

توزيع الأنماط اللويسية الدموية ونردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1

خضر حسن علي الجوراني

عذراء نجم عبد

الجامعة المستنصرية / كلية العلوم

الخلاصة

برزت أهمية مستضدات مجاميع الدم المختلفة كجزئيات ترتبط مع أمراض المناعة الذاتية تم التأكيد على دور مجموعة الدم لويس في هذه الأمراض . ركزت الدراسة الحالية في جانبها على تمييز مجاميع الدم ومدى تكرار هذه المجاميع في مرضى داء السكري النمط-1 مقارنة بالأصحاء .

تمت دراسة (59) عينة من الإناث و(50) عينة من الذكور ومقارنة ذلك للأصحاء بـ(25) نموذج من الإناث والذكور. ولوحظ دور المجموعة $Le(a^+b^-)$ في القابلية لأحداث المرض حيث بلغت نسبتها عند المريضات (32%) مقارنة بالسليمات (12%) (10^{-6} $P=6.40 \times 10^{-4}$). في حين كانت مجموعة دم $Le(a-b+)$ مجموعة مقاومة للمرض إذ أنخفضت نسبتها إلى (23%) في المريضات مقارنة بنسبة (64%) للسليمات (10^{-9} $P=4.98 \times 10^{-9}$). في حين كانت مجموعة دم $Le(a+b+)$ عند المريضات (17%) مقارنة بالسليمات (16%) ($P=0.462$). في حين كانت مجموعة دم $Le(a-b-)$ في المريضات (23%) مقارنة بنسبة (8%) ($P=1.20 \times 10^{-3}$) للسليمات . ولوحظ دور المجموعة $Le(a^+b^-)$ مجموعة مقاومة للمرض حيث بلغت نسبتها في المرضى الذكور بنسبة (20%) مقارنة بنسبة (24%) للأصحاء ($P=0.239$). في حين كانت مجموعة دم $Le(a-b+)$ مجموعة مقاومة للمرض حيث انخفضت نسبتها في المرضى (32%) مقارنة بالأصحاء (40%) ($P=0.313$). في حين كانت مجموعة دم $Le(a+b+)$ في المرضى (10%) مقارنة بنسبة (16%) للأصحاء ($p=0.462$). كانت مجموعة دم $Le(a-b-)$ في المرضى (13%) مقارنة بنسبة (20%) للأصحاء ($P=0.313$). وقد تبين دور الأفرز في احتمالية الإصابة بالسكري النمط-1 ذات صنف $Le(a)$. ففي الإناث كان

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محجد

تردد الفارزين بنسبة (50%) في المريضات مقارنة بنسبة (33.3%) للسليمات (P=0.015). أما مجموعة تردد غير الفارزين حيث بلغت نسبتها (50%) مقارنة بنسبة (66.6%) للسليمات (P= 0.022). أما في الذكور كان تردد الفارزين بنسبة (12.5%) في لمرضى مقارنة بنسبة (40%) للأصحاء (P= 6.37×10⁻⁶). أما مجموعة تردد غير فارزين حيث بلغت نسبتها (87.5%) مقارنة بنسبة (60%) في الأصحاء (P= 1.52×10⁻⁵). كما تبين دور الأفرز في احتمالية الإصابة بالسكري النمط-1 ذات صنف Le(a-b-). ففي الأناث كان تردد الفارزين بنسبة (62.5%). أما السليمات لم توجد نسبة لتحديد لها لقله عدد النماذج. أما مجموعة تردد غير الفارزين حيث بلغت نسبتها (37.5%) للمريضات مقارنة بنسبة (100%) للسليمات (P= 8.80×10⁻²²). أما في الذكور كان تردد الفارزين بنسبة (16.6%) للمرضى مقارنة بنسبة (8%) بالأصحاء (P= 0.082). أما مجموعة تردد غير فارزين حيث بلغت نسبتها (83.3%) مقارنة بنسبة (20%) للأصحاء (p= 4.94×10⁻¹⁹)

المقدمة

مرض السكري النمط-1 Type-1diabetes من أمراض المناعة الذاتية التي تصيب صغار السن، وينتج اثر حدوث استجابة مناعية ذاتية مدمرة لخلايا بيتا المفرزة للأنسولين في البنكرياس يرافقه أنتاج أضداد ذاتية Autoantibodies موجهة إلى خلايا بيتا(1). كما يترافق هذا النمط من السكري مع تفعيل الخلايا المسماة T-Cytotoxic والتي تقوم بتدمير خلايا بيتا (2). أكدت الدراسات الحديثة خلال الخمس سنوات الأخيرة ارتفاع مؤشر نسبة إصابة الاطفال الذين تتراوح أعمارهم ما بين (5-10) سنوات بالسكري النمط-1 (3). يتلازم مرض السكري النمط-1 مع العديد من الامراض المناعية الذاتية مثل أمراض الدرقية وأمراض المستقيم وغيرها (4).

إن مجموعة الدم Lewis لها علاقة ببعض الأمراض، فقد وجد إن هناك زيادة معنوية في إصابة الحاملين للنمط Le(a⁻ b⁻) بمرض السكر (5)، كذلك وجد باحثون أن هنالك زيادة معنوية في إصابة النساء بالتهاب المجاري البولية من الحاملات للنمطين Le(a⁻ b⁻) و Le(a⁺ b⁻) (6). ووجد أيضا ارتفاع معنوي في الإصابة بسرطان القولون والمثانة عند الحاملين للنمط Le(a⁻ b⁻) (7).

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محبد

تهدف الدراسة إلى إيجاد تردد مجاميع دم لويس وتردد الفارزين وغير الفارزين التي تلازم مرضى السكري النمط -1.

مواد وطرائق العمل

جمع العينات

جمعت[°] (59) عينة دم من الأناث و (50) عينة دم من الذكور ومثلها عينات لعاب للمرضى المصابين بداء السكري النمط الاول T1D للمراجعين في المركز التخصصي لأمراض الغدد الصم والسكري/ فرع الرصافة/ وزارة الصحة للمدة من كانون الثاني لغاية شهر نيسان. جمعت[°] (25) عينة دم من كلا الجنسين ومثلها عينات لعاب من الأصحاء ظاهرياً من أماكن عديدة متفرقة، تراوحت اعمارهن بين (11-30) سنة.

جمع عينات الدم والمصل

جمع الدم بمانع التخثر EDTA لحصول على كريات الدم . كما جمع المصل من الدم الخاثر بدرجة حرارة الغرفة . قسمت عينات المصل إلى كميات صغيرة في أنابيب اختبار بلاستيكية وحفظت بدرجة حرارة -40 م° إلى حين الاستعمال (8).

جمع عينات اللعاب

حسب طريقة (9) وكالاتي

مضغت قطعة من العلك العربي لمدة (4-5) دقائق لتحفيز إفراز اللعاب، 'جمع' اللعاب بواسطة أنبوب اختبار نظيفة وبمقدار 2مليليتر. وضع الأنبوب في حمام مائي بدرجة حرارة الغليان لمدة 10 دقائق. بعدها نبذ الأنبوب بسرعة 4000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق، أهمل الراسب وأخذ الرائق وجمع في أنبوبة اختبار أخرى. يخفف اللعاب بنسبة 2:1 بالمحلول الملحي الوظيفي وتحفظ العينات في درجة حرارة -40 م° إلى حين الاستعمال.

تنميط مجاميع الدم

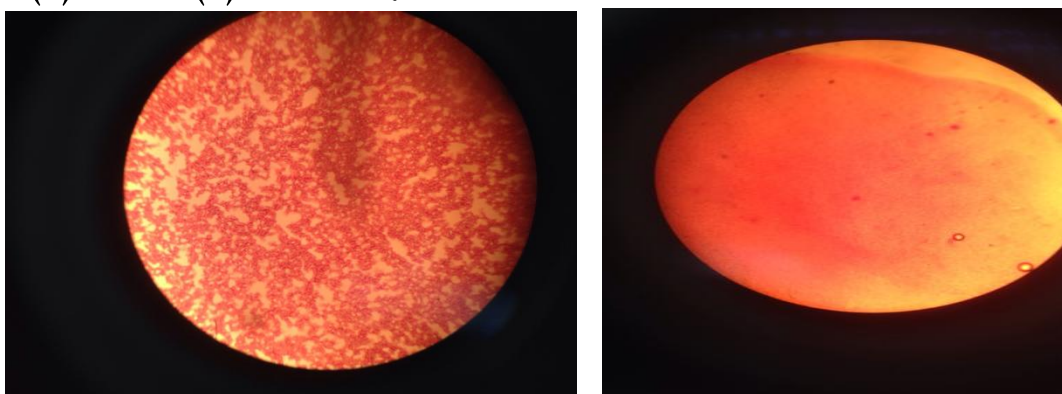
تنميط مجاميع الدم الخاصه بمجموعة لويس بطريقة الفحص المجهرى

أخذ الدم المحفوظ بأنابيب EDTA ونبذ بأستعمال جهاز النبذ المركزي لفصل كريات الدم عن البلازما بسرعة 2500 دورة/دقيقة لمدة عشر دقائق . أهمل الطافي وعلقت الكريات بأستعمال المحلول الوظيفي وأعيد نبذها عن الطريق جهاز الطرد المركزي

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محبد

بسرعة 2500 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق وأعيدت هذه الخطوة ثلاث مرات .ترك الرائق وأخذ من الراسب (Packed R.B.C) مقدار 1 مايكروليتر في أنبوبة أبندروف أضيف لكل أنبوبة 10مايكروليتر من ضد مجموعة لويس anti-Le.a أو anti-Le.b تركت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بعد مزج المحتويات برفق .وضعت قطرة من كل أنبوب على شريحة زجاجية وتم ملاحظة وجود التلازم من عدمه تحت المجهر بتكبير 4x وسجلت نتائج التلازن الدموي .

صورة التلازن السالب والموجب يظهرها الشكل (1) والشكل (2)



شكل (1) صورة التلازن السلبى قوة التكبير 40x شكل (2) صورة التلازن الأيجابي
قوة التكبير 40x

التحري عن وجود المستضد H الحر في لعاب المرضى بداء السكري النمط الأول
والأصحاء ذوات صنف دم (Le.a)و(Le.a-b) .

أستعملت صفائح التسحيح microtitration Plates ذات القعر الدائري حيث
وضع 50 مايكروليتر من اللعاب غير مخفف في كل حفرة .تركت الحفرة من دون لعاب
لأستعمالها كسيطرة للمستضد (سيطرة السالب) .أضيف بعد ذلك 50 مايكروليتر من
اللكتين (Anti _H) المخفف للدرجة 1\25 بواسطة المحلول الملحي الوظيفي للحفر
جميعاً , ثم مزجت المحتويات

أضيف بعد ذلك 50 مايكروليتر من عالق كريات الدم من صنف O
المحضر بتركيز 0.5 % للحفر جميعاً .حضنت الصفيحة لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة
الغرفة .نبذت الصفيحة بواسطة الجهز النبذ المركزي الخاص بصفائح التسحيح الدقيق
بسرعة 2000 دورة بالدقيقة لمدة دقيقتين . قرأت النتائج على أساس مبدأ تثبيط التلازن
حيث كانت النتيجة سالبة اذا شوهدت الحصيرة MATT في قعر الحفرة اي بمعنى لم يتم

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محبد

تنشيط التفاعل بواسطة المستضد H الحر للعب وتكون النتيجة موجبة إذا شوهدت النقطة DOT في قعر الحفرة ومعنى ذلك لوجود للتلازن اي انه ثبت بواسطة المستضد H الحر (مبدأ تنشيط التلازن بالمستضد H الحر).

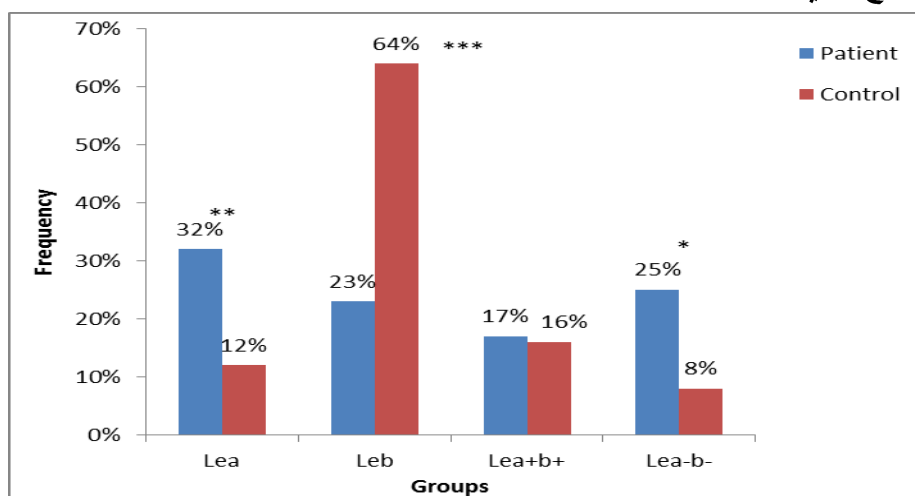
التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت النتائج إحصائياً بأستعمال مربع كاي (Chi- square). أعتبرت النتائج ذات شأن significant عند احتمالية أصغر من 0-05 (P < 0-05).

النتائج والمناقشة

تردد مجموعة الدم Lewis

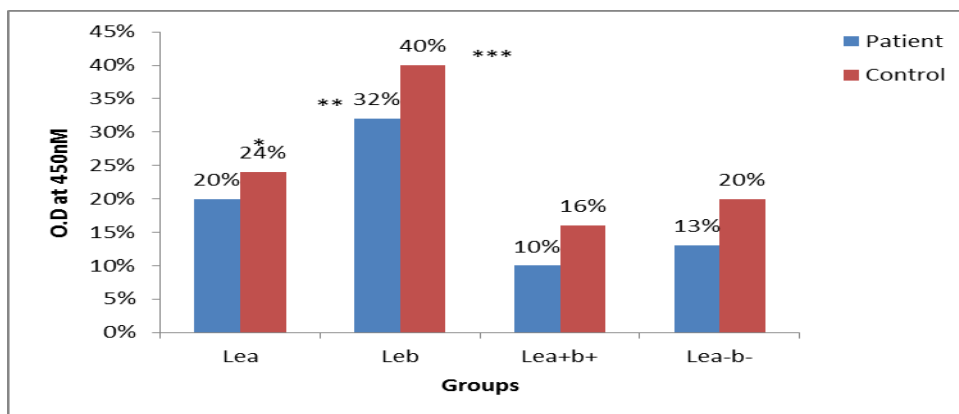
يشار إلى وجود زيادة في نسبة تردد مجموعة الدم Le(a⁺) في المريضات مقارنة بالسليمات ، اذ بلغ التردد في المريضات (32%) وفي السليمات (12%)، وأظهر التحليل الاحصائي أن هناك فرقاً معنوياً (مربع كاي 11.655 واحتمالية 6.40×10^{-4})، فيما أظهر الجدول أنخفاض في نسبة تردد مجموعة الدم Le(a⁻b⁺) في المريضات فكانت (23%) مقارنة بالصحيحات التي بلغت (64%) (مربع كاي 34.198 واحتمالية 4.98×10^{-9})، لقد ارتفعت نسبة تردد مجموعة الدم Le(a⁺b⁺) في المرضى فكانت (16.9%) في حين كانت نسبة التردد لدى السليمات لمجموعة الدم هذه (17%) (مربع كاي 0.542 واحتمالية 0.462)، فيما أظهر وجود زيادة في نسبة تردد مجموعة الدم Le(a⁻b⁻) في المريضات أذ كانت (25%) في حين أنخفضت نسبة التردد لدى السليمات (8%) (مربع كاي 10.488 واحتمالية 1.20×10^{-3}).



الشكل (1) تردد مجموعة دم Lewis في مريضات بداء السكري النمط -1 والسليمات

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محجد

أما تردد مجاميع لويس من مرضى السكري - 1 الذكور فقد تبين وجود انخفاض في نسبة تردد مجموعة الدم $Le(a^+)$ في للمرضى الذكور مقارنة بالأصحاء ، اذ بلغ التردد في المرضى (20%) مقارنة بنسبة (24%) في الأصحاء، وأظهر التحليل الاحصائي عدم وجود فرقاً معنوياً (مربع كاي 0.113 واحتمالية 0.737)، فيما أظهر الجدول انخفاض في نسبة تردد مجموعة الدم $Le(a\bar{b}^+)$ في المرضى فكانت (32%) مقارنة بالأصحاء التي بلغت (40%) (مربع كاي 1.389 واحتمالية 0.329)، لقد ارتفعت نسبة تردد مجموعة الدم حين كانت في الأصحاء (14%) (مربع كاي 0.542 واحتمالية 0.462)، فيما أظهر وجود زيادة في نسبة تردد مجموعة الدم $Le(a\bar{b}^-)$ في المرضى اذ كانت (26%) كان تردها في الأصحاء (20%).



الشكل (2) تردد مجموعة دم Lewis في مرضى الذكور بداء السكري النمط -1 والأصحاء. التحري عن وجود المستضد H الحر في لعاب المرضى الأناث والذكور والأصحاء والسليمات ذوات صنف دم $Le(a^+)$ و $Le(a\bar{b}^-)$.

تظهر النتائج الواردة في جدول (1) تردد مجموعة الفارزين Secretors وغير الفارزين Non-secretors في مرضى السكري نمط -1 والأصحاء ذوي النمط $Le(a)$ والواضح من الجدول ان هناك ارتفاع في نسبة الفارزين للمريضات عن السليمات اذ بلغت نسبة الفارزين في المريضات (50%) أما السليمات فقد بلغت النسبة (33.3%) وظهرت نتائج تردد مجموعة الفارزين Secretors وغير الفارزين Non-secretors في مرضى السكري -1 والأصحاء ذوي النمط $Le(a-b^-)$ حيث وجد هناك ارتفاع في نسبة الفارزين للمريضات اذ بلغت نسبة الفارزين (62.5%) أما السليمات لم توجد نسبة لتحديد لها لقله عدد النماذج .

توزيع الأنماط اللوسية الدموية وتردد الفارزين في مرضى السكري النمط-1
خضر حسن علي الجوراني ، محذراء نجو محبد

جدول (1) تردد مجموعة الفارزين وغير الفارزين في مرضى السكري النمط - 1 والأصحاء (الأنث) ذات النمط Le(a) .

قيمة مربع كاي Qi- p&(square	الأصحاء			المرضى			مجموعة الدم
	النسبة المئوية	العدد الكلي	العدد الموجب	النسبة المئوية	العدد الكلي	العدد الموجب	
$X^2=5.952$ $p=0.015$	%33.3	25	1	%50	59	3	الفارزين
$X^2=3.255$ $P=0.022$	%66.6		3	%50		3	الغير الفارزين
			4			6	المجموع الكلي

التحري عن وجود المستضد H الحر في لعاب المرضى الذكور والأصحاء ذوات صنف دم Le(a+) و Le(a-b) .

تظهر النتائج الواردة في جدول (2) تردد مجموعة الفارزين Secretors وغير الفارزين Non-secretors في مرضى السكري نمط -1 والأصحاء ذوي النمط Le(a) والواضح من الجدول ان هناك انخفاض في نسبة الفارزين للمرضى عن الأصحاء أذ بلغت نسبة الفارزين في المرضى (12.5%) أما الأصحاء فقد بلغت النسبة (40%) (قيمة مربع كاي 20.374) ، حيث أرتفعت نسبة الغير الفارزين في المرضى عن الأصحاء بنسبة (87.5%) أما الأصحاء فقد بلغت (60%) . أما تردد مجموعة الفارزين Secretors وغير الفارزين Non-secretors في مرضى السكري -1 والأصحاء ذوي النمط Le(a-b-) فكان هناك ارتفاع في نسبة الفارزين للمرضى عن الأصحاء أذ بلغت نسبة الفارزين (16.6%) أما الأصحاء فقد بلغت (8%) (مربع كاي 3.030) ، أما أرتفعت نسبة غير الفارزين في المرضى (83.3%) عن الأصحاء فكانت (20%) .

جدول (2) تردد مجموعة الفارزين وغير الفارزين في مرضى السكري النمط - 1 والأصحاء (الذكور) ذات النمط Le(a-b)

قيمة مربع كاي Qi- p&(square	الأصحاء			المرضى			مجموعة الدم
	النسبة المئوية	العدد الكلي	العدد	النسبة المئوية	العدد الكلي	العدد	
$X^2=3.030$ $p=0.082$	%8	25	4	%16.6	59	1	الفارزين
$X^2=79.452$ $P=4.94 \times 10^{-19}$ **	%20		1	%83.3		5	الغير الفارزين
			5			6	المجموع الكلي

**= فروقات معنوية عالية . لاتوجد فروقات للقراءات الغير مؤشرة

المصادر

- 1- **Taplin** , C. E. and **Barker** , J. M. (2008). Autoantibodies in type 1 diabetes .Autoimmu. , 41 : 8 – 11 .genotype . J. Perinatol. , 28 : 7 – 211
- 2-**Griseri** , T. , **Beaudoin** , L. , **Novak** , J. , **Mars** , L. T. , **Lepault** , F. , **Liblau** , R. and **Lehuen** , A. (2005) . Invariant NKT cells exacerbate type 1 diabetes induced by CD8 T cells . J.Immunol.,175 : 101 – 2091
- 3 -**Pozzilli** , P. and **Guglielmi** , C. (2009) . Double diabetes : A mixture of type 1 and type 2 diabetes in youth . Endocr .Dev . , 14 : 151 – 166 .
- 4-**Karavanaki**, K. , **Kakleas** , K. , **Paschali** , E. , **Kefalas** , N. , **Konstantopoulos** , I. , **Petrou** , V. , **Kanariou** , M. and **Karayianni** , C. (2009) . Screening for associated autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM) . Horm .
- 5-**Vague** , P.H.; **Melis** , C.; **Mercier** , P.; **Vialettes** , B and **Lassmann** , V.(1978). The increased frequency of the Lewisnegative blood group in a diabetic population.Diabetologia.15(1):33-36.
- 6-**Sheinfeld** , J.; **Schaeffer** , A.J. **Cardon-Cardo**,C.; **Rogatko**,A and **Fair** , W.R.(1989). Association of the Lewis blood group phenotype with recurrent urinary tract infections in women.New Engl. J. Med .12(320):773-777
- 7-**Langkilde**,N,C.; **Wolf** , H.; **Meldgord**,P and **Orntoft**,T.F . (1991). Frequency and mechanism of Lewis antigen expression in human urinary bladder and colon carcinoma patients.Br. J. Cancer.63(4):583-586.
- 8-**Whitlock** , S. A. (1997) . The clinical laboratory manual series : Immunohematology . Delmar , Albany . P. 77 – 80.
- 9-**Brecher** , M.E. (2003). Technichal manual, 14th ed. American Association of Blood Bank. Bethesda, P. 325.

The distribution of Lewis blood groups and secretors in diabetes type-1
Khedhir Hassan Ali AL-jorany and Athraa Najm Abed
Al- Mustansiriya University/College of Science/ Department of Biology
ABSTRACT

Blood group antigens, are associated with autoimmune diseases .studies emphasized on lewis blood groups The present study concentrated on finding the frequency distribution of Lewis blood groups in type-1 Diabetes compared to the distribution in healthy controls.

Fiftynine diabetic female samples as well as 50 male diabetic sample and 25 sample of male and female controls were included. The findings indicated that lea molecule has a role in disease susceptibility. Its percentage approach 32% in female patients compared to 12% in healthy controls ($p=6.4 \times 10^{-4}$). On the other hand however, lea^{b+} group gave 23% in diabetic females compared to 64% in healthy females ($p=4.98 \times 10^{-9}$). Lea⁺ b⁺ group gave 17% in diabetic females and 16% in healthy females ($p=0.46$). Interestingly however, lea⁻ b⁻ groups was represented at 23% in females versus 8% in healthy females ($p=1.2 \times 10^{-3}$). In males the results of the frequencies could be summarized as follows : Lea⁺ b⁻ 20% in diabetics vs 24% in controls $p=(0.239)$. Lea⁻ b⁺: 32% in diabetics vs 40% in controls. $P=(0.31)$. Lea⁺ b⁺: 10% in diabetics vs 16% in controls . $P=(0.462)$. Lea⁻ b⁻ : 13% in diabetics vs 20% in controls. $P=(0.31)$.

The role of secretion (se gene role) in diabetes was investigated also, particularly in lea group and the findings were as follows: secretors female :50% in diabetics vs 33.3% in controls. ($p=0.015$).

None secretors: 12.5% in diabetics vs 40% in controls ($p=6.37 \times 10^{-6}$).

In addition to that the role of secretion was seen in lea^{b-} group as well.

Secretor diabetics female, showed 62.5% . There was no available sample in controls.

A statistically significant frequency difference was seen in non secretors diabetics, females compared to controls (37.5% in diabetics vs 100% in controls , $p=8.8 \times 10^{-22}$).

In Males the results of secretions reported a significant difference in nonsecretors (83.3%). In diabetics vs 20% controls ($p=4.94 \times 10^{-3}$)