



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

بعض المؤشرات المناعية عند مرضى السكري النمط الاول في مدينة بعقوبة

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / الأحياء المجهرية

من قبل الطالبة

بان شبيب محسن مصلح

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2010-2011 م

بإشراف

أ.د. عباس عبود فرحان الدليمي **أ.د. محمد عبد الدايم صالح**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(وَقُلْ رَبِّ أَنْزِلْنِي مُنْزَاً مُبَارَكًا وَأَنْتَ خَيْرُ

الْمُنْزِلِينَ)

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

سورة المؤمنون الآية ﴿٢٩﴾

الإهداء

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك .. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك .. ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك .. ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك (الله جل جلاله) إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين (سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم) إلى من كلفه الله بالهبة والوقار .. إلى من علمني العطاء بدون انتظار .. إلى من أحمل أسمه بكل افتخار .. أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوماً أهندي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد (والدي العزيز) إلى ملاكي في الحياة .. إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني .. إلى بسملة الحياة وسر الوجود .. إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب (أمي الحبيبة) إلى أخي ورفيق دربي .. هذه الحياة بدونك لأشياء .. معك أكون أنا .. وبدونك أكون مثل أي شيء .. في نهاية مشواري أريد أن أشكرك على مواقفك النبيلة ونظراتك المليئة بالأمل لنجاحي أخي الغالي (علي وعائلته) إلى من هن أقرب أليّ من روحي إلى من يشاركنني حزن ألام وبهم استمد عزتي وإصراري أخواتي (نبأ و ريام) إلى من كان معي بكل خطوة وكان سنداً وعوناً لي بعد الله إلى من تحلو الحياة بوجوده بجانبني حفظه الله لي وبارك لي فيه زوجي الحبيب (عصام) إلى أغلى ما رزقني به الله في حياتي إلى فرحة عمري إلى من بوجوده تشرق الحياة لي كل يوم بالأمل والطاقة الإيجابية بارك الله لي فيه وجعله من الصالحين ابني وفلذة كبدي (محمد) فبارك الله لي فيهم وجزاهم عني خير الجزاء.

بإذن

اهدي ثمرة بحثي المتواضع هذا.....

الشكر والتقدير

"كن عالماً .. فإن لم تستطع فكن متعلماً ، فإن لم تستطع فأحب العلماء ،فإن لم تستطع فلا تبغضهم" الحمد لله رب العالمين عدد ماكان وعدد مايكون وعدد الحركات والسكون ، الحمد لله الذي رزقنا نعمة الاسلام ، والصلاة والسلام على خير الخلق محمد وعلى آله وصحبه وسلم وبعد.لا يسعني وانا اكمل بحثي المتواضع الا بأن أقدم شكري الجزيل وامتناني الى مشرفي الاستاذ الدكتور عباس عبود فرحان والاستاذ الدكتور محمد عبد الدايم صالح لأقتراحهم موضوع البحث ، فضلاً عن توجيهاتهم وإشرافهم المتواصل التي كان لها الأثر الكبير في إزالة العقبات خلال إجراء بحثي.

ومن دواعي الوفاء العرفان بالجميل أن أقدم بالشكر الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتهم الفرصة لي لإكمال مسيرتي العلمية وأتقدم بالشكر إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء إلى ينابيع الصدق الصافي إلى من معهم سعدت ، وبرفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة سرت إلى من كانوا معي على طريق النجاح والخير إلى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا أضيعهم زملائي طلبة الدراسات العليا جميعاً في قسم علوم الحياة على تقديمهم المساعدة وأخص منهم بالذكر صديقتي وأخواتي العزيزات هناء محمد و أيمن عامر.

كما اتقدم بالشكر والاحترام الى الاطباء في وحدة السكري في استشارية مستشفى البتول للولادة والاطفال لما قدموه لي من المساعدة في جمع العينات. ولا يفوتني أن أقدم شكري وأمتناني الخالصين للعاملين في مختبر الصحة العامة المركزي والعاملين في شعبة المختبر في استشارية مستشفى البتول للولادة والاطفال لما قدموه لي من عون لتسهيل مهمة أنجاز بحثي

كما أنني اعجز عن الشكر لاهلي وعائلتي امام ماقدموه لي من تشجيع ودعم مستمر والذين كان لهم الفضل الاكبر من بعد الله في استمرار مسيرتي العلمية داعية المولى (عز وجل) أن يرزقهم ثواب عملي وأن يمد بعمرهم ويحفظهم لي من كل شر، واخيرا اتقدم بالشكر والامتنان لكل من ساعدني وساهم ولو بجزء بسيط لإتمام هذا البحث فجزاهم الله عني خير جزاء

بإذن

إقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

أشهد بأن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ "بعض المؤشرات المناعية عند مرضى السكري النمط الاول في مدينة بعقوبة" التي قدمتها طالبة الماجستير (بان شبيب محسن مصلح) قد جرت تحت إشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الحياة / الاحياء المجهرية.

التوقيع:

الاسم : أ.د. عباس عبود فرحان
المرتبة العلمية : أستاذ

التوقيع:

الاسم : أ.د. محمد عبد الدايم صالح
المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ: / / 2018 م

التاريخ: / / 2018 م

بناء على التوصيات المتوافرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. عمار أحمد سلطان
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

رئيس قسم علوم الحياة

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ: / / 2018 م

إقرار الخبير العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ "بعض المؤشرات المناعية عند مرضى السكري النمط الاول في مدينة بعقوبة" التي قدمتها طالبة الماجستير (بان شبيب محسن مصلح) قسم علوم الحياة / الاحياء المجهرية قد تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم : أبراهيم هادي محمد

المرتبة العلمية : أ.م.د

التاريخ : / / 2018 م

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ "بعض المؤشرات المناعية عند مرضى السكري النمط الأول في مدينة بعقوبة" التي قدمتها طالبة الماجستير (بان شبيب محسن مصلح) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وصُحِّحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم : وسن عبد المنعم ياسين

المرتبة العلمية : أ.م.د.

التاريخ : / / 2018 م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحنُ رئيس وأعضاء لجنة المناقشة نقر بأننا اطلعنا على رسالة الماجستير الموسومة بـ "بعض المؤشرات المناعية عند مرضى السكري النمط الاول في مدينة بعقوبة" المقدمة من قبل الطالبة (بان شبيب محسن مصلح) وقد ناقشناها في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الأحياء المجهرية بتقدير (أمتياز).

التوقيع :

الاسم : أ.د. ماجد محمد محمود

التاريخ : / / 2018 م

رئيس اللجنة

التوقيع :

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. ولاء نجم عبود

الاسم : م.د. مهى فالح نزال

التاريخ : / / 2018 م

التاريخ : / / 2018 م

عضو اللجنة

عضو اللجنة

التوقيع :

التوقيع :

الاسم : أ.د. عباس عبود فرحان

الاسم : أ.د. محمد عبد الدايم صالح

التاريخ : / / 2018 م

التاريخ : / / 2018 م

عضواً ومشرفاً

عضواً ومشرفاً

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة_جامعة ديالى

التوقيع :

أ.م.د. نصيف جاسم محمد الخفاجي

عميد كلية التربية للعلوم الصرفة/وكالة

التاريخ :

الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة في وحدة السكري والتي كانت ضمن استشارية مستشفى البتول للولادة والاطفال في مدينة بعقوبة خلال المدة من 2016/10/17 م الى 2017/5/17 م. هدفت الدراسة الى تقييم الدور المناعي للأمراض لبعض المؤشرات المناعية للمرضى المصابين بداء السكري النمط الاول عن طريق تحديد تراكيز البين الأبيضاوي السابع عشر (IL-17) , والبين الأبيضاوي الحادي والعشرين (IL-21) ، و أيضاً تم قياس مستوى جزيئات (CD4⁺) وكذلك (CD8⁺) الذاتية والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة T-helper cells والخلايا التائية السمية T-cytotoxic cells حيث تم تحديدها كميّاً باستخدام اختبار الادمصاص للأضداد المناعية المرتبط بالأنزيم Sandwich ELISA test.

تم جمع 70 عينة دم من مرضى السكري النمط الاول (Diabetes mellitus type 1) بعد التشخيص من قبل الطبيب الأخصائي في وحدة السكري في استشارية مستشفى البتول للولادة والاطفال, بحسب المعايير المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية لتشخيص مرضى السكري النوع الاول ، أذ بلغ عدد الذكور (39) وبنسبة (55.70%) وعدد الاناث (31) وبنسبة (44.30%) ضمن مدى عمري من (1-16) سنة حيث أظهرت النتائج أن نسبة الإصابة لدى الذكور أكثر مما هي في الاناث مع وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية بين الجنسين ، وتم أخذ 20 عينة دم من أشخاص أصحاء ظاهرياً تم اعتمادها كمجموعة سيطرة ، أذ بلغ عدد الذكور (16) وبنسبة (80.00%) وعدد الاناث (4) وبنسبة (20.00%) ضمن مدى عمري من (5-25) سنة.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن متوسط عمر المرضى المصابين بداء السكري من النمط الاول (9.42±3.34) pg/ml ، في حين أن متوسط عمر مجموعة السيطرة (17.25 ± 4.17) pg/ml مع وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية عالية جداً بين مجاميع الدراسة.

أظهرت النتائج ان الفئات العمرية (11-15) سنة قد سجلت اعلى نسبة وكانت نسبتها 45.70% فيما كانت اوطأ نسبة في الفئة العمرية (16-20) سنة وبنسبة 1.40% لقد كان هنالك فرق معنوي ذو دلالة احصائية عالية جدا بين

مجاميع الدراسة، ، وأظهرت الدراسة ان اعلى نسبة سجلت ومدة الاصابة بالمرض التي اعطت اعلى نسبة هي (1-2) سنة بنسبة 40.00% حيث أظهرت نتائج الدراسة الحالية فرقاً معنوياً عالي جداً حسب مدة الاصابة بالمرض.

كما تم تحديد مستوى تركيز الحركيات الخلوية التي تم قياسها في هذه الدراسة حيث اظهرت النتائج بالنسبة لمستوى تركيز البين الالبيضاوي السابع عشر IL-17 انخفاضاً لدى المرضى المصابين بداء السكر من النوع الاول (114.31 ± 103.78) pg/ml مقارنة بمجموعة السيطرة (126.54 ± 81.48) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذو دلالة احصائية. كما أوضحت النتائج ارتفاعاً في مستوى تركيز البين ابيضاوي الحادي والعشرون IL-21 لدى مجموعة المرضى (209.40 ± 294.78) pg/ml مقارنة بمجموعة الأصحاء 274.82 ± 189.54 pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي.

تم دراسة العلاقة بين مستوى تركيز البين الالبيضاوي السابع عشر IL-17 والجنس حيث أظهرت النتائج ان مستوى IL-17 لدى الذكور (95.94 ± 87.76) pg/ml اقل من مستواه لدى الاناث (137.42 ± 118.42) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز IL-17 لدى المصابين بالنسبة للجنسين.

أما عند مقارنة مستوى تركيز البين الالبيضاوي الحادي والعشرون IL-21 مع الجنس فقد أظهرت النتائج ان مستوى IL-21 لدى الذكور (124.29 ± 78.09) pg/ml اقل من مستواه لدى الاناث (316.46 ± 413.37) pg/ml مع وجود فرق معنوي عالي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز IL-21 لدى المصابين بالنسبة للجنسين.

تم دراسة تأثير مستوى جزيئات الخلايا التائية المساعدة والسمية الذائبة والتي لها دور كبير في مرض السكري النوع الاول (Diabetes mellitus type 1) حيث اوضحت النتائج انخفاضاً في مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذائبة CD4⁺ وكان تركيزها اقل في مجموعة المرضى اذ بلغ (5.18 ± 4.59) pg/ml مقارنة بمجموعة الاصحاء التي كان مستوى تركيزها اعلى (5.52 ± 3.47) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذو دلالة احصائية.

كذلك بالنسبة لمستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^{+}$ اظهرت النتائج ارتفاع مستوى تركيزها في مجموعة المرضى اذ كان pg/ml (5.54 ± 7.39) مقارنة بمجموعة الاصحاء اذ كان مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية pg/ml (3.74 ± 3.57) ولا يوجد اي فرق معنوي بين مجموعتي الدراسة.

تم دراسة العلاقة بين مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية $CD4^{+}$ والجنس حيث أظهرت النتائج ان مستواها لدى الذكور (pg/ml (3.97 ± 2.72) اقل من مستواها عند الاناث (pg/ml (6.70 ± 5.90) مع وجود فرق معنوي عالي ذي دلالة احصائية.

أما عند مقارنة مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^{+}$ مع الجنس أظهرت النتائج ان مستواها لدى الذكور (pg/ml (4.21 ± 4.01) اقل من مستواها عند الاناث (pg/ml (7.21 ± 10.01) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	الفقرة
الفصل الاول		
1-4	المقدمة Introduction	1-1
3-4	أهداف الدراسة Amis of Study	1-2
الفصل الثاني		
5-25	إستعراض المراجع Literature Review	2
	مرض السكري النوع الاول T1D- Type 1 diabetes	2-1
5-8	تعريف داء السكري وتشخيصه	2-1-1
8-10	تصنيف داء السكري	2-1-2
10-12	أمراضية داء السكري Pathogenesis	2-1-3
12-15	وبائية داء السكري Epidemiology	2-1-4
15-16	المناعة الخلوية في مرض السكر النوع الاول	2-2
16-18	دور الحركات الخلوية في داء السكري النوع الاول	2-3
18-20	البين الابيضاضي السابع عشر IL- 17	2-3-1
20-23	البين الابيضاضي الحادي والعشرون IL-21	2-3-2
23-25	الخلايا التائية المساعدة والخلايا التائية السمية	2-4
الفصل الثالث		
26	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	3
26	الأجهزة والمواد . Instruments and Materials	3-1
26	الأجهزة المستخدمة . Instruments	3-1-1
26	العدة المختبرية Laboratory kit	3-1-2
27	الادوات المستخدمة Equipments	3-1-3
27	طرائق العمل	3-2
27-28	جمع العينات Collection of Samples	3-2-1
28	الطرق المختبرية Laboratory Methods	3-2-2
28	قياس مستوى الحركات الخلوية IL-17 و IL-21 و CD4 ⁺ و CD8 ⁺	3-2-2-1
29	تحديد مستوى CD8 ⁺ , CD4 ⁺ , IL-21, IL-17 في المصل	3-2-2-1-1
35	التحليل احصائي Statistical analysis	3-3
الفصل الرابع		
	النتائج والمناقشة	4
36-38	توزيع مجموعتي الدراسة حسب العمر	4-1

38-40	توزيع مجموعتي الدراسة حسب النسبة المئوية بالنسبة للجنس	4-2
40-42	توزيع مجموعتي الدراسة حسب الفئات العمرية	4-3
42-43	مجموعة المرضى حسب مدة الإصابة بالمرض	4-4
43-45	العلاقة بين الفئة العمرية والجنس للمرضى	4-5
45-47	العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الإصابة	4-6
47-50	العلاقة بين الجنس ومدة الإصابة بالنسبة لمجموعة المرضى	4-7
50	الجانب المناعي	4-2
50-53	قياس مستوى تركيز البين الإبيضاوي IL-17 لمجموعتي الدراسة	4-2-1
53-55	قياس مستوى تركيز البين الإبيضاوي IL-21 لمجموعتي الدراسة	4-2-2
55-57	قياس مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة $CD4^{+}$	4-2-3
57-60	قياس مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية $CD8^{+}$	4-2-4
60-61	علاقة جزيئات $CD4^{+}$ بالجنس لمجموعة المرضى	4-2-5
61-63	علاقة جزيئات $CD8^{+}$ بالجنس لمجموعة المرضى	4-2-6
63-64	علاقة الحركي الخلوي IL-17 بالجنس لمجموعة المرضى	4-2-7
64-66	علاقة الحركي الخلوي IL-21 بالجنس لمجموعة المرضى	4-2-8
66-67	العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة	4-2-9
68-69	الاستنتاجات	5
70	التوصيات	6
71-75	الملاحق	7
75-95	المصادر REFERENCES	8
A-B-C	Summary	9

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1	معايير تشخيص مرض السكري حسب منظمة الصحة العالمية	8
2	الأجهزة المستخدمة . Instruments	26
3	العدة المختبرية Laboratory kit	26
4	الادوات المستخدمة Equipments	27
5	توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للعمر	36
6	توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للجنس	38
7	توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للفئات العمرية	40
8	توزيع مجموعة المرضى حسب مدة الاصابة بالمرض	42
9	العلاقة بين الفئة العمرية والجنس لمجموعة المرضى	44
10	يوضح العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الاصابة لمجموعة المرضى	46
11	يوضح العلاقة بين الجنس ومدة الاصابة لمجموعة المرضى	48
12	يوضح مستوى تركيز IL-17 بالنسبة لمجموعتي الدراسة	52
13	يوضح مستوى تركيز IL-21 بالنسبة لمجموعتي الدراسة	54
14	يوضح مستوى تركيز جزيئات CD4 ⁺ بالنسبة لمجموعة المرضى	56
15	يوضح مستوى تركيز جزيئات CD8 ⁺ بالنسبة لمجموعة المرضى	58
16	يوضح علاقة خلايا CD4 ⁺ بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى	60
17	يوضح علاقة خلايا CD8 ⁺ بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى	62
18	يوضح علاقة الحركي الخلوي IL17 بالجنس لمجموعة المرضى	63
19	يوضح علاقة الحركي الخلوي IL21 بالجنس لمجموعة المرضى	65
20	العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة	67

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1	الآلية التي تتوسطها المناعة الذاتية في تحطيم خلايا بيتا في البنكرياس	15
2	شبكة الحركات الخلوية -الاتصالات الجزيئية بين انواع الخلايا	18
3	تمثيل تخطيطي لمسارات الاشارات IL-21 والآثار البيولوجية الرئيسية الخلايا	23
4	مبدأ اختبار طريقة شطيرة الاليزا	29
5	الوصف العام للعينات المدروسة حسب العمر	37
6	توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للجنس	39
7	توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للفئات العمرية	40
8	العلاقة بين الفئة العمرية والجنس لمجموعة المرضى	45
9	العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الاصابة لمجموعة المرضى	47
10	العلاقة بين الجنس ومدة الاصابة لمجموعة المرضى	48
11	مستوى تركيز IL-17 بالنسبة لمجموعتي الدراسة	53
12	يوضح مستوى تركيز IL-21 بالنسبة لمجموعتي الدراسة	55
13	مستوى تركيز جزيئات CD4 ⁺ بالنسبة لمجموعة المرضى	56
14	يوضح مستوى تركيز جزيئات CD8 ⁺ بالنسبة لمجموعة المرضى	59
15	يوضح علاقة جزيئات CD4 ⁺ بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى	61
16	يوضح علاقة جزيئات CD8 ⁺ بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى	62
17	يوضح علاقة الحركي الخلوي IL-17 بالجنس لمجموعة المرضى	64
18	يوضح علاقة الحركي الخلوي IL-21 بالجنس لمجموعة المرضى	65

قائمة الملاحق

الصفحة	العنوان	
71	استمارة المعلومات الخاصة بجمع المعلومات من عينة المرضى المصابين بداء السكري- النوع الأول والعينة القياسية	1
72	شكل يوضح المنحنى القياسي للبين الأبيضاضى السابع عشر (IL-17)	2
73	شكل يوضح المنحنى القياسي للبين الأبيضاضى الحادي والعشرون (IL-21)	3
74	شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى خلايا (CD4 ⁺)	4
75	شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى خلايا (CD8 ⁺)	5

قائمة المختصرات

Antigen Presenting Cells	APCs
Cluster of Differentiation	CD
Cytotoxic T lymphocytes	CTLs
Dendritic cells	DCs
Diabetes Mellitus	DM
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	ELISA
Insulin dependent diabetes mellitus	IDDM
Interferon-Beta	IFN-β
Interferon-Gamma	IFN-γ
Interleukin	IL
Horseradish protein	HRP
Human leukocyte antigen	HLA
Major Histocompatibility Complex	MHC
Major Histocompatibility Complex Class 1	MHC I
Major Histocompatibility Complex Class 2	MHC II
Maturity onset diabetes of the young	MODY
Natural killer	NK
No-Insulin dependent diabetes mellitus	NIDM

Regulatory T Cells	Treg Cells
T-Helper	Th
Transforming Growth Factor-Beta	TGF- β
Tumor Necrosis Factor	TNF
Type1 diabetes mellitus	T1DM
Type2 diabetes mellitus	T2DM
World health organization	WHO
Picogram	Pg
Insulin-dependent diabetes mellitus	IDDM
Noninsulin-dependent diabetes mellitus	NIDDM
Power of hydrogen	PH
Fasting plasma glucose	FPG
Milligram/desilter	mg/dl
Millemole/liter	Mmol/L
Two hour plasma glucose	2HPG
National Diabetes Data group	NDDG
Glycosylated haemoglobin hba1c	HbA1C
Tumor Necrosis Factor	TNF α
Interferon-alpha	IFN- μ
tumor necrosis family	TNF
Kylodalton	KDa
T Cell Receptors alpha Beta	TCR – $\alpha\beta$
Optical Density	OD

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

1-1 المقدمة : Introduction

يُعرف داء السكري Diabetes Mellitus (DM) بأنه مرض ينتج عن زيادة مستوى الكلوكوز في الدم (Hyperglycemia) عن المعدل الطبيعي نتيجة لبقائه في الدم بسبب نقص أو إنعدام إفراز هرمون الأنسولين من خلايا بيتا في البنكرياس أو ضعف آلية عمله أو كليهما معاً أو خلل في مستقبلات الأنسولين نتيجة اضطرابات وراثية أو بيئية (Crespilho وآخرون، 2011).

داء السكري يتسبب نتيجة لعجز خلايا بيتا β cells الموجودة في البنكرياس فيكون إنتاج هذه الخلايا للأنسولين اما قليلاً او معدوماً وهذا يعرف بداء السكري- النمط الاول Type 1 diabetes mellitus (T1DM) المعتمد على الأنسولين (Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)، اما عند عدم استخدام الجسم للأنسولين بصورة صحيحة (مقاومة الأنسولين) فيعرف بداء السكري- النمط الثاني Type 2 diabetes mellitus (T2DM) غير المعتمد على الأنسولين (Noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)، ووظيفة هرمون الأنسولين Insulin hormone هي العمل على تنظيم تركيز السكر بالدم، وداء السكري ينتج بسبب عدم السيطرة او عدم استخدام الانسولين بصورة منظمة مما يؤثر على نسبة السكر بالدم، وبمرور الوقت تحدث مضاعفات كبيرة تؤثر على وظائف ومكونات انسجة الجسم (WHO، 2015).

ان النمط الاول من داء السكري سببه نقص في افراز الانسولين ويرجع ذلك الى فقدان خلايا بيتا في البنكرياس وتحطمها. ويعتبر من الامراض التي تتطلب علاجاً مدى الحياة مع الانسولين الخارجي لأنه بدون انتاج الانسولين سيفقد الجسم قدرته على استخدام الكاربوهيدرات كمصدر للطاقة (Cernea و Herold ، 2010).

اشارت نسبة الاحصائيات بأن عدد المصابين بداء السكري تجاوز 347 مليون نسمة في كل أنحاء العالم، وأشارت البيانات إلى أنه في سنة 2004 قد تمت وفاة نحو 3.4 مليون نسمة من المرضى بداء السكري ، وما يزيد عن 80% من وفيات المصابين بهذا المرض تتم في البلدان المنخفضة والمتوسطة او قليلة الدخل، وتم تسجيل نصف وفيات المصابين بداء السكري تقريباً بين الناس الذين كانت أعمارهم ما يقل عن 70 سنة، كما وتم تسجيل 55% من تلك

الوفيات بين الاناث، وأشارت التوقعات لمنظمة الصحة العالمية إلى أن الوفيات ستتضاعف في المدة بين السنوات 2005-2030 (WHO، 2015).

قد اظهرت الكثير من الدراسات ان T1DM هو النمط الذي يصاب به الاطفال والمراهقين، ويؤثر سنوياً في اربعة ملايين من شعوب العالم مع كلفة مادية تصل إلى 160 مليون دولار أمريكي تصرف جميعها على العلاج والرعاية الطبية وكثرة انتشار هذا المرض يؤثر بنسبة معينة على دخل وصحة المجتمع (Forouhi و Wareham ، 2006).

تؤدي الحركات الخلوية Cytokines المبدئة للالتهاب Proinflammatory cytokines (IL.17) والالتهابية Inflammatory cytokines (IL.21) دوراً مهماً في تحفيز او زيادة مرض السكري- النمط الاول، بصورة مباشرة او غير مباشرة تؤدي إلى تحطم خلايا بيتا المنتجة للأنسولين (Jain وآخرون ، 2008).

وجدت بحوث توضح دور خلايا (Th17) المحددة أو المخصصة والتي تسبب مرض السكر ولكن فقط عند تحويلها الى انتاج خلايا IFN- γ حيث تقوم بتنظيم وحث انتاج الحركات الخلوية التي تكون محفزة لاستجابة الخلايا المناعية ضد المسببات الإلراضية والأجسام الغريبة (Martin-Orozco وآخرون ، 2009).

أكدت الدراسات الحديثة ارتفاع معدل الإصابة بالسكري النمط الاول للذين تتراوح اعمارهم بين 5-10 سنوات (Pozzilli و Guglielmi ، 2009) وتشير بعض الدراسات الى ان إمراضية هذا النمط تأخذ مساراً مناعياً تؤدي فيه الاضداد دوراً بارزاً في تحطيم خلايا بيتا في البنكرياس (Zhang وآخرون ، 2008).

للمناعة الخلوية الذاتية ايضاً أثر واضح في حدوث وتطور داء السكري- النمط الاول وهذه المناعة تتوسطها الخلايا التائية للمفاوية الفعالة ذاتياً (Morran وآخرون، 2008) وفي بداية إصابة الأشخاص بداء السكري- النمط الاول تظهر الخلايا التائية الفعالة ذاتياً ضد خلايا الجزيرات في البنكرياس من خلال حث إفراز وسائط سمية ضد الخلايا بيتا وتكون على نوعين رئيسيين هما خلايا CD4⁺T cells وخلايا CD8⁺T cells مع ظهور للخلايا البلعمية الكبيرة Macrophages (Faustman و Davis، 2009).

2-1 أهداف الدراسة Amis of Study

تقييم بعض المؤشرات المناعية ومعرفة التأثيرات المناعية لبعض الحركات الخلوية والخلايا التائية للمفاوية ودورها في إِمراضية مرض السكر النوع الاول T1DM ومعرفة علاقة العمر والجنس و مدة الإصابة بالمرض بالنسبة للمرضى وذلك عن طريق :-

1. قياس تركيز البين الالبيضاوي السابع عشر IL-17 لمجموعة المرضى ومجموعة الاصحاء.
2. قياس تركيز البين الالبيضاوي الحادي والعشرون IL-21 لمجموعة المرضى ومجموعة الاصحاء.
3. قياس مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذائبة $CD4^{+}$ والتي من خلالها يتم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة T-helper cells لمجموعة المرضى ومجموعة الاصحاء.
4. قياس مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذائبة $CD8^{+}$ والتي من خلالها يتم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية السمية T-cytotoxic cells لمجموعة المرضى ومجموعة الاصحاء.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURE REVIEW

1-2 مرض السكري النمط الاول T1D- Type 1 diabetes

1-1-2 تعريفه وتشخيصه:-

هو أحد أمراض المناعة الذاتية Autoimmune Disease التي تظهر في سن الطفولة والمراهقة إذ يعمل الجهاز المناعي على تحطيم خلايا بيتا β -Cell المنتجة للانسولين في البنكرياس وتكون الخلايا المسؤولة عن المناعة الذاتية أجساماً مضادة لخلايا جزيرات لأنكرهانز (William وآخرون، 2002).

يسمى النمط الاول من مرض السكر بسكر اليافعين او الصغار (Juvenile onset diabetes) لأنه يصيب كلاً من الذكور والاناث بين 6 – 30 سنة (Philip وآخرون، 2000) ويُعد من امراض المناعة الذاتية ويصاب به الاشخاص صغار السن ويتكون بسبب حدوث استجابة مناعية ذاتية محطمة لخلايا بيتا التي تفرز الانسولين في غدة البنكرياس ويرافقه انتاج اضداد ذاتية موجهة الى خلايا بيتا (Taplin و Barker، 2008) ويتلازم هذا النمط من السكر مع تنشيط الخلايا السمية T.cytotoxic المدمرة لخلايا بيتا (Griseri وآخرون، 2005).

هناك عوامل مهمة تشكل خطراً وتهديداً لحياة المصابين بداء السكري ومن هذه العوامل الزيادة العالية للكلوكوز Hyperglycemia وزيادة نسبة الحموضة للدم Acidosis ان النقص في هرمون الانسولين اذا لم تتم معالجته يؤدي الى زيادة شديدة في الكلوكوز وزيادة تكسر الدهون مع كثرة في تحرير الاحماض الدهنية في الانسجة الدهنية Adipose tissue تُعد الزيادة في نسبة الحامضية في الدم أو انخفاض PH في الدم هي بسبب ان الحوامض الدهنية الزائدة في الكبد اكثرها يتم تحويلها الى حامض (Ketoacids beta hydroxyl butyric acid) وحامض الخليك (Acetoacetic acid) فبسبب الزيادة في تحرر الاحماض الدهنية و Ketoacids من النسيج العضلي والكبد ترتفع نسبة الحامضية وتزيد من مستواها وعندما تنتج زيادة الكلوكوز مع الحامضية يسمى سكر كيتوني حامضي (Diabetic Keto **ac**idosis) الذي يشكل خطراً وقد يؤدي الى غيبوبة Coma ثم الموت Death (Wajchenberg، 2007).

من ابرز المؤشرات الرئيسية والتي تشكل خطراً هي التي تحدث من ارتفاع الكلوکوز مع زيادة مستوى حامض الكيتون مما يؤدي الى تلف شبكية العين Retinopathy وبذلك يؤدي ارتفاع السكر الى تحطم الاوعية الدموية حول الشبكية مما يؤدي الى تراكم البروتينات والدهون مكونة ترسبات متراكمة تحجب الرؤية وان الاوعية الدموية المتحطمة ستكون ليست فعالة في تجهيز الشبكة بالاكسجين مما يؤدي الى التلف (Bakker وآخرون، 2013).

تتناسب خطورة المرض مع زيادة مدة الاصابة به طردياً مما يؤدي الى حدوث تلف في شبكية العين وبالتالي يؤثر على النظر وقد يؤدي الى فقدان البصر التام Blindness، ويتسبب في الامراض الكلوية Nephropathy مما يتسبب في عجز الكلية Kidney failure، وله دور في التأثير على الامراض العصبية سواء المحيطية او المركزية مثل القدم السكري والبتير Amputation الذي قد يؤدي الى زيادة الخطر بالإصابة بمرض وعائي قلبي Cardiovascular وعائي محيطي Peripheral vascular وعائي الشوكي Cerebrovascular يصاحبه حدوث اضطرابات معوية معدية حادة ومزمنة (Cooke و Plotnick، 2008).

يشخص مرض السكر من خلال الاعراض الرئيسية مثل زيادة التبول وشدة العطش ونقصان في الوزن بدون سبب واضح وبطء التئام الجروح وكثرة الالتهابات وكذلك زيادة تركيز سكر الصائم في الدم Fasting plasma glucose (FPG) ونسبته الطبيعية $100 \text{ mg/dl} \leq 5.6 \text{ mmol / L}$ (ADA، 2004) وهو فحص سكر الدم خلال فترة 12 ساعة من عدم تناول المريض لأي شيء وكذلك يزداد سكر الدم خلال ساعتين من تناول الطعام ويعرف (2HPG) والذي تزداد قيمته او تكون مساوية $11.1 \text{ mmol/L} >$ (Haslett، 1999) وتم وضع أسس التشخيص وتنظيم السكر في الدم لأول مرة من قبل Who في عام 1965 م World Health organization بواسطة جمع بيانات مرض السكر الوطنية National Diabetes Data group في سنة 1976 م (NDDG) (Alberts وآخرون، 2002) و تشخيص المرض تم بالاعتماد على قياس تركيز السكر الصائم Fasting plasma glucose وذلك من خلال التشخيص الروتيني و الدراسات الوبائية لمرض السكر وتم تحديد التركيز الاقصى او الحرج Threshold بمقدار 126 mg/dl او 7 mmol / L او السكر العشوائي او غير الصيامي في اي وقت يكون تركيزه الاقصى او الحرج 200 mg/dl او 11.1 mmol / L او إجراء اختبار بعد تناول الطعام بساعتين وتركيزه كحد اعلى 140 mg/dl (ADA، 2012) وعدلت

الجمعية الأمريكية لمرض السكري مبادئها التوجيهية لتشخيص مرض السكري لتشمل الهيموجلوبين السكري

HbA1C وهو اختبار يرتقب تركيزات الجلوكوز في الدم على مدى 3 أشهر (بنسبة 5-6% أو أعلى) International

(Expert Committee، 2009) و الجدول (1-2) يوضح معايير تشخيص مرض السكري حسب منظمة الصحة

العالمية.

جدول (1-2) معايير تشخيص مرض السكري حسب منظمة الصحة العالمية (WHO، 2011).

HbA1C	السكر الصائم	الجلوكوز 2 ساعة	الحالة	2-1-2
%	ملي مول /لتر (ملغم ادل)	ملي مول /لتر (ملغم ادل)	طبيعي	تصنيف مرض السكري :-
6.0>	6.1> (110>)	7.8> (140>)	ضعف نسبة السكر في دم الصائم	Of Diabetes mellitus
6.4-6.0	7.0 and (126>) 6.1≤ (116≤)	7.8> (140>)	ضعف تحمل الجلوكوز	Classifica
6.4-6.0	7.0> (126>)	7.8≤ (140≤)	داء السكري	tion
6.5≤	7.0 (126≤)	11.1≤ (200≤)		الانواع

الرئيسية لداء

السكري هما النمط الاول والنمط الثاني لكن صنف الى 4 أنواع حسب ما جاء في منظمة الصحة العالمية (Who ،

: (2006

1- داء السكري النمط الاول: Type 1 diabetes mellitus (T1DM)

هو من الامراض الوراثية المناعية الذاتية ويكون خطراً يتعرض له الاشخاص في مرحلة الطفولة والمراهقة، والاشخاص المصابون بهذا النوع يعتمدون على حقن الانسولين بشكل تام لهذا يسمى بالسكر المعتمد على الانسولين Insulin dependent diabetes mellitus (Cernea و Herold، 2010) وهناك انواع ثانوية من السكري النمط الاول وهما النمط الاول a يكون بحوالي 90% من نسبة المصابين بالسكر النوع الاول والنمط b حوالي 9% من مرضى السكري النمط الاول (Betterle وآخرون، 1984).

وهناك نوع آخر يصيب الاطفال يسمى MODY يحدث بسبب القصور الوظيفي لخلايا الجزيرات في البنكرياس ويرتبط مع 6 طفرات مختلفة ليس لها علاقة بالمناعة الذاتية ويكون حوالي 1-2 % من مرضى السكري. هذه الانواع تكون متقاربة او متشابهة من حيث الاعراض السريرية ولكن يمكن ان نميز بينها عن طريق الاختبارات الوراثية (Thanaabalasingham و owen، 2011).

2- داء السكر النمط الثاني: Type 2 diabetes mellitus (T2DM)

يعدُّ هذا النوع شائع ويكون حوالي 90-95% من جميع حالات السكري سببه هو عدم استغلال السكر كمصدر للطاقة من قبل جسم المريض بسبب نقص او مقاومة هرمون الانسولين ويشخص بعد فترة طويلة من الاصابة وأعراضه تكون خفيفة وله علاقة وثيقة مع الزيادة بالوزن والعمر وتأريخ العائلة المرضي ولا يعتمد المرضى فيه على الانسولين لذلك يسمى السكر الغير معتمد على الانسولين (Non insulin dependent diabetes mellitus) (ADA، 2008).

3 - سكر الحمل: Gestational diabetes mellitus

يزداد تركيز الكلوكوز خلال مدة الحمل في الاشهر الرابع والخامس والسادس وتكون نسبته عالية اذا تمت مقارنته مع المرأة الغير حامل، لكن هناك نسبة من الخطر خوفاً من تطوره الى السكري النمط الثاني (ADA، 2008).

4 - أنواع متخصصة لمرض السكر Specific types of diabetes

هذه الأنواع لها علاقة بالعوامل الوراثية والمسببات المرضية فأى اضطراب وراثي ممكن ان يؤدي الى ضعف في انتاج الانسولين او تحدث طفرات وراثية لمستقبلات الانسولين فيحدث به زيادة وايضا اصابات او حصول التهاب في غدة البنكرياس قد تسبب مرض داء السكري (ADA ، 2008).

2-1-3 الأمراض Pathogenesis

تمتاز إمرضية النمط الاول لمرض السكري من خلال عبور خلايا وحيدة النواة (monocytes) ، والخلايا للمفاوية التائية المساعدة $ThCD4^+$ ، والخلايا للمفاوية التائية السمية $TcCD8^+$ ، والخلايا البلعمية ، والخلايا القاتلة الطبيعية (NK) وخلايا للمفاوية البائية B cell (Van Bell وآخرون ، 2011) تشارك كل من $CD4^+$ و $CD8^+$ والتشجرات المقدمة لمستضد الذات DC والمفاوية البائية في مهاجمة وتحطيم جزر لانكرهانس في البنكرياس (Insulinitis) وتتساند الخلايا للمفاوية مع الخلايا المهيئة للمستضد في تكوين استجابة مناعية ذاتية للمستضد المستهدف ونتاج هذه الاستجابة خلايا $CD8^+$ السمية لخلايا بيتا وتشارك الخلايا للمفاوية المساعدة في تحفيز الاستجابة للخلايا البائية مما ينتج عن هذا التحفيز انتاج اضرار ذاتية تجاه مستضدات خلايا بيتا (Marino و Gery ، 2008).

تشمل إمرضية السكري النمط الاول ارتشاح للمفاويات التائية $CD4^+$ و $CD8^+$ وتكون اعداد $CD8^+$ اكثر من $CD4^+$ كما توجد الخلايا للمفاوية البائية وقليل من البلاعم ويحصل موت الخلايا المبرمج (apoptosis) تعاني منه خلايا بيتا لجزر لانكرهانس الفارزة للانسولين وقد وجد امتلاكها لجزيئة Fas وامتلاك للمفاويات التائية في حث الموت الخلوي المبرمج وقد تمت الاشارة الى دور فايروس Cocksackie في اصابة خلايا بيتا وحث هذه الخلايا لتفرز انترفيرون الفا الذي يشارك في بدء حث المناعة الذاتية المدمرة لهذه الخلايا (Foulis ، 2008).

في مرحلة تشخيص المرض يتحطم 90 % من خلايا بيتا بعد ذلك تحت المناعة الذاتية بواسطة مستضد خلايا بيتا لتدمير ما تبقى من هذه الخلايا (Pipeleers وآخرون ، 2008) ويمكن للسكري النمط 1 والنمط 2 ان يعبر عنهما في صغار السن فيمتلكون مقاومة الانسولين فضلاً عن وجود مؤشر السكري نوع 1 وهي الاضرار الذاتية تجاه خلايا بيتا

و بالتالي تراكب السكري 1 و 2 في نفس الشخص ويسمى بالسكر الهجين (Hybrid diabetes) (Pozzilli و Guglielmi، 2009).

ترتبط إِمراضية داء السكري بالوسيط $IFN-\gamma$ الذي تقوم بإنتاجه الخلايا التائية المساعدة النوع الاول Th1 أما الوقاية من هذا المرض فترتبط مع خلية Th2 التي تقوم بإنتاج الوسائط من الساييتوكينات مثل (IL-4 و IL-10) (sharif وآخرون 2002 ، Phillips وآخرون ، 2001).

الحركات الخلوية Cytokines لها وظيفة ودور رئيسي في تحفيز او زيادة الاصابة بداء السكري النمط الاول وذلك عن طريق عدة عمليات مباشرة او غير مباشرة تؤدي الى تدمير خلايا بيتا المنتجة للأنسولين ويكون تأثيرها المباشر عن طريق تنشيط الخلايا السمية Cytotoxic T cell اما تأثيرها غير المباشر يكون عن طريق تفعيل ووظيفة الخلايا الموالية الالتهابية Pro inflammatory والخلايا الالتهابية Inflammatory cell وتأخذ الحركات الخلوية دوراً وسيطاً في انتظام الاستجابة المناعية ، وإنتاج هذه الحركات من قبل الخلايا المناعية يعتمد على مؤثرات عدة منها شدة الاصابة infection ووجود الالتهاب inflammation وتأثير الهرمونات (Hormonal effects Daneshamandi وآخرون ، 2008).

2-1-4 الوبائية : - Epidemiology

على الرغم من إمكانية تشخيص مرض السكري من النمط الاول في أي عمر ، إلا أنه من أكثر الامراض المزمنة شيوعا في مرحلة الطفولة (Gale ، 2005) وتتراوح الذروة في المرض بين 5-7 سنوات من العمر وعند سن البلوغ أو بالقرب منه (Harjutsalo وآخرون، 2008).

إن العوامل الوراثية ترتبط بقوة مع النمط الاول من داء السكري، حيث يمكن الاشتباه بأن العوامل البيئية مثل نمط الحياة وتناول السعرات الحرارية وسوء التغذية بالاقتران مع العوامل الوراثية قد تؤثر جميعها في كلا النوعين، ايضاً افترضت العديد من الفرضيات لمحاولة تفسير زيادة النوع الاول لداء السكري ، فقد شملت هذه الفرضيات زيادة في حجم الجسم ، وزيادة في مقاومة الأنسولين (Peng و Hagopian ، 2006). العلماء اقترحوا ايضاً أن زيادة إجهاد خلايا بيتا

عند إلاجهاد النفسي في مرحلة الطفولة والبلوغ حيث يكون إنتاج خلايا بيتا بكميات كثيرة من الأنسولين قد يشكل عامل خطورة لتطور النمط الاول من داء السكري (Ludvigsson ، 2006).

اظهرت العديد من الدراسات الوبائية وجود اختلافات بين شعوب العالم في متوسط الإصابات بداء السكري- النمط الاول في مواقع جغرافية مختلفة، فكانت النسب عالية في الشعوب الاوربية والقوقازية، فقد سجلت معدل 100000/40 سنة و 100000/37.8 سنة، وعلى التوالي (Hasham and Tomer, 2011)، لكن في شعوب الصين وفنزويلا كانت النسب قليلة حيث سجلت معدل 100000/0.1 سنة و 100000/0.4 سنة، وعلى التوالي (Wild) واخرون، 2004)، اما في فلندا فقد اظهرت نسباً عالية جداً، حيث سجلت معدل 100000/64.2 سنة لعام 2005 (Harjutsalo واخرون، 2008)، اما في الولايات المتحدة فقد كان تطور مرض السكري النمط الاول يختلف تبعاً لاختلاف العمر والأصل والعرق والموقع الجغرافي، فقد بينت النتائج للعينات التي تمت دراستها في عام 2003م ضمن المدى العمري من 10-14 سنة عند الأمريكان البيض والذين من أصل إسباني معدل 100000/19.0 سنة، لكن بينت معدلات أقل في الأمريكان السود الذين كانوا من أصل أفريقي، حيث سجلت معدل 100000/15.7 سنة ومقارنة مع القوقازيين حيث سجلت معدل 100000/23.6 سنة ضمن نفس الاعمار (Bell, 2009).

قامت منظمة الصحة العالمية بإصدار دراسة عالمية لداء السكري لمرحلة الطفولة على وجه الخصوص فقد تنبأت بوجود زيادة في نسبة الإصابة بهذا المرض من النمط الاول (Karvonen واخرون، 2000)، ويتوقع أيضاً حصول إزدياد في انتشار مرض السكري- النمط الاول بنسبة ممكن ان تصل الى 2-5% عند الاطفال والاشخاص بمرحلة المراهقة الذين تتراوح اعمارهم الى غاية 18 سنة في الولايات المتحدة (Maahs واخرون، 2010) كما أن هناك دراسات قدرت حصول زيادة في سنة 2025م بالمقارنة مع النسب التي سجلت في سنة 2003م، وتوقعت حدوث زيادة عند الاطفال في قارة آسيا فقد تصل نسبتها الى 91%، لكن في أطفال قارة أوربا فتوقعت حصول زيادة قد تصل نسبتها الى 16%، اما أطفال قارة أفريقيا فقد توقعت انه هناك زيادة كبيرة بالمرض قد تصل نسبتها الى 98%، في حين انخفضت توقعات الإصابة في أطفال قارتي أستراليا وقارة أمريكا الشمالية لكي تصل نسبتها الى 59% في كل من القارتين، في حين بينت النتائج توقع حصول زيادة كبيرة بالإصابة بهذا المرض في أطفال قارة أمريكا الجنوبية قد تصل

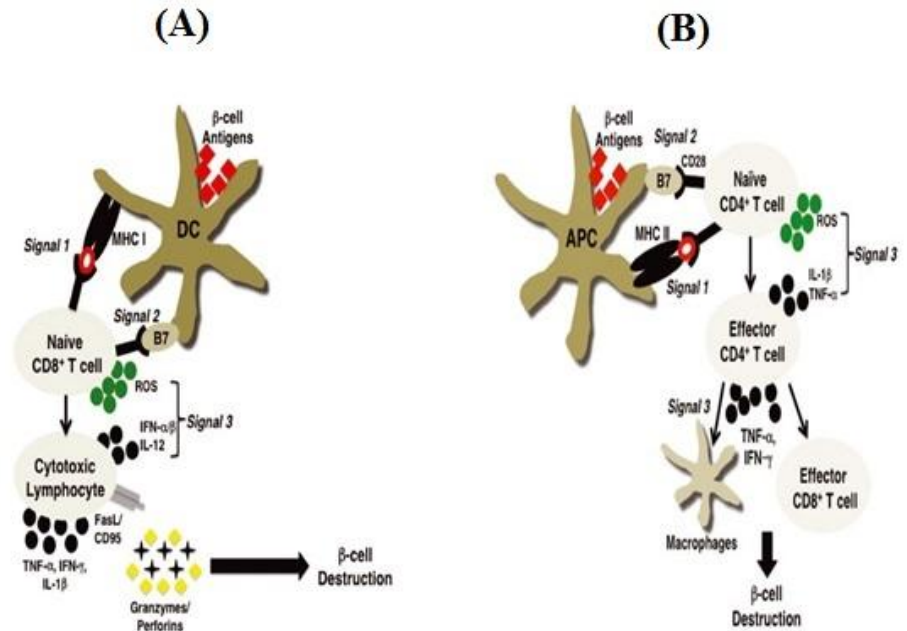
نسبتها الى 97% (Richard، 2004). أما بالنسبة للنسب في الدول العربية فقد تباينت بين العالية والمنخفضة، حيث بينت دراسة على أطفال البلدان العربية اختلافاً ملحوظاً في عام 2000م ضمن الاعمار من 0-15 سنة، فقد تم تسجيل أعلى معدل في مصر حيث بلغ 36.4/100000/سنة، بينما انخفضت النتائج في سوريا وسجلت معدل 18.4/100000/سنة، وبالنسبة للجزائر فقد سجل معدل 27.3/100000/سنة، أما بالنسبة لأطفال العراق فقد سجل معدل أقل من ذلك حيث بلغ 14.2/100000/سنة، وفي السعودية تم تسجيل معدل 10.9/100000/سنة، بينما أقل نسبة قد تم تسجيلها في الصومال وقطر والبحرين وبمعدل 0.1 و 0.4 و 0.5/100000/سنة على التوالي (Abdullah، 2005).

تبين البيانات أن 400 منطقة مختلفة ومتغيرة من دول العالم يكون حدوث مرض السكر - النمط الاول فيها بشكل مغلق في شعوبها وهذه التغيرات هي غير شائعة للمرض، مما يعني ان التغير يكون مرتبطاً مع توزيع التكرارات للآليات في المجتمعات التي تمتلك استعداداً للإصابة بمرض السكري - النوع الاول (Wild وآخرون، 2004)، اما في العراق، ففي عام 1979 كان معدل انتشار المرض بنسبة 4.8 % في سكان الريف العراقي (Fouad و آخرون ، 1979)، وسجل معدل انتشار النمط الاول لداء السكري في عام 1994 بحدود 230 / 100000 حالة من السكان (WHO، 2006) أما في عام 2007 فكان معدل انتشار المرض 22 / 1000، إذ كان الانتشار اكثر في المناطق الحضرية من المناطق الريفية (25 و 16 / 1000 على التوالي). في المركز مقارنة بالجنوب لكردستان العراق كانت (23 و 14 / 1000 على التوالي) (IFHS، 2007) وهذه النسب قد تتزايد نتيجة لارتباط مرض السكري بالعديد من العوامل مثل تدني نوعية الحياة المتعلقة بالصحة النفسية والجسدية والوظائف الاجتماعية او الاستعداد الوراثي للأشخاص الذين سيصابون بالمرض واعتبار هذا المرض مشكلة صحية عامة (AL- Tukmagi و Moussa ، 2014) .

2-2 المناعة الخلوية في مرض السكر النمط الاول Cellular immunity in T1DM

هي المناعة التي تتوسطها الخلايا للمفاوية الفعالة ذاتيا ولها دور واضح في تطور هذا المرض (Morran وآخرون، 2008)، والزيادة في استجابة T cell الفعالة ذاتياً او النشطة للمستضد الذاتي تشخص بصورة مبكرة في المرضى المصابين بالسكر النمط الاول (Stadinski وآخرون، 2010).

تتمثل الآلية المرضية لداء السكري في تحطم خلايا بيتا البنكرياسية مسببة بذلك التهاب الجزيرات المزمن Chronic insulinitis (Pedicino وآخرون، 2013) وفي أول ظهور للإصابة للأشخاص المصابين بداء السكري تظهر لديهم خلايا T cell النشطة ذاتياً ضد خلايا الجزيرات في غدة البنكرياس وتكون على قسمين وهما $CD8^+$ T cell و $CD4^+$ T cell (Faustman و Davis، 2009) كما في الشكل (1-2)، وتسمى الخلايا السمية Cytotoxic cell بالخلايا $CD8^+$ T ويكون لها الدور الأكبر في حصول وتطور هذا المرض وتكون هذه الخلايا نشطة أو توجه ضد مستضدات خلايا بيتا وتقوم بتحفيز الخلايا الدفاعية مثل (Monocytes و Macrophages و Neutrophil) والتي تهاجم خلايا بيتا. و تقوم أيضاً بإفراز وسائط سمية ضد خلايا بيتا مثل الحركات الخلوية التي تتمثل ب $IFN \gamma$ و $TNF\alpha$ و IL-1 (Bach، 1994) عندما تظهر خلايا T للمفاوية ضد خلايا بيتا فإنها تقيد وتنشط بصورة طبيعية بواسطة آليات التنظيم المناعي والتحمل المناعي وتحدث الإصابة بالمرض من فشل الآلية أو أكثر من آليات التنظيم المناعي وتسمح للخلايا T أن توجه ضد خلايا بيتا وتسبب تحطيمها ويظهر المرض. (Rabinovitch و pinzon، 1998).



الشكل (1-2): - الآلية التي تتوسطها المناعة الذاتية في تحطيم خلايا بيتا في البنكرياس

A: التحطيم المباشر لخلايا بيتا B: التحطيم غير المباشر (Padgett وآخرون ، 2013)

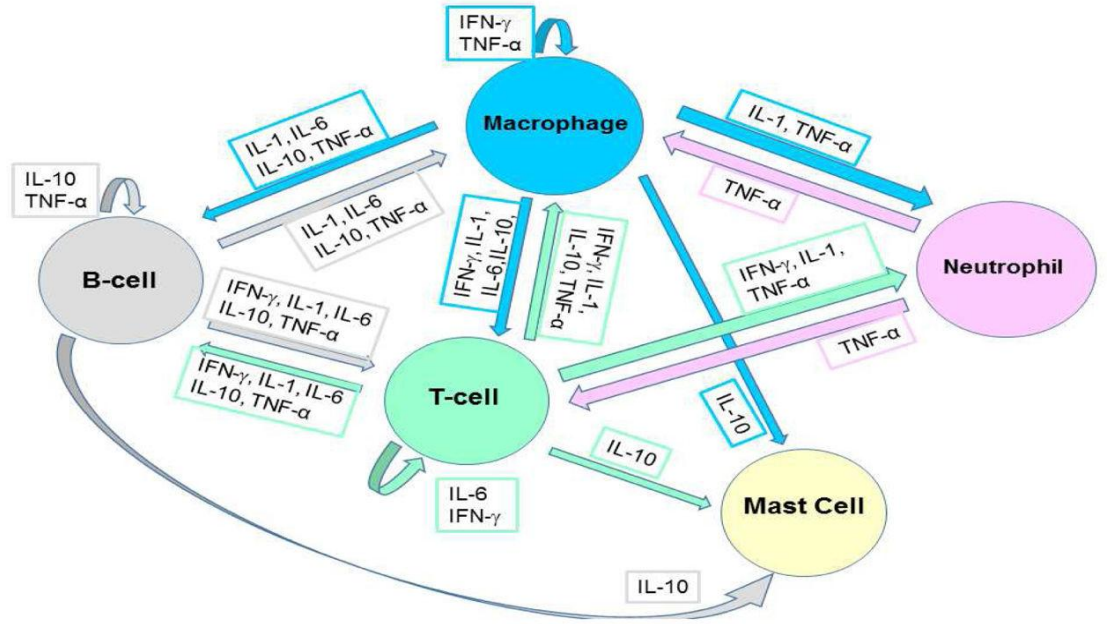
2-3 دور الحركيات الخلوية في داء السكري النمط الأول Role of cytokines in T1DM

الحركيات الخلوية و الحركيات الخلوية الجاذبة الكيمائية المعروفة باسم chemokines هي بروتينات قابلة للذوبان، الى حد كبير تنتج بواسطة العديد من الخلايا في الجهاز المناعي مثل الخلايا العدلة Neutrophils والوحيدات Monocytes والبلعمية Macrophages وخلايا B cell والخلايا التائية للتنظيم الاستجابة المناعية (Dinarello ، 2007)، هذه البروتينات منتشرة على نطاق واسع في الثدييات تم اكتشافها في الفئريات (Beschin وآخرون، 2001) .

وهناك عدد من العوامل المختلفة من بروتينات الحركيات الخلوية وعدد من البروتينات المحددة او المشخصة على سبيل المثال يتم تصنيف عائلة البين الابيضاضي في ترتيب عددي الى IL-38 وعوائل أخرى تتضمن وصف النشاط الوظيفي مثل عائلة نخر الورم tumor necrosis family (TNF) مصدر الحركيات الخلوية تختلف ليس فقط في الوظيفة ولكن أيضا لديها مجموعة واسعة من الوزن الجزيئي يتراوح ما يقرب من (6 – 70) كيلو دالتون KDa.

الحركيات الخلوية بمثابة وسائط لها دور في تنظيم الاستجابة المناعية وتطوير مكونات الدم والاتصالات من خلية الى خلية وكذلك ردود المضيف للعوامل المعدية او الاصابة والمحفزات الالتهابية (Lefkowitz و Lefkowitz، 2001) ، وتتفاعل مع بعضها البعض بشكل معقد قد تكون مضافة التآزر او التضاد او قد تتطوي او مسؤولة عن تحريض او تحفيز سايتوكين واحد من قبل آخر والحركيات الخلوية هي Pleiotropy متعددة الاستجابة مما يشير الى قدرتها على معالجة اهداف متعددة والآثار الفسيولوجية كما في الشكل (2-2):

Abbreviated Example of the Cytokine Network



الشكل (2-2) شبكة الحركات الخلوية تسلط الضوء على الاتصالات الجزيئية بين انواع الخلايا المختلفة في الجهاز المناعي . (Schmitz واخرون ، 2011).

يرتبط مصطلح تكرار الحركات الخلوية Cytokine redundancy مع الحركي الخلوي متعدد الاستجابة وهي سمة مشتركة مع بعض الحركات الخلوية (Gordon واخرون ، 1992). الاثار الفسيولوجية للساييتوكينات غالباً ما تعتمد على تركيزات نسبية من ساييتوكينات عدة (Wakita واخرون ، 2001) وهذا يوضح اهمية الاعتراف بأن الساييتوكينات تؤثر على فلسجة الأعضاء عبر الشبكات الشكل (2-2) (Schmitz واخرون ، 2011).

تشير التراكيز المرتفعة من الحركات الخلوية الى تفعيل مسارات الحركات الخلوية المرتبطة بالالتهاب أو تطور المرض (Dinarello ، 2000)، لهذا السبب تكون قياسات الحركات الخلوية مهمة، كما يتم استخدام هذه البروتينات على نطاق واسع، كما أن المؤشرات الحيوية مهمة لفهم وتنبؤ وتطور المرض ورصد آثار العلاج (Bienvenu واخرون ، 2000).

الحركات الخلوية هي المؤشرات الحيوية للأمراض الالتهابية وتقريباً في كل نوع من انواع الامرض قد تشارك الحركات الخلوية فيما بعد وتعتبر المؤشرات الحيوية المحتملة.

1-3-2 البين الابيضاضي السابع عشر: IL- 17

هو احد مجاميع الحركيات الخلوية وهو عبارة عن بروتين سكري مؤلف من (155 amino acid) وزنه الجزيئي يتراوح بين 5 – 20 KDa كيلو دالتون. الخلايا التائية المساعدة (Th17) هي التي تنتج هذا الحركي الخلوي وهو يقوم أساساً بحث إنتاج خلايا $CD4^+$ Th و إنتاج حركيات مبدئة لإلتهابات أخرى ويحث على تمايز الخلايا المكونة للدم (Curfs وآخرون، 1997).

يعتبر من الحركيات الخلوية الذي تم وصفه حديثاً وصنف الى 6 حركيات أخرى تبدأ من IL- 17A – IL- 17F وصنف له 5 مستقبلات هي IL-17RA – IL-17RE (Kawaguchi وآخرون، 2004 ؛ Kolls و linden، 2004).

النوع A من IL-17 و IL-17 من النوع F مسؤولة عن الفعالية المرضية Pathogenic activity للخلايا التائية المساعدة الفعالة Th (Dong، 2008)، أيضاً IL-17 من نوع A يملك فعالية في حث خلايا $CD4^+$ Tcell لإنتاج IL- 2 وتحفيز الخلايا التائية على الانقسام، وتبرز أهميته من خلال ما يؤثر على الاستجابة المناعية ويحفز الخلايا البلعمية Macrophages والخلايا العدلة Neutrophils على إنتاج الحركيات البادئة للإلتهاب (Gaffen، 2009).

الحركيات الخلوية IL-17A – IL- 17F يكون دورها البيولوجي في تحطم خلايا بيتا عند بداية الإصابة ويحث زيادة في إستجابة خلايا بيتا في البنكرياس ويزيد من فعالية الخلايا التشجيرية والبلعمية وخلايا T الفعالة على إفراز الحركيات الخلوية الالتهابية مثل IL-1B و $TNF\alpha$ و $IFN\gamma$ التي تعمل على الخلايا المناعية مسببة موت خلايا بيتا (Jin و Dong، 2013) وقد أعتبر السبب في (T1DM) هو إنهيار أو قلة التحمل المناعي (immunologic tolerance) نحو مستضدات خلايا بيتا المناعية.

يعد التحمل المناعي ظاهرة رئيسية وهو التحمل المركزي والمحيطي حيث التحمل المحيطي مؤشر التوازن النهائي بين خلايا T المؤثرة والخلايا T المنظمة. وقد ارتبطت عيوب في إستقطاب خلايا T وتنظيم جهاز المناعة مع

(T1DM) في أبحاث الخلايا T ليس فقط التوازن بين خلية مؤثرة ومنظمة ولكن أيضا دور المناعة الذاتية والتحمل (Zhou وآخرون، 2009 ; Bending وآخرون، 2009)، كان لاكتشاف هذه الخلايا Th17 أثر رئيسي في فهم العمليات المناعية عن طريق (Th1 وTh2) وتشارك خلايا (Th17) في تعزيز المناعة الذاتية (Steinman، 2007) وجزئياً في التهاب المفاصل الروماتويدي rheumatoid arthritis (Chen وآخرون، 2003) التهاب الدماغ والنخاع multiple experimental autoimmune encephalomyelitis (Cua وآخرون، 2003) والتصلب المتعدد sclerosis (Tzartos وآخرون، 2008).

مع ذلك زيادة إنتاج IL-17 يؤثر على تنشيط الخلايا التائية التي لم تظهر إلا في الخلايا التائية T-cell للدم المحيطي من المرضى الذين يعانون من الإصابة طويلة الأمد ولكن ليس في المرضى الذين يعانون من (T1DM) المصابين حديثاً (Bradshaw وآخرون، 2009).

2-3-2 البين الابيضاضي الحادي والعشرون: IL-21

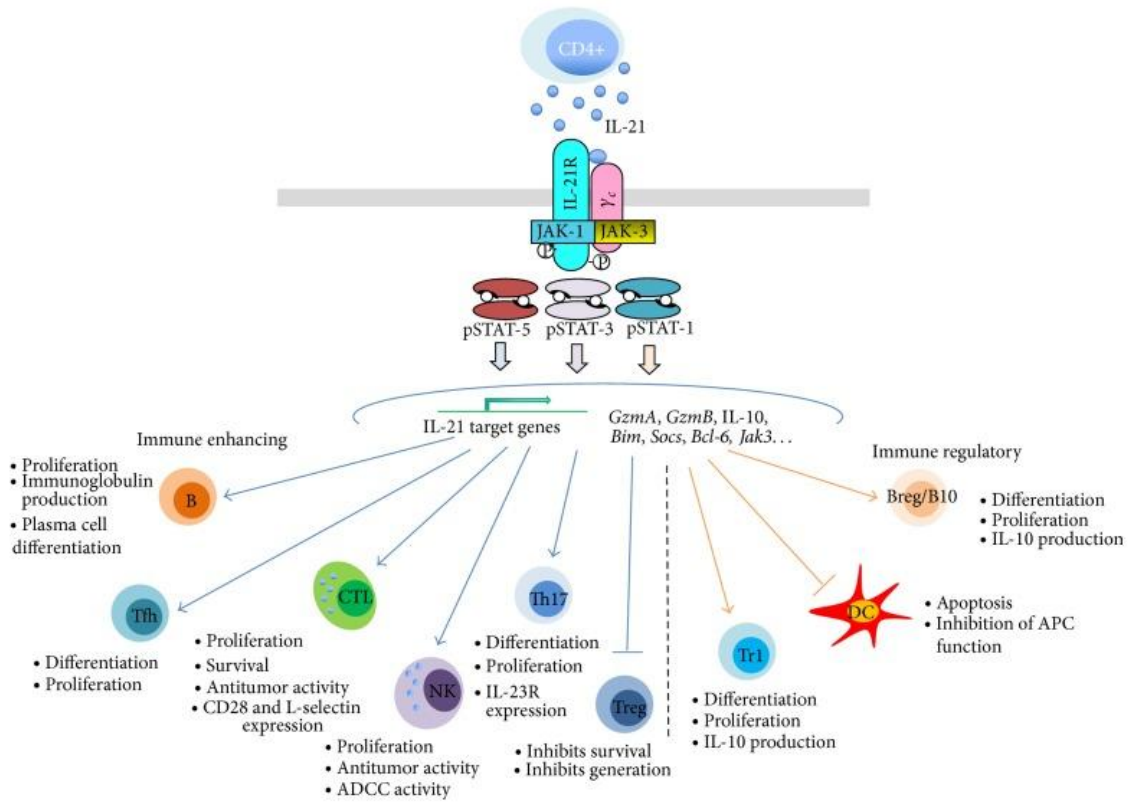
هو البين الابيضاضي المتعدد المظاهر ينظم وينشط كل من المناعة الفطرية والمتخصصة Innate and adaptive immunity. وفي الواقع يساعد الخلايا التائية والقاتلة الطبيعية NK والتماييز والوظيفة والتنظيم بالإضافة لحيوية وبقاء الخلايا البائية وتماييزها وكذلك التأثير على وظيفة الخلايا الشجرية Dendrite cell. تم التعرف على الحركي الخلوي IL-21 حيث تم اكتشافه في عام 2000 وينتج من الخلايا التائية المساعدة $CD4^{+}$ ويرتبط مع المستقبلات العائدة الى مجموعة IL-2RB وتعرف الان بأسم IL-21R (Ozaki وآخرون، 2000؛ Parrish-Novak وآخرون، 2000).

الحركي الخلوي IL-21 يُعتبر من عائلة الحركيات الخلوية التي تتشارك بسلسلة كما في المستقبلات المعقدة والتي تضم IL-2 وIL-4 وIL-9 وIL-7 وIL-15 (Rochman وآخرون، 2009؛ Meazza وآخرون، 2011) هذه الحركيات الخلوية تتشابه تركيبياً. إذ تتكون من حزمة رباعية الحلزون ووظيفياً لها دور في تكرار التوافق وتنظيم التوازن الدموي للجهاز اللمفاوي على الرغم من ان لكل عضو وظيفة محددة.

يرتبط IL-21 بميولية عالية التقارب مع مستقبلات ذات الفة معقدة التي تشكلت أو تكونت بواسطة سلسلة IL-21R بتشغيل مسارات مختلفة من خلال إعطاء مجموعة من إشارات داخلية ناقلة بمنطقة كاما، الامر الذي يؤدي الى التنظيم النسخي لمجموعة من الجينات (Spolski و Leonard، 2014) ويسهم IL-21 في توسيع فعالية خلايا Th17 التي تعمل بالتنسيق مع الحركيات الخلوية الاخرى، وهي مجموعة فرعية من الخلايا الالتهابية التي يسببها او تحت بواسطة عامل النمو الناقل B (TGF) والبيتا الالبيضاوي IL-6. والتي تنتج IL-17 ايضاً وكذلك IL-21 (Nurieva وآخرون، 2007؛ Wei وآخرون، 2007) على الرغم من أن IL-21 ليس ضرورياً لتحريض الخلية Th17 إلا أنه يحفز توسيع الخلايا Th17 بواسطة تحفيز التعبير عن IL-23R واستجابتها لهذا الحركي الخلوي (Nurieva وآخرون، 2007؛ Zhou وآخرون، 2007).

يتمثل دور IL-21 في استجابة خلايا Th17 ، ويؤدي دوراً مشارك في العديد من الاضطرابات الالتهابية (Spolski و Leonard ، 2014 ؛ diFusco وآخرون ، 2014) وعلى سبيل المثال Th17 و Th1 تنتج IL-21 في الامعاء من المرضى الذين يعانون من مرض كرون والتهاب القولون التقرحي (Monteleone وآخرون ، 2005 ؛ Sarra وآخرون ، 2010) .

يتمثل دور IL-21 في التنظيم المناعي حيث ان IL-21 يحفز كل من المناعة الفطرية والمكتسبة ولكن من ناحية اخرى فإنه يمكن ايضاً توسط الآثار التنظيمية السلبية على الخلايا اللمفاوية والخلايا النخاعية وبشكل عام تأثير IL-21 على التنظيم المناعي متعدد الأوجه كما إنه ينشط البعض من المسارات التنظيمية المناعية في حين يثبط الاخرى (Ghoreschi وآخرون، 2009) كما في الشكل (2-3):



الشكل (2-3) تمثيل تخطيطي لمسارات الاشارات IL-21 والآثار البيولوجية الرئيسية على الخلايا المستهدفة المختلفة

(Ghoreschi وآخرون، 2009)

ثبت أن لعدد قليل من البروتينات الالتهابية أثرها الحاسم في تطور مرض السكري من النمط الاول في نموذج الفأر، واحدة منها IL-21. ففي عام 2008 قام Spolski وآخرون عام 2008 بتوضيح الوقاية شبه الكاملة من إلتهاب الأنف والسكري في IL-21R ناقصة في نموذج الفئران المرتبطة مع انخفاض أعداد ووظيفة خلايا Th17 المتسببة في تطوير مرض السكري من النمط الاول (Honkanen وآخرون، 2010)، كذلك زيادة التعبير عن الجينات المتجددة في خلايا بيتا. ومن المثير للاهتمام كانت أرقام الخلايا التائية والنشاط التنظيمي للخلايا التائية وإنتاج الحركات الخلوية الطبيعية في هذه الفئران، مما يشير إلى أن التأثير لم يكن نتيجة لكبت المناعة العامة، كما يمكن أن يتوقع من الآثار في المختبر من IL-21 (Parrish-Novak وآخرون، 2000).

تم تأكيد هذه النتائج وتوسيعها من قبل Sutherland وآخرون (Sutherland وآخرون، 2009) في عام 2009، حيث أظهروا أن زيادة التعبير لخلية β من IL-21 تسببه الحركات الخلوية الالتهابية والجاذبات الكيميائية المحفزة، والتهاب الانسولين، وتدمير الخلايا بيتا والسكري في الفئران المصابة.

2-4 الخلايا التائية المساعدة والخلايا التائية السمية: T-helper cells and toxic T cells

الخلايا التائية T cell تشكل مجموعة من الخلايا اللمفية الموجودة بالدم وهي تلعب دوراً أساسياً في المناعة الخلوية cell-mediated-Immunity, الخلايا التائية مع الخلايا البائية تشكلان معاً المناعة المكتسبة . وسميت بالخلايا التائية نسبة إلى مكان نضوجها في الغدة الزعترية Thymus وينضج بعضها في اللوزتين بعد هجرتها من نخاع العظام ، وتتطور الخلية التائية في الغدة الزعترية منتجة عدة أنواع من الخلايا التائية ، وجميعها يعتبر من الخلايا للمفاوية (Marino و Grey، 2008).

هي الخلايا التي تتوسط المناعة الخلوية تبدأ الاستجابة الخلوية بتعرف الخلايا البلعمية على المستضد وتبتلعه ومن بعد ذلك تحلله بواسطة Lysozyme التي تحررها الاجسام الحالة حيث تنفصل المستضدات وترتبط مع بروتين التوافق النسيجي MHC حيث تكون معقدات يسمى مستضدات بروتين التوافق النسيجي ويتم عرض هذا المعقد على سطح الخلايا البلعمية حتى تتعرف عليه الخلايا التائية المساعدة Th, تتعرف الخلايا التائية المساعدة على الخلايا البلعمية الكبيرة وترتبط مع مستضد بروتين التوافق النسيجي من خلال المستقبل $CD4^{+}$ الموجود على سطح الخلايا التائية المساعدة وسوف تفرز الخلايا البلعمية الكبير العارضة مادة بروتينية تسمى الانترلوكينات لتنشط بها الخلايا التائية المساعدة فتصبح خلايا تائية مساعدة منشطة وتفرز هذه الخلايا الانترلوكينات لتنشط غيرها من الخلايا التائية المساعدة وهذه الخلايا المنشطة تنقسم الى خلايا تائية مساعدة منشطة وخلايا تائية مساعدة ذاكرة كما تفرز ايضاً عدة انواع من بروتينات تسمى الحركات الخلوية هذه البروتينات تنشط الخلايا التائية القاتلة السامة والخلايا البائية وزالخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا القاتلة الطبيعية NK (Padgett وآخرون، 2013).

تتعرض بعض خلايا الجسم احياناً لنوع ما من الفيروسات التي تتجح بالدخول للخلية وتنفصل مستضدات هذا الفيروس ليرتبط مع بروتين التوافق النسيجي للخلية المصابة مكوناً معقد مستضد بروتين التوافق النسيجي والتي تعرضه الخلية المصابة على سطحها لكي تتعرف عليها الخلايا التائية السامة او القاتلة المنشطة تتعرف الخلايا التائية السامة على الخلايا المصابة بالفيروس او الخلايا السرطانية والتعرف يتم خلال المستقبل $CD8^{+}$ المتواجد على سطح الخلايا التائية السامة وترتبط من خلاله مع معقد مستضد بروتين التوافق النسيجي الموجود على سطح خلايا الجسم المصابة

بالفيروس او الخلايا السرطانية تفرز الخلايا التائية السامة بروتينات وسموم لمفاوية على الخلايا المصابة بالفيروس او السرطانية فيتم تثقيب غشائها وتدمير نواتها بالسموم للمفاوية(Davis واخرون ، 2003).

مستقبلات الخلية التائية T cell receptor (TCR) هي جزيء يوجد على سطح خلية تائية ومسؤولة عن التعرف على مستضد يعرضه لها معقد التوافق النسيجي الكبير (MHC). يكون الترابط بين مستقبل الخلية تي والمستضد ضعيفاً ، أي أن مستقبلات كثيرة للخلية التائية يمكنها التعرف على هذا المستضد نفسه وعلى عدد كبير منها أيضاً .

يحدد تنشيط مستقبل خلية T التطور التالي للخلية ،فإذا تحول إلى خلية تائية مساعدة أو إلى خلية تائية قاتلة مما يؤدي إلى إفراز حركات خلوية يمكنها القضاء على خلية الجسم المصابة بالمستضد وتدميرها (Zhu واخرون ،2010) .

تشير البيانات الى أن خلايا Th17 تؤدي دوراً هاماً في الدفاع عن المضيف ضد التهابات الميكروبات وفي التسبب في أمراض المناعة الذاتية مثل مرض السكري النمط الاول والتهاب الدماغ والنخاع المناعي الذاتي (Peck و Mellins، 2010).

في مرض السكر النمط الاول T1DM تم توضيح مسؤولية الخلايا $CD8^{+}T$ في أمراضية السكر النمط الاول ويتميز مسبب مرض السكر النمط الاول T1DM بتدمير المناعة الذاتية في الجزر المنتجة للأنسولين لخلايا بيتا في البنكرياس (Barker و Taplin، 2008).

المستضد المتخصص antigenspecific تم العثور عليه في خلايا $CD8^{+}T$ في الدم المحيطي للمرضى T1DM (Di Lorenzo واخرون ،2007).

هناك دراسات في نموذج الفأر المصاب بمرض السكر النمط الاول قد اشارت الى ان $CD8^{+}T$ تحدث الاضرار التي لحقت بجزيرة خلايا بيتا على حد سواء في مرحلة مبكرة في تطوير مرض السكر وفي المرحلة النهائية مرحلة الاستجابة للمرض (Wang واخرون ، 1996).

على العكس من ذلك هناك بعض الأدلة الأولية التي تبين ان خلايا Th17 يمكن اعتبارها عاملاً مساهماً في المسبب للمرض في عملية حدوث السكري T1DM، على سبيل المثال فقد وجد IL-17 معبراً عنه في البنكرياس في T1DM لنموذج الفأر (Vukkadapu وآخرون، 2005)، وإن الحد من خلايا Th17 مع تنشيط $IFN\gamma$ يؤدي الى إنتاج IL-17 واستعادة الـ Normoglycemia في مرحلة الطفولة Prediabetic (Jain وآخرون ، 2008) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

MATERIALS AND METHODES

3-المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1-3 المواد . Materials

1-1-3 الأجهزة المستخدمة . Instruments

استخدم في هذه الدراسة كل من الاجهزة المبينة في الجدول(1-3).

جدول (1-3) قائمة بالأجهزة المستخدمة :-

الاجهزة	المنشأ	الشركة المصنعة
الحاضنة Incubator COMBI wash	المانيا	Human
جهاز الطرد المركزي Centrifuge	المانيا	Hettich
جهاز الغسل COMBI wash	المانيا	Human
جهاز القراءة Elisa Human Reader HS	المانيا	Human
مجمدة Deep freeze- 20°C	تركيا	Beco

2-1-3 العدة المختبرية Laboratory kit

استخدم في هذه الدراسة كل من المواد الاتية الموضحة بالجدول(2-3).

جدول (2-3) قائمة بالعدة المختبرية المستخدمة :-

العدة المختبرية	المنشأ	الشركة المصنعة
Human Interleukin 17 (IL-17) ELISA Kit	الصين	Shanghai
Human Interleukin 21 (IL-21) ELISA Kit	الصين	Shanghai
Human Cluster Of differentiation 4 (CD4) ELISA Kit	الصين	Shanghai
Human cluster Of differentiation 8 (CD8) ELISA Kit	الصين	Shanghai

1-3

3-

الادوات المستخدمة Equipments

استخدم في هذه الدراسة كل من الادوات المبينة في الجدول رقم (3-3).

جدول(3-3) الادوات المستخدمة :-

الادوات	المنشأ	الشركة المصنعة
Cold rack box	امريكا	Biobasic
Pipette tips	امريكا	Sterillin
انابيب صغيرة Eppendorf tubes	المانيا	Grenier
انابيب اختبار Test tubes	المانيا	Labcco
اوراق ترشيح Filter papers	المانيا	Seweiehes schuell
تورنكا Tourniquet	سوريا	Medicd lect
حامل انابيب Rack tube	كوري	Bioneer
ساعة توقيت stop watch	المانيا	Termaks
ماصة دقيقة Micro pipette	فلنده	Biokit
ماصة مدرجة Graduate pipette	فرنسا	Gelson
محقنة طبية Plastic disposable syringes 5 ml	صيني	Meheco

2-3 طرائق العمل

1-2-3 جمع العينات Collection of Samples

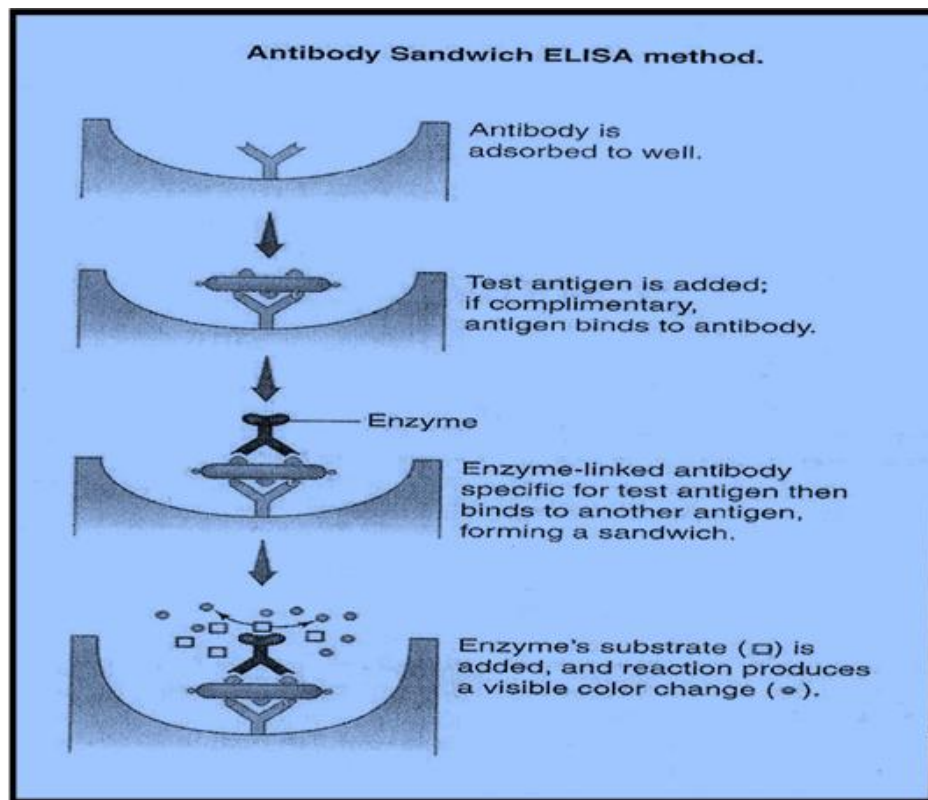
اجريت هذه الدراسة للفترة من 2016/10/17 الى 2017/5/17، اذ جمعت (70) عينة من الدم لمرضى السكري النمط الاول T1DM بعد التشخيص من قبل الطبيب الاختصاصي في وحدة السكري في مستشفى البتول للولادة والاطفال في محافظة ديالى وحسب المعايير المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية لتشخيص مرض السكري النوع الاول T1DM (WHO ، 2011)، أذ كان عدد الذكور (39) وعدد الاناث (31) ، كما تم جمع (20) عينة من دم اشخاص اصحاء ظاهرياً من كلا الجنسين واستخدمت بوصفها مجموعة سيطرة، وكان عدد الذكور (16) وعدد الاناث (4) ، ولم يكونوا يعانون من اي مرض مزمن او حاد حسب الاستمارة الاستبائية. اذ جمعت العينات عن طريق سحب الدم الوريدي ، حيث تم سحب (5مل) من الدم عن طريق استخدام محاقن طبية بلاستيكية وتم وضع الدم المسحوب في انابيب اختبار وتركها لمدة (30) دقيقة في درجة حرارة الغرفة للتخثر ، ثم فصلت الامصال بواسطة جهاز الطرد المركزي

لمدة (5) دقائق وبمعدل (3000 دورة / دقيقة) و تم تقسيم المصل الى كميات متساوية (250) مايكرو لتر في انابيب صغيرة (Eppendroff) وتخزينها في درجة حرارة (20 - °C) لحين الاستخدام ، وقد تم استخدام كل قسم من المصل المحفوظ مرة واحدة لتجنب تكرار الذوبان والتجمد للنموذج .

2-2-3 الطرق المختبرية Laboratory Methods

1-2-2-3 قياس مستوى الحركيات الخلوية IL-17 و IL-21 و CD4⁺ و CD8⁺ في المصل

ان مستوى الحركيات الخلوية تم تحديدها كميأً باستخدام اختبار الادمصاص للأضداد المناعية المرتبط بالأنزيم (Sandwich ELISA test) ل (90) شخص . (70) شخص من مرضى سكري النمط الاول T1D . و (20) شخص من الاشخاص الاصحاء وحسب التعليمات الواردة في عدة الفحص المصنوعة في شركة (shanghai) ومبادئ الاختبار مبينة في الشكل (1-3):-



شكل (1-3) مبدأ اختبار طريقة شطيرة الاليزا (Talaro ، 2005) .

3-2-2-1 تحديد مستوى $IL-17, IL-21, CD4^+, CD8^+$ في المصل

أ- مبدأ عمل الاختبار Test principle

يستخدم هذا الاختبار كمية من الانزيمات الجاهزة وحسب تقنية Immuno assay أذ تم استخدام اختبار الادمصاص للأضداد المناعية المرتبط بالأنزيم (Sandwich ELISA test) لتقدير مستوى $IL-17$ ، أذ تم إضافة $IL-17$ للحر التي كانت معلمة سابقا بالأجسام المضادة الاحادية لـ $IL-17$ وبعدها تم حضنها وبعد عملية الحضانة، تتم إضافة anti $IL-17$ antibodies المعلمة بالبايوتين biotin ليرتبط مع streptavidin-HRP الذي يؤدي إلى تكوين المعقد المناعي. بعد عملية الحضانة، أُزيلت الانزيمات غير المرتبطة وغسل الطبق وتم إضافة المادة الاساس A و B وبالتالي تحول المحلول من اللون الازرق الى اللون الاصفر بتأثير الحامض وتم حساب امتصاصية المحاليل و امتصاصية العينات ثم حساب تراكيز العينات لـ $IL-17$ (Beutler وآخرون، 1985).

ونفس مبدأ العمل ينطبق على باقي المؤشرات التي تم قياسها في هذه الدراسة وهي ($IL-21$) و جزيئات الخلايا ($CD4^+$) و $CD8^+$ الذائبة والتي من خلالها يمكن الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة T-helper cells والخلايا التائية السُمية (T-cytotoxic cells) باختلاف البايوتين biotin وبقية المواد المجهزة مع العدة التشخيصية لكل واحد.

ب- طريقة العمل :- $IL-17, IL-21, CD4^+, CD8^+$ Procedure

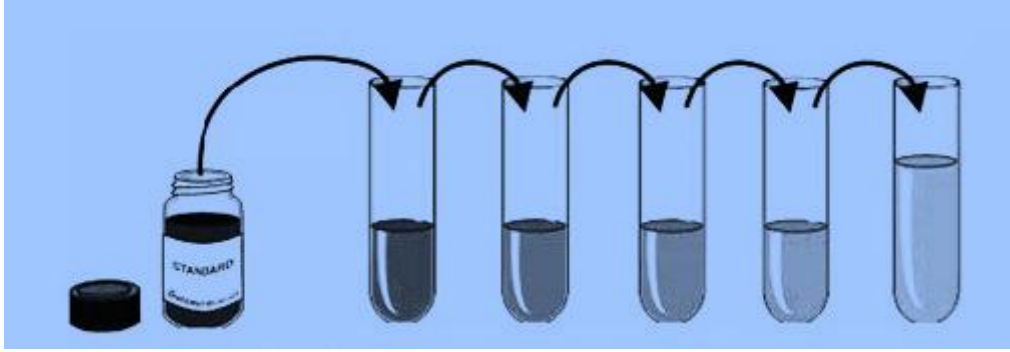
1- تحضير المحاليل القياسية :- Preparation of standard solutions

-أجري تخفيف للمحلول القياسي لـ ($IL-17$) المجهز مع العدة التشخيصية من خلال سلسلة تخفيفات بعدد (5) كما

مبين ادناه:-

320ng/L	Standard No.5	120μl Original Standard + 120μl Standard diluents
160ng/L	Standard No.4	120μl Standard No.5 + 120μl Standard diluents
80ng/L	Standard No.3	120μl Standard No.4 + 120μl Standard diluent
40ng/L	Standard No.2	120μl Standard No.3 + 120μl Standard diluent

20ng/L	Standard No.1	120μl Standard No.2 + 120μl Standard diluent
--------	---------------	--

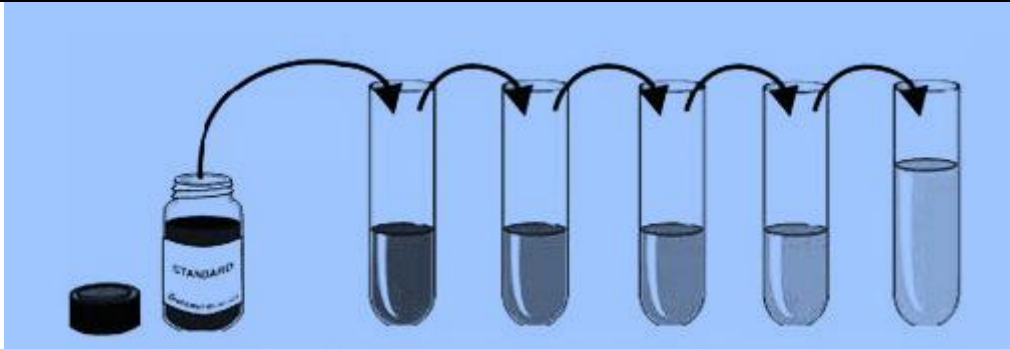


Standard solution No.5 No.4 No.3 No.2 No.1

-أجري تخفيف للمحلول القياسي لل(IL-21) المجهر مع العدة التشخيصية من خلال سلسلة تخفيفات بعدد (5) كما

مبين ادناه:-

800ng/L	Standard No.5	120μl Original Standard + 120μl Standard diluents
400ng/L	Standard No.4	120μl Standard No.5 + 120μl Standard diluents
200ng/L	Standard No.3	120μl Standard No.4 + 120μl Standard diluent
100ng/L	Standard No.2	120μl Standard No.3 + 120μl Standard diluent
50ng/L	Standard No.1	120μl Standard No.2 + 120μl Standard diluent

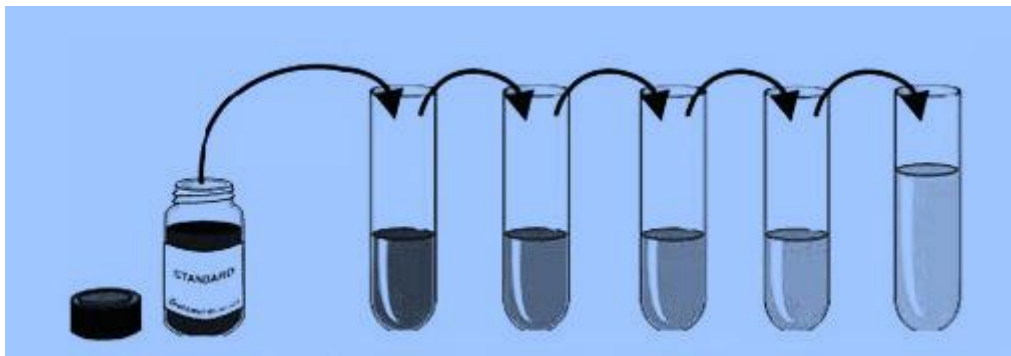


Standard solution No.5 No.4 No.3 No.2 No.1

-أجري تخفيف للمحلول القياسي لل($CD4^+$) المجهر مع العدة التشخيصية من خلال سلسلة تخفيفات بعدد (5) كما

مبين ادناه:-

16ng/ml	Standard No.5	120μl Original Standard + 120μl Standard diluents
8ng/ml	Standard No.4	120μl Standard No.5 + 120μl Standard diluents
4ng/ml	Standard No.3	120μl Standard No.4 + 120μl Standard diluent
2ng/ml	Standard No.2	120μl Standard No.3 + 120μl Standard diluent
1ng/ml	Standard No.1	120μl Standard No.2 + 120μl Standard diluent

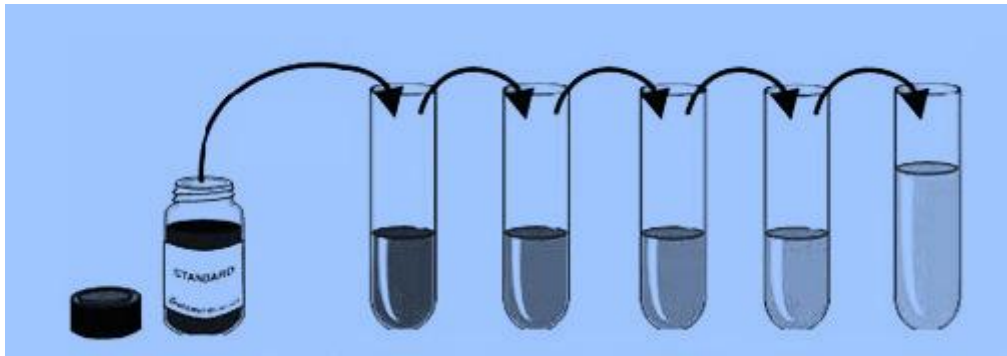


Standard solution No.5 No.4 No.3 No.2 No.1

-أجري تخفيف للمحلول القياسي لل($CD8^+$) المجهر مع العدة التشخيصية من خلال سلسلة تخفيفات بعدد (5) كما

مبين ادناه:-

36ng/ml	Standard No.5	120μl Original Standard + 120μl Standard diluents
18ng/ml	Standard No.4	120μl Standard No.5 + 120μl Standard diluents
9ng/ml	Standard No.3	120μl Standard No.4 + 120μl Standard diluent
4.5ng/ml	Standard No.2	120μl Standard No.3 + 120μl Standard diluent
2.25ng/ml	Standard No.1	120μl Standard No.2 + 120μl Standard diluent



Standard solution No.5 No.4 No.3 No.2 No.1

2- إضافة العينات :- Add samples

- حضرت المحاليل القياسية والعينات حسب التعليمات وفتحت صفيحة القياس لغرض البدء بالعمل وكانت الحفرة الاولى Blank well بدون إضافة اي عينة ولا إضافة الجسم المضاد للضد IL-17 مع HRP أضيف فقط 50 مايكروليتر من المادة A و B ومحلل التوقف.

- حفر المحلول القياسي :- يضاف 50 مايكروليتر من المحلول القياسي المجهز مسبقاً و 50 مايكروليتر من streptomycin- HRP الاجسام المضادة البايوتين التي وحدت مقدما في المعيار حتى لاتضاف الاجسام المضادة البايوتين.

- حفر العينات المراد فحصها :- تم اضافة 40 مايكروليتر من المصل و 10 مايكروليتر من IL-17 antibodies وأجري لها مزج وبعدها تم اضافة 50 مايكروليتر من streptavidin (HRP) وأجري لها مزج بعدها تم تغطية الصفيحة بغطاء الصفيحة المجهز مع العدة التشخيصية وتوضع بالحاضنة Incubate بدرجة حرارة 37 درجة سيليزية لمدة 60 دقيقة.

3- تحضير محلول الغسل :- preparation of washing solution

حُضر تركيز محلول الغسل (30x) مع الماء المقطر الذي نحتاجه فيما بعد. ومحلول الغسل 20ml يضاف الى 30x من الماء المقطر. حيث خفف 20 ملي مول من محلول الغسل القياسي wash Buffer بوضعه في اسطوانة زجاجية ومن ثم اضيف اليه 580 ملي مول من الماء المقطر (distilled water) ليصل حجم كمية الدارئ الى 600 ملي مول.

مرحلة الغسل :- Washing stage

تم رفع غطاء الصفيحة بحذر في هذه المرحلة لغرض ازالة كل ما هو عالق على سطح الحفر تم غسل كل الحفر بمحلول الغسل وأعيدت عملية الغسل 5 مرات بين كل واحد واخرى 30 ثانية .

4- تطور اللون: - Color development

أولاً اضيف Chromogen reagent A لكل الحفر بمقدار 50 مايكروليتر بعدها أضفنا 50 مايكروليتر ايضاً من Chromogen reagent B لكل الحفر نعمل له مزج او رج خفيف ووضع غطاء للصفيحة المجهز مع العدة التشخيصية بعدها وضعت بالحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة سيليزية لمدة 10 دقائق بعيداً عن الضوء . عند اضافة الأنزيم المتقارن Conjugate(HRP-Enzyme) يرتبط مباشرة مع الاجسام المضادة المرتبطة بالمستضد (Ag) الموجود في حفر طبق الاليزا وعند اضافة ال Substrate (الركيزة) TMP حيث يعتبر الاخير كمركب كيميائي يتفاعل مع انزيم (HRP) تفاعلاً كيميائياً بعملية الاكسدة بمساعدة بيروكسيد الهيدروجين الموجود في الركيزة (TMP) التي تؤدي الى فقدان مجموعة الامونيا NH₂ للالكترونات الموجودة في تركيب ال (HRP) باعتباره بروتين من النوع الفا ونتيجة لهذا التفاعل يتولد اللون الازرق.

5- مرحلة التوقف :- Stop

أضيف 50 مايكروليتر من محلول التوقف stop solution لكل الحفر الغرض منه ايقاف التفاعل وتغيير اللون من الازرق الى الاصفر وبنفس اللحظة . وعند اضافة محلول التوقف يعمل على فصل الارتباط بين ال HRP-Enzyme والمركب الكيميائي TMP بعملية الاختزال باعتباره حامض (diluted sulfuric acid) حامض الكبريتيك حيث يقوم بأرجاع الالكترونات المفقودة (H) لمجموعة الامونيوم الموجودة في تركيب ال HRP وايفاف التفاعل مولداً بذلك لون اصفر يدل على توقف التفاعل.

6-قراءة النتائج :- Read Results

تم قراءة امتصاصية العينات على طول موجي (450 nm) نانوميتر بعد خمس دقائق من اضافة محلول التوقف .
تبعاً لتراكيز المعايير وقيم مستوى الامتصاصية وحساب معادلة الانحدار الخطي من المنحنى القياسي ثم وفقاً لقيمة الامتصاصية للعينات وحساب تركيز العينة المقابلة يمكن ايضاً ان تستخدم البرمجيات الاحصائية لهذا الغرض.
أستخرج معدل القراءات المطابقة لكل معيار وأستخرج معدل الكثافة البصرية للمعيار الصفري يتم وضع منحنى معيارياً من خلال تقليص البيانات باستخدام برمجيات الحاسبة القادرة على توليد الوسط النسبي كمنحنى مناسب وأنشاء منحنى معياري ثابت من خلال التركيز على المحور الصادي وتخطيط متوسط الامتصاص لكل معيار على المحور السيني .

3-3 التحليل احصائي:- Statistical analysis

أجري التحليل الاحصائي لبيانات الدراسة الحالية حسب برنامج التحليل (Stata M13 and Graph pad prism) وتم استخدام مربع كاي (X2) للمقارنة بين النسب المئوية. أما بالنسبة للمتغيرات ذات الصيغة العددية فقد تم وصفها باستخدام المعدل والانحراف المعياري للمعدل (Mean±SD) وتمت المقارنة بين المجاميع باستخدام اختبار (T-test) بين مجموعتين رقميتين أو اختبار (ANOVA) أثناء المقارنة بين أكثر من مجموعتين (Levesque ، 2007).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

RESULTS AND DISCUSSION

4-النتائج والمناقشة

1-4 توزيع مجموعتي الدراسة حسب العمر

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن متوسط عمر المرضى المصابين بداء السكري من النوع الاول (9.42 ± 3.34) pg/ml للمدى من (1-16) سنة، في حين أن متوسط عمر مجموعة السيطرة (17.25 ± 4.17) pg/ml للمدى من (5-25) سنة، مع وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية عالية جداً بين مجاميع الدراسة إذ كانت قيمة $p < 0.001$ (كما في الجدول (1-4) و الشكل (1-4)).

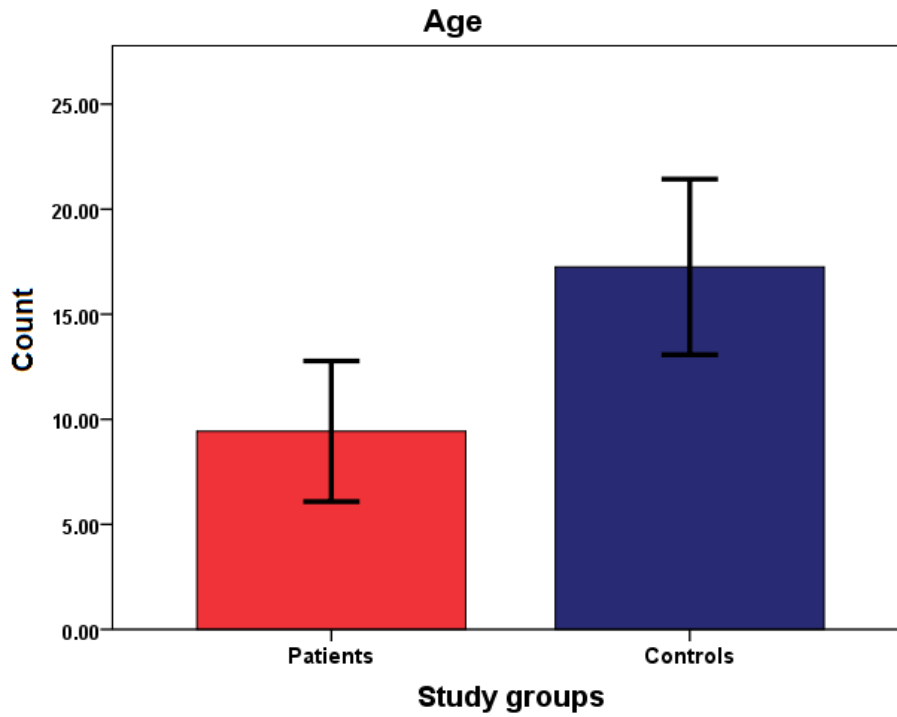
قد ازداد معدل الإصابة بمرض السكري من النمط الأول (T1DM)، وهو واحد من أكثر الأمراض المزمنة انتشاراً بين الأطفال في جميع أنحاء العالم (Forlenza و Rewers ، 2011).

في دراسة في فنلندا ايضاً كانت أعلى نسبة مسجلة للإصابة بالمرض لدى الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 15 سنة في عام 2005 (Harjutsalo وآخرون، 2008)، اقترح أيضاً ان الزيادة في الوزن والسمنة لها دور في زيادة الإصابة بمرض (T1DM) (Hulkko وآخرون، 2011).

جدول (1-4) توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للعمر

Age of study groups					
study groups	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Patients	70	1	16	9.4286	3.34738
Controls	20	5	25	17.25	4.17858
Total	90				
T	24.21				
Sig.	<0.001***				

***= يوجد فرق احصائي معنوي عالي جدا $p \leq 0.001$



الشكل (4-1) الوصف العام للعينات المدروسة حسب العمر

توافقت نتائج هذه الدراسة مع الكثير من الدراسات التي بينت أن هناك فروقاً معنوية بين مجاميع الدراسة حسب العمر (Saleh ، 2012)، لوحظت الزيادات الأكثر جوهرياً في الإصابة بالمرض هي لدى الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 5 سنوات (Harjutsalo وآخرون ، 2008).

لم تتفق هذه الدراسة مع ما أشار إليه (Dahl-Jorgensen وآخرون، 2005) أن مرض السكري من النمط الأول يحمل نفس خطر الإصابة بأمراض الشرايين المبكرة مثل فرط الكوليسترول، وأمراض القلب والأوعية الدموية قد تجاوزت اعتلال الكلية السكري باعتباره السبب الرئيسي للوفيات المبكرة في الأفراد فوق سن 30 (Laing وآخرون، 2003). ارتفع معدل الإصابة بداء السكري من النوع الأول في مرحلة الطفولة بشكل ملحوظ منذ منتصف القرن الماضي، مع زيادة متوسطة بنسبة 3.5% على أساس سنوي في أوروبا (Gale، 2002).

أكدت الدراسات الحديثة ارتفاع معدل الإصابة بالسكري النوع الأول للأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 5-10 سنوات يمكن أن تعزى هذه الزيادة إلى العوامل البيئية كالوضع المعيشي للأطفال وتأثير البيئة بشكل عام مثل النظام الغذائي الصحي وممارسة الرياضة (Pozzilli و Guglielmi، 2009).

2-4 توزيع مجموعتي الدراسة حسب النسبة المئوية بالنسبة للجنس

شملت هذه الدراسة (90) عينة وكانت ضمن مجموعتين وهي أولاً مجموعة المرضى المصابين بمرض السكري من النوع الأول وتضم (70) عينة ، (39) من الذكور ونسبة (55.70%) و (31) من الإناث ونسبة (44.30%) أما مجموعة السيطرة وهي مجموعة الافراد الغير مصابين بأي مرض للمقارنة مع مجموعة المرضى وتضم (20) عينة ، (16) من الذكور ونسبة (80.00%) و (4) من الإناث ونسبة (20.00%) كما هو موضح بالجدول ادناه (2-4) و الشكل

-(2-4)-

جدول (2-4) توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للجنس

sex of study groups			
Sex		study groups	
		Patients	Control
Male	Count	39	16
	%	55.70%	80.00%
Female	Count	31	4
	%	44.30%	20.00%
Total	Count	70	20
	%	100.00%	100.00%
X ²	3.86		
Sig.	0.049*		

*= يوجد فرق احصائي معنوي $p \leq 0.05$

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عدد الذكور المصابين بالمرض اكثر من نسبة عدد الإناث المصابات بالمرض مع وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية بين الجنسين اذ كانت قيمة

p-value مساوية ل (0.049*) اي ان $(p \leq 0.05)$.

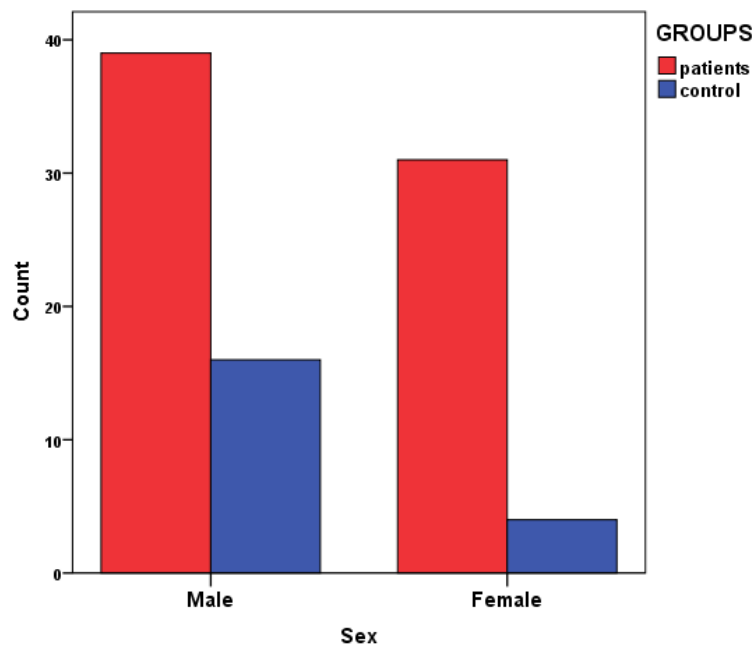
يعتقد أن السبب مستقبليات الهرمونات الجنسية ذات تأثير في وظائف الخلايا المناعية، (2001).

والالتهابية وفي دراسات أخرى بينت النتائج أن نسبة (Gametchu و Watson)

عدد الإناث المصابات بالمرض أكثر من نسبة عدد الذكور المصابين بالمرض مع عدم وجود فرق معنوي ذي

دلالة احصائية بين الجنسين

(مجاميع الدراسة Sharifi وآخرون, 2007) (Khalaf ، 2016) الذين لم يحصلوا على فروق معنوية في بالنسبة للجنس.



الشكل (2-4) توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للجنس

3-4 توزيع مجموعتي الدراسة حسب الفئات العمرية

تراوحت أعمار المرضى المصابين بداء السكري النوع الاول من (1-16) سنة وكانت موزعة حسب الفئات العمرية الموضحة في الجدول (3 - 4) وقد أظهرت النتائج الفئات العمرية (11-15) سنة قد سجلت أعلى نسبة وكانت نسبتها 45.70% فيما كانت اوطأ نسبة في الفئة العمرية (16-20) سنة وبنسبة 1.40%. أما مجموعة السيطرة فقد تراوحت اعمارهم (5-25) سنة وكانت موزعة بحسب الفئات العمرية الموضحة في الجدول (3-4). لقد كان هنالك فرق

معنوي ذي دلالة احصائية عالية جداً بين مجاميع الدراسة إذ كانت قيمة $P\text{-value} = 58.81$

$p < 0.001$ كما في الجدول (3-4) والشكل (3-4):

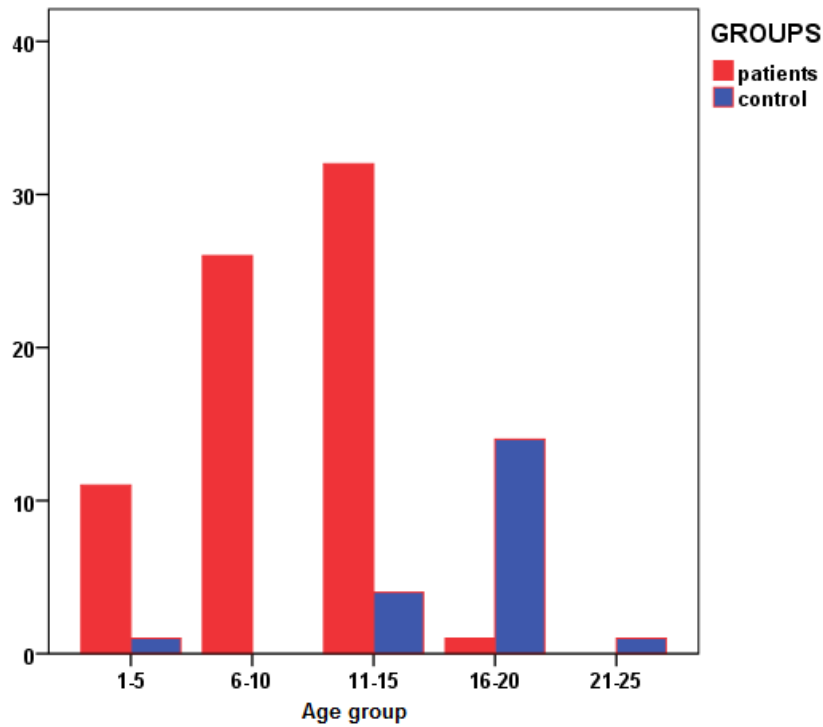
جدول (3-4) توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للفئات العمرية

age period of study groups				
	Period		study groups	
			Patients	Control
age period	1-5	Count	11	1
		%	15.70%	5.00%
	6-10	Count	26	0
		%	37.10%	0.00%
	11-15	Count	32	4
		%	45.70%	20.00%
	16-20	Count	1	14
		%	1.40%	70.00%
	21-25	Count	0	1
		%	0.00%	5.00%
	Total	Count	70	20
		%	100.00%	100.00%
X ²	58.81			
Sig.	<0.001***			

***= يوجد فرق إحصائي معنوي عالي جدا $p \leq 0.001$

أظهرت دراسات سابقة أن زيادة معدلات الإصابة بالنمط الأول لداء السكري للفئة (10-19) سنة قد ترجع للتغيرات الفسلجية التي تحدث في مرحلة البلوغ والارتفاع في مستوى الهرمونات الجنسية فضلاً عن ذلك حاجة الجسم للأنسولين وقد يعود أيضاً لتأثره بالعوامل البيئية وسوء التغذية والاجهاد الجسدي والنفسي (Weets ; 2002،Gale واخرون،2007).

هذا النمط من مرض السكري يمكن ان يحدث في اي عمر، لكن عادة ما يتطور لأول مرة في مرحلة الطفولة أو مرحلة المراهقة ويمثل نسبة (5-10)% من جميع حالات السكري (Craig واخرون،2009). أشار (Kinp،2011) أيضاً أن هذا المرض يصاب به الاطفال في عمر(14)سنة فما دون.



الشكل (3-4) توزيع مجموعتي الدراسة بالنسبة للفئات العمرية

4-4 مجموعة المرضى حسب مدة الإصابة بالمرض

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعة المرضى حسب مدة الإصابة بالمرض درست و قسمت مدة الإصابة على اربع مجاميع ، فتضمنت المجموعة الاولى عينة الاطفال المصابين بالمرض لمدة (1-2) سنة وكان عددهم 36 طفلاً، اما المجموعة الثانية فقد شملت المصابين بالمرض لمدة (3-4) سنوات وكان عددهم 26 طفلاً. والمجموعة الثالثة شملت المصابين بالمرض لمدة (5-6) سنوات وكان عددهم 7 اطفال وضمن المدة اكثر من (6) سنوات طفل واحد تم الحصول على المعلومات لمدة الإصابة بالمرض من خلال عائلة الطفل المصاب ومن الطبيب المختص الذي شخص المرض وأشرف على حالة الطفل المريض.

ومدة الإصابة بالمرض التي اعطت اعلى نسبة هي (1-2) سنة بنسبة 40.00% كما في الجدول (4-4)

جدول (4-4) توزيع مجموعة المرضى حسب مدة الإصابة بالمرض

durations of disease	N	%
1-2	36	40.00%
3-4	26	28.90%
5-6	7	7.80%
>6	1	1.10%
Total	70	100%
X ²	45.54	
Sig.	<0.001***	

***= يوجد فرق احصائي معنوي عالي جدا $p \leq 0.001$

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فرق معنوي عالي جداً لمجموعة المرضى حسب مدة الإصابة بالمرض حيث كانت قيمة $p\text{-value} = p < 0.001$ ***، توافقت هذه النتيجة مع العديد من الباحثين الذين وجدوا أن مدة الإصابة بالمرض لها علاقة قوية بالمرض وبظهور مضاعفاته (Saleh، 2012) ، (Dabelea وآخرون، 2007) ، (Welch و Zib، 2004) .

من مضاعفات هذا النوع من داء السكري هو الأنتان البولي ، وهو أحد أسباب الفشل الكلوي ، واعتلال الشبكية والاعتلال الكلوي ، وتراكم الاجسام الكيتونية Ketones ، وحدثت أحماض الدم Acidosis ، وتصلب شرايين القلب، وسرطان الغدة الدرقية وجفاف الجسم ، وتذبذب نسبة الكلوكرز في الدم بين المستوى العالي والمستوى الواطئ مما يجعل العلاج أكثر صعوبة خاصة عند تأخر التشخيص (Rewers و Chase، 2002) .

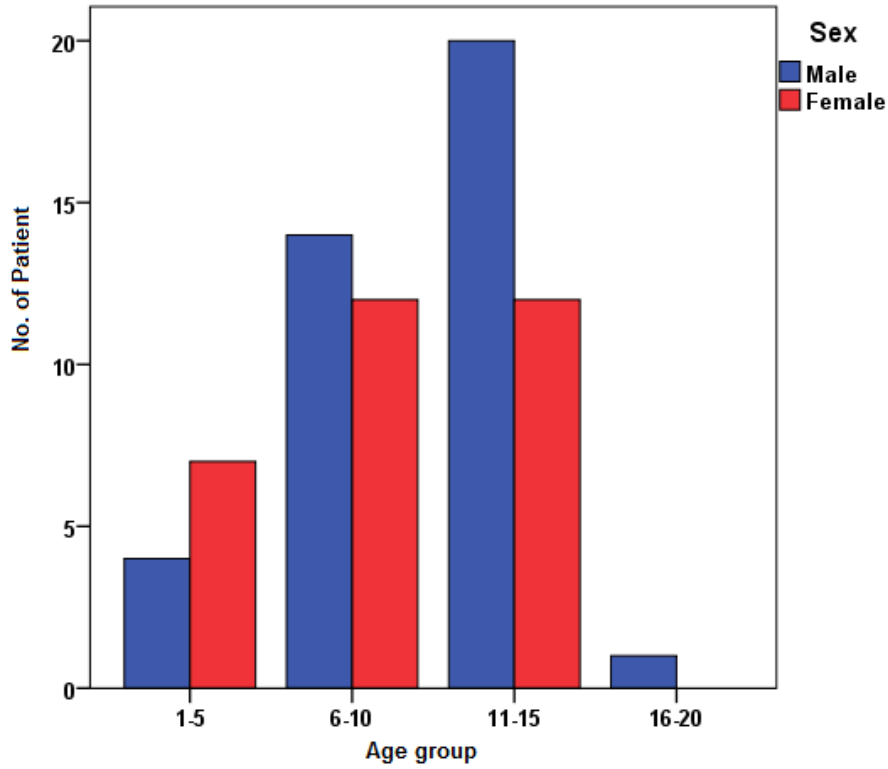
5-4 العلاقة بين الفئة العمرية والجنس للمرضى

اظهرت النتائج ان اعلى نسبة للإصابة بالمرض هي بالنسبة للذكور حيث بلغت 51.30% وتعود للفئة العمرية 15-11 سنة و بالنسبة للإناث فكانت أعلى نسبة 38.70% وتعود للفئات العمرية 6-10 و 11-15 سنة مع عدم وجود فروق معنوية بالنسبة للجنس والفئة العمرية. كما في الجدول (4-5) والشكل (4-4) .

يُعد مرض السكري النوع الاول أحد أمراض المناعة الذاتية Autoimmune Disease التي تظهر في سن الطفولة والمراهقة (Sami وآخرون، 1999) ، إذ يعمل الجهاز المناعي على تحطيم خلايا بيتا β -Cell المنتجة للأنسولين في البنكرياس وتكوّن الخلايا المسؤولة عن المناعة الذاتية أجساماً مضادة لخلايا جزيرات لانكرهانز Islet Cell Autoantibodies (William وآخرون، 2002) ، وهو أكثر الامراض المزمنة شيوعاً في مرحلة الطفولة و الأعمار دون سن الأربعين في العالم ، يعتبر أكثر حدوثاً في اليافعين عنه في البالغين ، ويسمى أيضاً بداء سكر الأحداث لأنه يشخص دون سن الثلاثين . وهو الشكل القياسي لداء السكر يرتبط كلياً مع الـ Ketosis في حالة عدم معالجته ، إذ أنّ الأنسولين في هذا النوع ينفد و أنّ خلايا بيتا β -Cell في البنكرياس لا تستجيب لكل المحفزات ، كما يوجد ارتباط قوي في هذا النوع مع بعض مستضدات خلايا الدم البيضاء البشرية (HLA) Human leucocyte antigens ، ويتطور هذا النمط في مرحلة الطفولة ويصبح المصابون بهذا النمط معتمدين طوال حياتهم على الأنسولين (Warsy و EL- Hazmi، 1999) .

جدول (4-5) العلاقة بين الفئة العمرية والجنس لمجموعة المرضى

age period and sex of patients				
	Age group		sex	
			Male	Female
	1-5	Count	4	7
		%	10.30%	22.60%
	6-10	Count	14	12
		%	35.90%	38.70%
	11-15	Count	20	12
		%	51.30%	38.70%
	16-20	Count	1	0
		%	2.60%	0.00%
Total		Count	39	31
		%	100.00%	100.00%
X ²	3.09			
Sig.	0.37 ^{NS}			



شكل (4-4) العلاقة بين الفئة العمرية والجنس لمجموعة المرضى

4-6 العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الإصابة

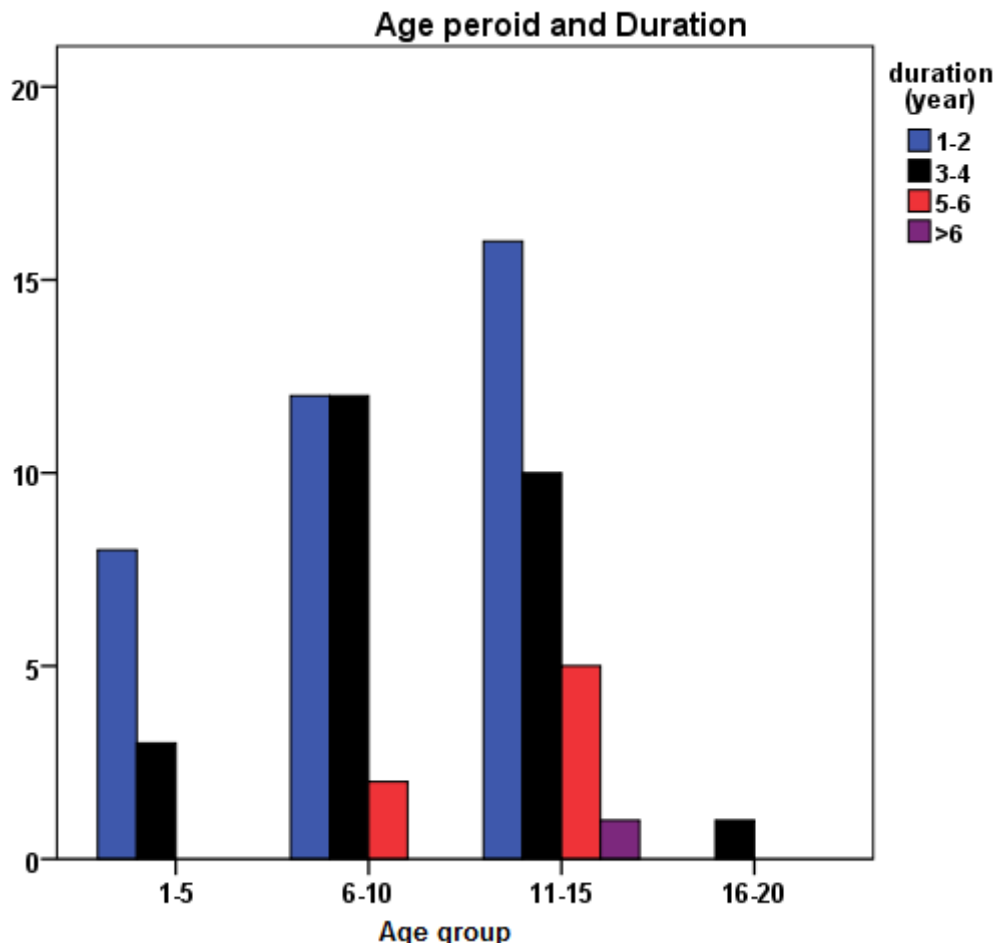
بينت النتائج لهذه الدراسة أن المرضى المصابين للمدة من 1-2 سنة للفئة العمرية 11-15 سنة هي أعلى نسبة من باقي الفئات حيث بلغت 44.4% أما بالنسبة للمصابين من 3-4 سنوات كانت أعلى نسبة للفئة العمرية من 6-10 سنة حيث بلغت 46.2% ومدة الإصابة من 5-6 سنوات فما فوق سجلت أعلى نسبة للفئة 11-15 سنة حيث بلغت 71.4% و 100.0% على التوالي مع عدم وجود فروق معنوية بين الجنس ومدة الإصابة بالمرض كما في الجدول (4-6) والشكل (4-5) .

تظهر لدى المرضى في النمط الاول من السكري قابلية وراثية لحدوث داء السكر ، وتظهر عادة بعد الإصابة الفيروسية أو التعرض لعوامل بيئية أو سموم ، والتي تحفز الآليات المناعية لتهاجم خلايا β في جزيرات لانكرهانز في البنكرياس، ونتيجة لذلك فإن 80-90% من خلايا β تتأثر بهذه العوامل (Breyer وآخرون، 1996).

إن للعادات الغذائية الاثر الواضح في تطوير داء السكر المعتمد على الانسولين إذ وجد أن الاطفال الذين يتناولون حليب البقر في الشهر الاول بعد الولادة سوف يتطور لديهم تكوين الاجسام المضادة للأنسولين ،وأن الاطفال الذين يتناولون حليب الام تتخفص لديهم نسب الإصابة بأمراض المناعة الذاتية (Brosh Johnson وآخرون، 1984).

جدول (4-6) العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الإصابة لمجموعة المرضى

age and duration of infection						
			Duration			
			1-2	3-4	5-6	>6
Age	1-5	Count	8	3	0	0
		%	22.2%	11.5%	0.0%	0.0%
	6-10	Count	12	12	2	0
		%	33.3%	46.2%	28.6%	0.0%
	11-15	Count	16	10	5	1
		%	44.4%	38.5%	71.4%	100.0%
	16-20	Count	0	1	0	0
		%	0.0%	3.8%	0.0%	0.0%
Total		Count	36	26	7	1
		%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
X ²	7.39					
Sig.	0.59 ^{NS}					



جدول (5-4) العلاقة بين الفئة العمرية ومدة الاصابة لمجموعة المرضى

7-4 العلاقة بين الجنس ومدة الاصابة بالنسبة لمجموعة المرضى

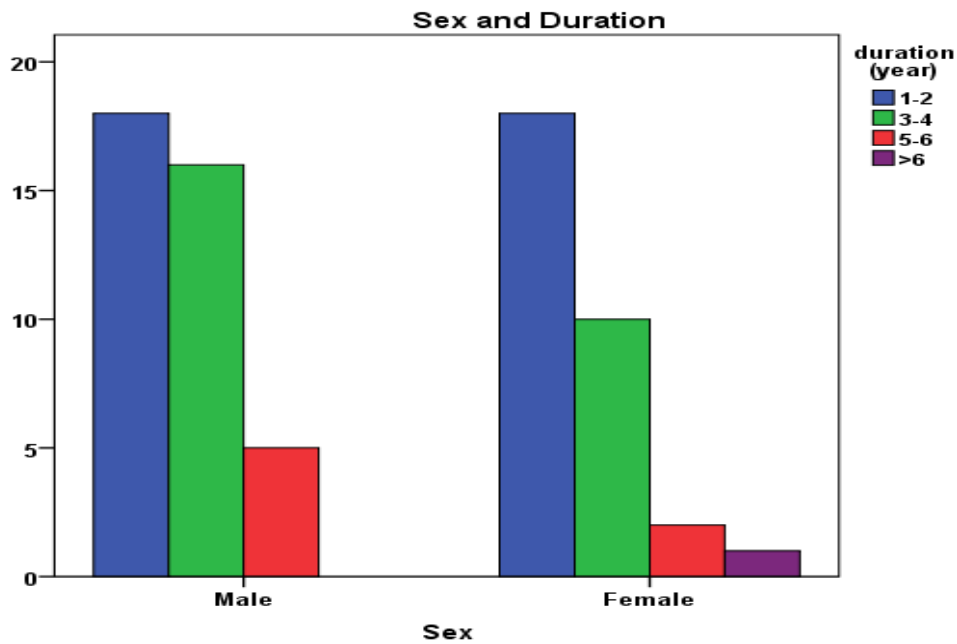
بينت النتائج أن نسبة الذكور المصابين للفئة من 5-6 سنوات هم أعلى نسبة حيث بلغت 71.4% في

حين أعلى نسبة للإناث المصابات للفترة أكثر من 6 سنوات هي أعلى نسبة مع عدم وجود فروق معنوية بين الجنس

ومدة الاصابة كما في الجدول (7-4) والشكل (6-4).

جدول (4-7) العلاقة بين الجنس ومدة الإصابة لمجموعة المرضى

sex and duration of patients						
			Duration			
			1-2	3-4	5-6	>6
sex	Male	Count	18	16	5	0
		%	50.0%	61.5%	71.4%	0.0%
	Female	Count	18	10	2	1
		%	50.0%	38.5%	28.6%	100.0%
Total		Count	36	26	7	1
		%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
X ²		2.79				
Sig.		0.42 ^{NS}				



الشكل (4-6) العلاقة بين الجنس ومدة الإصابة لمجموعة المرضى

يُعد التاريخ العائلي للأشخاص عاملاً أساسياً لتطور و أحداث الإصابة بهذا النمط من داء السكري أي إذا كان أحد الوالدين أو الأخ أو الأخت مصاب بهذا النوع من داء السكري فسوف يشكل عامل خطورة للإصابة بالمرض إذ تلعب الوراثة دوراً مهماً في تحديد مدى قابلية الفرد على الإصابة بهذا النوع من داء السكري من خلال وجود جينات

معينة يستدل منها على وجود خطر متزايد لتطور الإصابة بداء السكري المعتمد على الانسولين في بعض الحالات ، وعادة من خلال التجارب السريرية يمكن القيام بالاختبارات الجينية لتحديد ما إذا كان لشخص ما تاريخ عائلي من الإصابة بهذا النمط ، وان هذا الخطر متزايد بشكل ملحوظ في البلدان النامية والفقيرة (Mc Dermott و Pociot ، 2002).

كما أن للموقع الجغرافي علاقة بالإصابة بداء السكر المعتمد على الانسولين إذ تميل الإصابة الى الزيادة كلما ازداد البعد عن خط الاستواء فمعدل إصابة الافراد الذين يعيشون في فنلندا بهذا النمط أعلى حوالي 2-3 مرات من المعدلات في الولايات المتحدة و 400 مرة من الافراد الذين يعيشون في فنزويلا (Al-Khateeb، 2003).

وهناك عوامل خطورة اخرى تزيد من احتمالية الإصابة بداء السكر المعتمد على الانسولين منها التعرض للإصابة ببعض الفيروسات كفايروسات النكاف والحصبة والتهاب الكبد التي تؤدي الى تدمير المناعة الذاتية لخلايا جزيرات لانكرهانز ، او إصابة غدة البنكرياس مباشرة بالفايروسات ، وكذلك فان النظام الغذائي له تأثير كعامل يزيد من خطر الإصابة بالسكر المعتمد على الانسولين فإن العادات الغذائية السيئة لها أثر واضح إذ ان تناول الطفل لحليب البقر في الاسابيع الاولى سوف يحفز الجهاز المناعي على إنتاج اجسام مضادة لهرمون الانسولين وكذلك تناول الاطعمة المكونة من الحبوب بوقت مبكر لذلك يوصي المختصون بعدم اعطاء الطعام المكون من الحبوب الا بعد فترة 3-7 اشهر ، وكذلك تناول الماء الملوث الحاوي على النترات يزيد نسبة الإصابة بهذ النوع من السكر ، وايضا إصابة الام الحامل خلال فترة الحمل خصوصاً اذا كانت الام تحت سن 25 سنة بعدوى الجهاز التنفسي قبل الولادة اوفي حالة ولادة طفل يعاني من اليرقان فان نسبة خطر الإصابة سوف ترتفع (البشتاوي، 2004).

2-4 الجانب المناعي

قُدرت مستويات تركيز بعض الحركيات الخلوية بادئة الالتهاب Pro-inflammatory والحركيات الخلوية الالتهابية inflammatory وقياس تركيز الخلايا التائية للمفاوية المساعدة والتائية للمفاوية السمية في العينات المدروسة باستعمال تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم الأليزا (Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay). ELISA Assay).

4-2-1 قياس مستوى تركيز الحركي البين الإبيضاوي IL-17 لمجموعتي الدراسة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض مستوى IL-17 لدى المرضى المصابين بمرض السكر من النمط الاول (114.31±103.78) pg/ml مقارنة بمجموعة السيطرة (126.54±81.48) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذو دلالة احصائية ($p>0.05$)، وكما هو موضح في الجدول (4-8) والشكل (4-7).

إنفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة حول مرض السكري النمط الاول (ناصر، 2016) حيث بينت انه لا توجد فروق معنوية في تركيز الحركي الخلوي المبدء للالتهاب IL-17 بين مجموعة المرضى والاصحاء.

بينما هذه النتائج لم تتفق مع نتائج الدراسة التي اجراها (Kikodze وآخرون، 2014) لحصولهم على نتائج ذات فروق معنوية في مستوى تركيز IL-17 في المرضى المصابين بداء السكري- النوع الاول، وهذه النتائج توافقت ايضا مع نتائج الباحث (Roohi وآخرون، 2014) لعدم حصولهم على نتائج ذات فروق معنوية في مستوى تركيز IL-17 في المرضى المصابين بداء السكري- النمط الاول، ووضح (Li و Song، 2014) بأن مستوى تركيز IL-17 لدى الأشخاص المصابين بداء السكري- النمط الاول لا يظهر زيادة لدى المصابين، ولكن أغلب الدراسات تدعم الدور الكبير الذي يؤديه IL-17 في تحطيم خلايا بيتا في البنكرياس للأشخاص المصابين بداء السكري- النمط الاول، ففي مرضى السكري- النمط الاول تكون خلايا $CD4^+T$ cell اللمفاوية متميزة إلى Th17 في نسيج البنكرياس المتضمن لخلايا الجزيرات β cells التي تعمل على تحطيم خلايا بيتا بواسطة افرازها IL-17، فضلاً عن ان خلايا $CD4^+T$ cell يمكن لها التمايز أيضاً إلى Th1 و Th2.

ان انخفاض مستوى الخلايا للمفاوية المساعدة من النمط الثاني TH2 قد يكون مسؤولاً عن انخفاض مستوى الاستجابة المناعية لدى الخلايا المناعية المنتجة لهذا البين الابيضاضي مما يؤدي الى انخفاض مستواه في مصل المرضى المصابين بمرض السكري مقارنة بمجموعة السيطرة و من الممكن ان يكون اختلال تركيز السكر و زيادة الانسولين و الالتهابات الكامنة و ممارسة الضغط على الخلايا للمفاوية المساعدة TH2 يؤدي الى ضعف الاستجابة المناعية وزيادة الاصابة بالالتهابات مع مجموعة متنوعة من مسببات الامراض (Duddy وآخرون، 2007).

ان الزيادة في تعبير الخلايا Th17 و Th1 في الاطفال المصابين بداء السكري- النوع الاول تكون كمؤشرات متقدمة في الاستجابة المناعية الذاتية لتحطم خلايا بيتا (Hartwall وآخرون، 2015) وان مرض السكر - النمط الاول تتوسطه خلايا Th17 التي تنتج الحركي الخلوي IL-17 وخلايا Th1 التي تنتج الحركي الخلوي IFN- γ (Kallmann وآخرون، 1997؛ Foulis وآخرون، 1991).

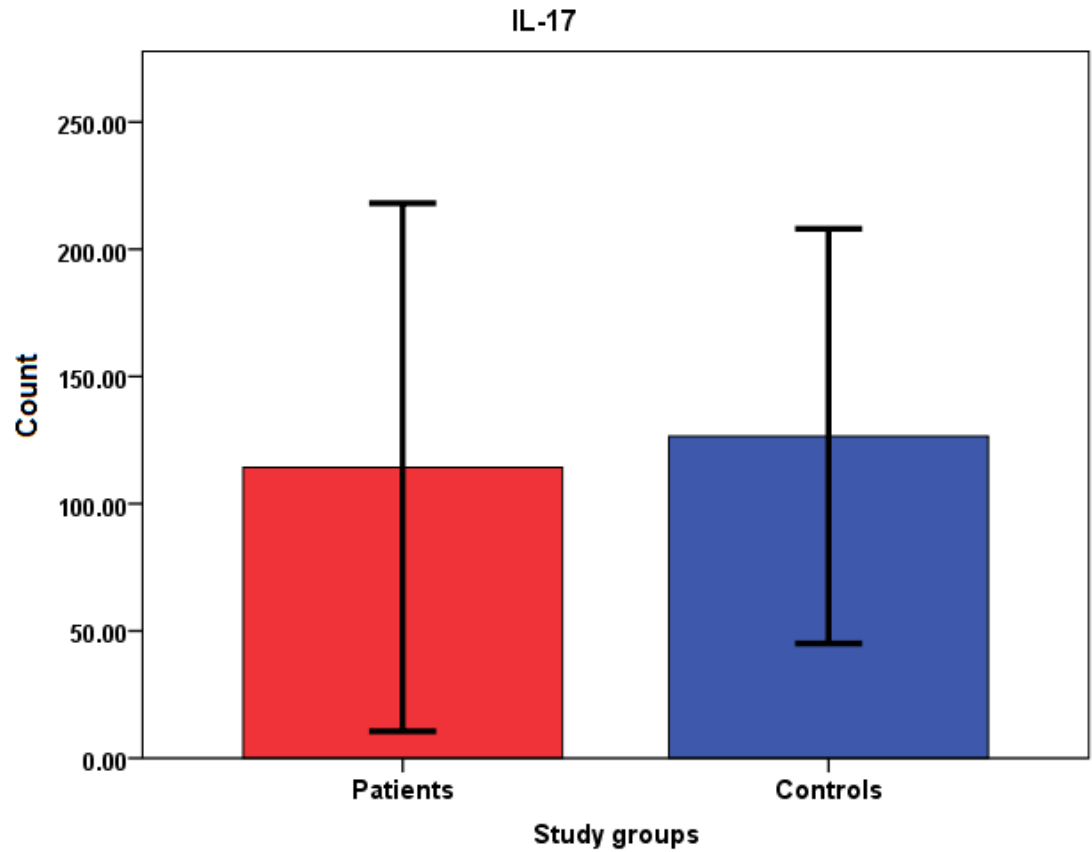
هذا البين الابيضاضي IL-17 تنظيمه المناعي العالي له فعل مؤثر في خلايا جزيرات البنكرياس، كما ان له علاقة مع تطور الاصابة بداء السكري- النوع الاول، وقد يعمل كمؤشر حيوي في استجابة المناعة الذاتية لتحطيم خلايا بيتا (Hartwall وآخرون، 2015). وأكدت العديد من الدراسات ان هناك ارتباطاً بين IL-17 وحركات خلوية اخرى مضادة للالتهاب وهذا قد يتوسط التأثير الضار في خلايا جزيرات البنكرياس في الانسان ويزيد من الموت المبرمج للخلايا بيتا (Honkanen وآخرون، 2010؛ Arif وآخرون، 2011؛ Grieco وآخرون، 2014).

كذلك اوضح (Hartwall، 2015) بأن التنظيم العالي للبين الابيضاضي المبدء للالتهاب IL-17 يلاحظ في الصغار المصابين بمرض السكر- النمط الاول عند تقدم الاستجابة المناعية الذاتية ضد خلايا بيتا.

جدول (4-8) مستوى تركيز IL-17 بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	GROUPS	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
IL-17	Patients	70.00	114.31	103.78	12.40	-0.48	0.68 ^{NS}
	Control	20.00	126.54	81.48	18.22		

NS=لايوجد فرق احصائي معنوي $p>0.05$



الشكل (4-7) مستوى تركيز IL-17 بالنسبة لمجموعتي الدراسة

2-2-4 قياس مستوى تركيز البين الالبيضاوي IL-21 لمجموعتي الدراسة

بينت نتائج هذه الدراسة بأن متوسط تركيز البين الالبيضاوي ذو مستوى اعلى في مجموعة عن ما هو عليه في مع عدم وجود فروق معنوية تذكر. المرضى وكانت $\text{pg/ml } (209.40 \pm 294.78)$ مجموعة الاصحاء $\text{pg/ml } (189.54 \pm 274.82)$

الحركات الخلوية هي وسائط مركزية التهابية عن طريق السيطرة على الاستجابات المناعية الفطرية والمكتسبة وكذلك لها دور في تلف الأنسجة، الدفاع، والإصلاح، وداء السكري من النوع الأول هو مرض التهابي في غدة البنكرياس، حيث يتم تدمير الخلايا التي تنتج الأنسولين بدرجات متفاوتة من خلال الوظائف المتمثلة في التفاعل الذاتي للخلايا التائية والخلايا احادية الخلية

(Mathis وآخرون، 2001).

تبين أن عدداً من الحركات الخلوية لها دور مهم لتطوير مرض السكري من النمط 1 على حد سواء في مستوى الجهاز المناعي وعلى مستوى الهدف خلايا بيتا (Rabinovitch وآخرون، 2003؛ Eizirik و Mandrup، 2001)، ثبت أن العديد من الحركات الخلوية الالتهابية proinflammatory تكون حاسمة لداء السكري النوع الأول في نموذج الفئران، واحدة من هذه الحركات الخلوية هو IL-21 (Parrish-Novak وآخرون، 2000).

أشار (McGuire وآخرون، 2011) إلى أهمية الحركي الخلوي IL-21 في الحث على تدمير الخلايا التائية CD8⁺ ودورها في تطور مرض السكري.

جدول (4-9) مستوى تركيز IL-21 بالنسبة لمجموعتي الدراسة

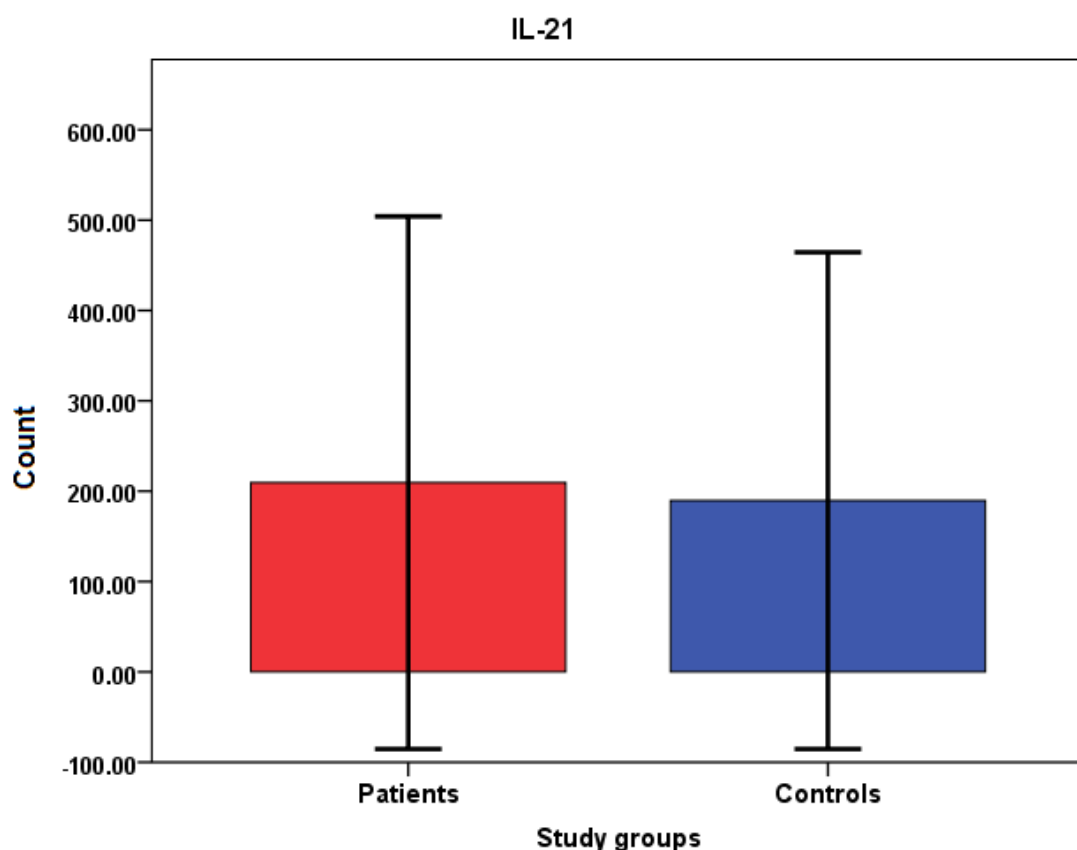
	GROUPS	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
IL-21	Patients	70.00	209.40	294.78	35.23	0.27	0.78 ^{NS}
	Control	20.00	189.54	274.82	61.45		

NS=لا يوجد فرق احصائي معنوي $p > 0.01$

وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع (Ricardo وآخرون، 2015) حيث أشارت نتائجها إلى زيادة

إنتاج هذا البين الالتهابي من المرجح أن يكون عاملاً مريضاً في التسبب في مرض السكري من النوع 1 التي يمكن اعتبارها هدفاً علاجياً محتملاً.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع مستوى IL-21 لدى المرضى المصابين بالسكري مقارنة بمجموعة السيطرة، أن ارتفاع IL-21 قد يكون ناتجاً عن تنشيط الخلايا التائية المساعدة من النمط الأول (Th1) مؤدياً بذلك إلى تحفيز الاستجابة المناعية لدى الخلايا المناعية المنتجة لهذا البين الالتهابي مما قد يسبب بذلك إلى ارتفاع مستواه في مصل المصابين مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أن ارتفاع الساييتوكينات الالتهابية IL-21 لدى مرضى السكري تشير إلى أن المرحلة الالتهابية قد تعيق عمل إشارات الانسولين ومن ثم مقاومة الانسولين والتي تؤدي إلى التسبب بمرض السكري (Tilg و Holamisligil، 2006؛ Wegner وآخرون، 2008) كما في الجدول (4-9) والشكل (4-8).



الشكل (4-8) مستوى تركيز IL-21 بالنسبة لمجموعتي الدراسة

3-2-4 قياس مستوى تركيز جزيئات $CD4^+$ الذائبة لمجموعتي الدراسة

الخلايا التائية المساعدة هي خلايا مساعدة لخلايا الدم البيضاء الأخرى لها دور في العمليات المناعية منها نضج من (Harrington وآخرون، 2005). الخلايا البائية إلى خلايا بلازما وتفعيل الخلايا التائية السمية والبلعمية وغيرها الوظائف الأخرى

بينت نتائج هذه الدراسة بأن متوسط تركيز الخلايا التائية المساعدة ذو مستوى أقل في مجموعة

المرضى و كان (5.18 ± 4.59) pg/ml عن ما هو عليه في مجموعة الأصحاء

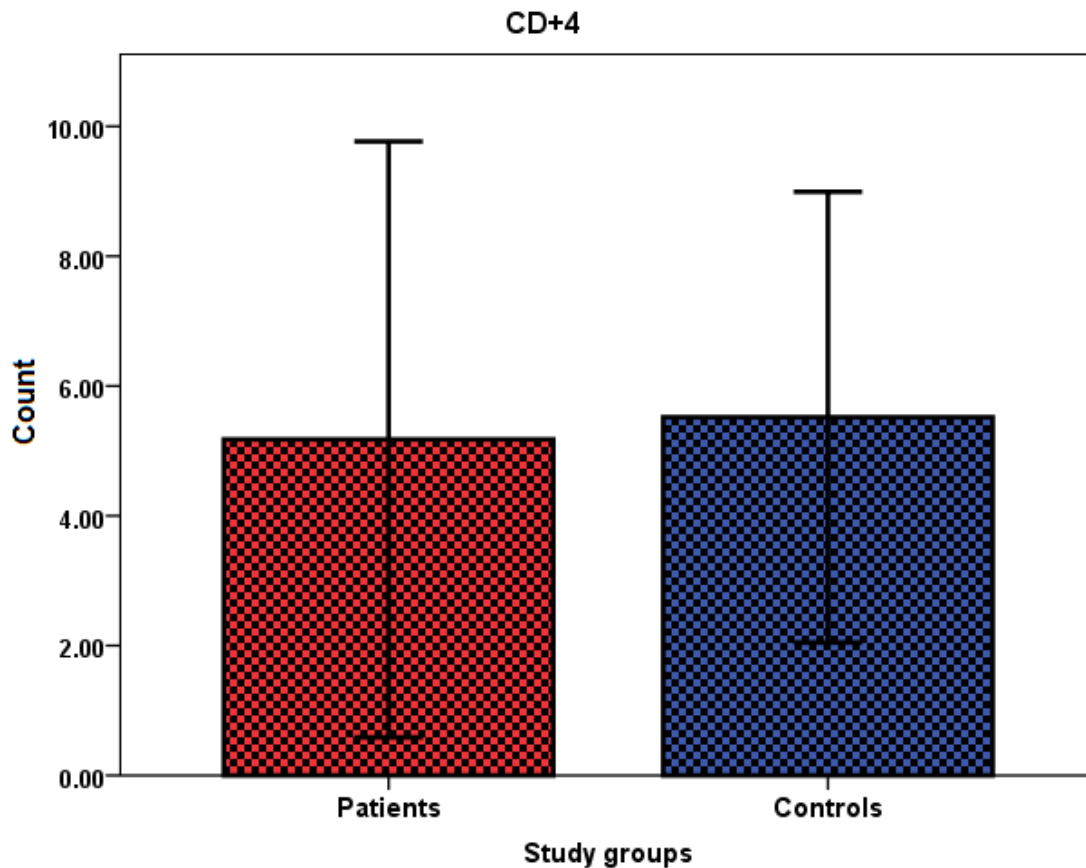
حيث كان (5.52 ± 3.47) pg/ml مع عدم وجود فروق معنوية تذكر.

جدول (4-10) مستوى تركيز جزيئات $CD4^+$ الذائبة بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	GROUPS	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
$CD4^+$	Patients	70.00	5.18	4.59	0.55	-0.31	0.75 ^{NS}

	Control	20.00	5.52	3.47	0.78		
--	---------	-------	------	------	------	--	--

NS=لا يوجد فرق احصائي معنوي $p>0.05$



شكل (4-9) مستوى تركيز جزيئات $CD4^+$ الذاتية بالنسبة لمجموعة المرضى

توافقت هذه النتيجة مع Ifere (2009) ان للخلايا للمفاوية التائية المساعدة دوراً مهماً في المقاومة ضد الاصابة بالمرض وان الخلل الحاصل في وسائل الدفاع للمضيف الناتج عن خلل في وظيفة خلايا وحيدة النواة monocytes وخلايا البيض العدلة neutrophils والخلايا للمفاوية التائية المساعدة من النمط الثاني TH2 يؤدي الى ضعف الاستجابة المناعية لدى مرضى السكري.

مرض السكري من النمط الأول هو في المقام الأول مرض متوسط بالخلايا التائية، بعد الاكتشافات المبكرة على المناعة الذاتية الخلطية في T1DM، كان هناك توسع ملحوظ في الكشف عن الأجسام المضادة المرتبطة T1DM وكذلك في

توصيف الأساس الجزيئي للاستعداد من البروتينات المستهدفة (Atkinson 2001، Eisenbarth و Pietropaolo) ; (2011).

وفي دراسة أجريت على المرضى من النمط الاول والثاني اشارت الى الانخفاض الملحوظ في مستوى تركيز الخلايا التائية المساعدة $CD4^+$ وهذا يثبت ضعف الخلايا المناعية في مرضى السكري (Saleh، 2012). أشار أيضاً (McGuire وآخرون، 2011) الى انخفاض الخلايا التائية التنظيمية حيث أوضح ان انتاج IL-21 كافياً لحث تدمير الخلايا التائية.

4-2-4 قياس مستوى تركيز جزيئات $CD8^+$ الذائبة لمجموعتي الدراسة

الخلايا التائية السمية لها دورهم في تدمير الخلايا المصابة بالفيروس والخلايا السرطانية، وأيضاً لها دور في رفض زرع الاعضاء . وهي تعبر عن البروتين السكري في سطحها وتتعرف على الهدف تكون مرتبطة مع معقد التوافق (Berrington)النسيجي الصنف الاول خلال حزمة من المستضدات وآخرون، 2005).

سطح كل خلية من الجسم

عن ما هو بينت نتائج هذه الدراسة بأن متوسط تركيز الخلايا التائية السمية ذومستوى اعلى في مجموعة المرضى وكان مع عدم وجود فروق معنوية تذكر كما (5.54 ± 7.39) pg/ml عليه في مجموعة الاصحاء وكان (3.74 ± 3.57) Pm/gl/ في الجدول (4-11) والشكل (4-10).

مرض السكري المعتمد على الأنسولين يحدث في بعض الأحيان في متلازمة الغدد الصماء المناعي الذاتي وهو متلازمة المناعة الذاتية الذي يصاحب ضعف نشاط الخلايا التائية و البائية الأجسام المضادة التي تستهدف الغدة الكظرية والغدة الدرقية والغدد التناسلية والغدة الدرقية والأنسجة الأخرى (Eisenbarth و Gottlieb، 2004).

جدول (4-11) مستوى تركيز جزيئات $CD8^+$ الذائبة بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	GROUPS	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
$CD8^+$	Patients	70.00	5.54	7.39	0.88	1.05	0.29 ^{NS}
	Control	20.00	3.74	3.57	0.80		

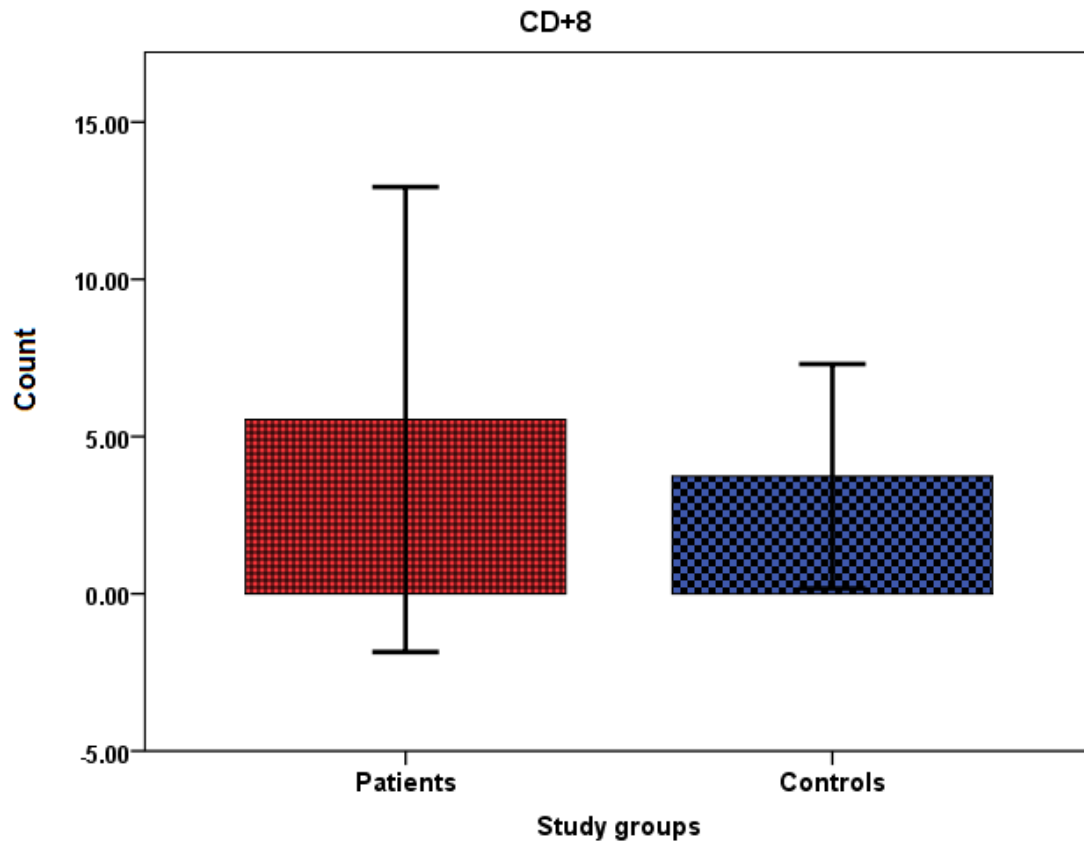
NS=لايوجد فرق احصائي معنوي $p>0.05$

لم تتوافق نتيجة هذه الدراسة مع كل من (Ifere، 2009) و (Saleh، 2012) و (McGuire وآخرون، 2011)، حيث أوضحوا ان المناعة الخلوية تتأثر بمرض السكري بإعتباره مرضاً جهازياً يؤثر على الاعضاء اللمفاوية.

قد يرجع سبب ارتفاع تركيز الخلايا السمية الى الزيادة في انتاج بعض الحركيات الخلوية مما يؤدي الى زيادة انتشارها بسبب حدوث اضطرابات في الاستجابة المناعية للجسم (Chang و shaio، 1995).

تكون هي السائدة بينت دراسات عديدة أثر الخلايا التائية في تطور مرض السكري النوع الاول، الخلايا السمية فعالة ذاتياً وتوجه ضد Cytotoxic cells ($CD8^+T$) في حدوث وتطور المرض وهذه الخلايا تصبح مستضدات خلايا بيتا، فضلا عن انها تعمل على حث الخلايا الدفاعية المختلفة التي تهاجم خلايا بيتا وعند ظهور الخلايا التائية اللمفاوية الفعالة ضد خلايا بيتا فانها تقيد او تكبح بصورة طبيعية بوساطة ميكانيكيات التنظيم المناعي والتحمل المناعي، ويحدث المرض عند فشل آلية او اكثر من آليات التنظيم المناعي وتسمح للخلايا التائية الفعالة ذاتياً ان توجه ضد خلايا بيتا وتسبب التحطم لهذه الخلايا ويظهر المرض

(Rabinovitch و Pinzon، 1998).



الشكل (4-10) مستوى تركيز جزيئات $CD8^+$ الذائبة بالنسبة لمجموعة المرضى

4-2-5 علاقة تركيز جزيئات $CD4^+$ الذائبة بالجنس لمجموعة المرضى

عند مقارنة الخلايا التائية المساعدة مع الجنس فقد وجد ان مستوى الخلايا التائية المساعدة

للذكور (3.97 ± 2.72) اقل من مستواها عند الاناث (6.70 ± 5.90) مع وجود فرق معنوي

ذي دلالة إحصائية عالية ($p < 0.001$) بين الجنسين يمكن ان يعود ذلك الى الاضطرابات التي تحصل

بالمناعة الخلوية في داء السكري النمط الاول و عوامل عدة ايضاً تؤثر منها عوامل بيئية و عوامل وراثية وكذلك تاتر

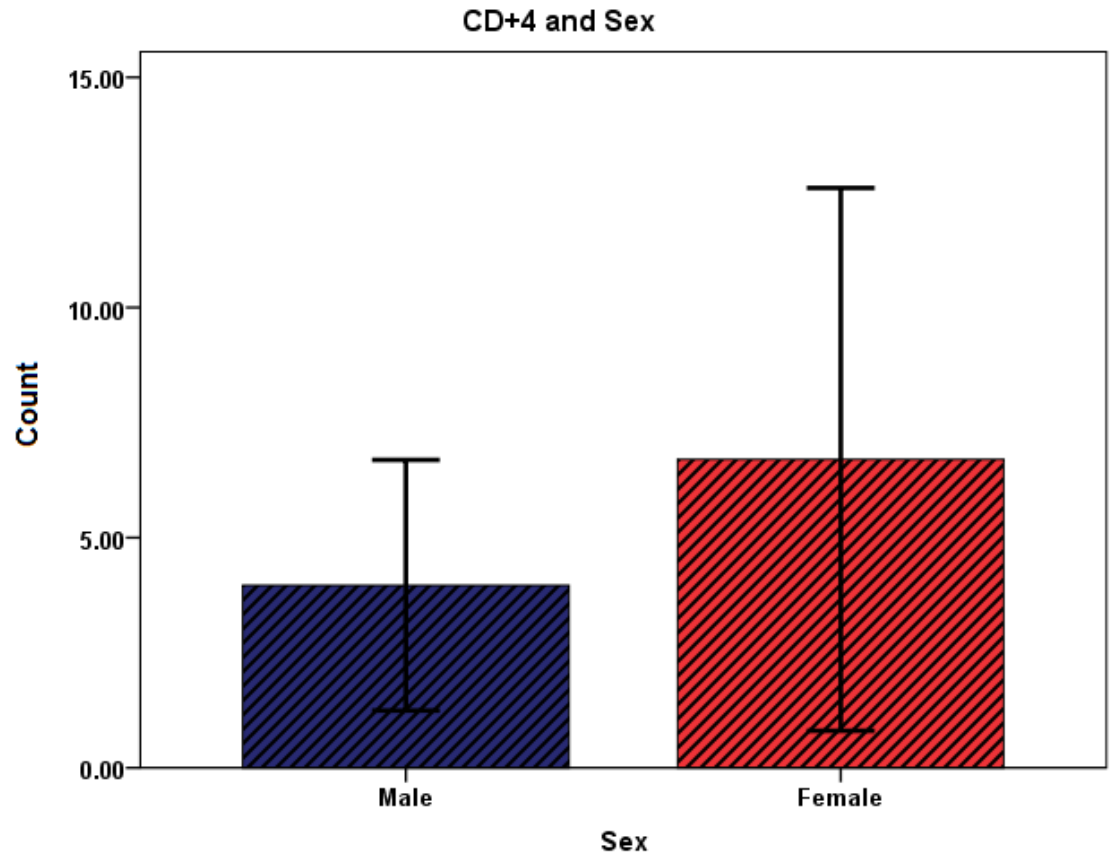
الجسم للمرضى بنشاط الخلايا التائية ووظائفها كما في الجدول (4-12) والشكل (4-11).

جدول (4-12) علاقة جزيئات $CD4^+$ الذائبة بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

	sex	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
$CD4^+$	Male	39.00	3.97	2.72	0.44	-2.51	0.01**
	Female	31.00	6.70	5.90	1.06		

**= يوجد فرق احصائي معنوي عالي $p \leq 0.001$

إن مرضى السكري النمط الاول (Type1) تظهر لديهم قابلية وراثية لحدوث داء السكر ، وتظهر عادة بعد الإصابة الفيروسية أو التعرض لعوامل بيئية أو سموم، والتي تحرض الآليات المناعية لتهاجم خلايا β في جزيرات لانكرهانز في البنكرياس، وعليه فإن 80-90% من خلايا β تتأثر (Breyer وآخرون، 1996). إذ أنّ لمعدلات التوافق النسيجي (MHC) المسماة في البشر مستضدات كريات الدم البيضاء البشرية (HLA) Human leukocyte antigens تأثيراً كبيراً في قابلية الإصابة بداء السكر المعتمد على الانسولين (IDDM) إذ تصل نسبتها الى (50%) من مسببات المرض (Pociot و Mc Dermott، 2002) .



شكل (4-11) علاقة جزيئات $CD4^+$ الذائبة بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

4-2-6 علاقة تركيز جزيئات $CD8^+$ الذائبة بالجنس لمجموعة المرضى

عند مقارنة الخلايا التائية المساعدة مع الجنس فقد وجد ان مستوى الخلايا التائية المساعدة

للذكور (4.21 ± 4.01) اقل من مستواها عند الاناث (7.21 ± 10.01) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة

احصائية لمستوى تركيز الخلايا التائية السمية لدى المصابين بالنسبة

للجنسين اذ كانت قيمة p مساوية لـ (0.09) اي ان (p - value > 0.05).

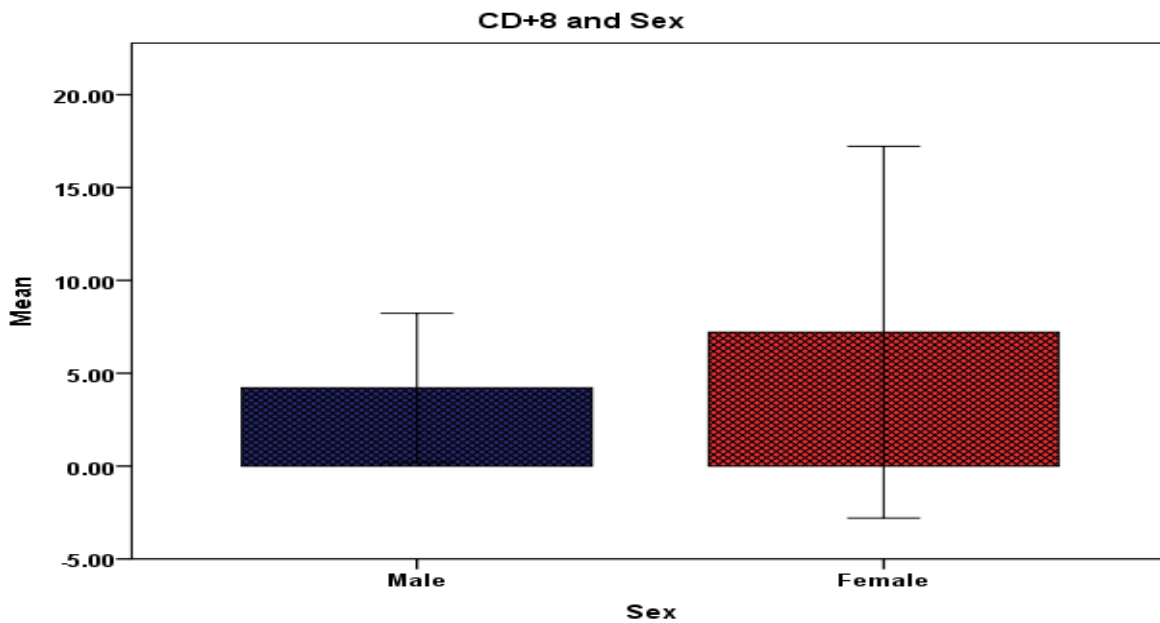
يمكن ان يعود ذلك الى عوامل عدة منها عوامل بيئية و عوامل وراثية وكذلك تأثر الجسم للمرضى بنشاط الخلايا التائية

ووظائفها كما موضح بالجدول (4-13) والشكل (4-12)

جدول (4-13) علاقة جزيئات $CD8^+$ الذائبة بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

	sex	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
$CD8^+$	Male	39.00	4.21	4.01	0.64	-1.07	0.09 ^{NS}
	Female	31.00	7.21	10.01	1.80		

NS=لا يوجد فرق احصائي معنوي $p>0.05$



الشكل (4-12) علاقة جزيئات $CD8^+$ الذائبة بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

4-2-7 علاقة الحركي الخلوي IL-17 بالجنس لمجموعة المرضى

عند مقارنة IL-17 مع الجنس بالنسبة للمصابين . فقد اظهرت النتائج ان مستوى IL-17 لدى الذكور (95.94±87.76) pg/ml اقل من مستواه لدى الاناث (137.42 ± 118.42)

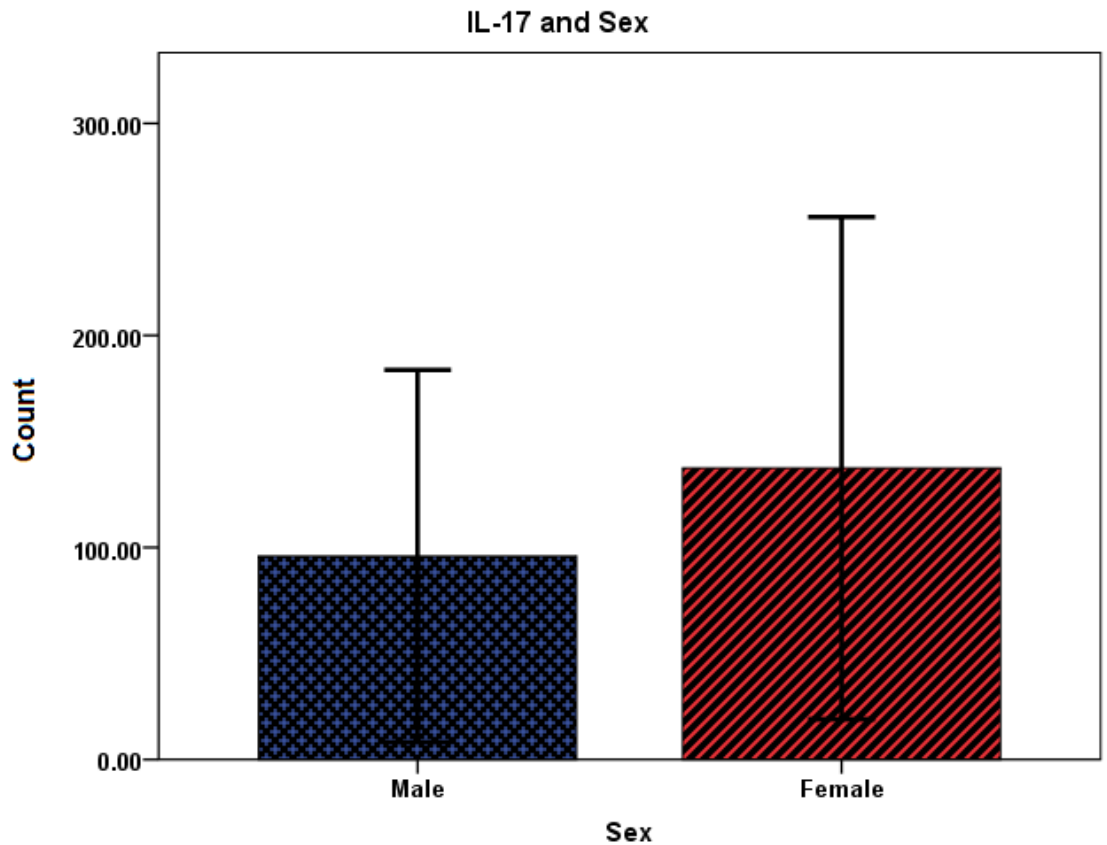
pg/ml، مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز IL-17 لدى المصابين بالنسبة للجنسين ، اذ كانت قيمة $p - value$ مساوية لـ (0.09) اي ان ($p > 0.05$) و كما هو موضح في الجدول و يمكن ان يعود

ذلك الى عوامل عدة منها عوامل بيئية و عوامل وراثية، ان عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية لدى المصابين بمرض السكري من النمط الاول بالنسبة للجنسين قد يعود ذلك الى اليات الدفاع المناعي لدى الجنسين حيث ان الاستجابة المناعية التي تحصل في جسم المريض قد تكون متشابهة الى حد ما بغض النظر عن الجنس اذ ان التفاعل الحاصل داخل جسم المريض يؤدي الى تفعيل الخلايا المناعية المسؤولة عن الاستجابة المناعية في مصل المرضى المصابين بالسكري من النوع الاول ونستنتج من ذلك عدم تأثر الجنس مع مستوى هذا الساييتوكين في الجسم . كما في الجدول (14-4) والشكل (13-4)

جدول (14-4) علاقة الحركي الخلوي IL-17 بالجنس لمجموعة المرضى

	Sex	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
IL-17	Male	39	95.94	87.76	14.05	-1.68	0.09 ^{NS}
	Female	31	137.42	118.42	21.27		

NS=لايوجد فرق احصائي معنوي $p>0.05$



الشكل (4-14) علاقة الحركي الخلوي IL-17 بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

4-2-8 علاقة الحركي الخلوي IL-21 بالجنس لمجموعة المرضى

عند مقارنة IL-21 مع الجنس بالنسبة للمصابين أظهرت النتائج ان مستوى IL-21 لدى الذكور ($78.09 \pm$) pg/ml (124.29) اقل من مستواه لدى الاناث (316.46 ± 413.37) pg/ml، مع وجود فرق معنوي عالي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز IL-21 لدى المصابين بالنسبة للجنسين ، اذ كانت قيمة $p - value$ مساوية لـ (0.006^{**}) اي ان ($p \leq 0.001$) و

قد يعود السبب في ذلك الى ان الاناث تكون لديها استعداد وراثي أكبر مما في الذكور للإصابة بالمرض.

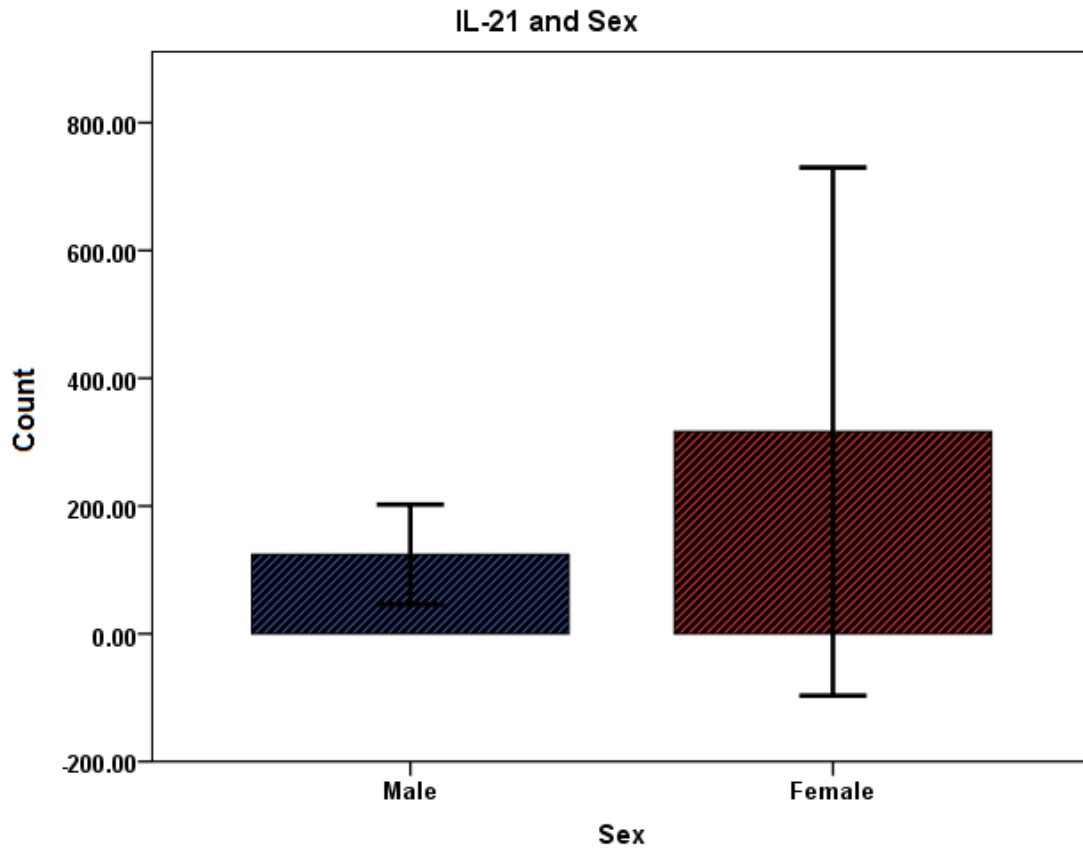
زيادة التركيز للحركي الخلوي IL-21 عند الاناث قد يكون له علاقة بالنتابعات الجينية وحدثت تغيرات بها (Ricardo واخرون، 2015)

كما هو موضح في الجدول (4-15) والشكل (4-14)

جدول (4-15) علاقة الحركي الخلوي IL-21 بالجنس لمجموعة المرضى

	sex	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	Sig.
IL-21	Male	39	124.29	78.09	12.51	-2.84	0.006**
	Female	31	316.46	413.37	74.24		

**= يوجد فرق احصائي معنوي عالي $p \leq 0.001$



الشكل (4-14) علاقة الحركي الخلوي IL-21 بالجنس بالنسبة لمجموعة المرضى

4-2-9 العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الارتباط كبير بين التائية المساعدة IL-17 والمناعة الخلوية المتمثلة بالخلايا

والخلايا التائية السمية حيث وجد ارتباطاً احصائياً ذي دلالة معنوية عالية

وجد ان معامل الارتباط بين IL-17 وجزيئات $CD4^+$ تساوي (0.726) ومعامل الارتباط

بين IL-17 وجزيئات $CD8^+$ يساوي (0.685) ومعامل الارتباط بين IL-17 و IL-21 يساوي (0.682).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتباط أحصائي ذي دلالة معنوية عالية حيث وجد أن معامل الارتباط بين IL-21 و IL-17 يساوي (0.682) ، و معامل الارتباط بين IL-21 و IL-21 يساوي (0.881) ومعامل الارتباط بين IL-21 و IL-21 يساوي (0.839).

وأظهرت النتائج وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين جزيئات $CD4^+$ و IL-17 حيث كان معامل الارتباط يساوي (0.726) وبينها وبين IL-21 معامل الارتباط يساوي (0.881) وبالنسبة لارتباطها بجزيئات $CD8^+$ كان معامل الارتباط مساوياً ل (0.886) وبالنسبة لجزيئات $CD8^+$ ايضاً اظهرت النتائج وجود فرق معنوي ذو دلالة احصائية عالية فكان معامل الارتباط مع IL-17 مساوياً (0.685) وارتباطها مع جزيئات $CD4^+$ يساوي (0.886) وكان معامل الارتباط مع IL-21 مساوياً (0.839) .

هنالك ارتباط للمناعة الخلوية فيما بينها لتحقيق الهدف النهائي والمتمثل بالقضاء على المستضد عن طريق تفاعل الاستجابة المناعية و الخلايا التائية T-Cell المسؤولة عن المناعة الخلوية , تتضمن المناعة الخلوية مجموعات فرعية عدة من الخلايا اللمفاوية التائية كل واحدة منها لها خصوصية لأحد محددات المستضد تؤدي وظيفة مختلفة وكل خلية تائية تحمل العديد من المستقبلات المستضد المتطابقة تسمى مستقبلات الخلايا التائية (TCR) توزع مباشرة الى موقع المستضد ويؤدي وظيفته نحو تفاعله مع المستضد (Benjamini وآخرون ، 2000 ; Abbas وآخرون ، 2010). إن السايوتوكينات المنتجة من الخلايا اللمفاوية التائية بمثابة المحرك للعمليات الالتهابية لمرض السكري (Rennaule, 2001) .

كما في الجدول (4-16)

جدول (4-16) العلاقة الترابطية بين الحركيات الخلوية التي تم قياسها في هذه الدراسة

Correlations						
		IL-17	CD4 ⁺	CD8 ⁺	IL-21	Age
IL-17	R	1	.726**	.685**	.682**	-.047
	Sig.		.000	.000	.000	.701
	N	70	70	70	70	70
CD4 ⁺	R	.726**	1	.886**	.881**	-.114
	Sig.	.000		.000	.000	.349
	N	70	70	70	70	70
CD8 ⁺	R	.685**	.886**	1	.839**	-.106
	Sig.	.000	.000		.000	.382
	N	70	70	70	70	70
IL-21	R	.682**	.881**	.839**	1	.051
	Sig.	.000	.000	.000		.674
	N	70	70	70	70	70
Age	R	-.047	-.114	-.106	.051	1
	Sig.	.701	.349	.382	.674	
	N	70	70	70	70	70

* = يوجد ارتباط احصائي ذي فرق معنوي $p \leq 0.05$

** = يوجد ارتباط احصائي ذي فرق معنوي عالي $p \leq 0.001$

الاستنتاجات

Conclusions

الاستنتاجات Conclusions

في ضوء نتائج الدراسة الحالية تم التوصل الى الاستنتاجات الآتية :-

- 1- أظهرت الدراسة ان نسبة الذكور المصابين بمرض السكري النمط الاول Diabetes mellitus type 1 اعلى من نسبة الاناث المصابات مع وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية بين الجنسين .
- 2- سجلت الفئة العمرية (11-15) سنة اعلى نسبة للإصابة بالمرض فيما كانت اوطأ نسبة في الفئة العمرية (16-20) سنة.
- 3- أظهر البين الابيضاضي IL-21 تراكيز عالية لدى المصابين بداء السكري- النمط الأول بالمقارنة مع عينات السيطرة، كما أن لهذا البين الابيضاضي ارتباطاً موجباً مع المرض.
- 4- اظهر البين الابيضاضي IL-17 تراكيز منخفضة لدى المصابين بداء السكري-النمط الاول بالمقارنة مع عينات السيطرة، كما أن هذا البين الابيضاضي ليس له ارتباط موجب مع المرض.
- 5- أظهر مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذائبة $CD4^{+}$ تراكيز منخفضة بالنسبة للمرضى المصابين بداء السكري-النمط الاول مقارنة مع عينات السيطرة. أما بالنسبة لمستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذائبة $CD8^{+}$ فقد أظهرت تراكيز عالية بالنسبة للمرضى المصابين بداء السكري-النمط الاول مقارنة مع عينات السيطرة.
- 6- اظهرت النتائج وجود فرق معنوي عال جدا لمجموعة المرضى حسب مدة الاصابة بالمرض.
- 7- اظهرت النتائج وجود فرق احصائي معنوي عال عند مقارنة مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذائبة $CD4^{+}$ مع الجنس بالنسبة لمجموعة المرضى مع عدم وجود فرق معنوي يذكر بالنسبة لمستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذائبة $CD8^{+}$ عند مقارنتها بالجنس.
- 8- اظهرت النتائج ان مستوى البين الابيضاضي IL-17 لدى الذكور اقل من مستواه لدى الاناث، مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز البين الابيضاضي IL-17 لدى المصابين بالنسبة للجنسين.
- 9- اظهرت النتائج ان مستوى تركيز البين الابيضاضي IL-21 لدى الذكور اقل من مستواه لدى الاناث، مع وجود فرق معنوي عالي ذي دلالة احصائية لمستوى تركيز البين الابيضاضي IL-21 لدى المصابين بالنسبة للجنسين.
- 10- اظهرت نتائج هذه الدراسة وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية عالية جدا بين مجاميع الدراسة من حيث متوسط عمر المرضى المصابين بداء السكري من النمط الاول حيث كان المدى العمري لمجموعة المرضى من (1-16) سنة في حين كان المدى العمري لمجموعة السيطرة من (5-25) سنة.

التوصيات

RECOMMENDATIONS

التوصيات Recommendations

- 1- إجراء دراسة جزيئية للجينات التي تشفر للحركات الخلوية IL-17 و IL-21 في المرضى المصابين بداء السكري-النمط الاول في محافظة ديالى.
- 2- القيام بدراسة موسعة دور المناعة الخلوية المتمثلة بأجسام الضد الذاتية Autoantibodies لدى المرضى المصابين بالسكري من النمط الاول في محافظة ديالى.
- 3- إجراء دراسة وراثية مقارنة بين الطرز المظهرية Phenotype والطرز الوراثية Genotype لمرضى السكري النمط الاول في محافظة ديالى.
- 4- دراسة انواع اخرى من الحركات الخلوية لمعرفة علاقتها بتطور مرض السكري عند الاطفال.
- 5- إجراء دراسة جزيئية لجينات الاطفال حديثي الولادة من امهات مصابات بداء السكري.

الملاحق

APPENDICES

ملحق رقم (1) استمارة المعلومات الخاصة بجمع المعلومات من عينة المرضى المصابين بداء السكري - النوع الأول
والعينة القياسية

استمارة معلومات

اسم المريض :

العمر :

الجنس

ذكر

انثى

عدد افراد العائلة :

ذكور

أناث

اسم ونوع المرض :

التشخيص المعتمد للمرض :

تاريخ حدوث الإصابة بالمرض :

العلاج المستخدم

حقن

حب

اخرى

نوع الانسولين المستخدم

صافي

خابط

مخلوط

هل توجد امراض وراثية اخرى لدى المريض

نعم

لا

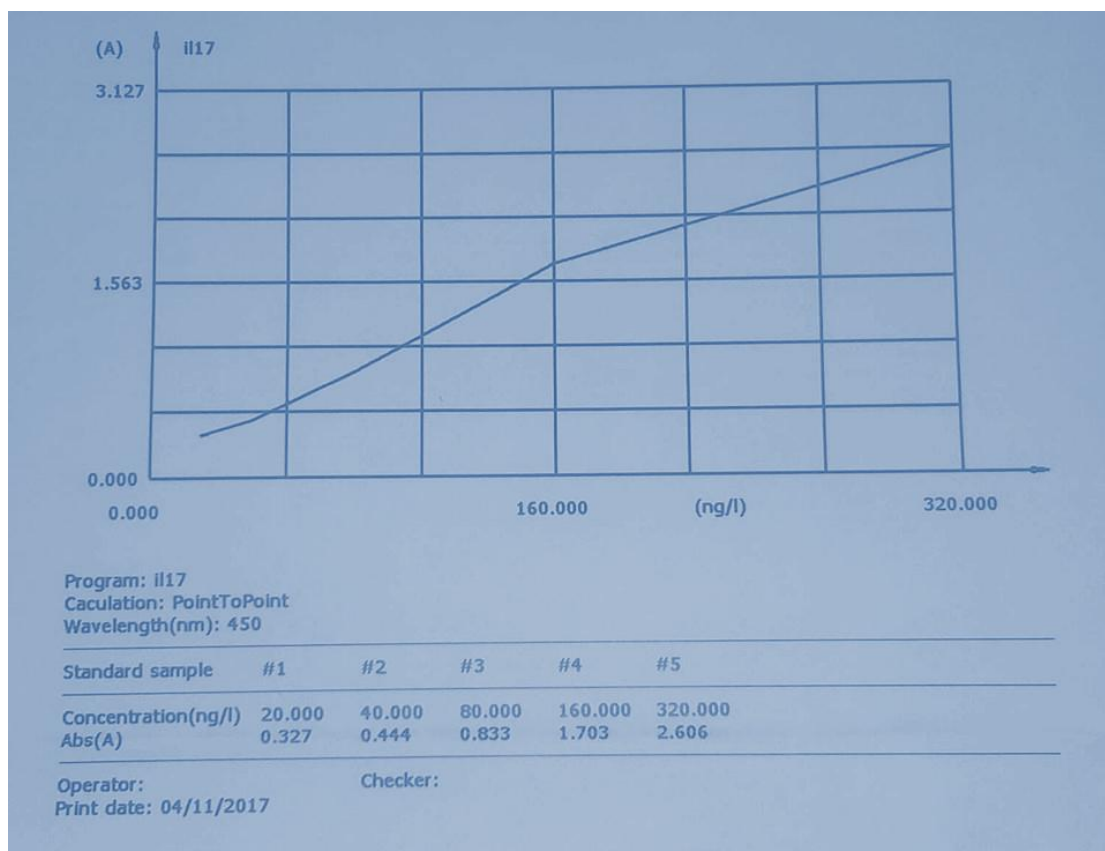
اسم المرض :

هل توجد امراض وراثية لدى افراد العائلة :

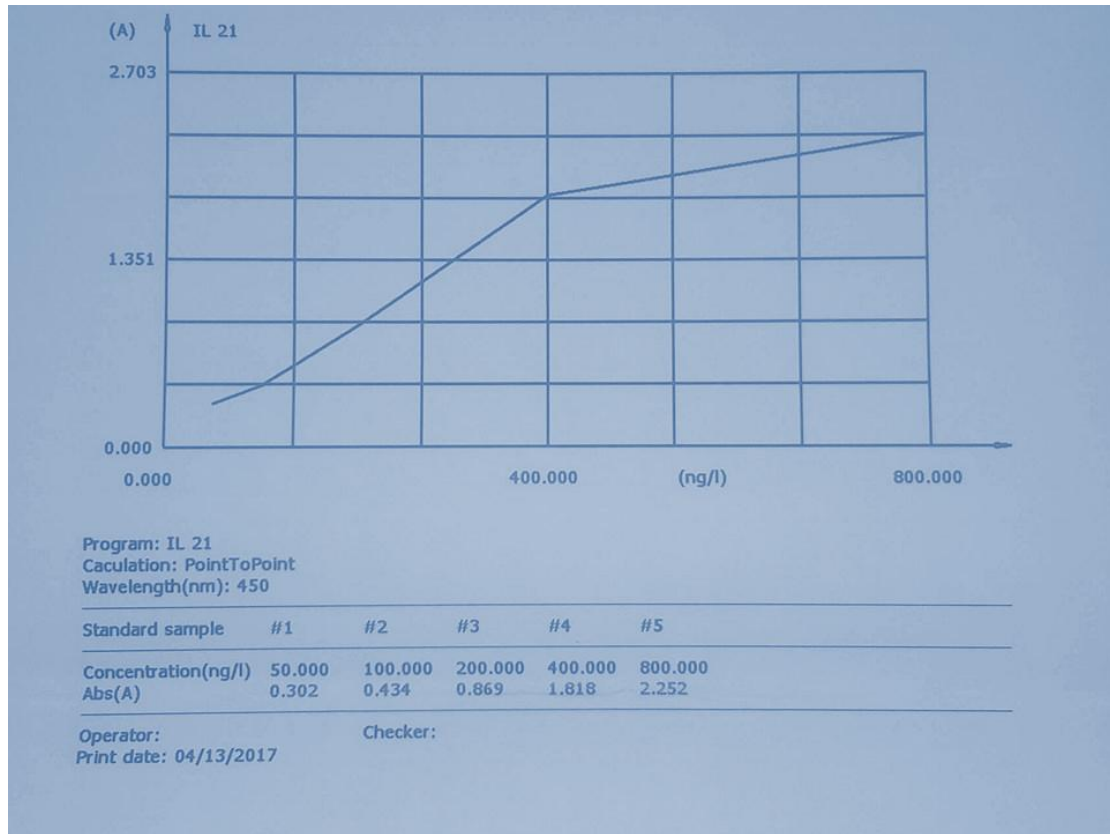
ذكور

اناث

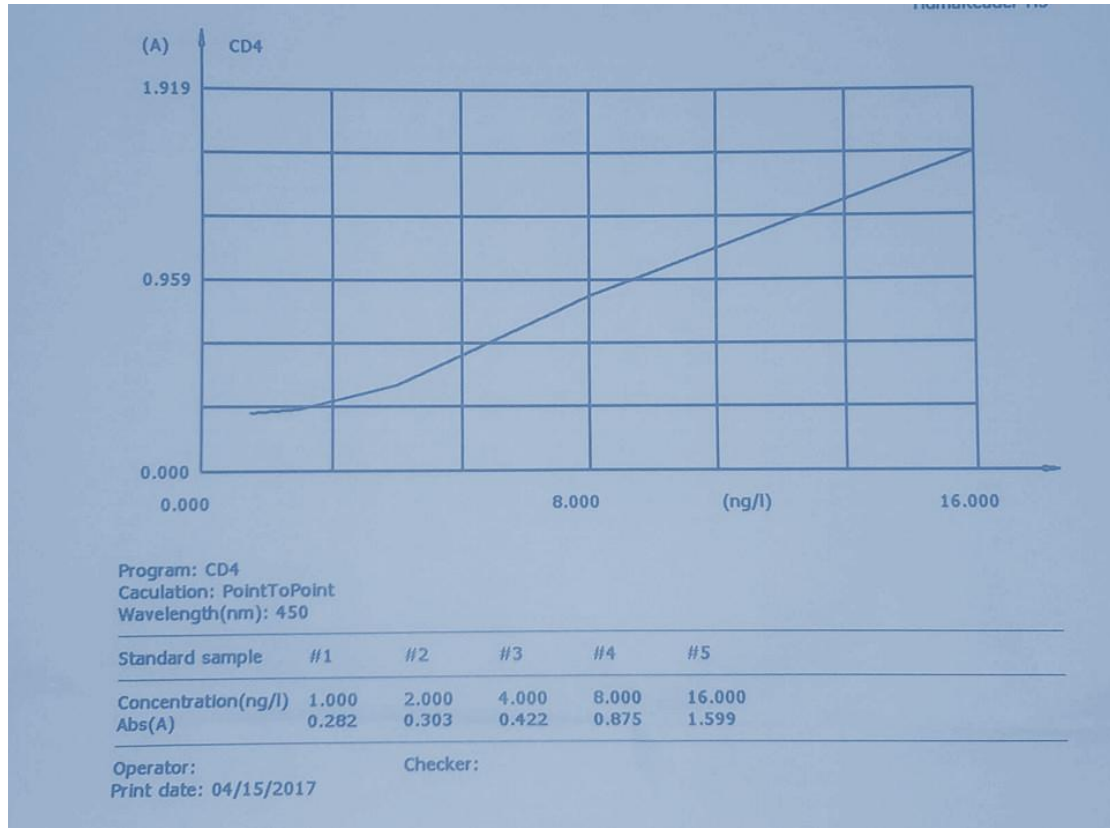
الملاحظات :



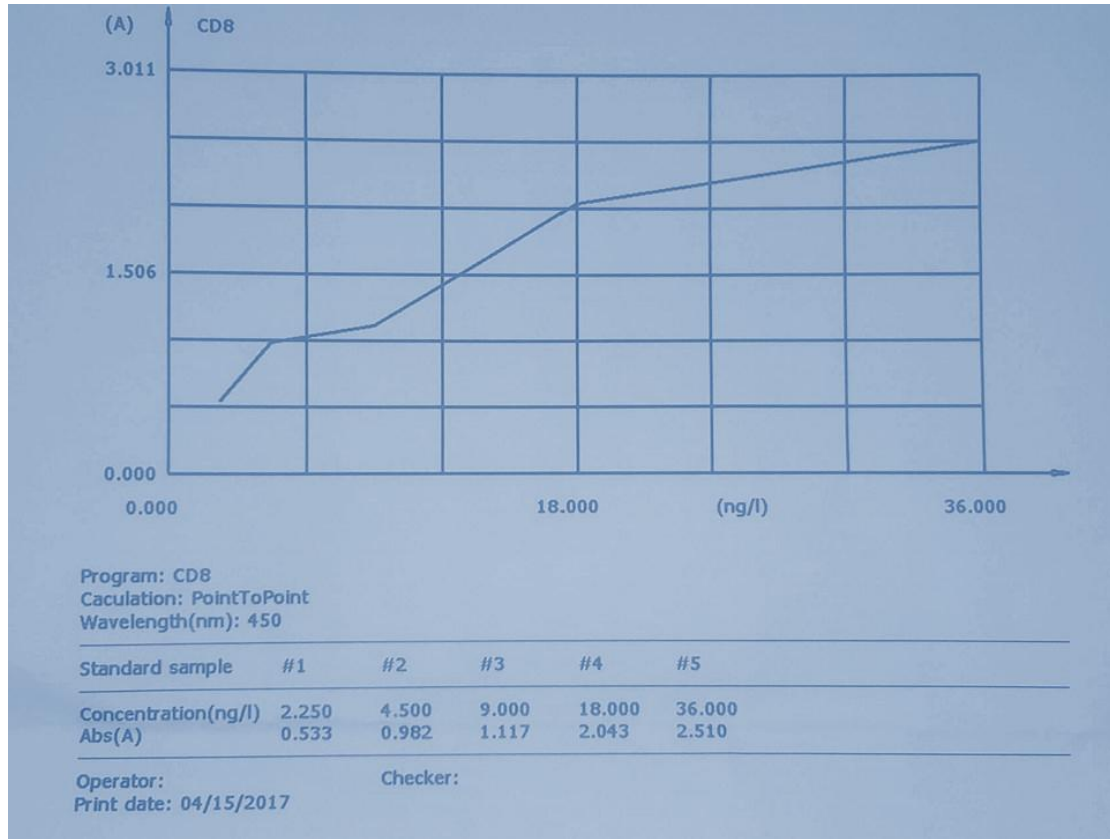
ملحق (2) شكل يوضح المنحنى القياسي للبين الأبيض السابع عشر (IL-17)



ملحق (3) شكل يوضح المنحنى القياسي للبين الأبيض الحادي والعشرون (IL-21)



ملحق (4) شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذائبة والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة ($CD4^+$)



ملحق (5) شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية السمية الذائبة والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية السمية ($CD8^+$)

المصادر

REFERENCES

المراجع العربية

البشتاوي ، مهدي حسين . (2004) . السكري والصحة البدنية ، دار المناهج للنشر والتوزيع ، عمان /الأردن ،الصفحة 12 - 23.

ناصر ، انور عبد(2016).دراسة مناعية ووراثية لداء السكري-النوع الاول في عينة من المرضى العراقيين ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية للعلوم الصرفة-ابن الهيثم ، جامعة بغداد:94.

المراجع الانكليزية

- Abbas , A . K . ; Lichtman , A.H. and Pillai ,S. (2010) . Cellular and Molecular Immunology . 6th ed . philadelphia : Elsevier United states .pp: 545.
- Abdullah, M. A. (2005). Epidemiology of type I diabetes mellitus among Arab children. J. Saudi Med; 26(6):911-917.
- Ahmed, A. M.; Elwad, A. M. and Ahmed, N. H. (1999). Gastroparesis diabeticorum. *Saudi Med. J.* 20(11)852-855.
- Al – naim , Samara Naim . (2005) . study of some immunological &biochemical aspects in diabetic patients with some eye diseases thesis master , college of science \ AL - Mustansiriya university.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Walter, P., Raff, M. and Roberts, K., (2002). Molecular Biology of the Cell 4th Edition: International Student Edition. New York. Garland Science. USA.1-75.
- Al-Khateeb, A. R.(2003). Evaluation of urine protein excretion in diabetic subjects using different analytical techniques. Thesis Ph.D. College of Medicine University of Mosul, P:1-127.
- AL-Ramahi, N.R., (2009).A Genotyping of HLA Class-II Molecules and its correlation with Some Immunological Parameter in Type 1 Iraqi diabetic patients. A thesis submitted to the College of Medicine / Baghdad University for the partial fulfillment PhD degree in Medical Microbiology /Immunology.
- AL-Tukmagi , H.F. and Moussa , M.A. (2014) . Quality of life of patients with type II Diabetes Mellitus in AL-Hilla City –Iraq . *Iraqi.J.pharm.Sci.* , 23 (2) : 99 -103 .

- American Diabetes Association, (2004), Diagnosis and Classification of diabetes mellitus . *Diabetes care*, 27(suppl 1), pp.s5-s10.
- American Diabetes Association, (2008). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 27 supplement. 1.S60.
- American Diabetes Association, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. (2012); 35(suppl 1):64–71.
- American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 33 supplement.1.S062.
- Arif, S., Moore, F., Marks, K., Bouckennooghe, T., Dayan, C., Planas, R., Vives-Pi, M., Powrie, J., Tree, T., Marchetti, P., Huang, C., Gurzov, E., Pujol-Borrell, R., Eizirik, D. and Peakman, M. (2011). Peripheral and Islet Interleukin-17 Pathway activation characterizes human autoimmune diabetes and promotes cytokine-Mediated b-Cell death. *J. Diabetology*. 60:2112-2119.
- Arkinson , M.A. and McLaren , N.K. (1994). The pathogenesis of IDDM. *Eng .J . Med. ,* 331 : 1428 – 1436. dependent diabetes mellitus . *Ann. Rev. Immunol. ,* 2 : 289 – 320.
- Atkinson, M.A.,(2011). Response to Comment on: Atkinson. It's Time to Consider Changing the Rules: The Rationale for Rethinking Control Groups in Clinical Trials Aimed at Reversing Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2011; 60: 361–363. *Diabetes*, 60(6), pp.e18-e18.
- Bach, J.F., (1994). Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocrine reviews*, 15(4), pp.516-542.
- Bakker, S.F., Tushuizen, M.E., von Blomberg, M.E., Mulder, C.J. and Simsek, S.,(2013). Type 1 diabetes and celiac disease in adults: glycemic control and diabetic complications. *Acta diabetologica*, 50(3), pp.319-324.
- Bell, R. (2009). Diabetes in Non-Hispanic White Youth. *Diabetes Care*. 32(S2):S101-111.
- Bending, D., De La Peña, H., Veldhoen, M., Phillips, J.M., Uyttenhove, C., Stockinger, B. and Cooke, A., (2009). Highly purified Th17 cells from BDC2. 5NOD mice convert into Th1-like cells in NOD/SCID recipient mice. *The Journal of clinical investigation*, 119(3), p.565.

- Benjamini , E. ;Coico , R. and Sunshine , G. (2000) . Immunology Ashort Course , 4th ed . Wiley Liss . Canada .
- Berrington, J.E.; Barge, D.; Fenton, A.C.;Cant, A.J. and Spickett,G.P.(2005). Lymphocyte subsets in term and significantly preterm UK infants in the first year of life analysed by single platform flow cytometry.*J. Clin. Exp. Immunol.*, 140 :289-292.
- Berwary, N.J.A., Majid, F.A.A., Hamdan, S., Khangholi, S. and Waheda, N.E., (2013). Viruses Induce Type 1 Diabetes Mellitus in the Presence of HLA-DR3, DR4 Genes. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 18(7), pp.916-925.
- Beschin, A., Bilej, M., Torreele, E. and De Baetselier, P., (2001). On the existence of cytokines in invertebrates. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(5), pp.801-814.
- Betterle, C., Zanette, F., Pedini, B., Presotto, F., Rapp, L.B., Monciotti, C.M. and Rigon, F., (1984). Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia*, 26(6), pp.431-436.
- Beutler, B., Greenwald, D., Hulmes, J.D.,(1985)." Identity of tumor necrosis factor and the macrophage – secreted factor cachectin" *Nature*; 316: 552 – 554.
- Bienvenu, J., Monneret, G., Fabien, N. and Revillard, J.P., (2000). The clinical usefulness of the measurement of cytokines. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 38(4), pp.267-285.
- Bingley, P.J., Christie, M.R., Bonifacio, E., Bonfanti, R., Shattock, M., Fonte, M.T., Bottazzo, G.F. and Gale, E.A., (1994). Combined analysis of autoantibodies improves prediction of IDDM in islet cell antibody-positive relatives. *Diabetes*, 43(11), pp.1304-1310.
- Borch-Johnsen, K.; Joner, G. and Mandrup-Poulsen, T. (1984).Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. A hypothesis. *Lan.*, 2: 1083-1086.
- Bradshaw, E.M., Raddassi, K., Elyaman, W., Orban, T., Gottlieb, P.A., Kent, S.C. and Hafler, D.A., (2009). Monocytes from patients with type 1 diabetes

spontaneously secrete proinflammatory cytokines inducing Th17 cells. *The Journal of Immunology*, 183(7), pp.4432-4439.

Breyer, J.A.; Bain, R.P.; Evans, J.K.; Nahman, N.S. and Lewis, E.J. (1996). Predictors of the progression of renal insufficiency in patients with insulin-dependent diabetes and overt diabetic nephropathy. *Kidney Int.*, 50: 1651-1657.

Cernea, S. and Herold, K.C., (2010). Monitoring of antigen-specific CD8 T cells in patients with type 1 diabetes treated with antiCD3 monoclonal antibodies. *Clinical immunology*, 134(2), pp.121-129.

Chang, F.Y. and Shaio, M.F., (1995). Decreased cell-mediated immunity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 28(2), pp.137-146.

Chen, Y., Blumenschein, W.M., Murphy, C.A., Langrish, C.L., Mc-Clanahan, T.K., Kastelein, R.A., Sedgwick, J.D., and Cua, D.J.(2003). Divergent pro- and anti-inflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J. Exp. Med.* 198: 1951-57.

Cooke, D. W. and Plotnick, L. (2008). Type 1 diabetes mellitus in pediatrics. *Pediatr. Rev.* 29:374-385.

Craig, M.E.; Hattersley A. and Donaghue, K.C.(2009) .Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* ; 12:3-12.

Cua, D., Sherlock, J., Chen, Y., Murphy, C., Joyce, B., Seymour, B., Lucian, L., To, W., Kwan, S., Churakova, T., et al..(2003). Interleukin-23 rather than interleukin- 12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*; 421: 744–748.

Curfs, J.H., Meis, J.F. and Hoogkamp-Korstanje, J.A., (1997). A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clinical microbiology reviews*, 10(4), pp.742-780.

Dabelea, D., Bell, R.A., D'Agostino Jr, R.B., Imperatore, G., Johansen, J.M., Linder, B., Liu, L.L., Loots, B., Marcovina, S., Mayer-Davis, E.J. and Pettitt, D.J., 2007. Incidence of diabetes in youth in the United States. *Jama*, 297(24), pp.2716-2724.

Dabelea, D., Pihoker, C., Talton, J.W., D'Agostino, R.B., Fujimoto, W., Klingensmith, G.J., Lawrence, J.M., Linder, B., Marcovina, S.M., Mayer-Davis, E.J. and Imperatore,

- G., (2011). Etiological Approach to Characterization of Diabetes Type. *Diabetes care*, 34(7), pp.1628-1633.
- Dahl-Jørgensen, K., Larsen, J.R. and Hanssen, K.F.,(2005). Atherosclerosis in childhood and adolescent type 1 diabetes: early disease, early treatment?. *Diabetologia*, 48(8), pp.1445-1453.
- Daneshmandi, S., Pourfathollah, A., Arababadi, M. K., Hassanshahi, G., Razaieian, M. and Asiabanha, M. (2008). Evaluation of relation between IL-4 and IFN- γ polymorphism and type 2 diabetes. *J. Maz. Univ. Med. Sci.* 18(66):35-41.
- Di Fusco,D., Izzo,R., Figliuzzi,M.M., Pallone,F., and Monteleone,G.,(2014).IL-21 as a therapeutic target in inflammatory disorders. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 18, no. 11, pp. 1329–1338.
- Di Lorenzo, T.P., Peakman, M. and Roep, B.O.,(2007). Translational mini-review series on type 1 diabetes: systematic analysis of T cell epitopes in autoimmune diabetes. *Clinical and Experimental Immunology*, 148(1), pp.1-16.
- Dinarello, C.A., (2007). Historical insights into cytokines. *European journal of immunology*, 37(S1).
- Duddy, M.; Niino, M.; Adatia, F.; Hebert, S.; Freedman, M.; Atkins, H.; Kim, H.J.and Bar-Or, A. (2007). Distinct effector cytokine profiles of memory and naive human B cell subsets and implication in multiple sclerosis. *J. Immunol.*,178(10):6092-6099.
- Eisenbarth, G.S. and Gottlieb, P.A., 2004. Autoimmune polyendocrine syndromes. *New England Journal of Medicine*, 350(20), pp.2068-2079.
- Eizirik, D.L. and Mandrup-Poulsen, T., (2001). A choice of death—the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia*, 44(12), pp.2115-2133.
- Elgert, K. D., (2009). *Immunology: Understanding the immune system.* (2009). 2nd edition. John Wiley and Sons. pp.1-726.
- Erdogan, S. and Serap, k.(2010).Seroprevalence of Autoimmune Thyroid itis and Celiac Disease in Children with Insulin dependent Diabetes Mellitus in the Thrace region of Turkey. 21(3):231-5.
- Erlich, H., Valdes, A.M., Noble, J., Carlson, J.A., Varney, M., Concannon, P., Mychaleckyj, J.C., Todd, J.A., Bonella, P., Fear, A.L. and Lavant, E., (2008). HLA DR-DQ

haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk. *Diabetes*, 57(4), pp.1084-1092.

Faustman, D.L. and Davis, M., (2009). The primacy of CD8 T lymphocytes in type 1 diabetes and implications for therapies. *Journal of molecular medicine*, 87(12), pp.1173-1178.

Forlenza, G.P. and Rewers, M., (2011). The epidemic of type 1 diabetes: what is it telling us?. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 18(4), pp.248-251.

Forouhi, N. G. and Wareham, N. J. (2006). Epidemiology of diabetes. *Medicine*. 34(2):57-60.

Fouad, M.K.; Ahmed, M.B. and Sami, M. (1979). The prevalence of (DM) in rural community in Iraq. *Intern. J. Epidemiol.*, 8(1): 69-71.

Foulis, A.; McGill, M.; Farquharson, A.(1991). Insulitis in type1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in man-macrophages, lymphocytes, and interferon- γ containing cells. *J. Pathol.* 165: 97-103.

Foulis, A.K., (2008), July. Pancreatic pathology in type 1 diabetes in human. In Novartis Foundation symposium (Vol. 292, p. 2). Chichester; New York; John Wiley; 1999.

Fukushima, T., Zapata, J.M., Singha, N.C., Thomas, M., Kress, C.L., Krajewska, M., Krajewski, S., Ronai, Z.E., Reed, J.C. and Matsuzawa, S.I., (2006). Critical function for SIP, a ubiquitin E3 ligase component of the β -catenin degradation pathway, for thymocyte development and G1 checkpoint. *Immunity*, 24(1), pp.29-39.

Gaffen, S.L., (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor superfamily. *Nature reviews. Immunology*, 9(8), p.556.

Gale, E.A., (2002). The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes*, 51(12), pp.3353-3361.

Gale, E.A.M., (2005). Latent autoimmune diabetes in adults: a guide for the perplexed; 48:2195–99.

Ghoreschi, K., Laurence, A., and O'Shea, J.J., (2009). Janus kinases in immune cell signaling. *Immunological Reviews*, vol. 228, no. 1, pp. 273–287.

- Gianani, R. and Eisenbarth, G. S. (2005). The stages of type 1A diabetes: 2005. *Immunol. Rev.* 204:232–49.
- Gordon, S., Fraser, I., Nath, D., Hughes, D. and Clarke, S., (1992). Macrophages in tissues and in vitro. *Current opinion in immunology*, 4(1), pp.25-32.
- Greidinger, E.L. and Hoffman, R.W., (2001). The appearance of U1 RNP antibody specificities in sequential autoimmune human antisera follows a characteristic order that implicates the U1–70 kd and B'/B proteins as predominant U1 RNP immunogens. *Arthritis & Rheumatology*, 44(2), pp.368-375.
- Grieco, F. A., Moore, F., Vigneron, F., Santin, I., Villate, O., Marselli, L., Rondas, D., Korf, H., Overbergh, L. and Dotta, L. (2014). 1L-17A increases the expression of proinflammatory chemokines in human pancreatic islets. *J. Diabetologia* 57(3):502–511.
- 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. *The Journal of Immunology*, 175(4), pp.2091-2101.
- Hagopian, W.A., Sanjeevi, C.B., Kockum, I., Landin-Olsson, M., Karlén, A.E., Sundkvist, G., Dahlquist, G., Palmer, J. and Lernmark, A., (1995). Glutamate decarboxylase-, insulin-, and islet cell-antibodies and HLA typing to detect diabetes in a general population-based study of Swedish children. *Journal of Clinical Investigation*, 95(4), p.1505.
- Harjutsalo, V., Sjöberg, L. and Tuomilehto, J., (2008). Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *The Lancet*, 371(9626), pp.1777-1782.
- Harrington, L.E., Hatton, R.D., Mangan, P.R., Turner, H., Murphy, T.L., Murphy, K.M. and Weaver, C.T., (2005). Interleukin 17–producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature immunology*, 6(11), pp.1123-1132.
- Hartwall, L., Honkanen, J., Salo, H., Nieminen, J., Luopajarvi, K., Harkonen, T., Veijola, R., Simell, O., Ilonen, J., Peet, A., Tillmann, V., Knip, M. and Vaarala, Q. (2015). Th1/Th17 plasticity is a marker of advanced β cell autoimmunity and impaired glucose tolerance in Humans. *J. Immunol.* 194:68-75.

- Hasham, A. and Tomer, Y. (2011). The recent rise in the frequency of type 1 diabetes: who pulled the trigger?. *J. Autoimmun.* 37(1):1–2.
- Haslett, C., Edwin, R. C., John, A. A. H. and Nicholas, A. B. (1999) . Principles and practice of medicine . Churchill Livingstone London . P. 7 – 524.
- Honkanen, J., Nieminen, J., Gao, R., Luopajarvi, K., Salo, H., Ilonen, J., Knip, M., Otonkoski, T. and Vaarala, H. (2010). IL-17 immunity in human type 1 diabetes. *J. Immunol.* 185:1959–1967.
- Hulkko, T., Lyytikäinen, O., Jaakola, S., Kuusi, M., Puumala, J. and Ruutu, P., (2011). Infectious diseases in Finland 2010. Report/National Institute for Health and Welfare (THL)= Raportti/Terveystieteiden tutkimuskeskus: 39/2011.
- Ifere, O.G. (2009) . Lymphocytes membrane protein glycosylation a possible cause of lowered immune-competence in diabetic subjects . *Diab. Intern.* , 10 :14-15 .
- International Expert Committee.,(2009). International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 32:1327–34.
- Iraq Family Health Survey (IFHS)(2007). Implementing agencies: Ministry of Health / Iraq Central Organization for Statistics & Information Technology Ministry of Health/Kurdistan Kurdistan Regional Statistics Office In collaboration with WHO/Iraq With the financial support by the European Commission. *Iraqi J. pharm. Sci.* , 23 (2) : 99 -103 .
- Jain, R., Tartar, D.M., Gregg, R.K., Divekar, R.D., Bell, J.J., Lee, H.H., Yu, P., Ellis, J.S., Hoeman, C.M., Franklin, C.L. and Zaghoulani, H., (2008). Innocuous IFN γ induced by adjuvant-free antigen restores normoglycemia in NOD mice through inhibition of IL-17 production. *Journal of Experimental Medicine*, 205(1), pp.207-218.
- Jin, W. and Dong, C. (2013). IL-17 Cytokines in immunity and inflammation. *Emerging Microbes and Infection.* 60(18):1-5.
- Kallmann, B., Huth, M., Tubes, M., Feldkamp, J., Bertams, J., Gries, A., Lampeter, E. and Kolb, H. (1997). Systemic bias of cytokine production toward cell-mediated immune regulation in IDDM and toward humoral immunity in graves diseases. *J. Diabetes.* 46(2):237-243.

- Karvonen, M. Viik-Kajander, M., Moltchanova, E., Libman, I., LaPorte, R. and Tuomilehto, J. (2000). Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Care*. 23:1516-1526.
- Kawaguchi, M., Adachi, M., Oda, N., Kokubu, F. and Huang, S.K., (2004). IL-17 cytokine family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(6), pp.1265-1273.
- Khalaf,(2016).study of some immunological parameters in some diabetes mellitus patients in diyala governorate.diyala Journal for pure sciences. Vol: 13 No:3.
- Kikodze, N.; Pantsulaia, I.; Rekhviashvili, K.(2014). Cytokines and T regulatory cell in the pathogenesis of type1 diabetes. *Georgian Med. News J*. 222:29-35.
- Knip, M.,(2011). Pathogenesis of type 1 diabetes: implications for incidence trends. *Hormone research in paediatrics*, 76, p.57.
- Kolls, J.K. and Linden, A., (2004). Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*, 21(4), pp.467-476.
- Korn, T., Bettelli, E., Gao, W., Awasthi, A., Jäger, A., Strom, T.B., Oukka, M. and Kuchroo, V.K., (2007). IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory TH17 cells. *Nature*, 448(7152), p.484.
- Kulmala, P., Savola, K., Reijonen, H., Veijola, R., Vähäsalo, P., Karjalainen, J., Tuomilehto-Wolf, E., Ilonen, J., Tuomilehto, J., Akerblom, H.K. and Knip, M., (2000). Genetic markers, humoral autoimmunity, and prediction of type 1 diabetes in siblings of affected children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes*, 49(1), pp.48-58.
- Laing, S.P., Swerdlow, A.J., Slater, S.D., Burden, A.C., Morris, A., Waugh, N.R., Gatling, W., Bingley, P.J. and Patterson, C.C., (2003). Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*, 46(6), pp.760-765.
- Lefkowitz, D.L. and Lefkowitz, S.S., (2001). Macrophage-neutrophil interaction: a paradigm for chronic inflammation revisited. *Immunology and cell biology*, 79(5), p.502.
- Levesque,R.(2007).SSPS Programming and Data Management ,4th ed .Chicago,pp:522.
- Li, M., Song, L. and Qin, x. (2014). Advance in the cellular immunology pathogenesis of type 1 diabetes. *J. Cell. Mol*. 18(2):749-758.

- Ludvigsson, J.(2006). Why diabetes incidence increases unifying theory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1079: 374-82.
- Maahs, D.M., West, N.A., Lawrence, J.M., Mayer-Davis, E.J., (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.*; 39:481–97.
- Marino, E. and Grey, S.T., (2008). A new role for an old player: do B cells unleash the self-reactive CD8+ T cell storm necessary for the development of type 1 diabetes?. *Journal of autoimmunity*, 31(3), pp.301-305.
- Martin-Orozco, N., Chung, Y., Chang, S.H., Wang, Y.H. and Dong, C., (2009). Th17 cells promote pancreatic inflammation but only induce diabetes efficiently in lymphopenic hosts after conversion into Th1 cells. *European journal of immunology*, 39(1), pp.216-224.
- Mathis, D., Vence, L. and Benoist, C., (2001). β -Cell death during progression to diabetes. *Nature*, 414(6865), pp.792-798.
- McGuire, H.M., Walters, S., Vogelzang, A., Lee, C.M., Webster, K.E., Sprent, J., Christ, D., Grey, S. and King, C., (2011). Interleukin-21 is critically required in autoimmune and allogeneic responses to islet tissue in murine models. *Diabetes*, 60(3), pp.867-875.
- Meazza, R., Azzarone, B., Orengo, A.M. and Ferrini, S., (2011). Role of common-gamma chain cytokines in NK cell development and function: perspectives for immunotherapy. *BioMed Research International*, 2011.
- Monteleone, G., Monteleone, I., Fina, D., Vavassori, P., Blanco, G.D.V., Caruso, R., Tersigni, R., Alessandroni, L., Biancone, L., Naccari, G.C. and MacDonald, T.T., (2005). Interleukin-21 enhances T-helper cell type I signaling and interferon- γ production in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 128(3), pp.687-694.
- Morran, M.P., Omenn, G.S. and Pietropaolo, M., (2008). Immunology and genetics of type 1 diabetes. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, 75(4), pp.314-327.
- Murphy, C.A., Langrish, C.L., Chen, Y., Blumenschein, W., McClanahan, T., Kastelein, R.A., Sedgwick, J.D. and Cua, D.J., (2003). Divergent pro-and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 198(12), pp.1951-1957.

- Nordwall, M., Arnqvist, H.J., Bojestig, M. and Ludvigsson, J., (2009). Good glycemic control remains crucial in prevention of late diabetic complications—the Linköping Diabetes Complications Study. *Pediatric diabetes*, 10(3), pp.168-176.
- Nurieva, R., Yang, X.O., Martinez, G., Zhang, Y., Panopoulos, A.D., Li, M., Schluns, K., Tian, Q., Watowich, S.S., Jetten, A.M. and Chen, D., (2007). Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*, 448(7152), p.480.
- Ozaki, K., Kikly, K., Michalovich, D., Young, P.R. and Leonard, W.J., (2000). Cloning of a type I cytokine receptor most related to the IL-2 receptor β chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(21), pp.11439-11444.
- Padgett, L.E., Broniowska, K.A., Hansen, P.A., Corbett, J.A. and Tse, H.M., (2013). The role of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in type 1 diabetes pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), pp.16-35.
- Parrish-Novak, J., Dillon, S.R., Nelson, A. and Hammond, A., (2000). Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature*, 408(6808), p.57.
- Peck, A. and Mellins, E.D., (2010). Plasticity of T-cell phenotype and function: the T helper type 17 example. *Immunology*, 129(2), pp.147-153.
- Pedicino, D., Liuzzo, A., Trotta, F., Giglio, A., Giubilato, S., Martini, F., Zaccardi, F., Scavone, G., Previtero, M., Massaro, G., Cialdella, P., Cardillo, M., Pitocco, D., Ghirlanda, G. and Crea, F., (2013). Adaptive immunity inflammation and cardiovascular complication in type1 and type2 diabetes mellitus. *Hindawi Pub. Corp. J. Diabetes Res.*10:1-11.
- Peng, H. and Hagopian, W.(2006) .Environmental factors in the development of type1 diabetes. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. 7(3): 149- 62.
- Philip , E. , Cryer , M. D. and Belinda , P. O. (2000) . American diabetes association complete guide to diabetes . John Wiley and Sons ,USA . P. 8 – 13.
- Phillips, J. M., Parish, N. M., Drage, M. and Cooke, A. (2001). Cutting edge: interactions through the IL-10 receptor regulate autoimmune diabetes. *J. Immunol.*167:6087–6091.

- Pietropaolo, M. and Eisenbarth, G.S., (2001). Autoantibodies in human diabetes. In *Molecular Pathology of Type 1 Diabetes mellitus* (Vol. 4, pp. 252-282). Karger Publishers.
- Pietropaolo, M., Towns, R. and Eisenbarth, G.S., (2012). Humoral autoimmunity in type 1 diabetes: prediction, significance, and detection of distinct disease subtypes. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(10), p.a012831.
- Pipeleers, D., Veld, P.I.T., Pipeleers-Marichal, M. and Gorus, F., (2008). The β Cell Population in Type 1 Diabetes. In *Defining Optimal Immunotherapies for Type 1 Diabetes: Novartis Foundation Symposium 292* (pp. 19-31). John Wiley and Sons, Ltd.
- Pociot, F. and Mc Dermott, M.T. (2002). Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Gen. Immun.*, 3: 235–249.
- Pozzilli, P. and Guglielmi, C., (2009). Double diabetes: a mixture of type 1 and type 2 diabetes in youth. In *Endocrine Involvement in Developmental Syndromes* (Vol. 14, pp. 151-166). Karger Publishers.
- Principles and practice of medicine . Churchill Livingstone k London . P. 7 – 524.
- Rabinovitch, A. and Suarez-Pinzon, W.L. (2003). Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 4:291-99.
- Rabinovitch, A. and Suarez-Pinzon, W.L., (1998). Cytokines and their roles in pancreatic islet β -cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochemical pharmacology*, 55(8), pp.1139-1149.
- Rennaule, J.C. (2001) . New insight in to the role of cytokines in asthma . *J.Clin. Pathol.* , 54 : 577-589 .
- Rewers, A. and Chase, H.P. (2002). Predictor of acute complications in children with type 1 diabetes. *JAMA* , 6: 16-20.
- Ricardo C. Ferreira & Henry Z. Simons & Whitney S. Thompson & Antony J. Cutler & Xaquín Castro Dopico & Deborah J. Smyth & Meghavi Mashar & Helen Schuilenburg & Neil M. Walker & David B. Dunger & Chris Wallace & John A. Todd & Linda S. Wicker & Marcin L. Pekalski, 2015. IL-21 production by CD4⁺ effector T cells and frequency of circulating follicular helper T cells are increased

in type 1 diabetes patients, *Diabetologia* (2015) 58:781–790 DOI 10.1007/s00125-015-3509-8.

- Richard, I. G. (2004). Diabetes epidemiology and pathogenesis of diabetes mellitus an update psychiatrists. *British J. Psych.* 184(47):55-63.
- Rochman, Y., Spolski, R. and Leonard, W.J., (2009). New insights into the regulation of T cells by γ c family cytokines. *Nature reviews. Immunology*, 9(7), p.480.
- Roohi, A., Tabrizi, M., Abbasi, F., Jafari, A. and Nikbin, B. (2014). Serum IL-17, IL-23, and TGF-B levels in type1 and type2 diabetic patients and age-matched healthy controls. *Biomed Res. Inter.* Accepted 14 May:p1-7.
- Rossini, A.A., Mordes, J.P. and Like, A.A., (1985). Immunology of insulin-dependent diabetes mellitus. *Annual review of immunology*, 3(1), pp.289-320.
- Saleh, M.A.(2012). Estimation Cell Mediated Immunity in Some Iraqi Patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. *Iraqi Journal of Science*, 2012, vol.53, No.2, pp 292-297.
- Sami, T. A.; Hala, T.; Hayfa, N. B.; Zouhar, H. and Wassim, Y. A. (1999) . Type 1 Insulin – Dependent Diabetes is aTH1 – and TH2- Mediated Autoimmune Disease. *Clin.Lab. Immunol.*, 3 : 306-310.
- Sarra, M., Monteleone, I., Stolfi, C., Fantini, M.C., Sileri, P., Sica, G., Tersigni, R., Macdonald, T.T., Pallone, F. and Monteleone, G., (2010). Interferon-gamma-expressing cells are a major source of interleukin-21 in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases*, 16(8), pp.1332-1339.
- Schmidli, R.S., DeAizpurua, H.J., Harrison, L.C. and Colman, P.G., (1994). Antibodies to glutamic acid decarboxylase in at-risk and clinical insulin-dependent diabetic subjects: relationship to age, sex and islet cell antibody status, and temporal profile. *Journal of autoimmunity*, 7(1), pp.55-66.
- Schmitz, M.L., Weber, A., Roxlau, T., Gaestel, M. and Kracht, M., (2011). Signal integration, crosstalk mechanisms and networks in the function of inflammatory cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(12), pp.2165-2175.
- Sharif, S., Arreaza, G. A., Zucker, P. and Delovitch, T. L. (2002). Regulatory natural killer T cells protect against spontaneous and recurrent type 1 diabetes. *Ann. NY Acad. Sci.* 958:77–88.

- Sharifi, F. ; Ghasemi,L. and Mousavinasab,N. (2007) .Thyroid Function and Anti-Thyroid Antibodies In Iranian patients with Type 1 Diabetes Mellitus: Influences of Age and Sex. 7(1):31-6.
- Spolski, R. and Leonard, W.J., (2014). Interleukin-21: a double-edged sword with therapeutic potential. *Nature reviews. Drug discovery*, 13(5), p.379.
- Stadinski, B., Kappler, J. and Eisenbarth, G.S., (2010). Molecular targeting of islet autoantigens. *Immunity*, 32(4), pp.446-456.
- Steinman, L., (2007). A brief history of TH17, the first major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nature medicine*, 13(2), p.139.
- Sutherland, A.P., Van Belle, T., Wurster, A.L., Suto, A., Michaud, M., Zhang, D., Grusby, M.J. and von Herrath, M., (2009). Interleukin-21 is required for the development of type 1 diabetes in NOD mice. *Diabetes*, 58(5), pp.1144-1155.
- Talaro, K.P.(2005). Immunization and Immune Assays In : Foundations in Microbiology Basic principles. Fifth edition ,Nev York, McGraw Hill, pp: 490 – 491.
- Taplin, C.E. and Barker, J.M., (2008). Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity*, 41(1), pp.11-18.
- Thanabalasingham, G. and Owen, K.R., (2011). Diagnosis and management of maturity onset diabetes of the young (MODY). *BMJ*, 343(7828), pp.837-42.
- Tilg, H, and Holamisligil G.S. (2006). Non alcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistanc. *Gastroenterol.*, 131: 934-945.
- Tzartos, J.S., Friese, M.A., Craner, M.J., Palace, J., Newcombe, J., Esiri, M.M. and Fugger, L., (2008). Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *The American journal of pathology*, 172(1), pp.146-155.
- Van Belle, T.L., Coppieters, K.T. and Von Herrath, M.G., (2011). Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiological reviews*, 91(1), pp.79-118.
- Vukkadapu, S.S., Belli, J.M., Ishii, K., Jegga, A.G., Hutton, J.J., Aronow, B.J. and Katz, J.D., (2005). Dynamic interaction between T cell-mediated β -cell damage and β -cell repair in the run up to autoimmune diabetes of the NOD mouse. *Physiological genomics*, 21(2), pp.201-211.

- Wajchenberg, B.L., (2007). β -cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment. *Endocrine reviews*, 28(2), pp.187-218.
- Wakita, T., Shintani, F., Yagi, G., Asai, M. and Nozawa, S., (2001). Combination of inflammatory cytokines increases nitrite and nitrate levels in the paraventricular nucleus of conscious rats. *Brain research*, 905(1), pp.12-20.
- Wang, B.O., Gonzalez, A., Benoist, C. and Mathis, D., (1996). The role of CD8⁺ T cells in the initiation of insulin-dependent diabetes mellitus. *European journal of immunology*, 26(8), pp.1762-1769.
- Warsy, A. S. and El-Hazmi, M. A. F. (1999). Diabetes mellitus, hypertension and obesity-common multifactorial disorders in Saudis. *Saud. Med. J.*, 5:1236-1242.
- Watson, C.S. and Gametchu, B. (2001). Membrane estrogen and glucocorticoid receptors Implications for hormonal control of immune function and autoimmunity . *Int. Immunol. Pharmacol.* , 1 : 1049 – 1063 .
- Weets I., Rooman R., and Coeckelberghs M. (2007). The age at diagnosis of type 1 diabetes continues to decrease in Belgian boys but not in girls: a 15-year survey. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 23(8):637-43.
- Wegner, M.; Winiarski, H.; Bobkiewicz-Kozłowski, T. and Dworacka M. (2008). IL-12 serum level in patients with type 2 diabetes treated with sulphonylureas. *Cytok.*, 42: 312-316.
- Wei, L., Laurence, A., Elias, K.M. and O'Shea, J.J., (2007). IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *Journal of Biological Chemistry*, 282(48), pp.34605-34610.
- Weinberg, E. ; Maymon , T. and Weinreb, M. (2014) . AGEs induce caspase mediated apoptosis of rat BMSCs via . TNF α production and oxidative stress . *J. Mol. Endocrinol.* , 52 : 67 -76 .
- Welch, B.J. and Zib, I., (2004). Case study: diabetic ketoacidosis in type 2 diabetes: “look under the sheets”. *Clinical Diabetes*, 22(4), pp.198-200.
- Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C. and Shaw, J., (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 94(3), pp.311-321.

- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*.27:1047–1053.
- William, E. W.; Neil, H. and Desmond, S. (2002) . Immunological Markes in the Diagnosis and prediction of Autoimmune type 1a Diabetes. *Clin. Diab.*, 20 : 183-191.
- World Health Organization, (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. World Hearth Org.
- World Health Organization. (2015). *Diabetes*. Fact sheet, N312.
- World Health Organization.(2011). Use of glycated hemoglobin in the diagnosis of diabetes mellitus. Geneva .
- Zhang, L., Gianani, R., Nakayama, M., Liu, E., Kobayashi, M., Baschal, E., Yu, L., Babu, S., Dawson, A., Johnson, K. and Jahromi, M., (2008), July. Type 1 diabetes: chronic progressive autoimmune disease. In Novartis Foundation Symposium (Vol. 292, p. 85).
- Zhou, L., Ivanov, I.I., Spolski, R., Roy, M., Shenderov, K., Egawa, T., Levy, D.E., Leonard, W.J. and Littman, D.R., (2007). IL-6 programs TH-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nature immunology*, 8(9), p.967.
- Zhou, X., Bailey-Bucktrout, S.L., Jeker, L.T., Penaranda, C., Martínez-Llordella, M., Ashby, M., Nakayama, M., Rosenthal, W. and Bluestone, J.A., (2009). Instability of the transcription factor Foxp3 leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. *Nature immunology*, 10(9), pp.1000-1007.
- Zhu, J., H. Yamane, and W. E. Paul. (2010). Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu. Rev. Immunol.* 28: 445–89.

Abstract

The study was conducted in the Diabetes Unit, which was part of the Advisory Committee of Al Batool Hospital for Birth and children in Baquba city during the period from 17/10/2016 to 17/5/2017. The study aimed to evaluate the immunological role of some immunological parameters of patients with type 1 diabetes by measuring the level of IL-17 and IL-21, in addition to, level of Soluble CD4⁺ (T-helper cells) and CD8⁺ (T-cytotoxic cells) was measured by ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay).

70 blood samples of type 1 diabetic patients were collected after diagnosis by the diabetes specialist at the Batoul Hospital for Birth and children, according to the criteria adopted by the World Health Organization for the diagnosis of type 1 diabetic patients. The number of males (39), 55.7%, and females (31), 44.3% within the age range from (1- 16) years old, and 20 blood samples were taken from apparently healthy people at the clinic of Batoul Hospital for Birth and children, The number of males (16), 80%, and females (4), 20% within the age range (5 - 25) years old, was adopted as a control group.

The results of this study showed that the mean age of patients group (9.42 ± 3.34) pg / ml, while the mean age of the control group (17.25 ± 4.17) pg / ml with a significant difference was noticed between them.

Also, the results showed that the age groups (11-15) years recorded the highest percentage of 45.70% while the lowest rate was in the age group (16-20) years and by 1.40%. There was a significant difference of statistical significance between the studied.

The study showed that the highest percentage recorded for the duration of the disease is (1-2) years by 40% where the results of the current study showed a very significant difference by the duration of the disease.

The level of concentration of cytokine measured in this study was also shown, level of cytokine IL-17 showed a decrease in patients group (114.31 ± 103.78) pg / ml compared with control group (126.54 ± 81.48) pg / ml with no significant difference.

Additionally, the results showed that the high concentration of IL-21 in patients was (209.40 ± 294.78) pg / ml compared with control group (189.54 ± 274.82) pg / ml with no significant difference.

The relationship between the level of the IL-17 and the sex, the results showed that the level of IL-17 in males (95.94 ± 87.76) pg / ml was lower than females (137.42 ± 118.42) pg / ml with no statistically significant difference in the level of IL-17 concentration in patients with both sexes.

When comparing the level of the IL-21 with the sex, the results showed that the level of IL-21 in males (124.29 ± 78.09) pg / ml was lower than that of females (316.46 ± 413.37) pg / ml with a significant difference of statistical significance for the concentration level IL-21 in both sexes.

The effect of the level of Soluble $CD4^+$ (T- helper cells) and Soluble $CD8^+$ (T-toxicity cells) studied , Which had a significant role in diabetes mellitus type 1, the results showed a decrease in the concentration of $CD4^+$, and its concentration was lower in patients group , which was (5.18 ± 4.59) pg / ml compared control group (5.52 ± 3.47) pg / ml with no significant difference of statistical significance.

As for the concentration of $CD8^+$ molecules, the results showed a high concentration in patients group (5.54 ± 7.39) pg / ml compared to the healthy group, The concentration of toxic T cells was (3.74 ± 3.57) pg / ml with no significant difference between Study groups.

The correlation between the level of concentration of $CD4^+$ and sex was studied ,The results showed that the level of males (3.97 ± 2.72) pg / ml was lower than females (6.70 ± 5.90) pg / ml with significant significant difference of statistical significance.

When comparing the concentration of the $CD8^+$ with sex, the results showed that the level of males (4.21 ± 4.01) pg / ml was lower than females (7.21 ± 10.01) pg / ml with no statistically significant difference.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Educationh
And Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Biology



**Some immunological indicators in patients with type 1 diabetes in
the city of Baquba**

A thesis

submitted to the Council of College of Education for pure Science as a
Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

M.Sc.in Biology

(Microbiology)

By

Ban Shabib Mohsen Musleh

B.Sc. Biology, 2010-2011

Supervised by

Professor Dr.

Mohammed Abdul-Daim Saleh

2018 A.D

Professor Dr.

Abbas Abood Farhan

1439 A.H