. J Mol Med;81:766–79.

Libby, P.; Ridker, P. M. ; Maseri, A.(2002). Inflammation and atherosclerosis, Circulation.105: 1135-1143.

Liu, D.; Jiang, Z.; Dai, L.; Zhang,X.; Yan,C.;Han,Y. (2014). Association between the -786TfiC 1polymorphism in the promoter region of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and risk of coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. Gene 545 (1), 175–183.

Liu, L.; Qiu, X.B. (2013). Association between the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and coronary artery disease. Mol. Biol. Rep. 40, 6097–6105.

Lloyd-Jones, D.M.,Nam, B.H. & D'Agostino, R.B. (2004). Parental Cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parent and offspring . JAMA 291 : 2204 –11.

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.

Mackness ,**M**.; Mackness, B.(2004)Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? *Free Radic Biol Med;* 37 : 1317-23.

Mackness ,**MI**.; Arrol ,S.; Abbott, C.; Durrington, PN. (1993).Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. Atherosclerosis; 104:129-135.

Mackness, B., Durrington, P. N. and Mackness, M. I.(2002a). The paraoxonase gene family and coronary heart disease, Curr Opin Lipidol, 13: 357-362.

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.

Mackness, B.; Durrington, P.; Povey, A.; Thomson, S.; Dippnall, M.; Mackness, M.; Smith, T.; Cherry, N. (2003b). Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. Pharmacogenetics 13, 81–88.

Mackness, B.; Durrington, P.;McElduff, P.;Yarnell, J.; Azam, N.; Watt, M.; Mackness, M. (2003a). Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. Circulation 107, 2775–2779.

Mackness, **B.;** Durrington, PN.; Boulton, AJM.; Hine, D.; Mackness, MI.(2002b). Serum paraoxonase activity in patients with type I diabetes compared to healthy controls. Eur J Clin Invest;32:259–64.

Mackness, B.;Mackness, M., (2012). The antioxidant properties of high-density lipoproteins in atherosclerosis. Panminerva Med. 54, 83–90.

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.

Mackness, M.; Mackness, B. (2014). Current aspects of paraoxonase-1 research. In: Komoda, T. (Ed.), The HDL Handbook—Biological Functions and Clinical Implications, 2nd edition Academic Press, London, pp. 273–291.

Mackness, **M.;** Mackness, B. (2013).Targeting paraoxonase-1 in atherosclerosis. Expert Opin Ther Targets. 17:829-837.

Mackness, M.I.; Abbott, C.A.; Arrol, S.;Durrington, P.N. (1993a). The role of high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. Biochem. J. 294, 829–835.

Mackness, MI.; Durrington, PN.; Mackness, B.(2004). The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs* 4: 211-217.

Macleod,J.,Douglas,G.,Nicol,E.F.and Robertson,C.E.(2009).Macleods clinical examination .Ed:12th ,ch6 ,page:123

Mallinson ,T. (2010) . Myocardial Infarction ". Focus on First Aid (15):15. Retrieved 2010-06-08.

Marchegiani, F.; Marra, M.; Olivieri, F.; Cardelli, M.; James, R.W.; Boemi, M.; Franceschi, C. (2008). Paraoxonase 1: genetics and activities during aging. Rejuv Res *11*(1) 113-127.

Marieb,E.N.;Mallatt,J.; Wilhelm,P.B. (2005)."Human Anatomy",4th Edition,Pearson Education Inc.,p.725-727.

Marion,B.S.;Fine,K.S.; Memillan,j.a. (2004),"Blueprints Pediatrics",3rd Edition,Blak Well Publishing.

Marsillach, J.; Mackness, B.; Mackness, M.;Riu, F.; Beltran, R.; Joven, J.; Camps, J. (2008). Immunohistochemical analysis of paraoxonases 1, 2 and 3 expression in normal mouse tissues. Free Radic. Biol. Med. 45, 146–157.

Martinelli, **N.;** Girelli, D.; Olivieri, O.; Stranieri, C.; Trabetti, E.; Pizzolo, FM.; Friso, S.; Tenuti, I.; Cheng, S.; Grow, MA.; Pignatti, PF.; Corrocher, R. (2004).Interaction between smoking and PON2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. Eur J Clin Invest. 34:14-20 .

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)

Mazur, A. (1946). An enzyme in the animal organismcapable of hydrolysing the phosphorus– fluorine bond of alkyl fluorophosphates. J. Biol. Chem. 164, 271–289.

Michal, S . (2004) . Hutchisons'Clinical Methods . 21st ed Willy and Son : 80 .

Micheal, R.; Micheal, R.; Grance, M. (2000). Advanced Biology P.24 .

Mohamed, A.E.; Hasen, A.M.;Mohammed, G.F.; Elmaraghy, NN.(2013). Real- Time PCR of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in adult Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. Int. J. Rheum. Dis. 18(4):452-8.

Moran, A.E.; Oliver, J.T.; Mirzaie, M.; Forouzanfar, M.H.; Chilov, M.; Anderson, L.; Mor-rison, 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.

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.*

Muller- Bardorff M, Hallermayer K, Schroder A. (1997): Improved troponin T ELISA specific for cardiac trponin isoform: Assay development and analytical and clinical validation. Clin. Chem..; 43: 458- 466.

Murray, C. J. ; Lopez, A. D.(1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study, Lancet. 349: 1498-1504.

Myres,A.R. (2005)"NMS-National Medical Steris For Independent Study-Medicine",5th Edition ,Lippincott William And Wilkins.

Nanji, A.; French, W. ; Freeman, B . (1986). Serum alanine transaminase to aspartate transaminase ratio and degree of fatty liver in morbidity obese patients . Ann. Med .J., 77 : 6 - 36.

Ng, C. J.;Wadleigh, D. J.; Gangopadhyay, A.; Hama, S.; Grijalva, V. R.; Navab, M.; Fogelman, A. M. and Reddy, S. T. (2001) . Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein, J Biol Chem, 276: 44444-4444.

Ng, C.J.; Shih, D.M.; Hama, S.Y.;Villa, N.; Navab, M.; Reddy, S.T. (2005). The paraoxonase gene family and atherosclerosis. Free Radical Biol. Med. 38, 153–163.

Nichols ,W.W . (2005). Clinical measurement of arteria l stiffness Obtained From noninvasive pressure waveforms . Am J Hypertens 18: 3S-10S.

of paraoxonase gene and risk of coronary heart disease: a metaanalysis based on 88 case-control studies. *Atherosclerosis*. **214:**377–385

Owoyele,V.B.; Adeyemi,F,M.; and Soladoye, A.O.,(2005),"Effect Of Aqueous Leaves Extract Of *Ocimum Gratissimum* (Sweet Basil) On Alloxan Induced Diabetes Rats",Pharmacognosy M.,1 (2):62-64.

Paraoxonase Gene Cluster as a Target in the Treatment of Atherosclerosis. Antioxid Redox Signal 16(6):597-632.

Park ,K.(2004).Park's textbook of preventive and social medicine. 19th edition. Jabalpur: Bhanot. P: 302-309.

Pejin Grubiša I., I. Buzadžic, B. Jankovic-Orešcanin, and N. Barjaktarovic Vucinic (2010*)*: *Distribution of paraoxonase 1 coding region polymorphisms in Serbian population*- Genetika . 42: 235 - 247.

Precourt, L. P., Amre, D., Denis, M. C., Lavoie, J. C., Delvin, E., Seidman, E. and Levy, E.,(2011) The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation, Atherosclerosis, 214: 20-36.

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.

Rahman,M.M.& Laher, I.(2007). Structural and functional alteration of blood Vessels caused by cigarette smoking : An

overview of molecular mechanisms. Curr Vasc Pharmacol 5: 276-292.

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.

Reddy, S. T.; Wadleigh, D. J.; Grijalva, V.;Ng, C.;Hama, S.; Gangopadhyay, A.; Shih, D. M.; Lusis, A. J.; Navab, M. ; Fogelman, A. M. (2001)Human paraoxonase-3 is an HDLassociated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21: 542-547.

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.

Reitman, S, ; Frankel, S.; Amer,J.(1957). Colorimetric quantitative determination of transaminases Clin. Path. 28: PP: 56-62.

Riccioni, G.; Sblendorio, V. (2012). Atherosclerosis: from biology to pharmacologicaltreatment. J. Geriatr. Cardiol. 9, 305–317.

Richter ,RJ.; Jarvik, GP.; Furlong, CE.(2010). Paraoxonase 1 status as a risk factor for disease or exposure. Advances in experimental medicine and biology. 660:29-35.

Roberts ,W.; Potkin, B.; Solus ,D.; Reddy, S.(1990).Mode of death, Frequency of healed and acute myocardial Infarction, Number of Major Epicardial Coronary arteries severely narrowed by

Atherosclerotic Plaque, and Heart Weight in Fatal atherosclerotic coronary artery Disease: Analysis of 889 Patients studied at necropsy. Journal of American College of Cardiologists. Vol.15: 196-203 .

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.

Rodrigo, L.; Hernandez, A.; Lopez-Caballero, J.J.; Gil, F.; Pla, A. (2001). Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. Chem. Biol. Interact. 137, 123–137.

Rodriguez-Sanabria, F.; Rull, A.; Beltran-Debon ,R.; Aragonès, G.; Camps, J.; Mackness, B.; Mackness, M.; Joven, J. (2010).Tissue distribution and expression of paraoxonases and chemokines in the mouse: the ubiquitous and joint localisation suggest a systemic and coordinated role. J Mol Histol.41: 379-386.

Rontu ,R.; Lehtimaki, T.; Ilveskoski, E.; Mikkelsson, J.; Kajander, O.; Goebeler, S.; Perola, M.; Penttilä, A.; Karhunen, P. J. (2004). Association of paraoxonase-1 M55L genotype and alcohol consumption with coronary atherosclerosis: the Helsinki Sudden Death Study. *Pharmacogenetics* 14: 479-485.

Rontu, R.; Karhunen ,PJ.; Ilveskoski, E.; Mikkelsson, J.; Kajander, O.; Perola, M.; Penttilä, A.; Koivisto, A-M .; Lehtimäk, T.(2003). Smoking-dependent association between paraoxonase 1 M/L55 genotype and coronary atherosclerosis in males: an autopsy study. *Atherosclerosis* 171: 31-37.

Rozanski, A.; Blumenthal, J.A.; Davidson, K.W.; Saab, P.G.; Kubzansky, L.(2005). The epidemiology, pathophysiology, and management of

psychosocial risk factors in cardiac practice: the emerging field of behavioral cardiology. J. Am. Coll. Cardiol., 45, 637-651.

Sambrook,J. ; Fritsch,E.F.; Maniatis,T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual . 2nd edition, Cold spring harbor laboratory press,cold spring Harbor, New York

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

Schadt ,E. (2009).Molecular networks as sensors and drivers of common human diseases.*Nature,*461:218–223.

Schaefer, E. J (2002): Lipoproteins, Nutrtion, and heart diseases. Am- J- ciln- Nutr. 75 (2): 191- 212.

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.

Senti ,M.; Tomas ,M.; Vila, J.; Marrugat, J.; Elosua , R.; Sala, J.;Masiá, R. (2001) Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase1 gene: the REGICOR study. Atherosclerosis; 156 : 443-9.

Sentí M, Tomás M, Fitó M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, Masiá R, Marrugat J.(2003). Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab. ;88(11):5422-5426.

Seres ,I.; Paragh ,G.; Deschene, E.; Fulop, T.; Khalil, A. (2004).Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. Exp Gerontol;39:59–66.

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. 63:1593–603.

Shah, P.K. (2010). Evolving concepts on benefits and risks associated with therapeutic strategies to raise HDL. Curr. Opin. Cardiol. 25, 603–608.

She, Z.-G.; Chen, H.-Z.; Yan, Y.; Li, H.; Liu, D.-P.(2012). The Human

Shekhanawar, M.; Shekhanawar, S.M.; Krisnaswamy, D.; Indumati ,V.; Satishkumar, D.; Vijay ,V.; Rajeshwari, T.; Amareshwar, M.(2013).The role of "paraoxonase-1 activity" as an antioxidant in coronary artery diseases. J Clin Diagn Res.7:1284–7.

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.

Soran ,**H**.; Younis ,NN.; Charlton-Menys, V.; Durrington, P.**(** 2009) Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis, Curr Opin Lipidol. Aug.20(4):265-74. doi: 10.1097/MOL.0b013e32832ec141.

Souza, J.A.; Menin,A.; Lima, L. O.; Smiderle, L.; Hutz,H.; Sand, M. C. R. V. D.; Sand ,L. C. V. D.; Ferreira, M.E.W.; Pires, R. C; Almeida, S. ; Fiegenbaum, M.(2015). PON1 polymorphisms are predictors of ability to attain HDL-C goals in statin-treated patients. Clinical Biochemistry. No. of pages: 6; 4C

Stephens, J. ; Humphries, S. (2003). The molecular genetics of cardiovascular disease: Clinical implications. *J Int Med,* 253: 120–127.

Storrow A. ; Gibler W. (2000):chestpain centers: diagnosis of a cut covonary syndromes. Ann Emerg Med: 35.

Strachan, T. and Read ,A.(1999). *Human Molecular Genetics:* Edition: 4th

study''. Circulation 125, e629.

Sutherland, WHF.; Manning, PJ.; de Jong, SA.; Allum, AR.; Jones, SD.; Williams, SM. (2001).Hormone-replacement therapy increases serum paraoxonase arylesterase activity in diabetic postmenopausal women. Metabolism.50:319–24.

Sylvan C. (1998): Excellent reliability of nurse- based diagnosis of acute myocardial infarction by rapid dry- strip creative kinase, myoglobin and troponin T. Amer. Hear J. 135 (4): 677.

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.

Tang, WH.; Hartiala ,J.; Fan, Y.; Wu ,Y.; Stewart ,AF.; Erdmann, J.; Kathiresan, s.; Roberts, R.; McPherson, R; Allayee, H.; Hazen, S. L. (2012).Clinical and genetic association of serum paraoxonase and arylesterase activities with cardiovascular risk. Arterioscler Thromb Vasc.32:2803–12.

Tavori, H.; Aviram, M.; Khatib, S.;Musa, R.; Mannheim, D.; Karmeli, R.; Vaya, J. (2011). Paraoxonase1 protectsmacrophages fromatherogenicity of a specific triglyceride isolated from human carotid lesion. Free Radic. Biol. Med. 51, 234–242.

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.

Tietz, N.W.; Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (1999). "Text Book Of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company, Philadelphia., 3rd Ed. , P. 809-857.

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.

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.

Tunstall-Pedoe, H.; Vanuzzo, D.; Hobbs, M.; Mahonen, M.; Cepaitis, Z.; Kuulasmaa, K. ; Keil, U. (2000), Estimation of contribution of

changes in coronary care to improving survival, event rates, and coronary heart disease mortality across the WHO MONICA Project populations, Lancet, , 355: 688-700.

Tuomisto, T.T.;Riekkinen,M.S;vita,H;Levonen,A.L;Yla-Herttuala,s.(2005). Analysis of gene and protein expression during monocyte-macrophage differentiation and cholesterol loading—cDNA and protein array study. Atherosclerosis 180: 283-291.

Valkonen M, Kuusi T. (1998).Passive Smoking Induces Atherogenic Changes In Low-Density Lipoprotein. Circulation.97:2012-6.

Van ,T.M.; van der Schouw, Y.T.; Voorbij, H.A.M.; van Tits, L.J.H; Stalenhoef, A.F.H; Peeters, PH.; Roest, M. (2008). Paraoxonase (PON1) and the risk for coronary heart disease and myocardial infarction in a general population of Dutch women. Atherosclerosis 198, 408–414.

Van,C.E.; Jacobs, F.; Gordts, S.C.;Geest, B.(2011). Gene therapy for familial hypercholesterolemia. Curr Pharm Des, 17 (25):75-91.

Varley;Alan, H.;Janet, R.; and Donald, M.,(1988), " Practical Clinical Biochemistry" 6th Edition ,USA.

Varly, H.; Gowenlock, A.H. ; Ball, M . (1984). Practical Biochemistry . 5th ed ., London . Wilham Heine man medical book. LTD : 1017 .

Vekic, J.; Kotur-Stevuljevic, J.; Jelic-Ivanovic, Z.; Spasic, S.; Spasojevic-Kalimanovska, V.; Topic, A.; Zeljkovic, A.; Stefanovic, A.;Zunic, G. (2007).Association of oxidative stress and PON1 with LDL and HDL particle size in middle-aged subjects. Eur J Clin Invest. 37 : 715-23.

Vozarova, B. ; Stefan, N. ; Lindsay, R. S.; Saremi, A.; Prately, R. E. ; Bogardus, C. and Tartanni, P. A.(2002). High Alanine Aminotransferases Is Associated With Decreased Hepatic Insulin Sensitivity and Predicts The Development Of Type 2 Diabetes. Diabetes., 51: 1889-1895.

Wang JY, Liao EY, Huang CX, Qi H. (2010).Internal medicine (for 8-year and 7-year clinical and other professional). 283. Beijing:People's Medical Publishing House. p. 292

Wang, M.; Lang X, Zou L, Huang S, Xu Z. (2011).Four genetic polymorphisms

Wang, Q. (2005)Advances in the genetic basis of coronary artery disease, Curr Atheroscler Rep, 7: 235-241.

Wang, Q.; Rao, S. ; Shen, G.Q.; Li, L.; Moliterno, D. J.;. Newby, L. K. .; Rogers, W. J.; Cannata, R.; Zirzow, E .;. Elston, R. C .; Topol ,E. J. (2004). Premature myocardial infarction novel susceptibility locus on chromosome 1p34-36 identified by genome-wide linkage analysis. *Am J Hum Genet,* 74: 262–271.

Wang,M.; Lang, X.; Zou, L.; Huang, S.; Xu, Z. (2010). Four genetic polymorphisms of the paraoxonase gene and risk of coronary heart disease: a meta-analysis based on 88 case– control studies. Atherosclerosis 214, 377–385.

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.

Willett, W. (2002). Balancing life-style and genomics research for disease prevention. *Science,* 296: 695– 698.

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

Wyngaarden, B. J& simth, H. L (1988): cecil- Text Book of medicine. Ed18th. Vol (1) united states of America.

Yamaguchi,Y.,Matsuno,S.,Kagota ,S. ,Haginaka,J. & Kunitomo,M. (2001). Oxidants in cigarette smoke extract modify low-density lipoprotein in the plasma and facilitate atherogenesis in the aorta of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. Atherosclerosis . 156: 109-17

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.

Summary

The presented study aimed to investigate and study paraoxonase (PON) gene and some physiological parameter related with Artherosclerosis Patients in Karbala provience.

This study was a case-control study conducted from AL-Zahraa Teaching Hospital from February 2015 to January 2016. The study was carried out at the coronary care unit / in Kerbala province/Iraq and Pathological laboratory analyzes of AL-Hussein hospital Teaching by taking 150 patients consist of (75) Myocardium infarction patients (57 male and 18 female) and (75) Angnia Pectoris patients with an average age (31-71 year),.Also, the study included 50 apparently healthy people who were (35 male and 15 female).The study consist of two atis:

1-Physiological study

measurement paraoxinase (PON1), Aspartate Transaminase (AST), Alanine Transaminase (ALT), enzyme concentration ,also measurement of 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), the study showed significant decrease $P < 0.05$ in PON1concentration in both patients(Myocardium infarction and Angnia Pectoris) for both male and female ,diabeties and smokers . The present study showed significant increase $P < 0.05$ in ALT, AST,TC ,TG ,HDL-C ,VLDL-C for Myocardium infarction and Angnia Pectoris patients both males and females,also study showed significant increase in AST, TC , LDL-C for patient with high blood pressure while there is significant increase in AST,TG,VLDL-C in smokers and diabeties patients.the present study showed non-significant

increase in TG ,TC ,VLDL-C in patients age range from (41-61)years while there is asignificant increase ($P < 0.05$) in LDL-C level in age (31-40)years.

2-Molecular biological study:

In the study used polymerase chain reaction (PCR) to identification mutants gene in Artherosclorosis patients its: PON1,PON2 (paraoxonase).The present study identified PON1 gene (99bp) ratio (45.33) in Myocardium infarction patients and (37.33) in Angnia Pectoris patients. While the ratio of PON1(171bp) gene(53.33) in Myocardium infarction patients and (41.33) in Angnia Pectoris patients. the study showed that ratio of PON2 gene occrance decrease in for all patients (29.33),(20) for Myocardium infarction and Angnia Pectoris patients.The present study showed positive relation ship between family history for both genes occure also showed effect of smoking ,high blood pressure and diabetes on occure of PON1 ,PON2 genes in all patients.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Karbala
College of Education for Pure Science

Molecular study for PON1 and PON2 gene and relationship with some physiological parameters in Myocardial Infarction and Un Stable angina Patients in Karbala Provinee

A Thesis

Submitted to the **Council College of Education for Pure Science, University of Karbala in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Biology / Zoology**

By

Intisar Kadhum Ghaleb AL-Shabli

Supervised by

Professor
Hussein Ali Abd Al-Latif

Assist Professor Dr.
Yasemin Khudiar Khalaf

August- 2016 **shawal 1437**