Methylene Tetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism and Its Relationship To Microvascular Complications In Patients With Type-I Diabetes Mellitus

Thesis

Submitted for Partial Fulfillment of Master Degree in
Pediatrics

Presented by

Mai Mohamed Mahmoud Saied
M.B.B.CH.
Faculty of Medicine - Misr University for Science and Technology

Supervised by

Ass. Prof. Mohamed Abo-Al Asrar Mohamed El-Bayoomy Afify
Assistant Professor of Pediatrics
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Prof. Ezzat Sayed El-Sobky
Professor of Genetics- Pediatric Department
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Dr. Ahmad Al-Saeed Hamed
Lecturer of Pediatrics
Faculty of Medicine - Ain Shams University

Faculty of Medicine
Ain Shams University
2010

List of Abbreviations

aa	: Amino acids
Ab	: Antibodies
ADA	: American Diabetes Association
Ag	: Antigen
AIRE	: Autoimmune regulator gene
ALP	: Alkaline phosphatase enzyme
Anti-IL2	: Anti interleukin two
APS-I	: Autoimmune polyendocrine syndrome
bl	: Blood
CBV	: Coxackie B virus
CGMS	: Contineous glucose monitoring system
CHO	: Carbohydrates
DCCT	: Diabetes control and complication trial
DKA	: Diabetic ketoacidosis
DM	: Diabetes mellitus
DN	: Diabetic nephropathy
EV	: Entero virus
FA	: Fatty acid
Fa	: Folic acid
FOX P3.gene	: Forkhood box P3 gene
GAD	: Glutamic acid decarboxylase
GBM	: Glomerular basement membrane
GFR	: Glomerular filtration rate
gl	: Glucose
Hb	: Haemoglobin
HbA1c	: Haemoglobin A, C (glycosylated haemoglobin)
HDL	: High density lipoprotein
HLA	: Human leukocytes antigen
hr	: Hour
IAA	: Insulin auto-antibodies
ICA	: Islet cell antibodies
ICU	: Intensive care unit
IDDM	: Insulin dependent diabetes mellitus
IFG	: Impaired fasting glucose

List of Abbreviations (cont.)

IGT : Impaired glucose tolerance
IPEX syndrome: Immune dysregulation polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome
IV : Intravenous
IZS : Insulin zinc suspension
LDL : Low density lipoprotein
MA : Microalbumin
MODY : Maturity onset diabetes of the young
MTHF : Methyline tetrahydro folate
MTHFR : Methyline tetrahydro folate reductase
NDDM : Non-insulin dependant diabetes mellitus
NPH : Neutral protamine Hagedorn insulin
OGTT : Oral glucose tolerance test
PCR : Polymerase chain reaction
PN : Peripheral neutritis
RBCs : Red blood cells
SC : Sub-cutaneous
SMG : Self monitoring of blood glucose
T3 : Thyroxin hormone (3)
T4 : Thyroxin hormone (4)
TIDM : Type I diabetes mellitus
TIIDM : Type II diabetes mellitus
TSH : Thyroid stimulating hormone
U/S : Ultrasound
UTI : Urinary tract infection
VEGF : Vascular endothelial growth factor
WHO : World Health Organization
wks : weeks
Wt. : Weight
yrs : years

List of Tables

List of Tables (Cont.)

List of Tables (Cont.)

List of Figures

بحث العلاقة بين تغيرات جين ميثايلين رباعي هيدروفوليت ريداكتيز ومضاعفات الأوعية الدموية الدقيقة في المرضى المصابين بالبول السكري من النوع الأول

رسالة

مقدمة توطئة للحصول على درجة الماجستير في
طب الأطفال

مقدم من

الطبيبة / مي محمد محمود سعيد
(بكالوريوس الطب والجراحة)
كلية الطب ـ جامعة مصر للعلوم والتكنولوجيا

تحت إشراف

أ.م.د./ محمد أبو الأسرار محمد البيومي عفيفي
أستاذ مساعد طب الأطفال
كلية الطب ـ جامعة عين شمس

أ.د./ عزت سيد السبكي
أستاذ الوراثة ـ قسم الأطفال
كلية الطب ـ جامعة عين شمس

د. / أحمد السعيد حامد
مدرس طب الأطفال

كلية الطب
جامعة عين شمس
٢٠١٠

الملخص العربي

مرض البول السكري من النوع الأول هو مرض شائع جداً في الأطفال والمراهقون، وهو مرض من أمراض المناعة الذاتية الذي يؤدي إلى تكسير خلايا بيتا بالبنكرياس المفرزة للأنسولين، مما يؤدي إلى ارتفاع السكر في الدم.وتؤثر العوامل الوراثية في حدوث هذا المرض تأثيراً كبيراً.

ومن أهم مضاعفات هذا المرض حدوث تغييرات في الأوعية الدموية الدقيقة وهذه التغييرات لها علاقة وثيقة بطول فترة المرض وضبط السكر بالدم، ومرة أخرى تؤثر هذه العوامل الوراثية في حدوث هذه المضاعفات، وهذه المضاعفات تؤثر على الكلى وقاع العين والأعصاب.

والميثالين رباعي هيدروفوليت ريداكتيز هو إنزيم هام جداً في أيض حمض الفوليك وهو هام جداً في التفاعلات الميثالية وأيض الهوموسيستين. وحدوث خلل في التفاعلات الميثالية قد يؤدي إلى عيوب خلقية، كما أن ارتفاع نسبة الهوموسيستين يؤدي إلى حدوث مشاكل في الأوعية الدموية.

ومما سبق يمكن استنتاج أن تغييرات الميثالين رباعي هيدروفوليت ريداكتيز جين قد يؤدي إلى نتائج خطيرة.

وفي مرض السكر من النوع الأول يؤدي نقص حمض الفوليك إلى خلل في وظائف الخلايا المبطنة للأوعية الدموية، وبالتالي فإن التغييرات في الجينات المسئولة عن أيض حمض الفوليك قد تكون مسئولة أو مشاركة في حدوث أمراض الأوعية الدموية، كما أن وجود المضاعفات الخاصة بمرض السكر وخاصة في الكلى والعين عند عائلات بعينها يؤكد أن للجينات دور في حدوث هذه المضاعفات.

الهدف من الدراسة :

تهدف هذه الدراسة إلى بحث العلاقة بين تغيرات جين ميثايلين رباعي هيدروفوليت ريداكتيز ومضاعفات الأوعية الدموية الدقيقة في المرضى المصابين بالبول السكري من النوع الأول.

المرضى وطرق البحث :

سوف يتم إجراء هذه الدراسة على عدد مائة مريض من مرضى البول السكري من النوع الأول .. وسوف يتم عمل الآتي لهؤلاء المرضى:

- أخذ التاريخ المرضي الكامل والكشف الطبي الدقيق.
- عمل الفحوصات والاختبارات المعملية الآتية :
  - متوسط نسبة الجلوكوز في الدم صائم وبعد ساعتين من الأكل.
  - متوسط الهيموجلوبين السكري في الدم خلال العام الماضي.
  - قياس الزلال المجهري في البول.
  - فحص قاع العين.
  - قياس سرعة توصيل النبضات العصبية في الأعصاب.
  - قياس تغيرات ميثايلين رباعي هيدروفوليت ريداكتيز جين.

المقياس الضمني :

تشمل هذه الدراسة الأطفال المصابين بمرضى البول السكري من النوع الأول الذين تم تشخيصهم منذ أكثر من خمس سنوات.

List of Contents

Acknowledgements

*Thanks first and last to **GOD**, whose help I always seek and without his willing I will achieve nothing.*

*Words do fail when I come to express my deepest thanks, profound appreciation and gratitude to **Dr. Mohamed Abo-El Asrar Mohamed El-Bayoomy Afify**, Assistant Professor of Pediatrics, Faculty of Medicine, Ain Shams University, for his moral support, valuable supervision and for enabling me to fulfill this work.*

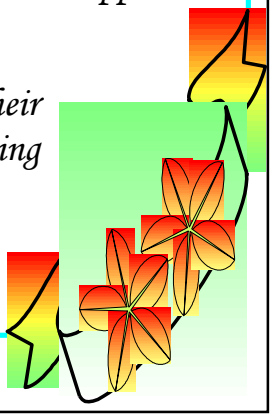
*Great thanks to my Dear Father **Dr. Ezzat Sayed El-Sobky**, Professor of Genetics, Pediatric Department, Faculty of Medicine, Ain Shams University for his great help and effort for fulfilling this work.*

*I wish to express my sincere thanks to **Dr. Ahmad Al-Saeed,** Lecturer of Pediatric Department, Faculty of Medicine, Ain Shams University, who was so kind enough to give me most valuable advice and guidance.*

Also, many thanks to medical stuff, workers, nurses and patients in Diabetes Unit for their great help and support to complete this work.

Thanks to my family is not enough, for their supports side by aide in life, their cordially praying God to make me successful.

Mai Mohamed Mahmoud Saied



INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a common chronic metabolic syndrome characterized by hyperglycemia as a cardinal biochemical feature. Type-I D.M is the most common form of D.M. in children and adolescents (90% of cases) and account for only 5-10% of all cases of D.M ***(Wyatt, 2008)***.

It's an autoimmune disorder characterized by T-cell mediated destruction and progressive loss of pancreatic β-cells leading to eventual insulin deficiency and hyperglycemia. This disorder has a strong genetic component, inherited mainly through HLA complex, but the factors that trigger onset of clinical disease remain largely unknown ***(Denis-Deneman, 2006)***.

The risk of developing microvascular complications is related mainly to the duration of diabetes and degree of glycemic control achieved over time (i.e./ Hb A1C 7.0% or less). Genetic factors also may influence the risk of complications. These complications are mainly renal microvascular complication (microalbuminurea or diabetic nephropathy), retinopathy and neuropathy (peripheral or autonomic) ***(Robert et al., 2007)***.

Methylene tetrahydrofolate reductase is a key enzyme in folic acid metabolism. Folic acid has recently gained a great deal of attention as a biologically important molecules. Methylene tetrahydrofolate reductase is the enzyme responsible for reduction of methylene tetrahydrofolate, which

is the key single carbon donor required for thymidine synthesis, to methylene tetrahydrofolate, which is essential for homocysteine remethylation to methionine ***(Boushey et al., 1995; James et al., 1999 and Kim, 2000)***.

Defect in methylation reaction is involved in the etiology of some birth defects and elevated homocystine is a known risk factor for vascular disease. So the polymorphism in methylene tetrahydrofolate reductase may have a detrimental consequences. The range of disorders that have been studied and linked to methylene tetrahydrofolate gene polymorphism include : diabetes mellitus, vascular diseases, leukaemia, birth defects, colon cancer, preeclampsia, Alzheimer disease, Down syndrome and many others ***(Wiltshine et al., 2008)***.

In patients with type-I diabetes mellitus folate deficiency is associated with endothelial dysfunction and folate supplementation improves the endothelial functions in these patients. The familial clustering of nephropathy and retinopathy found in diabetes control and complications trial supports a contribution of genetic factors in their development. So, polymorphism in genes involved in folate metabolism may have a role in vascular disease ***(Wiltshine et al., 2008)***.