

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



دراسة بعض المعلمات المناعية لأشخاص مدخنين وغير مدخنين في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

ساره رعد اسماعيل الجبوري

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2013- 2014 م

بإشراف

د.محمد عبد الدايم صالح
أستاذ

د.عباس عبود فرحان الدليمي
أستاذ

2018 م

1439 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ
أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ
خَبِيرٌ﴾ (١١)

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

الإهداء

نحمد الله تعالى الذي قدرنا على شرب جرعة ماء من هذا العلم الواسع ، فالعلم لا يتم الا بالعمل .

فأهدي ثمرة جهدي التي طالما تمنيت اهدائها وتقديمها في احلى طبق:

الى رسول الامة وشفيعنا يوم الدين والناصح الامين ومنقذ البشرية الرسول الكريم محمد (صل الله

عليه واله وسلم) .

الى الذي عمل وكد وجد فقاس ثم غلب حتى وصلت الى هدفي هذا ، الى المصباح الذي لا يبخل

امدادي بالنور ، الى الذي علمني بسلوكه خصالاً اعتز بها في حياتي ، قمري المضيء (والدي

العزير).

الى التي حملتني وهنا على وهن ، وقاست وتألمت لألمي ، الى من رعتني بعطفها وحنانها

وسمعت طرب الليل من اجلي ، الى اول كلمة نطقت بها شفتاي ، شمسي المضيئة (امي

الحبيبة) .

الى اجمل واروع نعمة اعطاها الله لي ، الى سندي ورفيق دربي ، الى نور عيني ومصباح طريقي

، الى من كان يشجعني طول مسيرتي حفظك الله لي من كل شر ، شريك حياتي (محمد) .

الى من شاركني حزن الام و بهم استمد قوتي واصراري ، اخواني (علي ومحمد باقر) .

الى من أنساني في دراستي وشاركني همومي تذكراً وتقديراً الى أزهار النرجس التي تفيض حباً

ونقاءً وعطراً ، أخواتي الغاليات (وفاء وفاطمة وبراء وأديان ونور) .

الى من هم اقرب الي من الروحي ، الى رمز الحب والبراءة ، الى من تسعد روحي بوجودهم ، الى

رياحين حياتي ، أطفال أخوتي (ميّار وحوّار وحسين) .

الى من صبروا معي ، وتحملوا كل شيء لأجلي ، الى أمي التي لم تلدني (خالتي وعائلتها) .

اهدي ثمري جهدي المتواضع.....

سارة

الشكر والتقدير

الحمد لله الاول قبل الانشاء والآخر بعد فناء الاشياء ، العليم الذي لا ينسى من ذكره ولا ينقص من شكره ، والصلاة والسلام على خير الخلق محمد وعلى آله وسلم وبعد...

لحظات صار لا بد ان ينطق بها اللسان ويعترف بفضل الآخرين اتجاهه لأنهم كانوا الاساس المتين الذي بنى عليه صرح العلم والمعرفة لديه ، وانااروا سبيل بلوغهما. فواجب علي شكرهم واخص بجزيل الشكر والعرفان الى كل من اشعل شمعة في دروب علمنا و وقف على المنابر و أعطى من حصيلة فكره لينير دربنا واخص بالشكر الجزيل عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتهم الفرصة لي لإكمال مسيرتي العلمية وأتقدم بالشكر الجزيل الى مشرفي الاستاذ الدكتور عباس عبود فرحان والاستاذ الدكتور محمد عبد الدايم صالح لاقتراحهم موضوع البحث ، فضلاً عن توجيهاتهم وإشرافهم المتواصل الذي كان له الأثر الكبير في إزالة العقبات خلال أجراء بحثي فلهم مني كل التقدير والاحترام .

إلى من زرعوا التفاؤل في دربنا وقدموا لنا المساعدات والتسهيلات والافكار والمعلومات ، ربما دون ان يشعروا بدورهم بذلك فلهم مني كل الشكر زملائي طلبة الدراسات العليا جميعاً في قسم علوم الحياة على تقديمهم المساعدة . ولا يفوتني أن أقدم شكري وأمتناني الخالصين للعاملين في مختبر الصحة العامة المركزي لما قدموه لي من عون لتسهيل مهمة أنجاز بحثي .

ومن دواعي الوفاء والعرفان بالجميل ان اتقدم بالشكر الجزيل الى كل من مد لي يد العون من اجل اتمام مشروع البحث .

سارة

إقرار المشرفين

نشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة بعض المعلومات المناعية لأشخاص مدخنين وغير مدخنين في محافظة ديالى) التي قدمتها الطالبة (ساره رعد اسماعيل الجبوري) 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 .

التوقيع:

الاسم : د.عباس عبود فرحان

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2018 م

التوقيع:

الاسم : د.محمد عبد الدايم صالح

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2018 م

بناء على التوصيات المتوافرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : د.عمار أحمد سلطان

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

رئيس قسم علوم الحياة

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ : / / 2018 م

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة بعض الملاحظات المناعية لأشخاص مدخنين وغير مدخنين في محافظة ديالى) التي قدمتها الطالبة (ساره رعد اسماعيل الجبوري) 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 : د.نوفل اسماعيل صالح

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2018 م

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة بعض الملاحظات المناعية لأشخاص مدخنين وغير مدخنين في محافظة ديالى) التي قدمتها الطالبة (ساره رعد اسماعيل الجبوري) قسم علوم الحياة قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم : د.علي عبد الحسين مهدي

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2018 م

إقرار لجنة المناقشة

نحنُ رئيس وأعضاء لجنة المناقشة نشهد بأننا اطلعنا على رسالة الماجستير الموسومة
ب (دراسة بعض المعلومات المناعية لأشخاص مدخنين وغير مدخنين في محافظة ديالى)
المقدمة من قبل الطالبة (ساره رعد اسماعيل الجبوري) وقد ناقشناها في محتوياتها وفيما له
علاقة بها ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة بتقدير (أمتياز).

التوقيع :

الاسم : د.دنيا فريد سلوم

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2018 م

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د.ابتسام بداي حسان

اللقب العلمي : مدرس

التاريخ : / / 2018 م

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د.محمد عبد الدايم صالح

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2018 م

عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الاسم : د.ميادة نوري اقبال

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2018 م

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د.عباس عبود فرحان

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2018 م

عضواً ومشرفاً

- صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى

التوقيع :

أ.م.د.غالب أدریس عطية

عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / / 2018 م

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية التي امتدت 2017/9/1 الى 2018/5/1 (45) مدخناً وبمتوسط عمري (29.60 ± 10.39) سنة للمدى من (15-55) سنة، اما مجموعة السيطرة فتضم (44) غير مدخن بمتوسط عمر (26.56 ± 9.09) سنة للمدى من (15-47) سنة، مع عدم وجود فرق معنوي ذي بين مجاميع الدراسة. حيث اظهرت النتائج ان اعلى نسبة في مجموعة المدخنين في الفئتين العمريتين (29-20 ، 39-30) سنة وبنسبة (37.8 و 22.2) % على التوالي وكانت اقل نسبة في الفئات (19-10 ، 49-40 ، $50 \leq$) سنة وبنسبة (17.8 ، 17.8 ، 4.4) % على التوالي ، اما في مجموعة غير المدخنين فكانت اعلى نسبة في الفئة العمرية (29-20) سنة وبنسبة (43.2) % وكانت اقل نسبة في الفئات العمرية (19-10 ، 49-40 ، 39-30 ، $50 \leq$) سنة وبنسبة (20.5، 20.5، 15.9، 0.0) % على التوالي وبدون فرق معنوي بين مجموعتي الدراسة .

كما اوضحت نتائج الدراسة الحالية عند مقارنة الفئات العمرية مع عدد السجائر المستهلكة يوميا ان المجموعة التي اعطت اعلى نسبة هي المجموعة المستهلكة (20-1) سيجارة بنسبة (87.5) % للفئة العمرية من (19-10) سنة. وعند مقارنة الفئات العمرية مع مدة التدخين اظهرت النتائج ان مدة التدخين التي اعطت اعلى نسبة هي (5-1) سنة وبنسبة (62.5) % للفئة العمرية (19-10) سنة مع عدم وجود فرق معنوي في الحالتين .

إذ بينت نتائج الدراسة الحالية بأن متوسط تركيز الخلايا التائية المساعدة $CD4^+$ ذو مستوى اعلى في مجموعة المدخنين وكان (6.0646 ± 0.95314) pg/ml عن ما هو عليه في مجموعة غير المدخنين وكان (5.9698 ± 1.00462) pg/ml . اما بالنسبة لمستوى تركيز الخلايا التائية السمية $CD8^+$ فقد اظهرت نتائج الدراسة ارتفاعاً في مستوى تركيزها في مجموعة المدخنين (1.17 $\pm$ 9.50) pg/ml مقارنة بمجموعة غير المدخنين (0.85 $\pm$ 8.67) pg/ml . و ارتفاع في

مستوى IFN- γ في مجموعة المدخنين (70.64 ± 21.45 pg/ml) مقارنة بمجموعة غير المدخنين (59.64 ± 12.29 pg/ml) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في جميع الحالات .

كما تم مقارنة مستوى الخلايا التائية المساعدة CD4⁺ مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة (20-1) سيجارة تشكل اعلى متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (8.03 ± 7.19) بينما الفئتان ($40 \leq$ ، $40-21$) سيجارة فقد شكلتا اقل متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (4.27 ± 1.49 ، 4.82 ± 0.70) على التوالي. اما عند مقارنة مستوى الخلايا التائية السمية مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد فقد وجد ان الفئة (20-1) سيجارة تشكل اعلى متوسط للخلايا التائية السمية وكان (10.50 ± 9.86) بينما الفئتان ($40 \leq$ ، $40-21$) سيجارة شكلتا اقل متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (48.19 ± 2.24 ، 7.02 ± 4.68) على التوالي. و عند مقارنة مستوى IFN- γ مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة (20-1) سيجارة تشكل اعلى متوسط لـ IFN- γ وكان (88.63 ± 184.77) بينما الفئتان ($40 \leq$ ، 21) سيجارة شكلتا اقل متوسط لـ IFN- γ وكان (42.50 ± 11.10 ، 49.41 ± 4.35) على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في جميع الحالات .

كما تم مقارنة مستوى الخلايا التائية المساعدة CD4⁺ مع مدة التدخين و وجد ان اعلى متوسط للخلايا التائية المساعدة في الفئة (10-6) سنة والتي شكلت (9.12 ± 13.28) واقل متوسط في الفئة (25-21) سنة والتي شكلت (4.42 ± 0.0). اما عند مقارنة مستوى الخلايا التائية السمية CD8⁺ مع مدة التدخين فقد وجد ان اعلى متوسط للخلايا التائية السمية في الفئة (10-6) سنة والتي شكلت (13.55 ± 15.36) واقل متوسط في الفئة (25-21) سنة والتي شكلت (6.96 ± 0.0) . و عند مقارنة مستوى IFN- γ مع مدة التدخين وجد ان اعلى متوسط IFN- γ

III

في الفئة (6-10) سنوات التي شكلت (148.55 ± 302.40) وأقل متوسط في الفئة (21-25) سنوات والتي شكلت (24.24 ± 0.0) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في جميع الحالات .

و أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين جزيئات $CD4^+$ و $IFN-\gamma$ حيث كان معامل الارتباط يساوي (0.934) ومعامل الارتباط بين جزيئات $CD4^+$ وجزيئات $CD8$ يساوي (0.901) . و وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين جزيئات $CD8^+$ و $IFN-\gamma$ حيث كان معامل الارتباط يساوي (0.895) .

قائمة المحتويات

List of Contents

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	قائمة المحتويات	
VII	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الاشكال	
LX	قائمة الملاحق	
X	قائمة المختصرات	
الفصل الأول / المقدمة		
1	المقدمة Introduction	1
2	أهداف الدراسة Amis of Study	2-1
الفصل الثاني / استعراض المراجع		
3	استعراض المراجع Literature Review	2
3	دخان السكائر والامراض المتسببة عنه	1-2
7	الجهاز المناعي Immune system	2-2
8	المناعة المتأصلة Innate Immunity	1-2-2
9	المناعة المكتسبة Adaptive Immunity	2-2-2
10	الخلايا اللمفاوية Lymphocytes	3-2
11	الخلايا اللمفاوية التائية T-Lymphocytes	1-3-2
13	الخلايا التائية المساعدة والخلايا التائية السمية T-helper cells and Cytotoxic T cells	1-1-3-2
15	الخلايا اللمفاوية البائية B- Lymphocytes	2-3-2
16	التدخين والمناعة Smoking and Immunity	4-2
17	الوسائط او الحركيات الخلوية Cytokines	5-2
21	انترفيرون كاما IFN- γ	1-5-2

الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل		
24	Materials and Methods المواد وطرائق العمل	3
24	Materials المواد	1-3
24	Instruments الاجهزة المستخدمة	1-1-3
24	Laboratory kit العدة المختبرية	2-1-3
25	Equipments الادوات المستخدمة	3-1-3
26	طرائق العمل	2-3
26	Collection of Samples جمع العينات	1-2-3
26	Laboratory Methods الطرق المختبرية	2-2-3
26	قياس مستوى الحركيات الخلوية IFN- γ و CD4 ⁺ و CD8 ⁺ في المصل	1-2-2-3
27	تحديد مستوى IFN- γ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺ في المصل	1-1-2-2-3
33	Statistical analysis التحليل احصائي	3-3
الفصل الرابع / النتائج والمناقشة		
34	Results and Discussion النتائج و المناقشة	4
34	مجاميع الدراسة	1-4
34	وصف احصائي لمجموعتي الدراسة	1-1-4
35	توزيع مجموعتي الدراسة طبقاً الى الفئات العمرية	2-1-4
37	الاعداد والنسب المئوية للسجائر المستهلكة ضمن مجاميع الدراسة تبعاً للفئات العمرية	3-1-4
39	دراسة النسب المئوية لمدة التدخين ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئة العمرية	4-1-4
40	الجانب المناعي	2-4

41	قياس مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	1-2-4
42	قياس مستوى تركيز $CD8^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	2-2-4
43	قياس مستوى تركيز $IFN-\gamma$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	3-2-4
44	النسب المئوية لل $CD4^+$ ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئات العمرية	4-2-4
45	النسب المئوية لل $CD8^+$ ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئات العمرية	5-2-4
46	النسب المئوية لل $IFN-\gamma$ ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئات العمرية	6-2-4
48	علاقة $CD4^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين	7-2-4
49	علاقة $CD8^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين	8-2-4
50	علاقة $IFN-\gamma$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين	9-2-4
51	علاقة $CD4^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	10-2-4
52	علاقة $CD8^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	11-2-4
53	علاقة $IFN-\gamma$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	12-2-4
54	العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة	13-2-4
الاستنتاجات والتوصيات		
57	الاستنتاجات	
59	التوصيات	
56	المصادر	
74	الملاحق	

A	Summary
---	---------

قائمة الجداول List of Tables

الصفحة	عنوانه	رقم الجدول
24	قائمة بالأجهزة المستخدمة	1-3
24	قائمة بالعدة المختبرية	2-3
25	قائمة بالادوات المستخدمة	3-3
34	وصف احصائي لمجموعي الدراسة	1-4
36	توزيع مجموعتي الدراسة طبقاً الى الفئات العمرية	2-4
38	الاعداد والنسب المئوية للسجائر المستهلكة تبعاً للفئات العمرية	3-4
40	العلاقة بين الفئات العمرية ومدة التدخين لمجموعة المدخنين	4-4
41	مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعي الدراسة	5-4
42	مستوى تركيز $CD8^+$ بالنسبة لمجموعي الدراسة	6-4
44	مستوى تركيز $IFN-\gamma$ بالنسبة لمجموعي الدراسة	7-4
45	المستوى المصلي لل $CD4^+$ ضمن الفئات العمرية لمجموعة المدخنين	8-4
46	المستوى المصلي لل $CD8^+$ ضمن الفئات العمرية لمجموعة المدخنين	9-4
47	المستوى المصلي لل $IFN-\gamma$ ضمن الفئات العمرية لمجموعة المدخنين	10-4
48	علاقة $CD4^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد	11-4

	لمجموعة المدخنين	
50	علاقة $CD8^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين	12-4
51	علاقة $IFN-\gamma$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين	13-4
52	علاقة $CD4^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	14-4
53	علاقة $CD8^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	15-4
54	علاقة $IFN-\gamma$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين	16-4
55	العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة	17-4

قائمة الأشكال

List of figures

الصفحة	عنوانه	رقم الشكل
3	مكونات دخان السجائر	1-2
5	تأثير التدخين في أحداث تصلب الشرايين	2-2
21	آثار تدخين السجائر على تطوير وظيفة كل من الخلايا المناعية الفطرية والتكيفية	3-2
23	نموذج لتأثيرات دخان السجائر على النوع الثاني من تنبيهات إشارة الإنترفيرون	4-2
27	مبدأ اختبار طريقة شطيرة الاليزا	1-3

قائمة الملاحق

LIST OF APPENDICES

الصفحة	عنوانه	رقم الشكل
74	الاستمارة الاستبيان	1
75	شكل يوضح الوصف العام للعينات المدروسة حسب العمر	2
75	شكل يوضح مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	3
76	شكل يوضح مستوى تركيز $CD8^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	4
76	شكل يوضح مستوى تركيز $IFN-\gamma$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة	5
77	شكل يوضح العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة	6
77	شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة ($CD4^+$)	7
78	شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية والتي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية السمية ($CD8^+$)	8
78	شكل يوضح المنحنى القياسي لانترفيرون γ ($IFN-\gamma$)	9

قائمة المختصرات

List of abbreviation

Analysis of Variance	ANOVA
Antigen Presenting Cells	APCs
Bronchoalveolar lavage	BAL
Complement Factor (Three)	C3
Complement Factor (Four)	C4
Cluster of Differentiation	CD
Cluster of differentiation 3	CD3
Cluster of differentiation 4	CD4
Cluster of differentiation 8	CD8
Centers for Disease Control and Prevention	CDC
Cytotoxic T lymphocytes	CTLs
Dendritic cells	DCs
Enzyme - Linked Immunosorbent Assay	ELISA
Granulocyte colony stimulating factor	G-CSF
Granulocyte macrophage colony stimulating factor	GM-CSF
Horseradish protein	HRP
International Agency for Research on Cancer	IARC
Interferon - Gamma	IFN- γ
Immunoglobulines G	IgG
Interleukin	IL
Interleukin-6	IL-6
Interleukin-18	IL-18
monocyte chemoattractant protein-1	MCP-1
Major Histocompatibility Complex	MHC
Major Histocompatibility Complex Class 1	MHC I
Major Histocompatibility Complex Class 2	MHC II
Multiple sclerosis	MS
National Institute of Neurological Disorders	NIND
Natural killer	NK
Programmed Cell Death-1	PD-1
Picogram	Pg
Power of hydrogen	PH
Pattern Recognition Receptors	PRRS

Rheumatoid arthritis	RA
Statistical Package For Social Sciences	SPSS
T Cell Receptors	TCR
T-Lymphocyte Cell	T- Cell
T-helper 1	Th1
T-helper 2	Th2
Tumore Necrosis Factor Alpha	TNF- α
Tumore Necrosis Factor Beta	TNF - B
World health organization	WHO
White Blood Cell	WBC

1- المقدمة Introduction

التدخين هو الممارسة التي يتم فيها حرق مادة التبغ بتذوقه واستنشاقه وعلى الصعيد العالمي يقتل سنويا اكثر من (5) ملايين شخص (Shah وآخرون ، 2012) . إذ تقدر منظمة الصحة العالمية انه بين الأعوام 2000 الى 2025 سيرتفع عدد المدخنين من حوالي 1.2 مليار إلى 1.7 مليار وان العدد السنوي للوفيات الذي يقدر حاليا بحوالي (6) مليون سوف يتضاعف في العشرين سنة القادمة مع العديد من هذه الوفيات التي تحدث قبل الاوان ويقدر هذا العدد الاجمالي ايضا بحوالي 600000 شخص من اثار التدخين غير المباشر على الرغم من ان غالبا ما ترتبط مع سوء الصحة والعجز والوفاة الناجمة عن الامراض المزمنة غير السارية ويرتبط تدخين التبغ ايضا بزيادة خطر الوفاة الناجمة عن الامراض السارية (World Health Organization ، 2015) . ان التدخين عامل خطر مهم لأمراض عدة مثل تصلب الشرايين وامراض القلب والاعوية الدموية ويتعرض حوالي 36% من السكان لخطر احتشاء عضلة القلب بسبب التدخين (Asthana وآخرون ، 2010) وتقترح منظمة الصحة العالمية بأن التدخين يعد عامل خطورة يمكن الوقاية منه لعلاج الامراض القلبية الوعائية (Lao وآخرون ، 2009) . على نحوٍ واسعٍ يعرف بأن المدخنين لديهم خطورة للإصابة بأمراض القلب الوعائية ،ارتفاع ضغط الدم ، النوبة القلبية ،تكون خثرة الدم ، الامراض التنفسية المزمنة (Alhemieri ، 2008) . إن المدخنين الجدد تظهر لديهم اثار جانبية ناتجة من النيكوتين مثل الصداع والدوار وبعد فترة من الوقت تتعود اجسادهم عليها (Hetch ، 2006) . عند مرور الوقت يسمح التدخين بترسيب كميات هائلة من المواد المسرطنة في الفم والحنجرة والرئتين (World Health Organization ، 2015) . وتحتل الامراض المتسببة عن التدخين المرتبة الثانية بعد ارتفاع ضغط الدم (Lim وآخرون ، 2012) . يؤثر تدخين السجائر على الاستجابة المناعية التي تتوسطها الخلايا والاجسام المضادة (Arnson وآخرون ، 2010)

حيث ان مبدأ المناعة هو نظام الدفاع ضد الالتهابات وقتل الخلايا السرطانية (Wraith و Nicholson، 2012) ويحتوي دخان السجائر على مثبطات قوية مثل النيكوتين ، الكاتيكول وهيدروكينون لانتاج الحركيات الخلوية Cytokines مثل $IFN-\gamma$ ، IL-2 ، IL-1B ، $TNF-\alpha$ في البشر والتي تفسر جزئيا انخفاض مستوى (MCP-1) Monocyte Chemoattractant Protein-1 لدى المدخنين مقارنة مع غير المدخنين (Ouyang وآخرون ، 2000) وبينت الدراسات زيادة في عدد كريات الدم البيضاء العدلة الخط الدفاعي الاول ضد الاصابات الميكروبية لكن هناك نقصان في فعالية الخلايا البيضاء العدلة المتضمنة الجذب الكيميائي والالتصاق ولها القابلية على انتاج الحركيات الخلوية ، حيث اثبت ان التدخين يؤثر على عدد الخلايا للمفاوية و انتاج الاجسام المضادة وتزداد مستويات $CD3^+$ و $CD4^+$ (Petrooulos وآخرون ، 2004) .

2-1 أهداف الدراسة Amis of Study

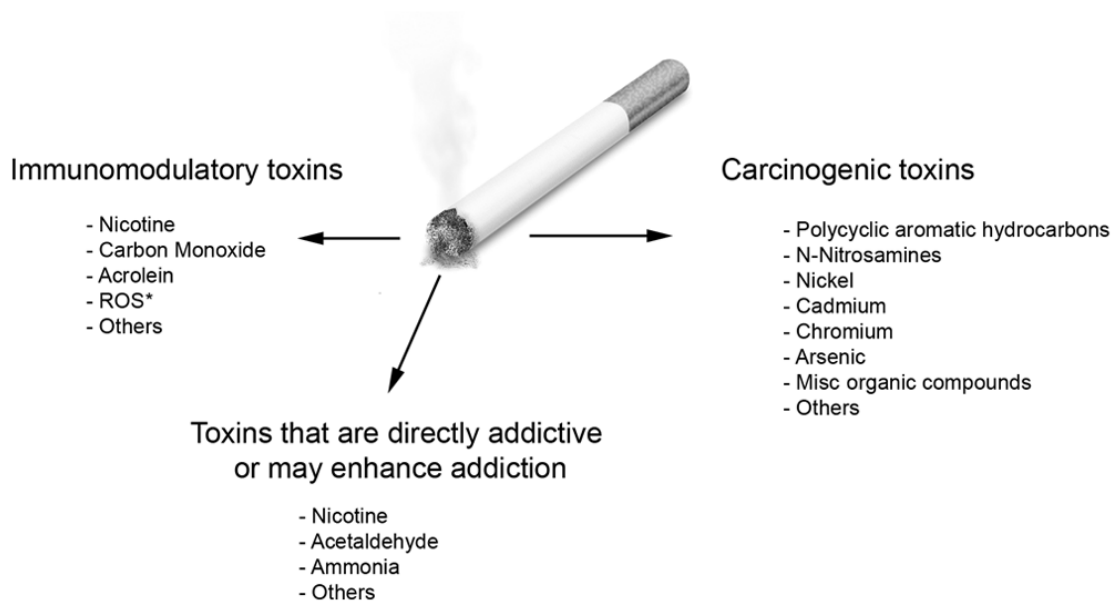
و نظرا لقلّة الدراسات المناعية حول التدخين وتأثيره على الجهاز المناعي في العراق عموما وندرته في ديالى خصوصا لذلك هدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير التدخين على بعض المؤشرات المناعية للمدخنين ومقارنة ذلك مع غير المدخنين ويتم ذلك عن طريق قياس المؤشرات الحيوية المناعية الاتية بتقنية مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالانزيم الأليزا (Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay) .ELISA

- قياس مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية $CD4^+$ ومستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^+$ و قياس تركيز أنترفيرون كما $IFN-\gamma$.

2- استعراض المراجع Literature Review

1-2 دخان السكائر والامراض المتسببة عنه

دخان السكائر هو خليط معقد من المواد الكيميائية حيث يحتوي على اكثر من 4000 مركب بما في ذلك 200 منها سمية على الاقل و 80 مادة مسرطنة معروفة او مشتبه فيها وكميات كبيرة من المؤكسدات والجذور الحرة التي تحفز الجهاز التأكسدي Oxidative stress واصابة الرئة التأكسدية Oxidative lung injury وموت الخلايا المبرمج Apoptosis (Soldin وآخرون ، 2011) وبعض مكوناته تشمل اول اوكسيد الكربون (CO) ، سيانيد الهيدروجين (HCN) ، اكاسيد النتروجين و غازات اخرى (kueyer و Rohricch ، 2001) . كذلك تحتوي Alkenes ، Nitrosamines ، Aromatic ، Heterocyclic hydrocarbons ، Amines ، في كلا الطورين الغازي والدقائق كما في الشكل (1-2) (CDC (US) ، 2010).



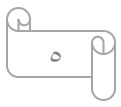
شكل (1-2) : مكونات دخان السكائر (Lee وآخرون ، 2012)

يحتوي الدخان الرئيس الذي يبتلعه المدخن اثناء التدخين على عناصر عديدة إضافة الى تيار الدخان الثانوي الذي يطلقه المدخن الا ان تركيز تلك العناصر يختلف باختلاف نوع المادة المدخنة (IARC ، 2004) . يتسبب التدخين بأكثر من ربع وفيات السرطان في المملكة المتحدة (Parkin ، 2011) ، واحدة من خمس من حالات السرطان (Eriksen و آخرون ، 2012) .

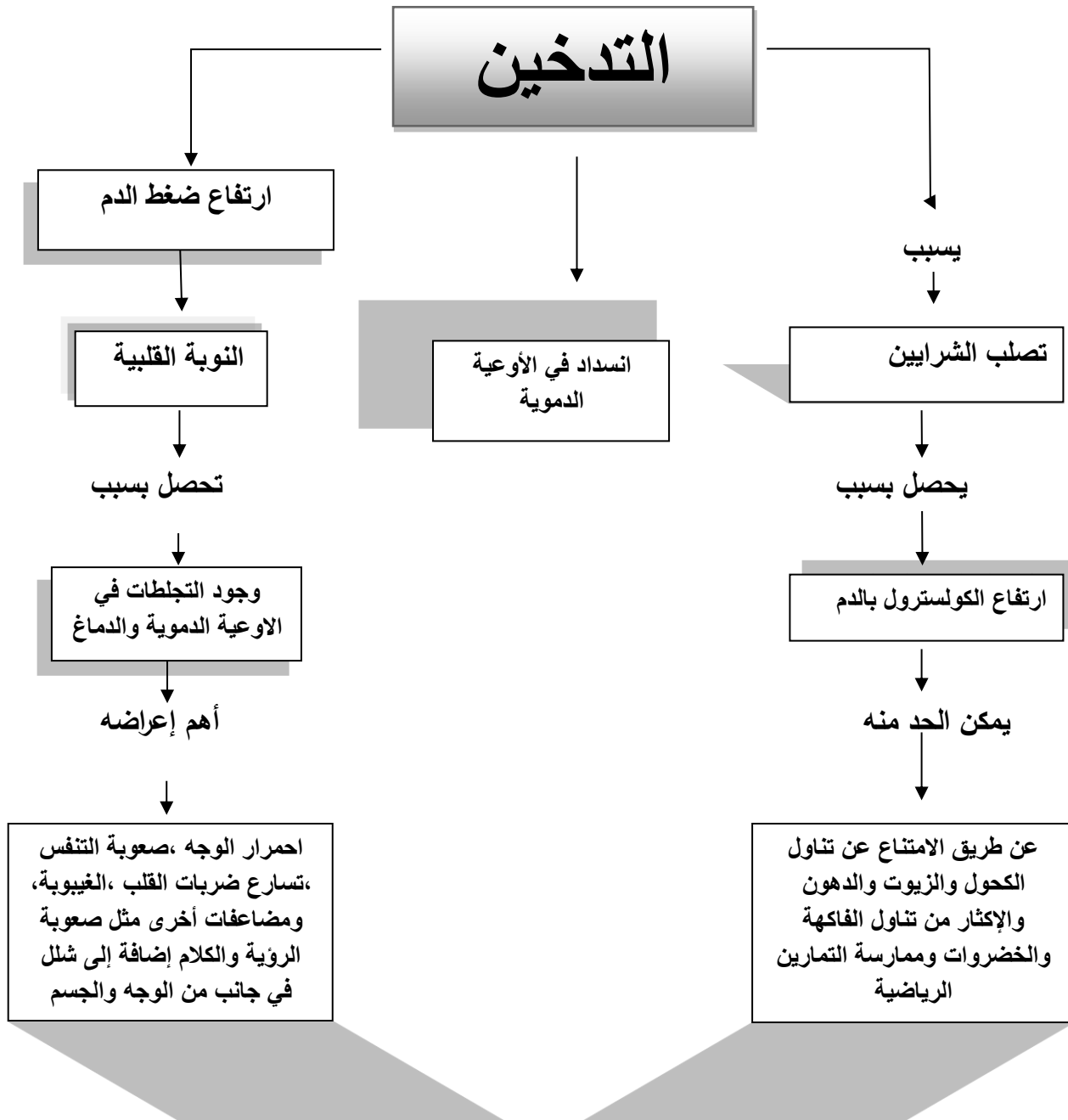
في ضوء التعقيد الكيميائي لدخان السكائر فان اثار التدخين المتعددة على صحة الانسان يتسبب في اعتلال العين ، تهيج ملتحمة العين ، التهاب الفرجية ، تكون الماء الازرق (Lois وآخرون ، 2008 ؛ Ozer وآخرون ، 2012)، هنالك بعض الدراسات بينت تأثير التدخين على رؤية الالوان لدى المدخنين (Arda وآخرون ، 2010). كما تؤثر درجة الحموضة pH للدخان على موقع ودرجة امتصاص النيكوتين اضافة الى عمق استنشاق الدخان من قبل المدخن، إن حالة الاكسدة والاختزال لدخان السكائر لها اهمية كبيرة إذ إن الاكسدة تؤثر في مقدار ترسيب الكولسترول على جدران الاوعية الدموية والشرابين التاجية (Sims وآخرون ، 2010).

توجد حالات تم جمعها من حالات مدخني السكائر تسبب عنها حدوث طفرات وتلف للمادة النووية DNA (IARC ، 2012) . إن التدخين يؤثر على حيوية الخلايا الذكرية وخصوبتها حيث يقلل التدخين من حركتها ويقلل من اعدادها وتزداد هذه الحالة بزيادة عدد السكائر المدخنة في اليوم (Nadeem وآخرون ، 2012) . إن التعرض لدخان السجارة ينتج فعالية مضادة لتكون الخلايا الذكرية ويسبب ضرراً للدنا DNA (Abdul-Ghani وآخرون ، 2014) .

يجعل التدخين الدم لزجاً قابلاً للتخثر إذ تزداد نسبة الدهون والكولسترول والكالسيوم والمواد الاخرى في الاوعية الدموية مسببة تلف الدماغ (NIND ، 2014) . هناك علاقة سببية مباشرة بين التدخين وتصلب الشرايين كما في الشكل (2-2) والآلية التي تحدث فيها هذه العملية ترجع الى سبب رئيس واحد هو وجود النيكوتين الذي يعمل على زيادة مستويات الادرينالين، يتبع هذا



زيادة في (catecholamines) والتي هي عبارة عن هرمونات تفرز بواسطة لب الغدة الكظرية (Devaranavadgi وآخرون، 2012).



شكل (2-2): تأثير التدخين في أحداث تصلب الشرايين (حميد، 2012)

إن المركبات الكيميائية الموجودة في دخان السكائر يمكن ان تسبب ضرراً للدنا (IARC ،

2012) ، بينت الدراسات إن مادة benzo(a) pyrene تسبب ضرراً للجين p53 وهو جين

مثبط للأورام (Us Surgeon General ، 2010) ، في حين يصبح polonium-210 متركزا في المناطق الساخنة في الشعب الهوائية لدى المدخنين مما يتسبب في اخضاعهم لجرعات عالية جدا من طاقة ألفا للإشعاع وتنتج اضراراً في الحمض النووي للخلايا المجاورة (Zaga وآخرون ، 2011) . تكون المواد الكيميائية الموجودة في دخان التبغ أكثر خطورة عندما تكون مزيج من المعادن السامة مثل الكادميوم ،الزرنيخ والرصاص، حيث تسبب في توقف الخلايا من إصلاح الحمض النووي من التلف (Koedrith و Seo ، 2011) . إن العديد من سموم التبغ تسبب في تعطيل نظام التنظيف ضمن الجهاز التنفسي الذي يستخدم لإزالة السموم وبعض المواد بما في ذلك الفورمالديهايد والأكرولين تسبب تلف الاهداب والشعيرات في المجاري التنفسية التي تساعد على ازالة السموم (Us Surgeon General ، 2010) .

أظهرت جمعيات التدخين مع اضطرابات المناعة الذاتية والالتهابات في عدد من الدراسات بأن هناك ادلة قوية تشير الى ان تطور العديد من امراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل الروماتيدي (RA) Rheumatoid Arthritis و الذئبة الحمامية الجهازية Systemic lupus erythematosus ومرض كرون Crohn's disease والتصلب المتعدد (MS) Multiple Sclerosis مرتبطة بالتدخين (Arnson وآخرون ، 2010) . مرض (MS) و(RA) امثلة لامراض المناعة الذاتية حيث يزيد تدخين السجائر بشدة من خطر الاصابة بالامراض عند الاشخاص اللذين يعانون من حساسية وراثية معينة (Hedstrom وآخرون ، 2011) ، حيث يعتبر التدخين عامل خطر بيئي راسخ ل (RA) حيث يمكن مضاعفة خطر الاصابة بالتهاب المفاصل الروماتيدي عند المدخنين اعتمادا على التعرض بمرور الوقت (Giuseppe وآخرون ، 2014) دخان السجائر يعرض تأثيرات متغيرة على الجهاز المناعي التي يمكن ان تترافق مع التسبب في

(RA) وهذا يشمل الاجهاد التأكسدي الناجم عن النيكوتين والمحتوى العالي للجذور الحرة في دخان السجائر (Khojah وآخرون ، 2016) .

2-2 الجهاز المناعي Immune system

هو شبكة من الخلايا والأنسجة والأعضاء التي تعمل مع بعضها البعض لتدافع عن الجسم ضد مسببات الأمراض عن طريق تحديد و قتل المسببات و الكائنات الغريبة كالبكتيريا و والفطريات الفيروسات والخلايا السرطانية ، لان الجسم سوف يوفر بيئة مثالية للعديد من الغازيات الغريبة والجهاز المناعي الغرض منه هو التعرف على الميكروبات الغازية وتثبيتها والقضاء عليها وتطوير ذاكرة مناعية ضد مسببات الأمراض السابقة. (Murphy وآخرون ، 2012 ؛ Amdahl ، 2014) .

وإنَّ الاستجابة لهذه الأجسام الغريبة تسمى الاستجابة المناعية immune response و تقسم الى الاستجابة المناعية الفطرية (Innate immune response) والاستجابة المناعية المكتسبة (Adaptive immune response) تقسم الاستجابة المناعية المكتسبة الى الاستجابة المناعية المتوسطة للخلايا (Cell mediated immune response) والاستجابة المناعية الخلوية (Humoral immune response) (Abbas وآخرون ، 2015) .

يتمتع الجهاز المناعي بتنظيم متعدد الطبقات يوفر المناعة ضد كائنات العدوى و كل طبقة من نظام المناعة يمكن أن يكون تعقيدا متزايد . يتم توفير الطبقة الأولى من الحواجز المادية مثل الجلد وظهارة الغشاء المخاطي في الجهاز التنفسي والجهاز الهضمي. هذه الحواجز تهدف إلى منع مسببات الأمراض من الوصول إلى الأنسجة الكامنة و الطبقة الثانية هي الحاجز الكيميائي غير المحدد الذي يتكون من المركبات المضادة للميكروبات وعوامل من نظام المناعة الخلوية (العوامل

الذائبة الموجودة في سوائل الجسم). و تتكون الطبقة الثالثة من جميع خلايا الجهاز المناعي (Williams وآخرون ، 2012) .

إن الحماية ليست هي الوظيفة الوحيدة لجهاز المناعة ، بل ان الجهاز المناعي يسهم ايضا في شفاء الجروح وإزالة خلايا الجسم التي ماتت بشكل طبيعي او اصبحت هرمة او غير فاعلة non active وظيفياً . كما إن الجهاز المناعي لا يقوم بوظيفة الدفاع بشكل فردي وانما هناك العديد من الاعضاء الاخرى التي تسهم بشكل مباشر او غير مباشر في عملية الدفاع عن الجسم مثل الكبد وان من اهم مميزات الجهاز المناعي هو قدرته على التمييز بين الذات self وغير الذات non self اي بين الخلايا والانسجة والاعضاء التي هي جزء من الجسم وبين المواد الغريبة . وللجهاز المناعي القدرة على التخلص من الاجسام الغريبة الغازية و الخلايا وانسجة الجسم التي اصبحت غير فعالة بفعل الإصابة او المرض (Abbas وآخرون ، 2012) .

1-2-2 المناعة المتأصلة Innate Immunity

تعد المناعة الفطرية (وتعرف أيضاً باسم المناعة الطبيعية) هي خط الدفاع الأول ضد العدوى (Abbas وآخرون ، 2010) . المكونات الرئيسية للحصانة الفطرية هي (1) الدفاع عن طريق الحاجز الفيزيائي (على سبيل المثال ، الجلد و الظهارة المخاطية) ، (2) الحواجز الكيميائية (مثل الببتيدات المضادة للميكروبات) ، (3) الخلايا المناعية الفطرية (على سبيل المثال الخلايا البلعمية Phagocytes (العدلات Neutrophils) ، و الخلايا الشجرية (Dendritic Cells DCs) و الخلايا القاتلة الطبيعية (Natural Killer (NK) cells) ، (4) مكون من المناعة الخلوية (على سبيل المثال النظام المتمم Complement system والأجسام المضادة الفطرية) و (5) الحركات الخلوية المرتبطة التي تنظم وتنسق العديد من أنشطة خلايا المناعة الفطرية (Williams وآخرون ، 2012) .

ان توفر الحواجز الكيميائية مثل حامض المعدة و الانزيمات الهاضمة الموجودة في الجهاز الهضمي، والانزيمات المضادة للبكتيريا مثل (phospholipase ، lysozyme) وكذلك البيبتيدات المضادة للفطريات او المضادة للميكروبات مثل (B defeniss) التي تلعب دوراً مهماً للقضاء على الممرضات (Ryu ، وآخرون ، 2010). اذا تمكنت الممرضات من اختراق الحواجز الطلائية او الظهارية فأنها ستواجه الخلايا البلعمية التي تميز وتبتلع وتدمر الكائنات الحية الدقيقة والغازية . يوجد نوعان من الخلايا البلعمية التي تكون في البداية في موقع الإصابة neutrophils العدلات المعروفة باسم الكريات البيض متعددة النوى PMNS Polymorphonuclear leuckocyte و تليها Monocyte التي تكون اقل وفرة داخل الانسجة خارج الاوعية الدموية استجابة للعدوى . العدلات Neutrophils من ناحية الاخرى هي خلايا قصيرة العمر التي تنتشر في مجرى الدم بأعداد كبيرة عند مهاجمة الممرضات ، يتم تحفيز انتاج العدلات في نخاع العظام عن طريق الحركات الخلوية المعروفة باسم عوامل تحفيز المستعمرات Colony-stimulating factors مما يؤدي الى تضخم سريع وتوليد العدلات و نضجها مثل (العدلات) التي تهاجر الى موقع الإصابة حيث تبتلع وتدمر الميكروبات (Borredgaard ، 2010)

2-2-2 المناعة المكتسبة Adaptive Immunity

هي مناعة يتم اكتسابها خلال حياة الكائن الحي بعد تعرضه لميكروبات وبكتيريا مسببة له الامراض وتتميز المناعة المكتسبة بالعمل بطريقة انتقائية ومتخصصة ، اذ ان كل خلية او جسيم تابع لها يستطيع العمل ضد مستضد antigen ممرض واحد . خلافاً للمناعة الطبيعية التي هي متشابهة عند افراد نوع معين فان الاستجابة المناعية المكتسبة تختلف من فرد الى فرد اخر، و هناك ميزة اخرى للمناعة المكتسبة هي القدرة على انتاج ذاكرة مناعية (Pancer وآخرون ، 2006) .

تشتمل المناعة المكتسبة (التكيفية) على التعلم والذاكرة على تحديد مسببات أمراض معينة وإنتاج أجسام مضادة ، وجزيئات الإشارة ، والخلايا اللمفية التائية السامة للخلايا المضادة الخاصة بالمستضد التي تكون قادرة على تدمير الكائنات الحية والخلايا التي أصبحت غير طبيعية (Gislason ، 2007) و هناك نوعان من الاستجابات المناعية التكيفية ، تسمى المناعة الخلوية والمناعة الخلوية. يتم توسط المناعة الخلوية عن طريق الأجسام المضادة التي تنتجها الخلايا الليمفاوية البائية B-lymphocyte ، في حين يتم توسط المناعة الخلوية بواسطة الخلايا اللمفاوية التائية ، التي تسمى أيضاً المناعة الخلوية (Abbas وآخرون ، 2010)

2-3 الخلايا اللمفاوية Lymphocytes

هي نوع من الخلايا المتخصصة في جهاز المناعة تنتج داخل نخاع العظم وتخرج منه لتدور في الدم حتى يحين عملها عندما تصادف ميكروبات غازية (Invation) فتحاربها و تبيدها او اجسام غريبة فتتخلص منها ويحتوي الدم المحيطي على نسبة (20 – 50 %) من الخلايا اللمفاوية الدوارة ، اما النسبة المتبقية فتنقل من مكان الى اخر داخل الجهاز اللمفاوي (Alberts وآخرون ، 2002) . و تتميز بعض الخلايا اللمفاوية مظهرها باحتواء سطحها على واسمات تسمى Cluster Designation وهي مختصر (CD Markers) (Wagner وآخرون ، 2012) .

2-3-1 الخلايا اللمفاوية التائية T-Lymphocytes

تلعب الخلايا التائية دورا كبيرا في الاستجابة المناعية الخلوية Cell Mediated Immun Response ويتم انتاج الخلايا التائية بواسطة الخلايا الجذعية Stem cell في النخاع العظمي وتنقل الخلايا التائية الى الغدة التايموسية Thymus التي اشتق اسمها منها نسبة الى الحرف (T) الذي تبدأ به وتنمو فيها ، ومن اهم وظائف الخلايا T- helper cells الرئيسية

التعرف على المستضدات الغريبة في الجسم ؛ وتقديم المعلومات والليات المساعدة للخلايا للمفاوية البائية التي تقوم بالانقسام وتحفيزها لانتاج تراكيز عالية من الغلوبولينات Immunoglobulins والاجسام المناعية المضادة Antibody ومساعدة تحفيز الخلايا التائية المؤثرة في احداث الاستجابة المناعية الخلوية وبهذا تلعب الخلايا التائية المساعدة دوراً اولياً في انتاج مناعة الجسم (Tapmeier وآخرون ، 2010).

تتعرف الخلايا للمفاوية التائية على الببتيدات المستضدية من خلال مستقبلات معينة من الخلايا التائية T-Cell Receptors (TCRs) وتلعب دوراً مهماً في الاستجابة المناعية البشرية التكيفية (Godfrey وآخرون ، 2008) ، يؤدي ربط TCR بالمستضد الى فسفرة مكونات TCR ومن اجل تنشيط الخلايا التائية يجب نقل هذه الاشارة من الغشاء الى الساييتوبلازم والى النواة مما يؤدي الى استجابات حاسمة مختلفة مثل تجنيد بروتينات الاشارة الى TCR ، موقع Antigen Presenting Cell (APC) (المشبك المناعي) و تنشيطها الجزيئي و اعادة تنظيم الهيكل الخلوي و ارتفاع تركيز الكالسيوم داخل الخلايا والتغيرات في التعبير الجيني (Reiche و Barda-Saad ، 2010) و على الرغم من أن التنوع في TCR هو سمة مميزة في معظم استجابات الخلايا التائية ، لكن هناك عدداً من الأمثلة على التحيز TCR في الاختيار القائم على Ag (TCR bias in Ag-driven selection) (Turner وآخرون ، 2006).

تحتاج خلايا (T-Cell) الى اشارتين لبدء تفعيلها : - معقد الخلايا المقدمة للمستضد ومعقد التوافق النسيجي (MHC) جزيئات الصنف الثاني الموجودة على سطح الخلايا المقدمة للمستضد (CD80 ، CD86) التي تفعل من قبل جهاز المناعة الفطري و بناء (PRRs) Pattern Recognition Receptors و حث الاستجابة المناعية المتكيفة للمستضدات الضارة (Medzhitov و Janeway ، 2002) .

هناك نوعان من استجابات الخلايا التائية المساعدة ($CD4^+$) الفعالة يمكن ان تحدثها الخلية المقدمة للمستضد (APC) Antigen Presentation Cell وتشمل ($Th1$ و $Th2$) وهذه الاستجابة المولدة تلعب دورا اساسيا في ازالة عوامل ممرضة مختلفة ويميز الاستجابة ($Th1$) افراز بروتين انترفيرون جاما الذي يحفز الخلايا الملتزمة على قتل البكتريا ويحفز الخلايا البائية على انتاج اجسام مضادة و كذلك يقوم انترفيرون جاما بتحفيز المناعة الخلوية (Steinmetz واخرون ، 2007) . وتعمل ($Th1$) على انتاج ($IL-2$, $IL-12$, $IL-18$, $IFN-\gamma$, $TNF-B$) اما استجابة ($Th2$) فيميزها افراز ($IL-4$) الذي ينتج عنه تنشيط الخلايا البائية لانتاج اجسام مضادة مبطلّة تأثير العوامل الممرضة واشكال العدوى فيؤدي الى تكوين مناعة خلطية كما ويعمل ($Th2$) على انتاج ($IL-10$, $IL-6$, $IL-5$, $IL-13$) (Carrier واخرون ، 2006) وتمتاز استجابة ($Th1$) بانها اكثر فاعلية بدرجة اكبر ضد العوامل الممرضة داخل خلوية ، في حين ان استجابة ($Th2$) تعد اكثر فاعلية ضد العوامل الممرضة خارج خلوية ; إنّ غالبية الخلايا المساعدة ($CD4^+$) تموت عند تلاشي العدوى مع بقاء عدد محدود منها في صورة خلايا ذاكرة (Janeway واخرون ، 2005) .

1-1-3-2 الخلايا التائية المساعدة والخلايا التائية السمية: T-helper cells and Cytotoxic

T cells

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 الكبيرة المقدمة 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 ؛ و تفرز ايضاً عدة انواع من بروتينات تسمى الحركات الخلوية و هذه البروتينات تنشط الخلايا التائية القاتلة السامة والخلايا البائية والخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا القاتلة الطبيعية NK (Padgett وآخرون ، 2013).

الخلايا التائية $CD4^+$ لها دور حاسم في التسبب في الاصابة بالالتهاب في امراض المناعة الذاتية وصيانتها ولقد تم دراسة (Autoimmune diseases (AID على نطاق واسع (Palmer ، 2010) اثبتت دراسات وجود محتوى منخفض لـ IL-17 في الخلايا التائية $CD4^+$ في غسيل القصبات (BAL) Bronchoalveolar lavage وزيادة محتوى $IFN-\gamma$ في خلايا $CD8^+$ في (BAL) في المدخنين (Ostadkarampour وآخرون ، 2016).

تتعرض بعض خلايا الجسم احياناً لنوع ما من الفيروسات التي تتجح بالدخول للخلية وتتفصل مستضدات هذا الفيروس ليرتبط مع بروتين التوافق النسيجي للخلية المصابة مكوناً معقداً مستضد بروتين التوافق النسيجي التي 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 و تفرز الخلايا التائية السامة بروتينات وسموماً لمفاويةً على الخلايا المصابة بالفيروس او السرطانية فيتم تثقيب غشائها وتدمير نواتها بالسموم للمفاوية (Davis وآخرون ، 2003).

الخلايا التائية $CD8^+$ هي مجموعة فرعية كبيرة من الخلايا اللمفاوية ومن المعروف ان الخلايا التائية $CD8^+$ المتكونة تتعرف recognize وتقتل الخلايا التي تحتوي على جزيئات MHC من الصنف الاول MHC class I التي تعرض المستضدات الممرضة وبالتالي تحمي من العدوى والسرطان ويؤدي تحديد الهوية الى اطلاق البرفرين Perforin والجرازيومات Granzymes التي ستعطل غشاء الخلية وتعرض الخلايا الجذعية للخلية المستهدفة (Lopez واخرون ، 2013) ، يتم التحكم في النشاط السام للخلايا التائية $CD8^+$ من خلال المستقبلات المعبر عنها على سطح الخلية حيث يلعب مستقبل التثبيط لموت الخلية المبرمج Programmed Cell Death-1 (PD-1) دوراً رائداً (Chen و Flies ، 2013)

وجدت دراسات ان كمية السجائر اليومية المتزايدة قد ارتبطت بترددات اعلى من الخلايا التائية $CD8^+$ في غسيل القصبات (BAL) التي تنتج الحركات الخلوية المؤيدة للالتهاب $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ في حين ان استهلاك السجائر اليومي المنخفض كان مرتبطاً بانخفاض انتاج IL-17 المنتجة للخلايا التائية $CD4^+$ في (BAL) (Ostadkarampour واخرون ، 2016) .

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). و 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 . و يحدد تنشيط مستقبل خلية T التطور التالي للخلية ، فإما تتحول 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) .

2-3-2 الخلايا اللمفاوية البائية B- Lymphocytes

تؤدي الخلايا البائية دورا كبيرا في الاستجابة المناعية الخلطية Humoral Immune Response ، هذه الخلايا هي المسؤولة عن انتاج الاجسام المضادة وبالتالي احداث الاستجابة المناعية الخلطية (Borghes و Milcarek ، 2006) ، وهي تعد من ضمن الخلايا المقدمة للمستضد (APC)، يلتصق بسطحها الخارجي بشكل طبيعي عدد من الاجسام المضادة عندما ترتبط هذه الاجسام بالمستضد فان المركب المتكون يدخل بكامله الى داخل الخلية البائية المضادة عندما ترتبط هذه الاجسام بالمستضد فيتحلل بروتين المستضد الى جزيئات صغيرة تقوم الخلية بلصقه مع جزء معقد التوافق النسيجي على السطح حيث تتعرف عليه الخلية التائية وتبدأ بالتنشيط والتأثير على الخلايا البائية للانقسام و انتاج الاجسام المضادة ويتحول جزء من الخلايا المنقسمة الى خلايا ذاكرة تسهم في حالة التعرض لنفس المستضد مرة اخرى الى احداث استجابة مناعية فورية وقوية . تتميز الخلايا البائية بوجود مستقبلات خاصة على سطحها (CD21 ، CD19 ، CD20) الخاصة بالصنف الثاني لمعقد التوافق النسيجي واعضاء المستقبلات الخاصة بالمتنم (C1q ، C4b ، C3b) للمستقبل الخاص بالمنطقة (FC) للكلوبيولين المناعي (IgG) (Raissian وآخرون ، 2011) .

4-2 التدخين والمناعة Smoking and Immunity

إن مكونات السجارة تسبب تغيرات مناعية في المناعة الطبيعية والمكتسبة إذ يعجل دخان السجارة على المدى الطويل الموت المبرمج للخلايا وضرر الانسجة ومناعة ذاتية مؤدية الى اضعاف الآليات الخلوية لمضادات الاورام السرطانية (Lee وآخرون ، 2009) تدخين السجائر له تأثيرات موضعية وجهازية (local and systemic) على الجهاز المناعي وزيادة قابلية العدوى وتغير مسارات الامراض المعدية ايضا (Huttunen وآخرون ، 2011)

اظهرت نتائج بعض الدراسات ان التدخين يضعف استجابة الاجسام المضادة الى العوامل المعدية مثل الفيروسات والبكتريا (Simen-Kapeu وآخرون ، 2008) فضلاً عن ذلك فإن انخفاض استجابة الاجسام المضادة لبعض اللقاحات في المدخنين مقارنة مع غير المدخنين (Koff ، 2002) و يرتبط تدخين السجائر مع التأثير في شفاء الجروح مثل جروح الجلد (Kean ، 2010) و يزداد تأثير التدخين بصورة اكثر سوءاً عند الإصابة بالإيدز AIDS (calvo وآخرون، 2015) .

إن التدخين سبب في تطور السرطان بالإضافة الى ان مكونات السجارة تعد كابحاً مناعياً Immune suppressor ويؤثر التدخين على المناعة الفطرية Innate immunity حيث تحدث تغيرات تركيبية ووظيفية للخلايا الطلائية المهدبة للجهاز التنفسي وكذلك الخلايا المناعية مثل الخلايا اللمفاوية والخلايا القاتلة الطبيعية . بينت الهيئة الدولية للمناعة إن التدخين سبب في تطور خطورة مهاجمة الغمد النخاعين (ICI ، 2013) .

يؤدي تدخين السجائر الى العديد من التغيرات المناعية في الرئتين لذا فالتدخين يزيد من عدد البلاعم macrophages ، العدلات neutrophils ، الحمضات eosinophils ، والخلايا البدينة mast cells ويقلل من عدد الخلايا الجذعية stem cells في مجرى الهواء ويغير من وظيفة كل من البلاعم والعدلات (Mehta وآخرون ، 2008) فضلاً عن ذلك يؤدي التدخين الى ارتفاع عدد خلايا الدم البيض white blood cell ولا سيما العدلات (Arnson وآخرون ، 2010) . أشار Cui و Li (2010) الى ان النيكوتين مثبط للمناعة . وقد تم توثيق من ان الالتهاب هو احد الاليات التي يؤثر بها تدخين السجائر على الامراض القلبية الوعائية وخاصة تصلب الشرايين (Krintus وآخرون ، 2014) .

5-2 الوسائط او الحركات الخلوية Cytokines

هي بروتينات قليلة الوزن الجزيئي ، أذ يبلغ (27-30) كيلو دالتون تفرز من العديد من خلايا الجهاز المناعي ولها وظائف متعددة بمواقع نسيجية مختلفة ، من وظائفها تنظيم النمو والتمايز (differentiation) وتفعيل خلايا مختلفة وتعمل من خلال مستقبلات على الغشاء الخلوي أو مستقبلات الانسجة ، وتشارك في المناعة المكتسبة (adaptive Immunity) بما في ذلك الاستجابة الالتهابية والتمايز ، تقسم الحركات الخلوية حسب مواقع افرازها الى (Lymphokines) وهي تلك الحركات الخلوية التي تفرز من قبل الخلايا التائية للمفاوية (T-Lymphocyte Cells) والخلايا البائية (B-Cells) (Paradkar وآخرون ، 2014).

كذلك هي جزيئات ناقلة قابلة للذوبان ، مثال للمفوكينات (Lymphokines) (المنتجة بواسطة الخلايا للمفاوية) والانتروكينات (Interleukines (ILs) (المنتجة بواسطة خلايا الدم البيضاء اخرى) التي تسهل الاتصال بين الاجزاء المختلفة للجهاز المناعي ومن الامثلة على ذلك الانترفيرونات (Interferouns (INFs) ، عامل تنخر الورمي $TNF-\alpha$ ، وعوامل نمو الخلية المحببة (G-CSF) وعوامل نمو الخلية البلعمية المحببة (GM-CSF) . هذه تسبب الاثار البيولوجية للخلية الهدف (على سبيل المثال ، تنشيط ، انقسام او حركة الخلايا الهدف) وغالبا ماؤدي الى التهاب (Gemmy ، 2012) .

ان الوظيفة الرئيسية للحركات الخلوية هي تنظيم تمايز الخلايا للمفاوية التائية T-cell Differentiation من الخلايا غير المتمايزة Undifferentiation الى الخلايا للمفاوية التائية المساعدة الاولى Th1 ، والخلايا للمفاوية التائية المساعدة الثانوية Th2 ، فضلاً عن تنظيم الانتروكينات (Interleukins (ILs) ، والانترفيرونات (Interferouns (INFs) (Babon و Nicola ، 2012) . ذكر Nah و Rhee (2009) ان الحركات الخلوية تؤدي دوراً مهماً في

تجنيد الخلايا العدلة في احتشاء عضلة القلب وتعزز تفاعلات الالتصاق بين كريات الدم البيضاء والخلايا البطانية مما يؤدي الى هجرة الخلايا المناعية الى موقع الإصابة.

و تعمل وسائط اتصال عند تعرض الجسم للإصابة مما يستدعي رداً مناعياً، وتساعد الحركات الخلوية بعضها البعض سواء بتوجيه نشاطها أو تحفيزها ، وفي بعض الأحيان كبها فضلاً عن نقل الاشارات بين الخلايا Intercellular Signal لتنظيم الاستجابة المناعية الخلوية والخطية وفي جميع اطوارها اذ انها تساعد في تكاثر Proliferation والتميز Differentiation والهجرة Migration خلال الجهاز المناعي وهي تنتج في الغالب من كريات الدم البيض و لكنها يمكن ان تنتج من الخلايا الأخرى مثل الخلايا الظهارية Epithelial cells و الخلايا البطانية Endothelial cells و الارومات الليفية Fibroblasts و وظيفة هذه الحركات الخلوية يمكن ان تكون داخل الخلية المنتجة لها أو في خلايا أخرى وهي تعمل على تنشيط أو تثبيط (قمع) الخلايا المستهدفة (Target Cells) Vazquez – Lombardi و آخرون ، 2013) .

تقسم الحركات الخلوية على ست مجموعات هي الانترلوكينات Interleukins ، عوامل تنشيط التكاثر Colony – Stimulating Factors عوامل نخر الورم Tumor Necrosis Factors ، عوامل النمو Growth Factors ، الكيموكينات Chemokines و الانترفيرونات Interferons (Desai ، 2007) .

وجدت الانترلوكينات لأول مرة في خلايا الدم البيضاء و تعمل كأداة اتصال بين خلايا الجهاز المناعي المختلفة من جهة وبين الجهاز المناعي وخلايا الجسم الاخرى من جهة أخرى ، فضلاً عن ذلك مساعدة الجهاز المناعي في أداء وظيفته المناعية وتوجد عدة أنترلوكينات تعرف بأرقام متسلسلة مثل IL-1 و IL-2 و IL-3 ... الخ تقوم بإنتاجها العديد من الخلايا المناعية منها

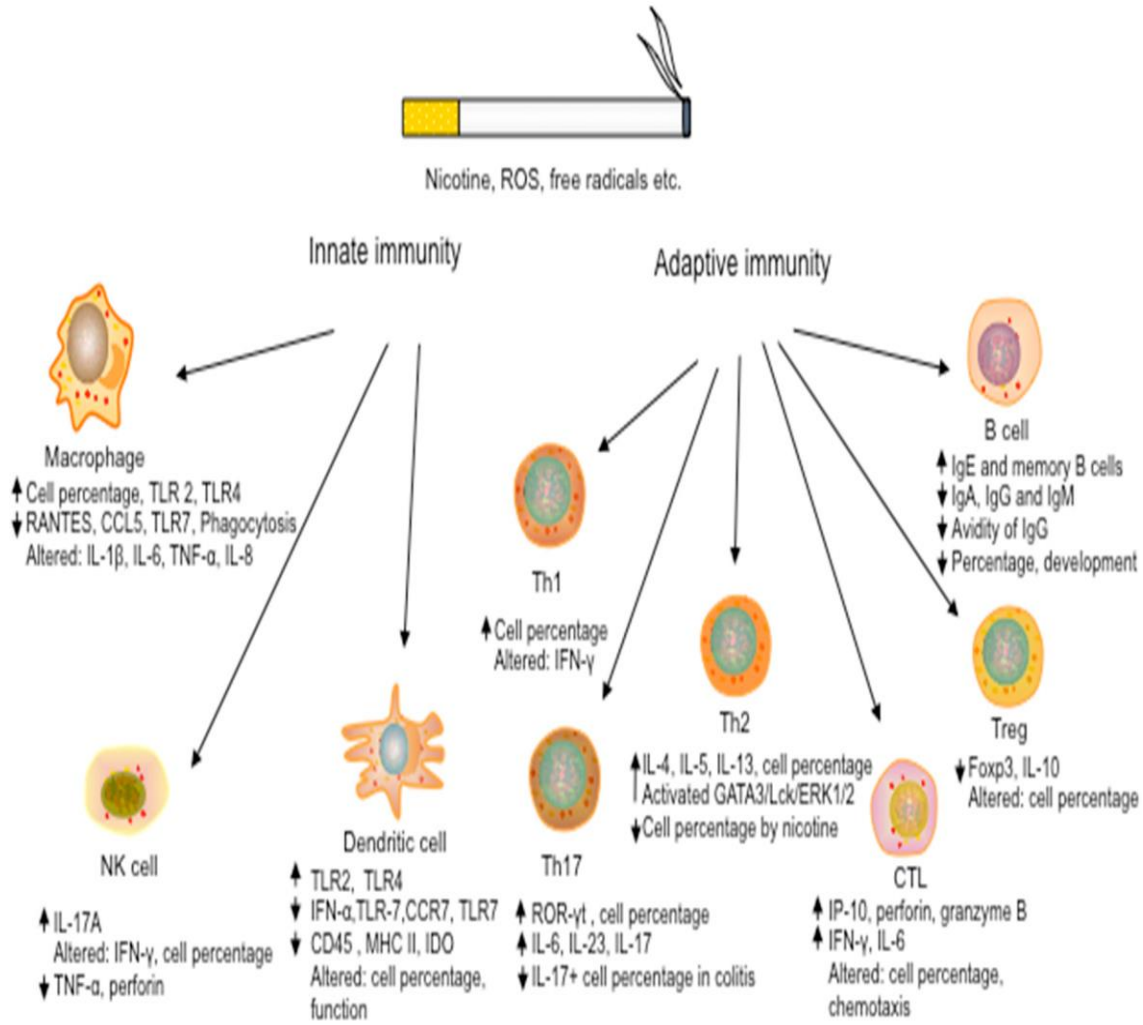
الخلايا الملتزمة للمفاويات البائية التي تنتج IL-1 والمفاويات التائية التي تنتج IL-2 و IL-3 و IL-4 و IL-6 وتتشكل الانترلوكينات في خلايا الدم البيضاء (Menachem-Zidon وآخرون ، 2010).

الانترفيرون هي عائلة كبيرة من الحركات الخلوية التي تعمل ضد مسببات الأمراض والاورام وتعمل كعوامل مناعية (Pestka وآخرون ، 2004) .

ان التعرض لدخان السجائر يؤثر على مناعة الجهاز التنفسي على عدة مستويات تشمل المناعة الذاتية والخلايا الالتهابية مثل العدلات والبلاعم حيث يتم تنشيطها وتوسيعها مما يؤدي الى زيادة الحركات الخلوية المسببة للالتهاب مثل MCP-1 ، $TNF-\alpha$ ، IL-8 وغيرها الكثير (Lee وآخرون ، 2012) كما وأن لدخان السجائر تأثيرات قوية واسعة النطاق على كل من المناعة الفطرية والتكيفية بما في ذلك العديد من التأثيرات على مستويات البروتين والوسيط الالتهابي التي تطلق من الخلايا الضهارية في المختبر ومن الرئتين في الجسم الحي (Vlahos وآخرون ، 2006) على سبيل المثال يمنع دخان السجائر انتاج بعض الحركات الخلوية مع تشجيع انتاج الاخرى (Birrell وآخرون ، 2007) ، واستنادا الى عامل المناعة IL-17 في خلايا مجرى الهواء فأن التدخين يشجع الخلايا المنتجة IL-17 موضعياً ، ويمكن ان يساهم ذلك بشكل افتراضي في تراكم الخلايا المنشطة الفطرية (Vanaudenaerde وآخرون ، 2011) .

قد تتخفض نسبة $CD4^+/CD8^+$ في غسيل القصبات (BAL) من المدخنين الاصحاء سريريا للذين لديهم وظيفة رئة طبيعية مقابل زيادة النسبة في الدم المحيطي قد تعكس توظيف تفضيلي للخلايا التائية $CD8^+$ الى مجرى الهواء على الرغم من انه تم اقتراح تفسيرات اخرى (Barnes و Cosio ، 2004) المكونات المحددة لدخان السجائر مثل NO_2 والاوزون (ozone) والمواد الجسيمية (particulate matter) تسبب في اطلاق الخلايا الضهارية

الهوائية للوسائط الالتهابية مثل IL-8 وعامل تحفيز مستعمرة البلاعم المحببة وعامل نخر الورم TNF-a (Rusznak وآخرون ، 1996) وقد أظهرت الدراسات السابقة الآثار العميقة لتدخين السجائر على الخلايا التائية وإطلاقها لوسائط بادئات الالتهاب proinflammatory كما في الشكل (3-2) (Qui وآخرون ، 2017) .



الشكل (3-2) آثار تدخين السجائر على تطوير وظيفة كل من الخلايا المناعية الفطرية والتكيفية

(Qui وآخرون ، 2017)

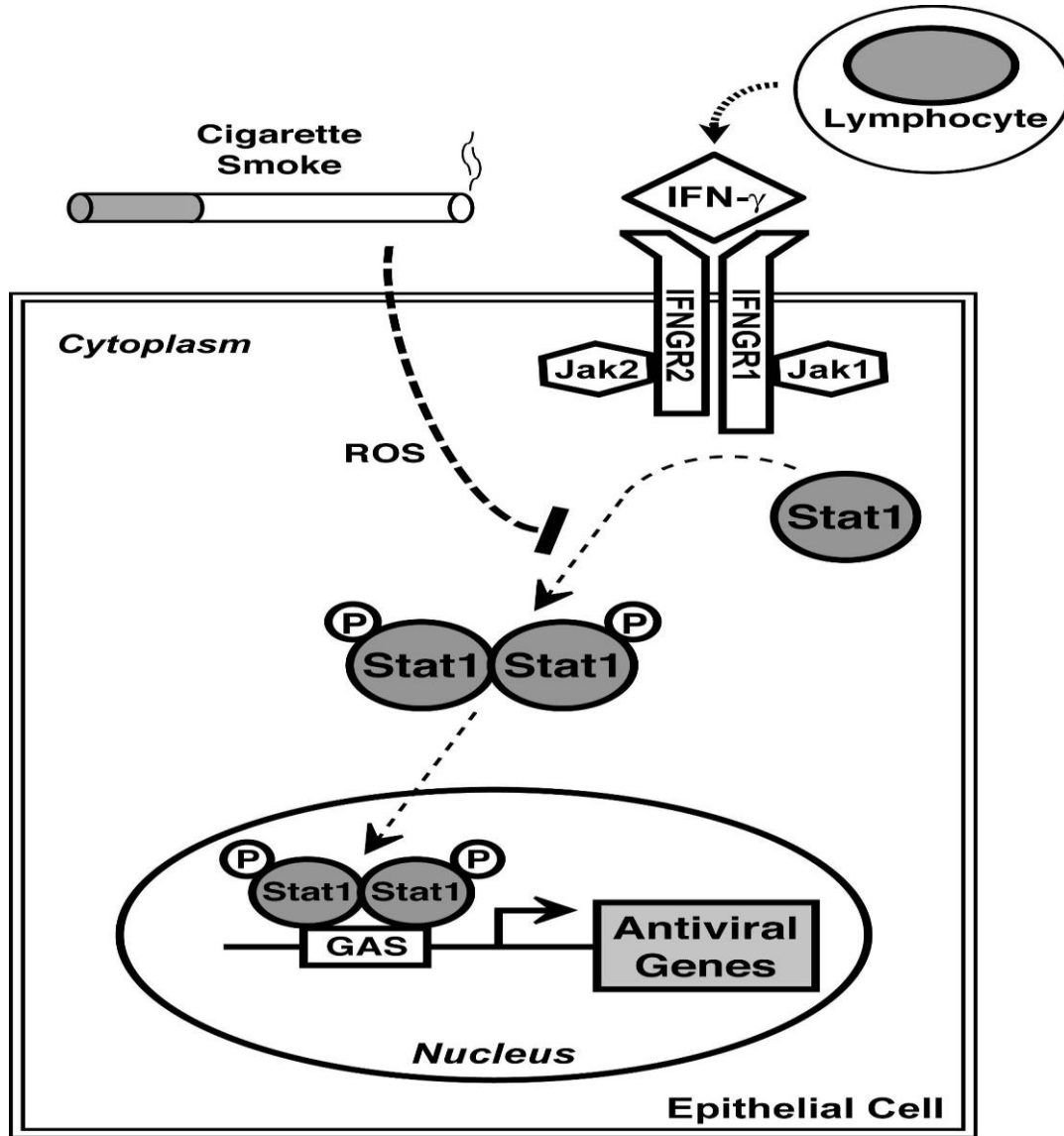
1-5-2 انترفيرون كاما $\text{IFN-}\gamma$

يعرف بانترفيرون النوع الثاني (Type II interferon) او عامل تفعيل الملتهمات الكبيرة $\text{IFN-}\gamma$ ، Macrophage-activating factor (MAF) يدعم الجهاز المناعي لغرض انجاز التحلل الخلوي للخلايا المستهدفة (Stalenhoef وآخرون ، 2008) .

يعد احد الحركات الخلوية الضرورية للمناعة الفطرية والمناعة المكتسبة ضد الالتهابات الفيروسية وبعض البكتريا والطفيليات كما يعد $\text{IFN-}\gamma$ هو المنشط الاهم للخلية البلعية ومحفز للجزيئات المعبرة لمعقد التطابق النسيجي النوع الثاني (MHC II) ، ويرتبط التعبير الهائل ل $\text{IFN-}\gamma$ مع عدد هائل من الالتهابات الذاتية وامراض المناعة الذاتية و تتجلى اهمية $\text{IFN-}\gamma$ في الجهاز المناعي في جزء من قدرته على منع تكاثر الفيروس مباشرة والاهم من ذلك تأثيرات التحفيز المناعي ، وينتج $\text{IFN-}\gamma$ في الغالب بواسطة الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) والخلايا القاتلة الطبيعية نوع T (NKT) بوصفه جزءا من الاستجابة المناعية المتصلة وبواسطة الخلايا المساعدة النوع الاول TH1 (CD4^+ و CD8^+) والخلايا اللمفاوية السامة Cytotoxic T (CTLs) lymphocytes (Wilson و Schoendorn ، 2007) . يعد $\text{IFN-}\gamma$ واحداً من العوامل التي تتحكم في تمايز الخلايا البائية ، والتي يمكن ان تؤدي لزيادة او نقصان الاستجابة المناعية للخلية البائية (Janeway وآخرون ، 2005).

اثبتت دراسات ان الخلايا القاتلة الطبيعية عند التنشيط تنتج $\text{IFN-}\gamma$ و $\text{TNF-}\alpha$ اقل بكثير في المدخنين بالمقارنة مع غير المدخنين (Mian وآخرون ، ٢٠٠٨) . تشير نتائج بعض الدراسات الى ان مستخرج دخان السجائر (CSE) يثبط مباشرة التأثيرات المضادة للفايروسات ل $\text{IFN-}\gamma$ في الخلايا الظهارية من خلال تثبيط النوع الثاني من $\text{IFN-}\gamma$ (JAK-STAT) المتتالي كما في الشكل (4-2) (Modestou وآخرون 2010) . قد لا تقتصر استجابات $\text{IFN-}\gamma$ المعدلة

بعد التعرض لدخان السجائر على الخلايا الظهارية بل تشمل ايضا على سبيل المثال خطوط الخلايا البلعمية والخلايا الليفية المعرضة لدخان السجائر في الوسط والبلاعم السنخية Alveolar macrophages المعزولة من الافراد اللذين يدخنون السجائر قد قللت من الاستجابة IFN- γ (Dhillon واخرون ، 2009) .



شكل (4-2) نموذج لتأثيرات دخان السجائر على النوع الثاني من تنبيهات إشارة الإنترفيرون
(Modestuo واخرون ، 2010)

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 COMBIWASH	المانيا	Human
جهاز الطرد المركزي Centrifuge	دنمارك	Acup
جهاز الغسل COMBIWASH	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 Interferon Y (IFN-Y) ELISA Kit	الصين	Shanghai
Human Cluster Of differentiation 4 (CD4) ELISA Kit	الصين	Shanghai
Human cluster Of differentiation 8 (CD8) ELISA Kit	الصين	Shanghai

3-1-3 Equipments الادوات المستخدمة

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

جدول (3-3) الادوات المستخدمة

الادوات	المنشأ	الشركة المصنعة
صندوق حفظ العينات Box	هولندا	BioZEK
Pipette tips	امريكا	Sterillin
انابيب صغيرة Eppendrof tubes	هولندا	BioZEK
انابيب اختبار Gel tubes	هولندا	BioZEK
تورنيكا Tourniquet	هولندا	BioZEK
حامل انابيب الاختبار Rack tube	هولندا	BioZEK
حامل الانابيب الصغيرة Rack tube	هولندا	BioZEK
ماصة دقيقة Micro pipette	المانيا	Human
ماصة مدرجة Graduate pipette	المانيا	Human
محقنة طبية Plastic disposable syringes 5 ml	هولندا	BioZEK
قطن Cottn	هولندا	BioZEK
كحول Alcohol	هولندا	BioZEK
قفازات Gloves	هولندا	BioZEK

2-3 طرائق العمل

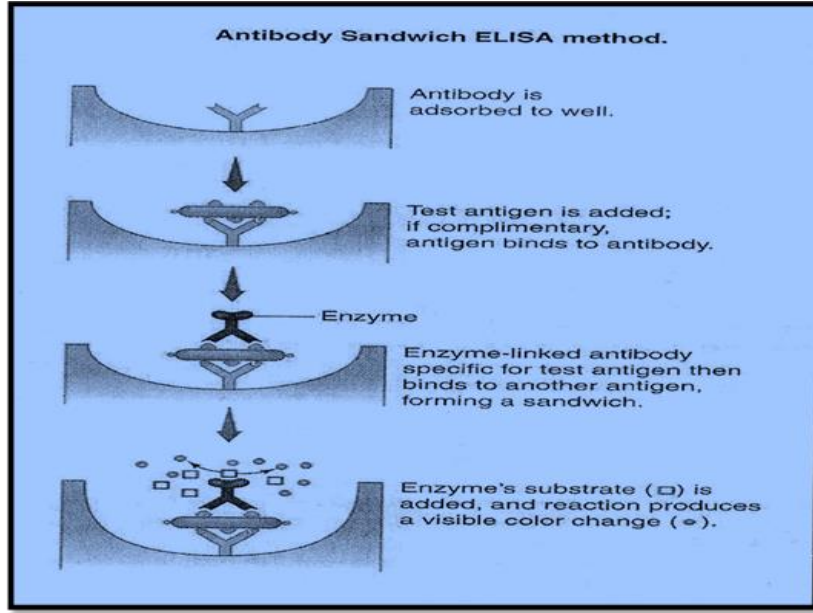
1-2-3 جمع العينات Collection of Samples

اجريت هذه الدراسة للفترة من 2017/9/1 الى 2018/5/1 في محافظة ديالى ، اذ جمعت (45) عينة من دم اشخاص مدخنين (ذكور فقط) ، كما تم جمع (44) عينة من دم اشخاص غير مدخنين (ذكور فقط) واستخدمت بوصفها مجموعة سيطرة ، ولم يكونوا يعانون من اي مرض مزمن او حاد حسب الاستمارة الأستبيانبة . اذ جمعت العينات عن طريق سحب الدم الوريدي ، حيث تم سحب (5مل) من الدم عن طريق استخدام محاقن طبية نبيذة 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) مايكروليتر في انابيب صغيرة (Eppendroff) وتخزينها في درجة حرارة (20 - °C) لحين الاستعمال ، وقد تم استعمال 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 IFN- γ و CD4⁺ و CD8⁺ في المصل

ان مستوى الحركيات الخلوية تم تحديدها كميأً باستخدام اختبار الادمصاص للأضداد المناعية المرتبط بالأنزيم (Sandwich ELISA test) ل(89) شخصاً . (45) شخصاً من المدخنين . و(44) شخصاً من الاشخاص غير المدخنين 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) .

Test principle

A- مبدأ عمل الاختبار

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 $CD4^+$ ، أذ تم اضافة $CD4^+$ للحفر التي كانت معلمة سابقا بالأجسام المضادة وحيدة النسيلة (Monoclonal Antibodies) لـ $CD4^+$ وبعدها تم حضنها وبعد عملية الحضانة ، تتم اضافة anti $CD4^+$ antibodies المعلقة بالبايوتين biotin ليرتبط مع streptavidin- Horse Radish Peroxidase (HRP) الذي يؤدي إلى تكوين المعقد المناعي .بعد عملية الحضانة ، أزيلت الانزيمات غير المرتبطة وغسل الطبق وتم اضافة 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 $CD4^+$ (Beutler واخرون، 1985).

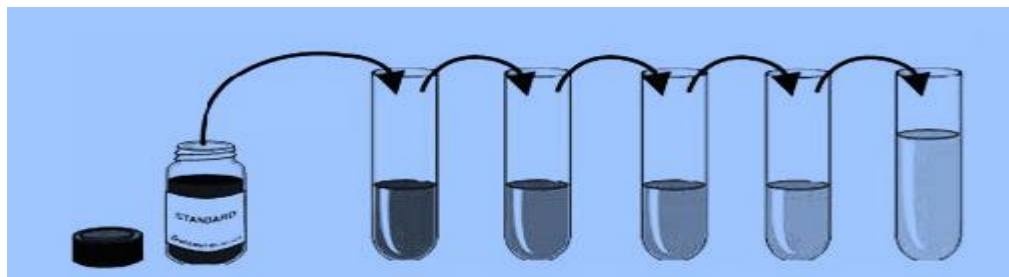
ونفس مبدأ العمل ينطبق على باقي المؤشرات التي تم قياسها في هذه الدراسة وهي IFN- γ و جزيئات الخلايا ($CD8^+$ الذائبة والتي من خلالها يمكن الاستدلال على مستوى الخلايا التائية السُمية (T-cytotoxic cells) باختلاف البايوتين biotin وبقية المواد المجهزة مع العدة التشخيصية لكل واحد.

B- طريقة العمل :- $CD4^+$, $CD8^+$, IFN- γ Procedure

1- تحضير المحاليل القياسية :- Preparation of standard solutions

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

19ng/L	Standard No.5	120 μ l Original Standard + 120 μ l Standard diluents
9.5ng/L	Standard No.4	120 μ l Standard No.5 + 120 μ l Standard diluents
4.75ng/L	Standard No.3	120 μ l Standard No.4 + 120 μ l Standard diluent
2.375ng/L	Standard No.2	120 μ l Standard No.3 + 120 μ l Standard diluent
1.1857ng/L	Standard No.1	120 μ l Standard No.2 + 120 μ l Standard diluent



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

- أجري تخفيف للمحلول القياسي لل($CD8^+$) المجهز مع العدة التشخيصية من خلال

سلسلة تخفيفات بعدد (5) كما مبين ادناه:-

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

- أجري تخفيف للمحلول القياسي لل($IFN-\gamma$) المجهز مع العدة التشخيصية من خلال سلسلة

تخفيفات بعدد (5) كما مبين ادناه:-

240ng/ml	Standard No.5	120 μ l Original Standard + 120 μ l Standard diluents
120ng/ml	Standard No.4	120 μ l Standard No.5 + 120 μ l Standard diluents
60ng/ml	Standard No.3	120 μ l Standard No.4 + 120 μ l Standard diluent
30ng/ml	Standard No.2	120 μ l Standard No.3 + 120 μ l Standard diluent
15ng/ml	Standard No.1	120 μ l Standard No.2 + 120 μ l Standard diluent

2- إضافة العينات :- Addition of 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 للـ $CD4^+$ مع HRP أُضيف فقط 50 مايكروليتر من المادة A و B ومحلول التوقف.

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

- حفر العينات المراد فحصها :- تمت اضافة 40 مايكروليتر من المصل و 10 مايكروليتر من $CD4^+$ antibodies وأُجري لها مزج وتمت تم اضافة 50 مايكروليتر من streptavidin (HRP) وأُجري لها مزج بعدها تمت 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 وأُعيدت عملية الغسل 5 مرات بين كل واحد واخرى 30 ثانية .

4- تطور اللون: - Color development

أولاً: أضفنا Chromogen reagent A لكل الحفر بمقدار 50 مايكروليتر بعدها أضفنا 50 مايكروليتر أيضاً من Chromogen reagent B لكل الحفر و نعمل له مزج او رج خفيف ووضع غطاء للصفحة المجهز مع العدة التشخيصية بعدها وضعت بالحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة سيليزية لمدة 10 دقائق بعيداً عن الضوء .عند اضافة الأنزيم المتقارن (HRP-Enzyme) Conjugate يرتبط مباشرة مع الاجسام المضادة المرتبطة بالمستضد (Ag) الموجود في حفر طبق الاليزا وعند اضافة ال Substrate (الركيزة) TMP حيث يعتبر الاخير مركباً كيميائياً 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) بوصفه 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 بوصفه حامض (diluted sulfuric acid) حامض الكبريتيك حيث يقوم بأرجاع الالكترونات المفقودة (H) لمجموعة الامونيوم الموجودة في تركيب ال HRP وايقاف التفاعل مولداً بذلك لون اصفر يدل على توقف التفاعل.

6- قراءة النتائج : - Read Results

تمت قراءة امتصاصية العينات على طول موجي (450 nm) نانوميتر بعد 10 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 أيضاً ان تستخدم البرمجيات الاحصائية لهذا الغرض.

أستخرج معدل القراءات المطابقة لكل معيار وأستخرج معدل الكثافة البصرية للمعيار الصفري ويتم وضع منحنى معياري من خلال تقليص البيانات باستخدام برمجيات الحاسبة القادرة على توليد الوسط النسبي منحناً مناسباً وأنشاء منحنى معياري ثابت من خلال التركيز على المحور الصادي وتخطيط متوسط الامتصاص لكل معيار على المحور السيني .

3-3 التحليل احصائي:- Statistical analysis

تم تحليل بيانات الدراسة الحالية باستخدام مربع كاي للمقارنة بين النسب المئوية ، (اختبار T) للمقارنة بين مجموعتين رقميتين ($Mean \pm SD$)، و (اختبار F (ANOVA)) للمقارنة بين أكثر من مجموعتين رقميتين ($Mean \pm SD$) ، وتستخدم (r) لدراسة علاقة الارتباط بين المتغيرات الرقمية ، و تم التطبيق عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$ للاختبار. وتم استخدام البرامج التالية لتحليل البيانات الحالية (SPSS v.21 و Excel 2013) (Levesque ، ٢٠٠٧) .

4-النتائج و المناقشة Results and Discussion

1-4 مجاميع الدراسة :

1-1-4 وصف احصائي لمجموعتي الدراسة :

شملت الدراسة الحالية 45 مدخناً وبمتوسط عمري (29.60 ± 10.39) سنة و مدى العمر من (15-55) سنة ، اما المجموعة الضابطة فتضم 44 شخص غير مدخن من الاصحاء ظاهرياً بمتوسط عمري (26.56 ± 9.09) سنة و مدى العمر من (15-47) سنة ، ومن جانب آخر أشارت الدراسة الى عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية بين مجاميع الدراسة اذ كانت قيمة $p.value (0.147)$ كما موضح في الجدول (1-4) .

جدول (1-4) وصف احصائي لمجموعتي الدراسة

Range of study groups			
Study groups	No	Mean	Std. Deviation
Smoking	45	29.6000	10.39974
No smoking	44	26.5682	9.09229
Total	89		
T		1.465	
p.value		0.147	

توافقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات التي بينت بأنه ليس هناك فروق معنوية $(p.value=0.148)$ عند مقارنة مجموعة المدخنين مع مجموعة غير المدخنين حسب العمر (Alhibrii وآخرون ، 2013) وتوافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة أخرى تم اجراؤها من

قبل الباحثين Kayali و Demir (2017) لمعرفة علاقة التدخين مع العمر وبينوا أنه ليس هناك فروق معنوية ذات دلالة احصائية .

2-1-4 توزيع مجموعتي الدراسة طبقاً الى الفئات العمرية :

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعتي الدراسة بحسب الفئات العمرية تم تقسيمها الى خمس فئات ، تضمنت الفئة الاولى عمر (10-19) سنة وكان عددهم (8) مدخن و (9) غير مدخن ، وتضمنت الفئة الثانية عمر (20-29) سنة وكان عددهم 17 مدخناً و 19 غير مدخن ، وتضمنت الفئة الثالثة عمر (30-39) سنة وكان عددهم 10 مدخن و 9 غير مدخن ، وتضمنت الفئة الرابعة عمر (40-49) وكان عددهم مدخن 8 و 7 غير مدخن ، وتضمنت الفئة الخامسة عمر (≤ 50) وكان عددهم 2 مدخن .

يوضح الجدول (4-2) الاعداد والنسب المئوية لمجموعتي الدراسة بحسب الفئات العمرية أذ اظهرت النتائج في الجدول ان اعلى نسبة في مجموعة المدخنين في الفئتين العمريتين (29-20 ، 39-30) سنة ونسبة (37.8 و 22.2) % على التوالي وكانت اقل نسبة في الفئات (19-10 ، 49-40 ، ≤ 50) سنة ونسبة (17.8 ، 17.8 ، 4.4) % على التوالي ، اما في مجموعة غير المدخنين كانت اعلى نسبة في الفئة العمرية (29-20) سنة ونسبة (43.2) % وكانت اقل نسبة في الفئات العمرية (19-10 ، 49-40 ، 39-30 ، ≤ 50) سنة ونسبة (20.5 ، 20.5 ، 15.9 ، 0.0) % على التوالي وبدون فرق معنوي بين مجموعتي الدراسة .

جدول (2-4) توزيع مجموعتي الدراسة طبقاً الى الفئات العمرية

age period of study groups					
			Groups		Total
			smoking	no smoking	
age periods	10-19	N	8	9	17
		%	17.8%	20.5%	19.1%
	20-29	N	17	19	36
		%	37.8%	43.2%	40.4%
	30-39	N	10	9	19
		%	22.2%	20.5%	21.3%
	40-49	N	8	7	15
		%	17.8%	15.9%	16.9%
	50 ≤	N	2	There is no	2
		%	4.4%	0.0%	2.2%
Total		N	45	44	89
		%	100.0%	100.0%	100.0%
Chi-Square		2.278			
p.value		0.685			

العديد من الشباب اللذين تتراوح اعمارهم ما بين (12-20) سنة سوف يبدؤون التدخين و هذه الفئة تشكل جزءا كبيرا من 1.5 مليون فرد يبدؤون التدخين اليومي كل عام ونتيجة لذلك من المتوقع ان يعاني 5.6 مليون طفل على قيد الحياة اليوم من الوفاة المبكرة التي تعزى الى تدخين السجائر بسبب ممارستهم للتدخين في سن مبكر (CDC، 2014) ، حيث ان الاعداد (12-17) سنة هي وقت واضح لتطوير مفهوم الذات حيث يتم تشكيل هوية الفرد الذاتية الخاصة بالسلوك بناء على البيئات المحيطة بالفرد وتأثيرها عليه (Hertel و Mermelstein ، 2012) .

جاءت نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع النتائج التي اجريت في عام (2013) من قبل مركز السيطرة والوقاية من الامراض في كوريا حيث كانت نسبة الرجال المدخنين في العشرينات من العمر 37% ولكنها اختلفت مع الثلاثينات من العمر حيث كانت النسبة 54.5% ومع الاربعينات

من العمر حيث كانت النسبة 48% (Korea Centers for Disease Control and Prevention ، 2013) ، لوحظ أن المجموعة الشبابية هي أكثر عرضة لزيادة انتشار التدخين مقارنة مع أي فئة عمرية أخرى قد يكون ذلك بسبب الاجهاد الكبير الذي تتعرض له هذه الفئة الناجم عن الضغط النفسي والظلم الاجتماعي السائد (Kang) prevalent social inequity ، (2015) على الرغم من هذه الأهمية إلا أن معظم الدراسات المحلية والأجنبية التي تحلل اتجاهات التدخين smoking trends ركزت عادة على المراهقين أو البالغين (Choi وآخرون ، 2014 ؛ Hong وآخرون ، 2011) .

كما كان معدل انتشار التدخين بين عامي 1988 و 1991 عند سن 19 إلى 20 سنة حوالي 24% لكنه ارتفع إلى حوالي 40% في عمر 23 إلى 24 سنة وانخفض معدل انتشار التدخين أو بقي دون تغيير مع زيادة العمر عند الفئات الأكبر سناً (Jee و Cho ، 2016) .

وجدت دراسات أن الأفراد الذين يدخنون في سن أصغر لديهم فرصة عالية لمواصلة هذه العادة إلى مرحلة البلوغ (Morean وآخرون ، 2014) حيث أن سوء معاملة الأطفال في سن مبكرة أو الإهمال أو خلل في داخل الأسرة والمنزل يمكن أن يؤدي إلى زيادة التدخين أو شرب الكحول (Fletcher و Sindelar ، 2012) .

3-1-4 الأعداد والنسب المئوية للسجائر المستهلكة ضمن مجاميع الدراسة تبعاً للفئات العمرية

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعة المدخنين حسب عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد إلى ثلاث مجاميع ، فتضمنت المجموعة الأولى عينة المدخنين الذين يدخنون من (1-20) سيجارة في اليوم الواحد وكان عددهم 27 مدخناً ، والمجموعة الثانية تضمنت عينة المدخنين الذين يدخنون من (21-30) سيجارة في اليوم الواحد وكان عددهم 15 مدخناً ، والمجموعة الثالثة تضمنت عينة

المدخنين الذين يدخنون من ($40 \leq$) سيجارة في اليوم الواحد وكان عددهم 3 . وتم الحصول على المعلومات من الاشخاص المدخنين ذاتهم .

اوضحت نتائج الدراسة الحالية ان المجموعة التي اعطت اعلى نسبة هي المجموعة المستهلكة (1-20) سيجارة بنسبة (87.5)% للفئة العمرية من (10-19) سنة مع عدم وجود فرق معنوي و كما في الجدول (3-4) .

الجدول(3-4) الاعداد والنسب المئوية للسجائر المستهلكة تبعاً للفئات العمرية

Age periods and number cigarette of smokers						
			Number cigarette			Total
			1-20	21-40	40≤	
Age periods	10-19	N	7	1	0	8
		%	87.5%	12.5%	0.0%	100.0%
	20-29	N	9	7	1	17
		%	52.9%	41.2%	5.9%	100.0%
	30-39	N	7	2	1	10
		%	70.0%	20.0%	10.0%	100.0%
	40-49	N	3	4	1	8
		%	37.5%	50.0%	12.5%	100.0%
	50 ≤	N	1	1	0	2
		%	50.0%	50.0%	0.0%	100.0%
Total		N	27	15	3	45
Chi-Square		6.004				
p.value		0.647				

كان البالغون الذين بلغت اعمارهم 18 سنة فأكثر يدخنون 10 سجائر او اكثر في اليوم الواحد (Lasser وآخرون ، 2017) حيث كان المراهقون يدخنون اكثر من 10 سجائر في اليوم الواحد خلال (1-6) سنة عند بدء تدخينهم ولم يكن هناك علاقة بين عدد سنوات التدخين وعدد السجائر المستهلكة (Kayali و Demir ، 2017) حيث ان تأثير مجموعات الاقران ومواقع

التواصل الاجتماعية مجال اخر مهم للقلق مع التدخين (Farhat و Simons-Morton ، 2010) .

كما أكدت دراسات على ازدياد المخاطر النسبية (RRs) Relative risks لمرض القلب التاجي (CHD) coronary heart disease مع زيادة عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد ويعود تفسير النتيجة الى عدة احتمالات منها ان النيكوتين تحفز على زيادة الطلب على الأوكسجين وتضييق الأوعية الدموية ، و التأثير الذي أحدثه أحادي أكسيد الكربون على الدورة الدموية ، زيادة الالتهاب نتيجة لخفض مضادات الأكسدة anti-oxidants والجسيمات particulates ومكونات دخان التبغ الأخرى ، حساسية الانسولين insulin sensitivity ، والتغيرات في ملامح الدهون lipid profiles (Lubin وآخرون ، 2017) .

4-1-4 دراسة النسب المئوية لمدة التدخين ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئة العمرية

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعة المدخنين حسب مدة التدخين الى ست مجاميع ، تضمنت المجموعة الاولى عينة المدخنين لمدة (1-5) سنة وكان عددهم 18 مدخناً ، وتضمنت المجموعة الثانية عينة المدخنين لمدة (6-10) سنة وكان عددهم 10 مدخنين ، وتضمنت المجموعة الثالثة عينة المدخنين لمدة (11-15) سنة وكان عددهم (6) مدخنين ، وتضمنت المجموعة الرابعة عينة المدخنين لمدة (16-20) سنة وكان عددهم (7) مدخنين ، وتضمنت المجموعة الخامسة عينة المدخنين لمدة (21-25) سنة وكان عددهم (1) مدخن ، وتضمنت المجموعة السادسة عينة المدخنين لمدة ($25 \leq$) سنة وكان عددهم (3) مدخنين ، وتم الحصول على هذه المعلومات من الاشخاص المدخنين أنفسهم .

ومدة التدخين التي اعطت اعلى نسبة هي (1-5) سنة وينسبة (62.5)% للفئة العمرية (10-

19) سنة كما في الجدول (4-4) .

الجدول (4-4) النسب المئوية لمدة التدخين تبعاً للفئة العمرية

			Duration of smoking in years					
			1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	25≤
Age periods	10-19	N	5	2	1	0	0	0
		%	62.5 %	25.0 %	12.5 %	0.0%	0.0%	0.0%
	20-29	N	10	5	2	0	0	0
		%	58.8 %	29.4 %	11.8 %	0.0%	0.0%	0.0%
	30-39	N	2	1	3	4	0	0
		%	20.0 %	10.0 %	30.0 %	40.0 %	0.0%	0.0%
	40-49	N	1	1	0	3	1	2
		%	12.5 %	12.5 %	0.0%	37.5 %	12.5 %	25.0 %
	50 ≤	N	0	1	0	0	0	1
		%	0.0 %	50.0 %	0.0%	0.0%	0.0%	50.0 %
Total		N	18	10	6	7	1	3
		%	40.0 %	22.2 %	13.3 %	15.6 %	2.2%	6.7%
Chi-Square	38.556							
p.value	0.008							

تعتمد تأثيرات التدخين على عدد السنوات التي يدخنها الشخص وعلى مقدار ما يدخنه الشخص حيث ان بدء تدخين السجائر في وقت مبكر من الحياة يزيد من خطر الإصابة بالعديد من الامراض (Nichter و Cartwright ، 1991) .

2-4 الجانب المناعي

قُدرت مستويات تركيز الخلايا التائية للمفاوية المساعدة $CD4^+$ والتائية للمفاوية السمية $CD8^+$ وقياس تركيز الحركي الخلوي $IFN-\gamma$ في العينات المدروسة باستعمال تقنية

الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم الأليزا (Enzym-Linked ImmunoSorbent) ELISA (Assay).

1-2-4 قياس مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

بينت نتائج الدراسة الحالية بأن متوسط تركيز الخلايا التائية المساعدة $CD4^+$ ذو مستوى اعلى في مجموعة المدخنين وكان (6.06 ± 0.95) pg/ml عن ما هو عليه في مجموعة غير المدخنين وكان (5.969 ± 1.004) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما هو موضح في الجدول (5-4) .

الجدول (5-4) مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	Groups	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
$CD4^+$	smoking	45	6.0646	6.39389	.95314
	no smoking	44	5.9698	6.66392	1.00462
T	0.068				
p.value	0.946				

يغير التدخين من عدد الخلايا البيضاء ونسب $CD4^+/CD8^+$ لدى المدخنين (Ginns وآخرون ، 1982). حيث اثبت إن التدخين يؤثر على عدد الخلايا اللمفاوية و انتاج الاجسام المضادة وتزداد مستويات $CD3^+$ و $CD4^+$ (Petropoulos وآخرون ، 2004) . بشكل عام تشير بيانات بعض الدراسات الى تأثير اكثر انتقائية للتدخين على استنفاد $CD4^+$ من $CD8^+$ التي يشار اليها عن طريق التعبير الاعلى عن جزيئات مثبطة متعددة على الخلايا التائية $CD4^+$ كما اظهر المدخنون ارتفاعاً $CD4^+$ و $CD8^+$ اعلى بكثير من غير المدخنين (Valiathan وآخرون ،

(2014) يزيد التدخين المفرط من عدد الخلايا التائية $CD4^+$ خاصة خلايا الذاكرة $CD4^+$ بسبب طابعها المزمن والاثقل في التعرض (Emilie واخرون ، 2010) .

بينت Lidia واخرون (2004) تأثيرات التدخين على المجموعات الفرعية المختلفة من الخلايا اللمفاوية التائية المتعارضة (lymphocyte T cells are conflicting) ، وقد تم التحقيق في تأثير تدخين السجائر على المجموعات الخلوية الفرعية للخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي عن طريق الاجسام المضادة وحيدة النسيلة ، كما بينت دراسة في 2013 وجود مدخنين يدخنون بصورة قليلة الى معتدلة (اقل من 50 سنة) لديهم زيادة معنوية في $CD4^+$ واتجاه نحو زيادة الخلايا اللمفاوية $CD8^+$ (Abdul mohaimen واخرون ، 2013) .

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

بينت نتائج هذه الدراسة ارتفاعاً في متوسط تركيز الخلايا التائية السمية $CD8^+$ في مجموعة المدخنين (9.50 ± 1.17) pg/ml مقارنة بمجموعة غير المدخنين (8.67 ± 0.85) pg/ml مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما هو موضح في الجدول (6-4) .

الجدول (6-4) مستوى تركيز $CD8^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	Groups	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
$CD8^+$	smoking	45	9.5073	7.85594	1.17109
	no smoking	44	8.6765	5.67830	.85604
T	0.573				
p.value	0.568				

أظهرت الغالبية العظمى من الدراسات التي تناولت المدخنين أن التدخين يزيد من عدد الخلايا التائية $CD8^+$ وتنشيطها و وظائفها. البيانات المتناقضة من الدراسات الأولية تظهر

انخفاضاً في اعداد الخلايا التائية للانسان $CD8^+$ تحت حالة التدخين يمكن أن يعزى إلى الجنس والخلفية الجينية genetic background أو الفرق العرقي racial difference . ومع ذلك ، تشير الدراسات في كل من البشر والحيوانات إلى أن دخان السجائر لا يغير فقط العدد الإجمالي للخلايا التائية $CD8^+$ ، بل إنه يحفز أو يعزز استجاباتها الوظيفية. في الوقت نفسه ، تشير نتائج الدراسة إلى أن تأثير تدخين السجائر على الخلايا التائية $CD8^+$ قد تختلف اعتماداً على البيئة الدقيقة التفاضلية للنسجة (differential tissue microenvironment) والظروف المرضية (Qiu وآخرون ، 2017) .

جاءت نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع دراسات بينت ارتفاع نسبة $CD8^+$ أعلى بكثير من غير المدخنين (Forsslund وآخرون ، 2014) ، كما بينت دراسات زيادة اعداد الخلايا التائية $CD8^+$ وانخفاض نسبة الخلايا التائية $CD4^+/CD8^+$ كثيراً ما لوحظ في مجرى الهواء المخاطية للمدخنين (Lams وآخرون ، 2000) . على عكس دراسات أخرى اثبتت تقليل تنشيط الخلايا التائية وتكاثرها والتعبير عن البروتينات السامة للخلايا للمفاوية التائية السامة $CD8^+$ بشكل كبير عن طريق التعرض لدخان السجائر (Glader وآخرون ، 2006) حيث اثبتت دراسات ان دخان السجائر له اثار قاتلة للخلايا للمفاوية في اللعاب المتعرض للدخان (Nozad-Mojaver وآخرون ، 2009) .

3-2-4 قياس مستوى تركيز $IFN-\gamma$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

بينت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع مستوى $IFN-\gamma$ في مجموعة المدخنين ($21.45 \pm$ pg/ml) مقارنة بمجموعة غير المدخنين (12.29 ± 59.64 pg/ml) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما هو موضح في الجدول (4-7) .

الجدول (7-4) مستوى تركيز IFN- γ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

	Groups	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IFN- γ	smoking	45	70.6417	143.92541	21.45513
	no smoking	44	59.6473	81.55707	12.29519
T	0.445				
p.value	0.658				

تشير البيانات الى ان قمع استجابات الحركيات الخلوية مثل IFN- γ و TNF- α في سياق مستخرج دخان السجائر (Cigarette Smoking Extract (CSE له مغزى من الناحية البيولوجية كما يقدم دليلا مباشرا على التأثير المدمر لمستخرج دخان السجائر في العدوى الفطرية mycobacterial infection (Van Zyl-Smit وآخرون ، 2014) ، تنتج الخلايا القاتلة الطبيعية NK (IFN- γ و TNF- α) اقل بكثير في المدخنين عند التنشيط بالمقارنة مع غير المدخنين (Mian وآخرون ، 2008) ، كما بينت دراسات اجريت على الفئران انخفاض مستوى IFN- γ في سائل غسيل القصبات BAL للفئران المعرضة لدخان السجائر (Lugade وآخرون ، 2014) ، و دراسات اخرى اجريت على الفئران كذلك بينت التعبير عن IFN- γ بشدة بعد التعرض لدخان السجائر (Lee وآخرون ، 2017) .

4-2-4 النسب المئوية لل CD4⁺ ضمن مجموعة الدراسة تبعاً للفئات العمرية

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية المساعدة مع الفئات العمرية وجد ان اعلى مستوى للخلايا التائية المساعدة كان في الفئة العمرية (40-49) سنة وكانت (9.69 ± 14.45) واقل مستوى في الفئة العمرية (20-29) سنة وكانت (4.37 ± 1.219) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (4-8) .

الجدول (8-4) المستوى المصلي لل $CD4^+$ ضمن الفئات العمرية لمجموعة المدخنين

		N	Mean	Std. Deviation
$CD4^+$	10-19	8	5.3798	1.79160
	20-29	17	4.3780	1.21959
	30-39	10	6.4779	3.80580
	40-49	8	9.6915	14.45321
	$50 \leq$	2	6.5655	.59185
	Total	45	6.0646	6.39389
F	0.973			
p.value	0.433			

على الرغم من معرفة المخاطر التي يشكلها تدخين السجائر قد تم توثيقها بشكل جيد الا ان معدل انتشار استهلاك السجائر على مستوى العالم يقدر بأكثر من مليار شخص (Samet و Wipfli ، 2010) . اثبتت دراسات ان نسبة الخلايا التائية $CD4^+$ اقل بشكل ملحوظ في المدخنين مقارنة بغير المدخنين اللذين تقل اعمارهم عن 45 سنة (Tollerud واخرون ، 1991) .

5-2-4 علاقة $CD8^+$ بالفئات العمرية لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية السمية مع الفئات العمرية وجد ان اعلى مستوى للخلايا التائية السمية كان في الفئة العمرية (40-49) سنة وكانت (13.23 ± 15.75) واقل مستوى في الفئة العمرية (10-19) سنة وكانت (7.69 ± 2.91) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (9-4) .

الجدول (9-4) علاقة $CD8^+$ بالفئات العمرية لمجموعة المدخنين

		N	Mean	Std. Deviation
$CD8^+$	10-19	8	7.6933	2.91538
	20-29	17	8.1777	2.02896
	30-39	10	10.5188	8.62154
	40-49	8	13.2374	15.75563
	50≤	2	8.0875	1.23390
	Total	45	9.5073	7.85594
F	0.718			
p.value	0.585			

اثبتت دراسات ان التدخين النشط يزيد من نسبة الخلايا التائية $CD8^+$ ولكنه يقلل من نسبة الخلايا التائية $CD4^+$ في الانسان (Vargas- Rojas واخرون ، 2011) . تشير نتائج الدراسة إلى أن تأثير تدخين السجائر على الخلايا التائية $CD8^+$ قد تختلف اعتمادا على البيئة الدقيقة التفاضلية للنسجة (differential tissue microenvironment) والظروف المرضية (Qiu واخرون ، 2017) أذ ان تدخين السجائر قد ارتبط بأنخفاض نسبة $CD4^+/CD8^+$ وتقلص في انتاج السيتوكينات والكيموكينات (Tymkiw واخرون ، 2011) .

6-2-4 علاقة $IFN-\gamma$ بالفئات العمرية لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى $IFN-\gamma$ مع الفئات العمرية وجد ان اعلى مستوى لل $IFN-\gamma$ كان في الفئة العمرية (49-40) سنة وكانت (159.51 ± 339.63) واقل مستوى في الفئة العمرية (29-20) سنة وكانت (44.34 ± 9.41) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (10-4) .

الجدول (10-4) علاقة IFN- γ بالفئات العمرية لمجموعة المدخنين

		N	Mean	Std. Deviation
IFN- γ	10-19	8	49.2140	19.54509
	20-29	17	44.3493	9.41240
	30-39	10	65.7914	47.19141
	40-49	8	159.5118	339.63701
	50≤	2	48.6085	4.09910
	Total	45	70.6417	143.92541
F	0.960			
p.value	0.440			

إن الاستجابة المناعية للرئة عند التعرض لدخان التبغ المزمن ، التي يهيمن عليها إفراز IFN- γ و IL-17A تكون متناسقة بين البشر (Shan وآخرون ، 2012) ، و أظهرت نتائج دراسات أخرى زيادة كبيرة في مستوى IFN- γ في الفئتين العمريتين (25-35 ، 36-45) سنة كما أظهرت نتائج دراسات أخرى نتائج مابينة حول مستوى IFN- γ بالمقارنة مع دراسات أخرى حيث أن تدخين السجائر يزيد من ردود الالتهابات التي تتمثل في زيادة مستوى IFN- γ وخلايا الدم البيضاء (Aula و Qadir ، 2013) ، و فيما يتعلق بتأثير دخان السجائر على الوظائف المناعية فأن الدراسات المختبرية والدقيقة حول تأثير سموم دخان السجائر والنيكوتين على IFN- γ غير حاسمة في حين أن بعض الدراسات المختبرية للقوارض تشير الى أن النيكوتين يقلل من إنتاج IFN- γ (Nouri-Shirazi و Guinet ، 2003) . قد لا تقتصر استجابات IFN- γ المعدلة بعد التعرض لدخان السجائر على الخلايا الظهارية بل تشمل أيضا على سبيل المثال خطوط الخلايا البلعمية والخلايا الليفية المعرضة لدخان السجائر في الوسط والبلاعم السنخية Alveolar macrophages المعزولة من الافراد اللذين يدخنون السجائر قد قللت من الاستجابة IFN- γ

(Dhillon وآخرون ، 2009) . كما وتشير دراسات أخرى الى عكس ذلك حيث ان التعرض لدخان التبغ يزيد من افراز IFN- γ (Petro وآخرون ، 1992) .

7-2-4 علاقة $CD4^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعة المدخنين الى ثلاث فئات حسب عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد ، تضمنت الفئة الاولى عينة المدخنين اللذين يدخنون من (1-20) سيجارة وكان عددهم 27 مدخناً ، وتضمنت الفئة الثانية عينة المدخنين اللذين يدخنون (21-40) سيجارة وكان عددهم 15 مدخناً ، وتضمنت الفئة الثالثة عينة المدخنين اللذين يدخنون من ($40 \leq$) سيجارة وكان عددهم (3) مدخنين . وتم الحصول على المعلومات من المدخنين أنفسهم .

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية المساعدة مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة (1-20) سجارة تشكل اعلى متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (7.19 ± 8.03) بينما الفئتان (21-40 ، $40 \leq$) سجارة شكلتا اقل متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (4.27 ± 1.49 ، 4.82 ± 0.70) على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (4-11).

الجدول (4-11) علاقة $CD4^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

Number of cigarette		N	Mean	Std. Deviation
$CD4^+$	1-20	27	7.1963	8.03662
	21-40	15	4.2753	1.49617
	$40 \leq$	3	4.8260	.70230
	Total	45	6.0646	6.39389
F	1.070			
p.value	0.352			

ان اللذين قاموا بدراسة تأثير تدخين السجائر على مجموعات الخلايا التائية افادوا ان المدخنين الحاليين لديهم عدد الخلايا اللمفاوية اعلى بكثير من غير المدخنين حيث ازدادت نسبة اللمفاويات $CD4^+$ بشكل ملحوظ لدى المدخنين مقارنة مع غير المدخنين كما ان هذه الدراسة لم تتطابق مع الدراسة الحالية حيث وجدوا ان النسبة المئوية لخلايا $CD4^+$ تميل الى الزيادة مع عدد السجائر المدخنة في اليوم الواحد ، حيث يؤدي الاضطراب في وظيفه الغدة الكظرية تحت تأثير عامل الاجهاد مثل الدخان الى لعب دور مهم في رفع عدد اللمفاويات (Shipa واخرون ، 2017).

اثبت نتائج دراسات زيادة في عدد الخلايا التائية $CD4^+$ وارتباطها بشكل كبير مع معدل التدخين اليومي حيث اثبت زيادة في عدد $CD4^+$ في المدخنين اللذين يدخنون بصورة مفرطة مقارنة مع المدخنين بمعدل يومي معتدل الى خفيف من التدخين (Tanigawa واخرون ، 1998) حيث تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة اثبت ان الانخفاض في خلايا $CD4^+$ كان مرتبطا بشكل كبير مع عدد السجائر التي يتم تدخينها ذاتيا في اليوم الواحد لكل سجائر اضافية يدخنها يوميا انخفضت خلايا $CD4^+$ (Tollerud واخرون ، 1991) .

8-2-4 علاقة $CD8^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية السمية مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة (1-20) سجارة تشكل اعلى متوسط للخلايا التائية السمية وكان (9.86 ± 10.50) بينما الفئتان (21-40 ، $40 \leq$) سجارة شكلتا اقل متوسط للخلايا التائية المساعدة وكان (2.24 ± 48.19 ، 4.68 ± 7.02) على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (4-12).

الجدول (12-4) علاقة $CD8^+$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

Number of cigarette		N	Mean	Std. Deviation
$CD8^+$	1-20	27	10.5098	9.86456
	21-40	15	8.1985	2.24084
	$40 \leq$	3	7.0290	4.68455
	Total	45	9.5073	7.85594
F	0.566			
p.value	0.572			

تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة اثبتت انه لم تكن هناك اي زيادة كبيرة في

مستوى الخلايا التائية للمدخنين الذين يدخنون بصورة مفرطة اكثر من المعتدلة (

Tanigawa وآخرون ، 1998) . حيث اثبتت دراسات ان دخان السجائر له اثار قاتلة للخلايا

للمفاوية في اللعاب المتعرض للدخان (Nozad-Mojaver وآخرون ، 2009) .

وبينت دراسات ان المدخنين الذين يدخنون بصورة معتدلة الى قليلة لديهم زيادة في عدد

الخلايا التائية $CD4^+$ و $CD8^+$ في حين ان المدخنين الذين يدخنون بصورة مفرطة لديهم

انخفاض في خلايا $CD4^+$ وزيادة في خلايا $CD8^+$ (Miller وآخرون ، 1982) .

9-2-4 علاقة $IFN-\gamma$ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى $IFN-\gamma$ مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة

(20-1) سجارة تشكل اعلى متوسط لل $IFN-\gamma$ وكان (88.63 ± 184.77) بينما الفئتان

(40-21 ، $40 \leq$) سجارة شكلتا اقل متوسط لل $IFN-\gamma$ وكان (42.50 ± 11.10) ، $4.35 \pm$

(49.41) على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (4-13).

الجدول (13-4) علاقة IFN- γ بعدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد لمجموعة المدخنين

Number of cigarette		N	Mean	Std. Deviation
IFN- γ	1-20	27	88.6306	184.77754
	21-40	15	42.5067	11.10817
	40 $\leq$	3	49.4157	4.35332
	Total	45	70.6417	143.92541
F	0.519			
p.value	0.599			

تشير الدلائل المتزايدة الى ان البلعميات واللمفاويات هي منبهات مهمة في عملية الالتهاب المزمن الناجمة عن الدخان ، يمكن ان تحرر الخلايا التائية IFN- γ النشاط الذي يعمل كعامل تنشيط للخلايا البلعمية Macrophage (Costa وآخرون ، 2008) .

10-2-4 علاقة CD4⁺ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

في هذه الدراسة تم تقسيم مجموعة المدخنين حسب مدة التدخين درست وقسمت الى ست فئات ، تضمنت الفئة الاولى عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (1-5) سنوات وكان عددهم 18 مدخناً ، وتضمنت الفئة الثانية عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (6-10) سنوات وكان عددهم 10 مدخنين ، وتضمنت الفئة الثالثة عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (11-15) سنة وكان عددهم 6 مدخنين ، وتضمنت المجموعة الرابعة عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (16-20) سنة وكان عددهم 7 مدخنين ، وتضمنت الفئة الخامسة عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (21-25) سنة وكان عددهم مدخن واحد ، وتضمنت الفئة السادسة عينة المدخنين اللذين قاموا بالتدخين لمدة (≤ 25) سنة وكان عددهم 3 مدخنين . وتم الحصول على المعلومات من المدخنين أنفسهم .

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية المساعدة مع مدة التدخين وجد ان اعلى متوسط للخلايا

التائية المساعدة في الفئة (6-10) سنة والتي شكلت (9.12 ± 13.28) واقل متوسط في الفئة

(21-25) سنة والتي شكلت (4.42 ± 0.0) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما

في الجدول (4-14) .

الجدول (4-14) علاقة $CD4^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

	Duration	N	Mean	Std. Deviation
$CD4^+$	1-5	18	4.9575	1.27114
	6-10	10	9.1231	13.28139
	11-15	6	5.7747	1.62397
	16-20	7	5.6821	2.34634
	21-25	1	4.4210	0.0
	$25 \leq$	3	4.5320	2.30987
	Total	45	6.0646	6.39389
F	0.592			
p.value	0.706			

توافقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسات اثبتت زيادة في ارتفاع الخلايا التائية $CD4^+$ و

$CD8^+$ في المدخنين لاقل من (10) سنوات ثم انخفاضها في المدخنين لأكثر من (10) سنوات

ويعود تفسير هذه النتائج الى ضعف المناعة الخلوية لدى المدخنين خلال فترة الاستمرار بالتدخين

(Moszczynski وآخرون ، 2001) . حيث يزيد التدخين المفرط من عدد الخلايا التائية $CD4^+$

خاصة خلايا الذاكرة $CD4^+$ بسبب طابعها المزمن والاثقل في التعرض (Emilie وآخرون ،

(2010) .

11-2-4 علاقة $CD8^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى الخلايا التائية السمية مع مدة التدخين وجد ان اعلى متوسط للخلايا التائية السمية في الفئة (6-10) سنة والتي شكلت (13.55 ± 15.36) واقل متوسط في الفئة (25-21) سنة والتي شكلت (6.96 ± 0.0) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (15-4) .

الجدول (15-4) علاقة $CD8^+$ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

	Duration	N	Mean	Std. Deviation
$CD8^+$	1-5	18	7.8701	2.63594
	6-10	10	13.5525	15.36778
	11-15	6	9.9363	3.35566
	16-20	7	8.7347	5.45819
	21-25	1	6.9680	0.0
	$25 \leq$	3	7.6380	1.16188
	Total	45	9.5073	7.85594
F	0.736			
p.value	0.601			

اثبتت بعض دراسات بأن هناك انخفاضاً في نسبة $CD4^+ / CD8^+$ بسبب الانخفاض في تركيز الليزوزم (lysozyme) والغلوبولينات المناعية (immunoglobulins) وانخفاض عدد الخلايا القاتلة الطبيعية ($CD16^+$) خاصة في المدمنين الذين كانوا يدخنون أكثر من 10 سنوات ، وزيادة في عدد الخلايا الليمفاوية التائية السامة للخلايا ($CD8^+$) (Moszczynski) وآخرون ، (2001) .

12-2-4 علاقة IFN- γ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

عند مقارنة مستوى IFN- γ مع مدة التدخين وجد ان اعلى متوسط IFN- γ في الفئة (10-6) سنة والتي شكلت (148.55 ± 302.40) واقل متوسط في الفئة (25-21) سنة والتي شكلت (24.24 ± 0.0) مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية وكما في الجدول (16-4).

الجدول (16-4) علاقة IFN- γ بمدة التدخين بالنسبة لمجموعة المدخنين

	Duration	N	Mean	Std. Deviation
IFN- γ	1-5	18	48.0025	13.56344
	6-10	10	148.5514	302.40885
	11-15	6	60.5595	29.64213
	16-20	7	44.6016	13.17264
	21-25	1	24.2470	0.0
	25≤	3	43.1670	7.70872
	Total	45	70.6417	143.92541
F	0.747			
p.value	0.593			

يبدو ان دخان السجائر له تأثيرات متعددة إذ انه يقوم بتعديل دفاعات الخلايا الضهارية epithelial cells المضاد للفيروسات في مجرى الهواء بالإضافة الى اعاقه استجابات الانترفيرون كما وجد ان المدة السريرية طويلة الامد من تدخين السجائر مع فترة من تعرض الخلايا الضهارية لكل من مستخرج دخان السجائر و IFN- γ كانت مطلوبة لتنشيط اشارات الخلايا المستحثة ب IFN- γ حيث يمكن ان يؤثر مستخرج دخان السجائر بشكل غير مباشر على-IFN- γ (mediated immunity) كذلك هناك العديد من مسارات الانترفيرون التي تتحكم بالدفاع المضاد للفايروسات والتي يمكن ان تتأثر بمستخرج دخان السجائر (Modestou وآخرون ، 2010) .

13-2-4 العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين جزيئات $CD4^+$ و $IFN-\gamma$ حيث كان معامل الارتباط يساوي (0.934) ومعامل الارتباط بين جزيئات $CD4^+$ وجزيئات $CD8^+$ يساوي (0.901) و بين جزيئات $CD8^+$ و $IFN-\gamma$ يساوي (0.895) .

هنالك ارتباط للمناعة الخلوية فيما بينها لتحقيق الهدف النهائي والمتمثل بالقضاء على المستضد عن طريق تفاعل الاستجابة المناعية والخلايا 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 مستقبلات المستضد المتطابقة تسمى مستقبلات الخلايا التائية (TCR) توزع مباشرة الى موقع المستضد ويؤدي وظيفته نحو تفاعله مع المستضد (Benjamini وآخرون ، 2000 ؛ Abbas وآخرون ، 2010) كما في الجدول (4-17) .

الجدول (4-17) العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه الدراسة

		INF	CD8	CD4
INF	r	1	.895**	.934**
	p		.000	.000
	n	89	89	89
CD8	r	.895**	1	.901**
	p	.000		.000
	n	89	89	89
CD4	r	.934**	.901**	1
	p	.000	.000	
	n	89	89	89

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

الاستنتاجات Conclusions

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

1- اظهرت النتائج ان اعلى نسبة للفئتين العمريتين (29-20 ، 39-30) سنة ضمن مجموعة المدخنين وكانت اقل نسبة في الفئات (19-10 ، 49-40 ، $50 \leq$) سنة، اما في مجموعة غير المدخنين كانت اعلى نسبة في الفئة العمرية (29-20) سنة وكانت اقل نسبة في الفئات العمرية (19-10 ، 49-40 ، 39-30 ، $50 \leq$) سنة .

2- اوضحت نتائج الدراسة الحالية عند مقارنة الفئات العمرية مع عدد السجائر المستهلكة يوميا ان المجموعة التي اعطت اعلى نسبة هي المجموعة المستهلكة (1-20) سيجارة بنسبة (87.5)% للفئة العمرية من (19-10) سنة .

3- بينت نتائج الدراسة عند مقارنة الفئات العمرية مع مدة التدخين اظهرت النتائج ان مدة التدخين التي اعطت اعلى نسبة هي (1-5) سنة للفئة العمرية (19-10) سنة .

4- أظهر مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية $CD4^+$ و مستوى تركيز جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^+$ تراكيز عالية بالنسبة للمرضى المدخنين مقارنة مع عينات السيطرة .

5- أظهر انترفيرون $IFN-\gamma$ تراكيز عالية لدى المدخنين بالمقارنة مع عينات السيطرة .

6- اظهرت النتائج اعلى متوسط لجزيئات للخلايا التائية المساعدة الذاتية $CD4^+$ و جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^+$ وتركيز $IFN-\gamma$ في الفئة التي تدخن (1-20) سيجارة يوميا اما الفئتين العمريتين (21-40 ، $40 \leq$) فقد شكلتا اقل متوسط .

7- اظهرت النتائج اعلى متوسط لجزيئات للخلايا التائية المساعدة الذاتية $CD4^+$ و جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية $CD8^+$ وتركيز $IFN-\gamma$ في الفئة التي كانت مدة تدخينها (6-10) سنة و اقل متوسط في الفئتين التي كانت مدة تدخينها (21-25) سنة .

8- أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين جزيئات $CD4^+$ و $CD8^+$ و $IFN-\gamma$.



التوصيات Recommendations

1- دراسة وراثية لمادة benzo (a) pyrene الموجودة في السجائر واضرارها على جين p53 وهو جين مثبط للاورام .

2- دراسة مناعية لمعرفة تأثير التدخين على بعض الحركات الخلوية مثل عامل النخر الورمي TNF-a وانترلوكين IL-17 والحركات الخلوية المسببة للالتهاب مثل MCP-1 و IL-8 وغيرها .

3- دراسة تأثير التدخين على موت الخلايا المبرمج Apoptosis .

4- زيادة حجم العينة المأخوذة .

5- دراسة تأثير التدخين على النساء .

6- اجراء دراسة للاعمار الكبيرة .

7- اضافة معلومات اخرى للاستمارة الاستبيان كالمهنة والمستوى الثقافي والحالة الاجتماعية ومحل السكن .

المصادر العربية

حميد، زينب رشيد .(٢٠١٢). دراسة تأثير التدخين على بعض المعايير الدموية والكيموحيوية لدى مرضى السكري من النوع الثاني. الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم ،علوم الحياة .،
صفحة ١٨ - ٢١ .

المصادر الانكليزية

- Abbas, A.K.; Lichtman, A.H. & Pillai, S. (2010).** Cellular and Molecular Immunology. 6th ed. philadelphia: Elsevier United states . pp: 6,18,267, 545 .
- Abbas, A.K.; Lichtman, A.H. & Pillai, S. (2012).** Cellular and molecular in Immunology 7th ed. Philadelphia; Elsevier / saunders .pp:715-722.
- Abbas, A.K.; Lichtman, A.H. And Pober, J.S. & Pillai, S. (2015).** Cellular and Molecular Immunology, 4th(Ed). Saunders, U.S.A. : 1-20.
- Abdul-Ghani, R.; Qazzaz, M.; Dabdoub, N.; Muhammad, R. & Abdul-Ghani ,A.S. (2014).** Studies on cigarette smoke induced oxidative DNA damage and reduced spermatogenesis in rats. Journal of Environmental Biology, 35(5): 943-947.
- Abdul mohaimen, N.; Sami, A.; Al-assady, Z.T.S. & Ali, A.J. (2013).** Effect of gender , aging , smoking and urinary tract infections on level of CD4+ T lymphocytes in hypertensive patients treated with propranolol and captopril drugs. Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciences, (5):69-80.

Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, k. & walters, p. (2002). Molecular Biology of the cell . New York. London ; Garland Science, (2):42-72 .

Alhemieri, A. (2008). Effect of cigarette smoking on some heamatological and biochemical factors in blood of men with aging. Basrah Journal of Scienec, 26(1): 56-67.

Alhibrii, M.H.; Abdrabo, A.A. & Lutfi, M.F.(2013). Influence of chronic cigarette smoking on serum biochemical profile among Sudanese smoker. Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 3(18): 17-21.

Amdahl, H. (2014). Innate immune evasion of microbes. Ph. D. Thesis, Coll. Medicine, Univ. Helsinki, Finland, pp: 13.

Arnson, Y.; Shoenfeld, Y. & Amital, H.(2010). Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. Journal Autoimmunity, 34(3):J258-J265.

Arda, H.; Oner, A.; Gumus, K.; Karaca, C.; Karakucuk, S. & Mirza, E.(2010). Evaluation of colour vision in smokers with the farns worth-munsell 100 hue test : preliminary results . Journal of retina –vitreous, 18(2):139-142.

Asthana, A.; Johnson, H.M.; Piper, M.E.; Fiore, M.C.; Baker, T.B. & Stein, J.H. (2010). Effects of smoking intensity and cessation on inflammatory markers in a large cohort of active smokers. American Heart Journal, 160(3): 458-463.

Aula, F.A. & Qadir, F.A.(2013). Effects of Cigarette Smoking on Some Immunological and Hematological Parameters in Male Smokers in Erbil City. Jordan Journal of Biological Sciences, 6(2):159-166.



- Babon, J.J. & Nicola, N.A. (2012).** The biology and mechanism of action of suppressor of cytokine signaling. *Growth Factors*, 30(4): 207-19.
- Barnes, P.J. & Cosio, M.G. (2004).** Characterization of T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS Medicine*, 1(1):e20.
- Benjamini, E.; Coico, R. & Sunshine, G. (2000).** *Immunology Ashort Course* , 4th ed . Wiley Liss . Canada .
- Beutler, B.; Greenwald, D. & Hulmes, J.D. (1985).** Identity of tumor necrosis factor and the macrophage – secreted factor cachectin. *Nature*, 316: 552 - 554.
- Birrell, M.A.; Wong, S.; Catley, M.C. & Belvisi, M.G. (2007).** Impact of tobacco-smoke on key signaling pathways in the innate immune response in lung macrophages, *Journal of Cellular Physiology*, 214(1):27-37.
- Borghesi, L. & Milcarek, C. (2006) .** From B cell to plasma cell : regulation of V(D) j recombination and antibody secretion . *Immunol.Res*, 36 (3): 27 – 32.
- Borreagaard, N. (2010).** "Neutrophils, from marrow to microbes." *Immunity*, 33 (5):670 -657.
- Calvo, M.; Laguno, M.; Martinez, M. & Martinez, E. (2015).** Effect of tobacco smoking on HIV-infected individuals. *Aids Reviews*, 17(1):47-55.
- Carrier, Y.; Yuan, J.; Kuchroo, V. K. & Weiner, H. L. (2006) .** Th3 cell in peripherd tolerance 1. Induction of Foxp3- positive regulatory T cell by Th3 cell derived from TGF- β Tcell-transgenic mice. *J. Immunol*, 178: 179 -185 .

Centers for Disease Control and Prevention (US), National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US), Office on Smoking and Health(US).(2010). How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease A Report of the Surgeon General. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 3, Chemistry and Toxicology of Cigarette Smoke and Biomarkers of Exposure and Harm.

Centers for Disease Control and Prevention. (2014). The health consequences of smoking—50 years of progress: A report of the Surgeon General. Atlanta, GA: Author.

Chen, L. & Flies, D. B.(2013). Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition . Nature Reviews Immunology, 13 : 227-242.

Choi, S.; Kim, Y.; Park, S.; Lee, J. & Oh, K.(2014). Trends in cigarette smoking among adolescents and adults in South Korea. Epidemiol Health , 36:e2014023.

Costa, C.; Rufino, R.; Traves, S. L.; Lapa, E.; Silva, J. R.; Barnes, P. J. & Donnelly, L. E. (2008). CXCR3 and CCR5 chemokines in induced sputum from patients with COPD. Chest, 133(1):26-33.

Cui, W.Y. & Li, M.D. (2010). Nicotinic modulation of innate immune pathways via alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. Journal Neuroimmune Pharmacology, 5(4):479–488.

Davis, M.M.; Soen, Y.; Chen, D. S.; Kraft, D. L. & Brown, P. O. (2003). Detection and Characterization of Cellular Immune Responses Using Peptide-MHC Microarrays. PLoS biology, 1(3), e65.

- Desai, P. (2007).** Cytokines in Obstetrics and Gynecology . Journal of Obstetrics Gynecology . India , 57(3):205-209.
- Devaranavadi, B.B.; Askim, B.S.; Kashinath, R. T. & Hundekari, I. (2012).** Effect of Cigarette Smoking on Blood Lipids –A Study in Belgaum, Northern Karnataka, India. Global Journal of Medical Research, 12(6):57-61.
- Dhillon, N.K.; Murphy, W.J.; Filla, M.B.; Crespo, A.J.; Latham, H.A. & O'Brien-Ladner, A. (2009).** Down modulation of IFN-gamma signaling in alveolar macrophages isolated from smokers. Toxicology Applied Pharmacology, 237(1):22-28.
- Emilie, C.V.; Catherine, A.L.; Karim, B.; Pierre, P. & Ernesto, L.S. (2010).** American journal of physiology. 10:1152.
- Eriksen, M.; Mackay, J. & Ross, H. (2012).**The Tobacco Atlas – Fourth Edition. American Cancer Society: Atlanta, USA. ISBN-13: 978-1-60443-093-6.
- Fletcher, J.M. & Sindelar, J.L. (2012).** The effects of family stressors on substance use initiation in adolescence. Review of Economics in the Household, 10(1): 99-114.
- Forsslund, H.; Mikko, M.; Karimi, R.; Grunewald, J.; Wheelock, A.M.; Wahlstrom, J. & Skold, C. M.(2014).** Distribution of T cell subsets in bronchoalveolar lavage fluid of patients with mild to moderate COPD is dependent on current smoking status and not airway obstruction. Chest Journal, 145(4):711–22.
- Gemmy, C.M.; Vania, M.; Ang, M.; Chee, S. P. & Li, J. (2012).** Comparison of aqueous humor cytokine and chemokine levels in diabetic patients with and without retinopathy. Journal molecular vision, 18:830-837.

- Ginns, L.C.; Goldenheim, P.D.; Miller, L.G.; Burton, R.C.; Gillick, L.; Colvin, R.B.; Goldstein, G.; Kung, P.C.; Hurwitz, C. & Kazemi, H. (1982).** T-lymphocyte subsets in smoking and lung cancer: analysis of monoclonal antibodies and flow cytometry. *American Review Respiratory Disease*, 126(2):265–9.
- Gislason, S.J. (2007).** Immunology notes. Environed Research Inc. British, pp: 31-35.
- Giuseppe, D.Di.; Discacciati, A.; Orsini, N. & Wolk, A. (2014).** Cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis. *Arthritis Research & Therapy*, 16(2):R61.
- Glader, P.; Moller, S.; Lilja, J.; Wieslander, E.; Lofdahl, C. G. & Wachenfeldt K.V. (2006).** Cigarette smoke extract modulates respiratory defence mechanisms through effects on T-cells and airway epithelial cells. *Respiratory Medicine*, 100(5): 818–27.
- Godfrey, D.I.; Rossjohn, J. & McCluskey, J. (2008).** The fidelity, occasional promiscuity, and versatility of T cell receptor recognition. *Immunity*, 28(3):304-314.
- Hecht, S. (2006).** Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer. *Journal National Cancer Institute*, 91(14): 1194-1210.
- Hedstrom, A.K.; Sundqvist, E.; Baarnhielm, M.; Nordin, N.; Hillert, J.; Kockum, I.; Olsson, T. & Alfredsson, L.(2011).** Smoking and two human leukocyte antigen genes interact to increase the risk for multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 134(3):653-664.
- Hertel, A.W. & Mermelstein, R.J. (2012).** Smoker identity and smoking escalation among adolescents. *Health Psychology*, 31(4):467-475.

Hong, N.S.; Kim, K.Y.; Park, S.W.; Kim, J.Y.; Bae, J.; Lee, W. K. & Kim, K.S. (2011). Trends in cigarette use behaviors among adolescents by region in Korea. *Journal of Preventive Medicine & Public Health* ,44(4):176-184.

Huttunen, R.; Heikkinen, T. & Syrjanen, J. (2011). Smoking and the outcome of infection. *Journal Internal Medicine* , 269(3):258-69.

International Agency for Research on Cancer. (2004). Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 83. Lyon, France.

International Agency for Research on Cancer.(2012). A review of humancarcinogens: Personal habits and indoor combustions. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 100. Lyon, France.

International Congress of Immunology. (2013). Report: Nicotine Linked to Lowering Risk of Multiple Sclerosis.

Janeway, C.A.; Travers, P.; Walport, M. & Shlomchik, M. (2005). Immunobiology: The Immune System in Health and Disease 6th ed. London: Garland Science.

Jee, Y.H. & Cho, S. (2016). Age-period-cohort analysis of smoking prevalence among young adults in Korea. Epidemiology and Health, 38: e2016010,9pages.

Kayali, S. & Demir, F. (2017). The effects of cigarette smoking on ventricular repolarization in adolescents. *Einstein*, 15(3):251-5.

Kang, Y. J. (2015). Empirical analysis for socioeconomic inequality in smoking. *J Soc Sci* ,41:9-83 (Korean).

Kean, J. (2010). The effects of smoking on the wound healing process. *Journal of Wound Care*, 19(1):5-8.

- Khojah, H.M.; Ahmed, S.; Abdel-Rahman, M.S. & Hamza, A.B. (2016).** Reactive oxygen and nitrogen species in patients with rheumatoid arthritis as potential biomarkers for disease activity and the role of antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 97:285-291.
- Koedrith, P. & Seo, Y.R. (2011)** .Advances in carcinogenic metal toxicity and potential molecular markers. *International journal of molecular sciences*, 12(12):9576–9595.
- Koff, R.S. (2002).** Immunogenicity of hepatitis B vaccines: implications of immune memory. *Vaccine* , 20(31-32):3695-3701.
- Korea Centers for Disease Control and Prevention.(2013).** Korea National Health Examination Survey, [cited 2015 Oct 25] Available from:
- Krintus, M.; Kozinski, M.; Kubica, J. & Sypniewska, G. (2014).** Critical appraisal of inflammatory markers in cardiovascular risk stratification. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 51(5): 263-279.
- kueyer, J.K. & Rohrich, R.J. (2001).** clearing the smoke :the rationale for tobacco a abstention with plastic rationale surgery scientific past reconstrury, 108(4):1063-1073.
- Lams, B.E.; Sousa, A.R.; Rees, P.J. & Lee, T.H. (2000).** Subepithelial immunopathology of the large airways in smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 15: 512–516.
- Lao, X.Q.; Jiang, C.Q.; Zhang, W.S.; Adab, P.; Lam, T.H.; Cheng, K.K. & Thomas, G.N. (2009).** Smoking, smoking cessation and inflammatory markers in older Chinese men: The Guangzhou Biobank Cohort Study. *Atherosclerosis*, 203(1): 304-310.

- Lasser, K.E.; Quintiliani, L.M.; Truong, V.; Xuan, Z.; Murillo, J.; Jean, C. & Pbert, L. (2017).** Effect of Patient Navigation and Financial Incentives on Smoking Cessation Among Primary Care Patients at an Urban Safety-Net Hospital. *JAMA Internal Medicine*, 177(12):1798-1807 .
- Lee, Y.C.; Cohet, C.; Yang, Y.C.; Stayner, L.; Hashibe, M. & Straif, K. (2009).** M-eta-analysis of epidemiologic studies on cigarette smoking and liver cancer. *International Journal. Epidemiology*, 38(6): 1497-1511.
- Lee, J.; Taneja, V. & Vassallo, R. (2012).** Cigarette smoking and inflammation: cellular and molecular mechanisms. *Journal of Dental Research*, 91(2):142–149.
- Lee, G.; Jung, K.; Shin, D.; Lee, C.; Kim, W.; Lee, S.; Kim, J. & Bae, H. (2017).** Cigarette Smoking Triggers Colitis by IFN- γ^+ CD4 $^+$ T Cell. *Frontiers in Immunology*, 8: 1344.
- Levsquesque, R. (2007).** SPSS Programming and Data Management ,4th ed .Chicago, pp:522.
- Lidia, Arcavi.; Neal, L. & Benowitz, M.D. (2004).** *Arch Intern Med*,164, 2206.
- Lim, S.S.; Vos, T.; Flaxman, A.; Danaei, G.; Shibuya, K.; Adair-Rohani, H.; et al. (2012).** A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380(9859): 2224-2260.
- Lopez, J.A.; Susanto, O.; Jenkins, M.R.; Lukoyanova, N.; Sutton, V.R.; Law, R. H.; et al. (2013).** Perforin forms transient pores on the target cell plasma membrane to facilitate rapid access of granzymes during killer cell attack. *Blood*, 121 : 2659-2668.

- Lubin, J.H.; Albanes, D.; Hoppin, J.A.; Chen, H.; Lerro, C.C.; Weinstein, S.J.; Sandler, D.P. & Freeman, L.E.B. (2017).** Greater Coronary Heart Disease Risk With Lower Intensity and Longer Duration Smoking Compared With Higher Intensity and Shorter Duration Smoking: Congruent Results Across Diverse Cohorts. *Nicotine & Tobacco Research*, 19(7): 817–825.
- Lugade, . A.; Bogner, P.N.; Thatcher, T.H.; Sime, P.J.; Phipps, R.P. & Thanavala, Y. (2014).** Cigarette Smoke Exposure Exacerbates Lung Inflammation and Compromises Immunity to Bacterial Infection. *The Journal of Immunology*, 192 (11):5226-5235.
- Lois, N.; Abdelkader, E.; Reglitz, K.; Garden, C. & Ayres, J.G. (2008).** Environmental tobacco smoke exposure and eye disease. *British Journal opthallmology*, 92(10):1304-1310.
- Medzhitov, R. & Janeway , C.A. (2002) .** Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, 296(5566): 298–300 .
- Mehta, H.; Nazzal, K. & Sadikot, R.T. (2008).** Cigarette smoking and innate immunity. *Inflammation Research*, 57(11):497–503.
- Menachem-Zidon, O.B.; Avital, A.; Ben-Menahem, Y.; Goshen, I.; Kreisel, T.; Shmueli, E.M.; Segal, M.; Hur, T.B. & Yirmiya, R. (2010).** "Astrocytes support hippocampal-dependent memory and long-term potentiation via interleukin-1 signaling". *Brain, Behaviour, and Immunity* , 25(5): 1008-1016.
- Mian, M.F.; Lauzon, N.M.; Stampfli, M.R.; Mossman, K.L. & Ashkar, A.A. (2008).** Impairment of human NK cell cytotoxic activity and cytokine release by cigarette smoke. *Journal Leukocyte Biology*, 83:774-784.
- Miller, L.G.; Goldstein, G.; Murphy, M. & Ginns, L.C. (1982).** Reversible alterations in immunoregulatory T cells in smoking. *Chest* , 82(5):526-29.

- Modestuo, M.A.; Manzel, L.J.; El-Mahdy, S. & Look, D.C. (2010).** Inhibition of IFN- γ -dependent antiviral airway epithelial defense by cigarette smoke. *Respiratory Research*, 11:64.
- Morean, M.E.; Camenga, D.R.; Kong, G.; Cavallo, D.A.; Schepis, T.S. & Krishnan- Sarin, S. (2014).** Predictors of middle school students' interest in participating in an incentive-based tobacco prevention and cessation program in Connecticut. *Journal of Addiction*, 2014(915652), 1-6.
- Moszczynski, P.; Zabinski, Z.; Moszczynski, P.Jr.; Rutowski, J.; Slowinski, S. & Tabarowski, Z. (2001).** Immunological findings in cigarette smokers. *Toxicology Letters*, 118(3):121–127.
- Murphy, K.; Travers, P.; Walport, M.; Janeway, C.; Mowat, A. & Weaver, C.T. (2012).** Janeway's immunobiology, 8th(Ed). Garland Science, U.S.A. : 1-37.
- Nadeen, F.; Fahim, A. & Bugti, S. (2012).** Effects of cigarette smoking on male fertility. *Turkey Journal Medicine Science*, 42(2):1400-1405.
- Nah, Deuk-Young. & Rhee, Moo-Yong. (2009).** The Inflammatory Response and Cardiac Repair After Myocardial Infarction. *The Korean Society of Cardio*, 39(10): 393-398.
- National Institute of Neurological Disorders.(2014).** Brain Basics: Preventing Stroke .
- Nichter, M. & Cartwright E. (1991).** Saving the Children for the Tobacco Industry. *Medical Anthropology Quarterly*, 5 (3): 236–56.
- Nouri-Shirazi, M. & Guinet E. (2003).** Evidence for the immunosuppressive role of nicotine on human dendritic cell functions. *Immunology*, 109: 365–373.

- Nozad-Mojaver, Y.; Mirzaee, M. & Jafarzadeh, A. (2009).** Synergistic effects of cigarette smoke and saliva. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 14(5):E217-21.
- Ostadkarampour, M.; Muller, M.; Ockinger, J.; Kullberg, S.; Linden, A.; Eklund, A.; Grunewald, J. & Wahlstrom, J. (2016).** Distinctive Regulatory T Cells and Altered Cytokine Profile Locally in the Airways of Young Smokers with Normal Lung Function . *PLoS ONE*, 11(10): e0164751.
- Ouyang, Y.; Virasch, N.; Hao, P.; Aubrey, M.T.; Mukerjee, N.; Bierer, B. E. & Freed, B. M. (2000).** Suppression of human IL-1 β , IL-2, IFN- γ , and TNF- α production by cigarette smoke extracts. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(2): 280-287.
- Ozer, H.T.; Gunesacar, R.; Dinkei, S.; Ozbalkan, Z.; Yildiz, F. & Erken, E. (2012).** The impact of smoking on clinical feature of Behçets disease patient with glutathione transferase polymorphisms .*clin EXP Rheumatol* , 30(3): 14-17.
- Padgett, L.E.; Broniowska, K.A.; Hansen, P.A.; Corbett, J.A. & 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):16-35.
- Palmer, M.T. & Weaver, C.T. (2010).** Autoimmunity: increasing suspects in the CD4+ T cell lineup. *Nature Immunology*, 11:36-40 .
- Pancer, Z. & Cooper, M.D. (2006).** The evolution of adaptive immunity. *Annual Review of Immunology*, 24 (1):497-518.
- Paradkar, P.H.; Joshi, J.V.; Mertia, P.N.; Agashe, S. V. & Vaidya, R.A. (2014).** Role of cytokines in genesis, progression and prognosis of cervical cancer. *Asian Pacific Journal. Cancer Prevention*, 15 (9): 3851-3864.

- Parkin, D.M.; Boyd, L. & Walker, L.C. (2011).** The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK. *British Journal of Cancer*, 105(2):77-81.
- Pestka, S.; Krause, C.D. & Walter, M.R. (2004).** Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunological Reviews*, 202(1):8-32.
- Petropoulos, G.; Mckay, I.J. & Hughes, F.J. (2004).** The association between Neutrophil numbers and interleukin -1alpha concentration in gingival crevicular fluid of smokers and nonsmokers with periodontal disease. *Journal periodontology*, 31(5):390-395.
- Petro, T.M.; Peterson, D.S. & Fung, Y.K. (1992).** Nicotine enhances interleukin production of rat splenic T lymphocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 14(3): 463-475.
- Qiu, F.; Liang, C.; Liu, H.; Zeng, Y.; Hou, S.; Huang, S.; Lai, X. & Dai, Z. (2017).** Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down?. *Oncotarget*, 8(1):268-284.
- Raissian, Y.; Nasr, S.H. & Larsen, C.P. (2011).** Diagnosis of IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *American Society of Nephrology*, 22(7):1343-1352.
- Reicher, B. & Barda-Saad, M. (2010).** Multiple pathways leading from the T-cell antigen receptor to the actin cytoskeleton network. *FEBS Letters*, 584(24):4858-4864.
- Rusznak, C.; Devalia, J.L.; Sapsford, R. J. & Davies, R.J. (1996).** Ozone-induced mediator release from human bronchial epithelial cells in vitro and the influence of nedocromil sodium. *European Respiratory Journal*, 9(11):2298-2305.

- Ryu, J. H.; Kim .C. H.; et al. (2010).** "Innate immune responses of the airway epithelium." *Molecules and cells*, 30(3): 173-183.
- Samet, J.M. & Wipfli, H.L. (2010).** Globe still in grip of addiction. *Nature*, 463:1020–1021.
- Schoendorn, J.R. & Wilson, C.B. (2007).** Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Advances In Immunology*, 96:41-101.
- Shah, B.; Nepal, A.; Agrawal, M. & Sinha, A. (2012).** The effects of cigarette smoking on hemoglobin levels compared smokers and non-smokers. *Sunsari Technical College Journal*, 1(1): 2091-2102.
- Shan, M.; Yuan, X.; Song, L.; Roberts, L.; Zarinkamar, N.; Seryshev, A.; Zhang, Y.; Hilsenbeck, S.; Chang, S.; Dong, C.; Corry, D.B. & Kheradmand, F. (2012).** Cigarette Smoke Induction of Osteopontin (SPP1) Mediates TH17 Inflammation in Human and Experimental Emphysema. *Science Translational Medicine*, 4(117): 117ra9.
- Shipa, S.A.; Rana, M.; Miah, F.; Alam, J. & Mahmud, M.G.R. (2017).** Effect of Intensity of Cigarette Smoking on Leukocytes among Adult Men and Women Smokers in Bangladesh. *Asia Pacific Journal of Medical Toxicology* , 6(1):12-17.
- Simen-Kapeu, A.; Kataja, V.; Yliskoski, M.; Syrjanen, K.; Dillner, J.; Koskela, P.; et al. (2008).** Smoking impairs human papillomavirus (HPV) type 16 and 18 capsids antibody response following natural HPV infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 40(9):745-51.
- Simons-Morton, B.G. & Farhat, T. (2010).** Recent findings on peer group influences on adolescent smoking. *Journal of Primary Prevention*, 31(4):191-208.

- Sims, M.; Maxwell, R.; Bauld, L. & Gilmore, A. (2010).** short term impact retrospective analysis of Hospital of smoke free legislation in England admission for myocardial infarction. British Medicine Journal, 340:c2161.
- Soldin, O.P.; Makambi, K.H.; Soldin, S.J. & O'Mara, D.M. (2011).** Steroid hormone levels associated with passive and active smoking. Steroids. 76(7):653-659.
- Stalenhoef, J.E.; Alisjahbana, B.; Nelwan, E.J.; van der Ven Jongekrijg, J.; Ottenhoff, T.H.; van der Meer, J.W.; Nelwan, R.H.; Netea, M.G. & van Crevel, R. (2008).** The role of interferon gamma in the increased tuberculosis risk in type 2 diabetes mellitus. European Journal of Clinical. Microbiology Infectious Diseases, 27(2):97-103.
- Steinmetz, O. M.; Sadaghiani, S. & Panzer, U. (2007).** Antihypertensive therapy induces compartment-specific chemokine expression and a Th1 immune response in the clipped kidney of Goldblatt hypertensive rats. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 292(2): 876-87.
- Talaro, K.P. (2005).** Immunization and Immune Assays In : Foundations in Microbiology Basic principles. Fifth edition ,Nev York, McGraw Hill, pp: 490 – 491.
- Tanigawa, T.; Araki, S.; Nakata, A.; Kitamura, F.; Yasumoto, M.; Sakurai, S. & Kiuchi, T. (1998).** Increase in Memory ($CD4^+CD29^+$ and $CD4^+CD45RO^+$) T and Naive ($CD4^+CD45RA^+$) T-Cell Subpopulations in Smokers. Archives of Environmental Health: An International Journal, 53(6): 378-383.
- Tapmeier, T.T.; Fearn, A. & Brown, K. (2010).** Pivotal role of $CD4^+$ T cells in renal fibrosis following ureteric obstruction. Kidney International, 78(4):351-362.

- Tollerud, D.J.; Brown, L.M.; Blattner, W.A.; Mann, D.L.; Pankiw-Trost, L. & Hoover, R.N. (1991).** T Cell Subsets in Healthy Black Smokers and Nonsmokers: Evidence for Ethnic Group as an Important Response Modifier. *American Review of Respiratory Disease Journals*, 144(3):1.
- Turner, S.J., Doherty, P.C., McCluskey, J. & Rossjohn J. (2006).** Structural determinants of T-cell receptor bias in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6:883–94 .
- Tymkiw, K.D.; Thunell, D.H.; Johnson, G.K.; Joly, S.; Burnell, K.K.; Cavanaugh, J.E.; et al. (2011).** Influence of smoking on gingival crevicular fluid cytokines in severe chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(3):219-228.
- US Surgeon General.(2010).** How Tobacco Smoke Causes Disease : The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease.
- Valiathan, R.; Miguez, M.J.; Patel, B.; Arheart, K.L. & Asthana, D. (2014).** Tobacco Smoking Increases Immune Activation and Impairs T-Cell Function in HIV Infected Patients on Antiretrovirals: A Cross-Sectional Pilot Study. *Plos One*, 9(5): e97698.
- Vanaudenaerde, B.M.; Verleden, S.E.; Vos, R.; De Vleeschauwer, S.I.; Willems-Widyastuti, A.; Geenens, R., et al. (2011).** Innate and adaptive interleukin-17-producing lymphocytes in chronic inflammatory lung disorders. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 183(8):977-986.
- Van Zyl-Smit, R.N.; Binder, A.; Meldau, R.; Semple, P.L.; Evans, A.; Smith, P.; Bateman, E.D. & Dheda, K. (2014).** Cigarette smoke impairs cytokine responses and BCG containment in alveolar macrophages. *Thorax*, 69(4):363–370.

- Vargas-Rojas, M.I.; Ramirez-Venegas, A.; Limon-Camacho, L.; Ochoa, L.; Hernandez-Zenteno, R. & Sansores, R.H. (2011).** Increase of Th17 cells in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, 105 (11):1648-1654.
- Vazquez-Lombardi, R.; Roome, B. & Christ, D. (2013).** Molecular Engineering of therapeutic cytokines . *Journal Antibodies*, 2(3): 426-451.
- Vlahos, R.; Bozinovski, S.; Jones, J.E.; Powell, J.; Gras, J.; Lilja, A.; Hansen, M.J.; Gualano, R.C.; Irving, L. & Anderson, G.P. (2006).** Differential protease, innate immunity, and NF- κ B induction profiles during lung inflammation induced by subchronic cigarette smoke exposure in mice. *American Journal of Physiology Lung Cellular Molecular Physiology*, 290(5):L931-L945.
- Wagner, D.; Kniepeiss, D. & Stiegler, U. (2012).** The assessment of GFR after orthotopic liver transplantation using cystatin C and creatinine-based equations. *Transplant. International*, 25(5):527-536.
- Williams , W.E.; Hussell , T. & Lloyd , C. (2012).** Immunology, mucosal and body surface defences. Wiley-Blackwell, Chennai, pp: 1,20,69,74.
- World Health Organisation.(2015).** global report on trends in prevalence oftobacco smoking .
- Wraith, D.C. & Nicholson, L.B. (2012).** The adaptive immune system in diseases of the central nervous system. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(4):1172-1197.

Zaga, V.; Lygidakis, C.; Chaouachi, K. & Gattavecchia, E. (2011).

Polonium and lung cancer. *Journal of oncology*, 860103:11.

Zhu, J.; Yamane, H. & Paul, W.E. (2010). Differentiation of effector

CD4 T cell populations. *Annual Reviews Immunology*, 28: 445-489.

الملاحق Appendices

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

الدراسات العليا

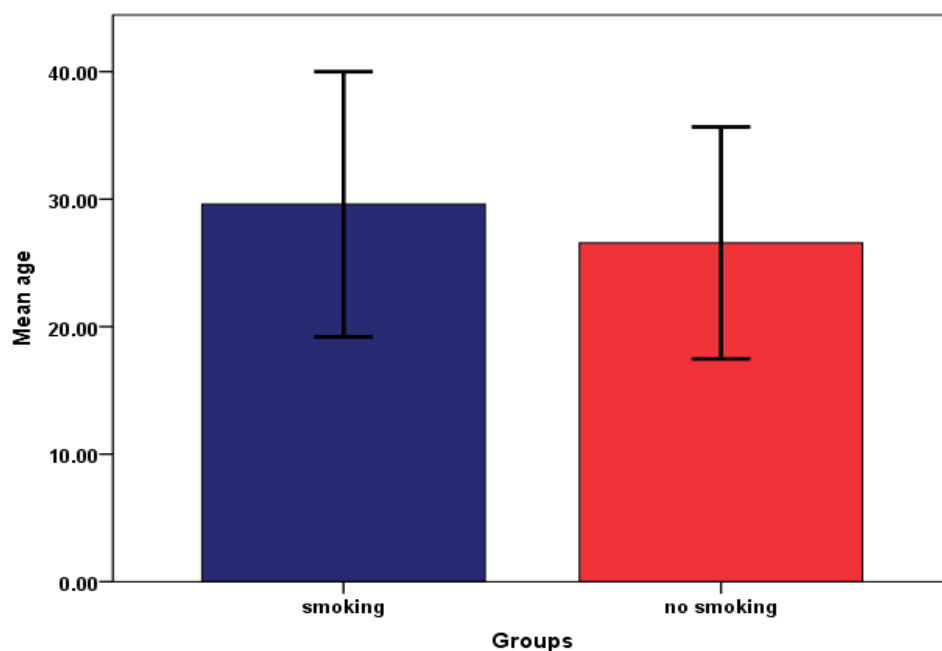
ملحق (١)

ملاحظة/ (١) يرجى عدم ذكر اسم الشخص المتبرع.

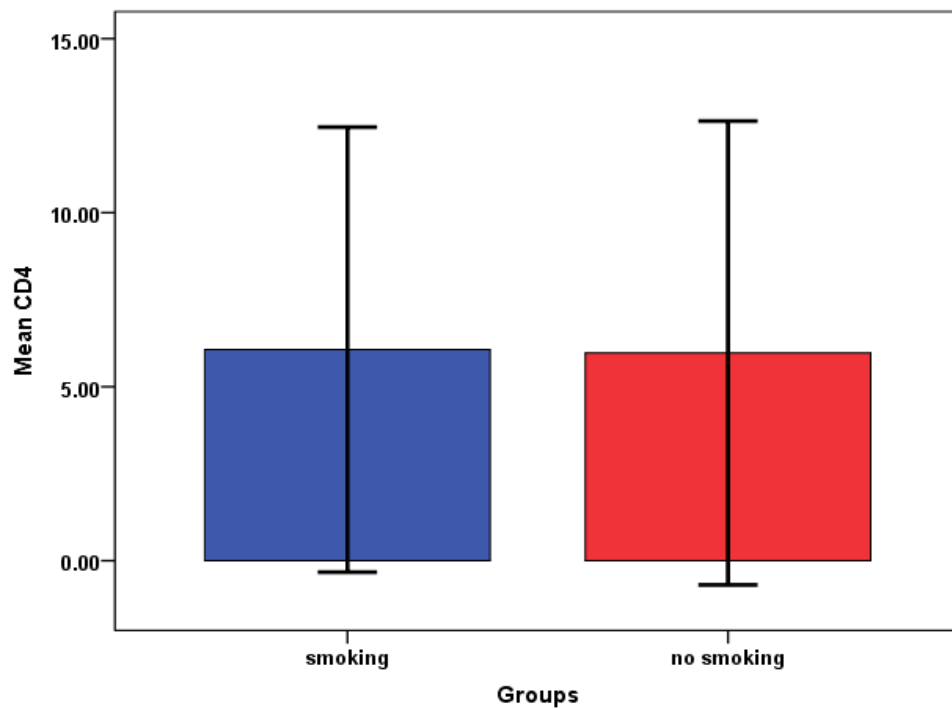
رقم العينة : ()

1	العمر:	
2	عدد السكائر المدخنة في اليوم:	
3	فترة التدخين:	
4	الامراض المزمنة :	
5	استخدام الاركيلة مع السجائر :	

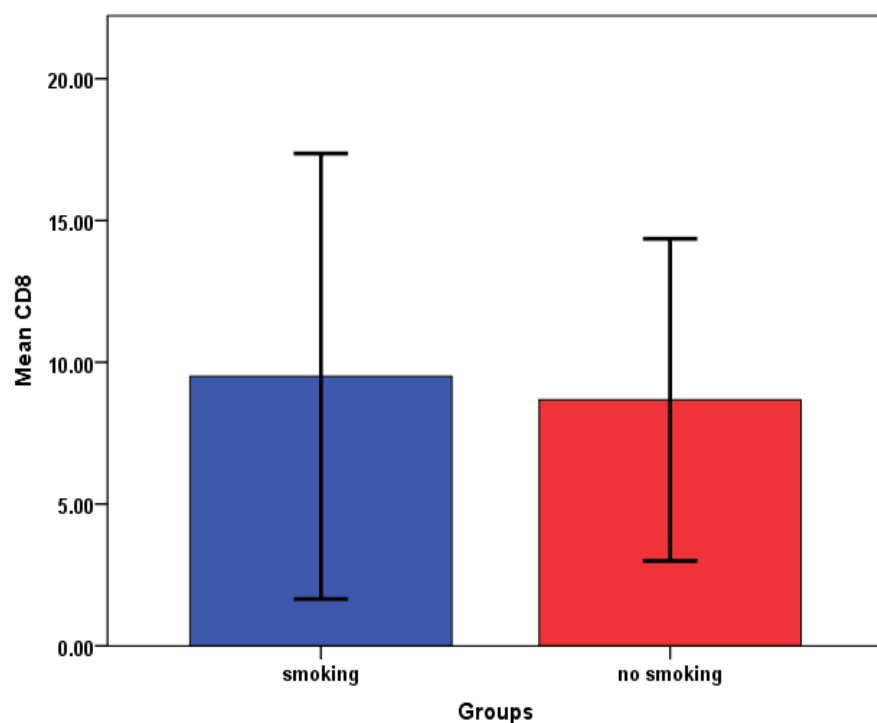
ملحق رقم (1) الاستمارة الاستبيان



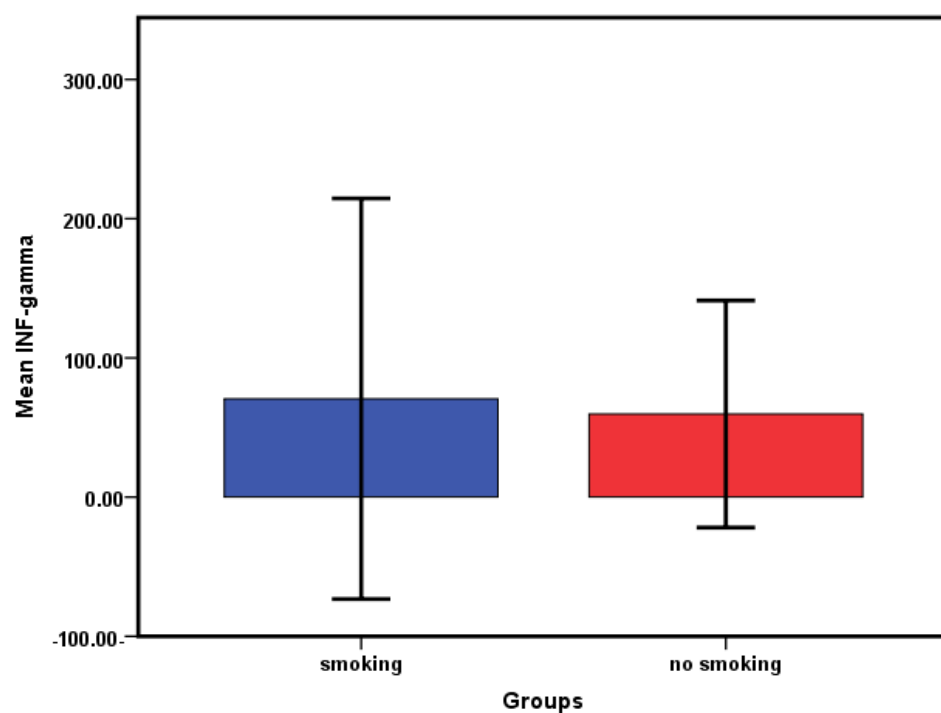
ملحق (2) شكل يوضح الوصف العام للعينات المدروسة حسب العمر



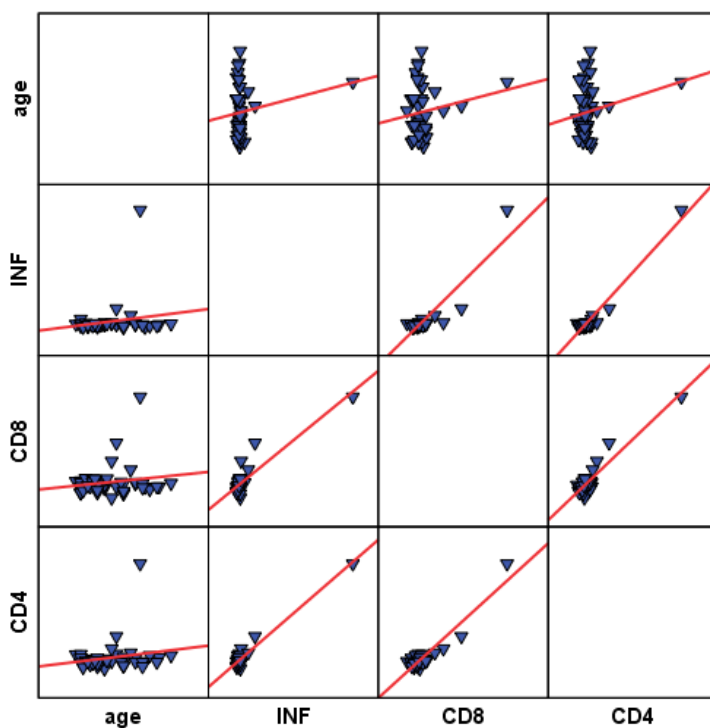
ملحق رقم (3) شكل يوضح مستوى تركيز $CD4^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة



ملحق رقم (4) شكل يوضح مستوى تركيز $CD8^+$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة

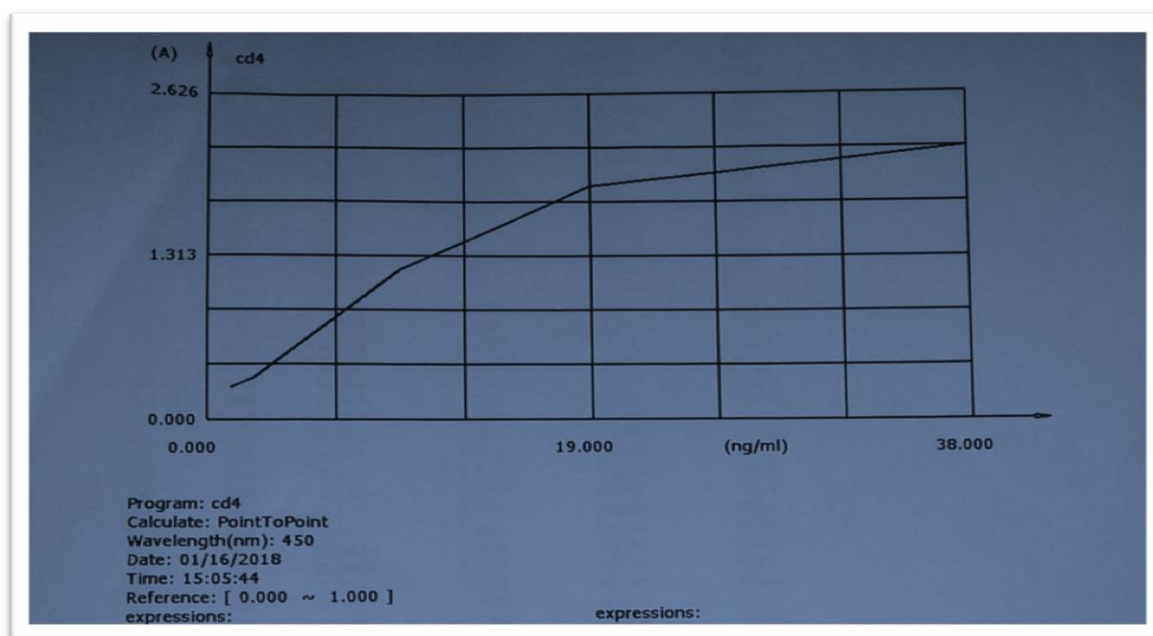


ملحق رقم (5) شكل يوضح مستوى تركيز $IFN-\gamma$ بالنسبة لمجموعتي الدراسة



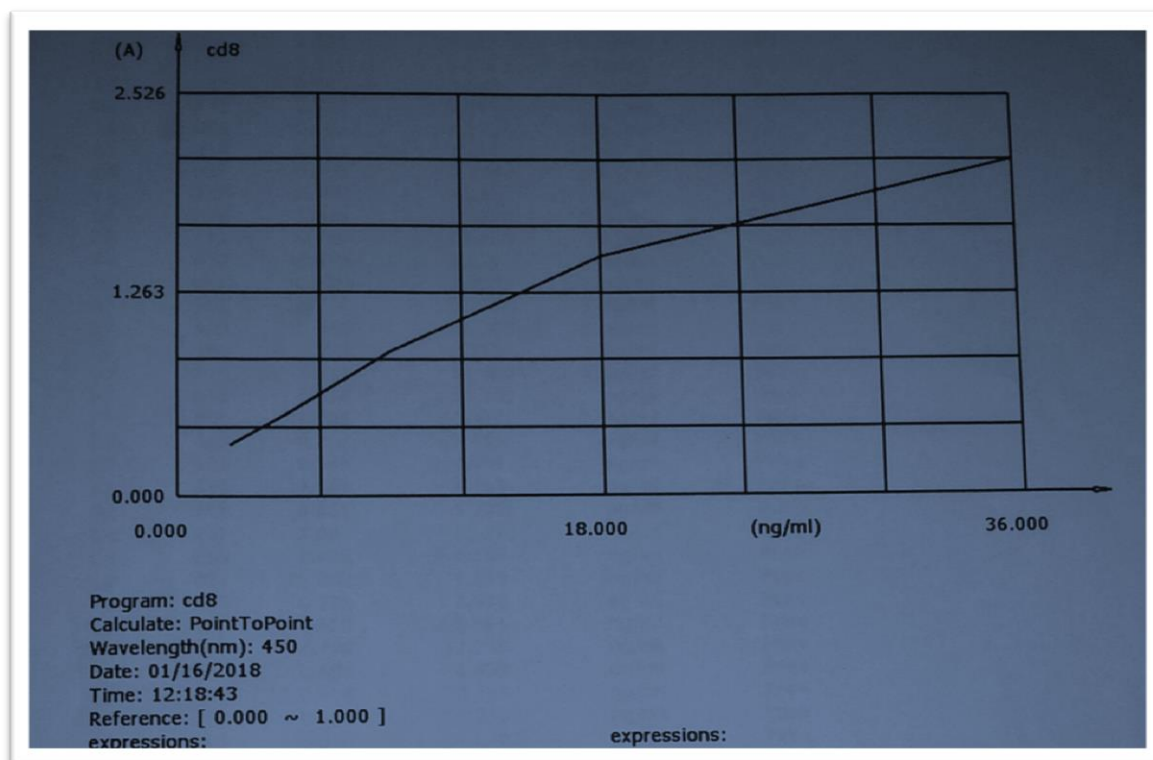
ملحق رقم (6) شكل يوضح العلاقة الترابطية بين المؤشرات المناعية التي تم قياسها في هذه

الدراسة

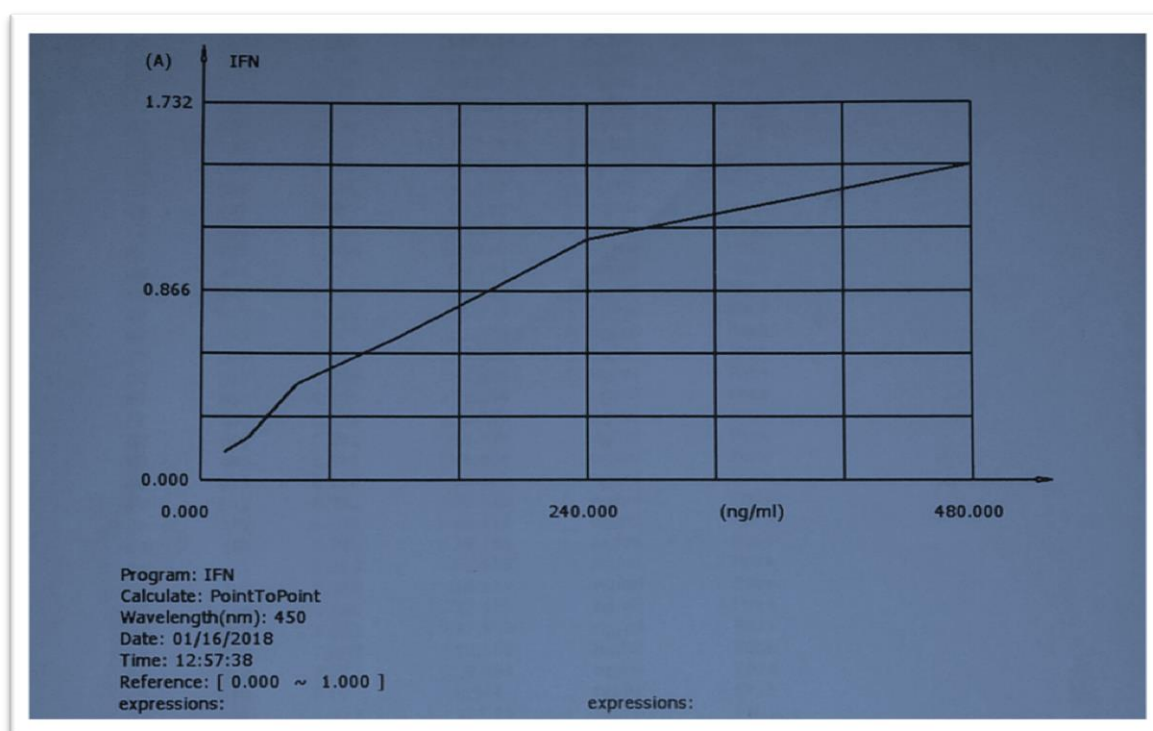


ملحق رقم (7) شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية المساعدة الذاتية

التي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية المساعدة ($CD4^+$)



ملحق رقم (8) شكل يوضح المنحنى القياسي لمستوى جزيئات الخلايا التائية السمية الذاتية التي من خلالها تم الاستدلال على مستوى الخلايا التائية السمية ($CD8^+$)



ملحق رقم (9) شكل يوضح المنحنى القياسي لانترفيرون كاما ($IFN-\gamma$)

Abstract

The current study, which is performed between September 1st 2017 and May 1st 2018, involved smokers group (45 persons with an average age 10.39 ± 29.6 years) and non-smokers group, as a control (44 persons with an average age 9.09 ± 26.56). There was no significant difference between the study's groups. Our data showed that a high percentage was reported in two of the smokers' age-groups (20-29, 30-39 years) with the percentages (37.8, 22.2%) respectively, while a low percentages (17.8, 17.8, 4.4%) were noticed in the age groups (10-19, 40-49, ≤ 50 years), respectively. According to non-smoker groups, a high percentage, (43.2%), was reported in age-group (20-29 years), while a low percentages (20.5, 20.5, 15.9, 0.0%) were noticed in the age groups (10-19, 30-39, 40-49, ≤ 50 years) respectively. There was no significant differences between these two groups in this study.

The age-group, (10-19) who smokes (1-20 cigarettes) showed a high percentages (87.5%) when the age groups were compared to the number of daily smoked cigarettes. In addition, a high percentage (62.5%) was reported in age group (10-19) when the smoking periods ranged between (1-5 years). No significant difference was noticed in these two cases.

The median concentration of CD4⁺ in the smokers group (0.95314 ± 6.0646 pg/ml) was higher than what identified in non-smoker's group (1.00462 ± 5.9698 pg/ml). Furthermore, the concentration of CD8⁺ in smokers (1.17 ± 9.5 pg/ml) was also higher compared to the non-smokers group (8.67 ± 0.85 pg/ml). Moreover, the IFN- γ was identified in a higher level in smokers (21.45 ± 70.64 pg/ml) compared to non-smokers (12.29 ± 59.64 pg/ml). There was no statistical significant difference detected between all of these cases.

A comparison was made between the level of CD4⁺ and the number of the smoked cigarettes at a day. We found that high level of CD4⁺ (8.03 ± 7.19) was identified in group who smoked (1-20 cigarettes) while a low levels of CD4⁺ were reported (1.49 ± 4.27 , 0.70 ± 4.82) in groups who smoked (21-40, ≤ 40 cigarettes), respectively. In addition, a comparison was made between the level of CD8⁺ and the number of the smoked cigarettes at a day. We found that high level of CD8⁺ (9.86 ± 10.5) was identified in group who smoked (1-20 cigarettes) while a low levels of CD8⁺ were reported (2.24 ± 48.19 , 4.68 ± 7.02) in groups who smoked (21-40, ≤ 40 cigarettes), respectively. Similarly, a comparison was made between the level of IFN- γ and the number of the smoked cigarettes at a day. We found that high level of IFN- γ (184 ± 88.63) was identified in group who smoked (1-20 cigarettes) while a low levels of IFN- γ were reported (11.1 ± 42.5 , 4.35 ± 49.41) in groups who smoked (21-40, ≤ 40 cigarettes), respectively. There was no statistical significant difference between all of these cases.

In this study, we also compared the level of CD4⁺ with the period of smoking. We found that high level of CD4⁺ (9.12 ± 13.28) was identified in group who smoked for (6-10 years) while a low levels of CD4⁺ reported (4.42 ± 0) in groups who smoked for (21-25 year). Also, we found that high level of CD8⁺ (15.36 ± 13.55) was identified in group who smoked for (6-10 years) while a low levels of CD8⁺ were reported (6.96 ± 0) in the groups who smoked for (21-25 year). Similarly, a comparison was made between the level of IFN- γ and the period of smoking cigarettes. We found that high level of IFN- γ (302.40 ± 148.55) was identified in group who smoked for (6-10 years) while a low levels of IFN- γ were reported (24.24 ± 0) in groups who smoked for (21-25 year). There was no statistical significant difference detected among all of these cases.

In our current data, we identified a high correlation efficient between IFN- γ and the studied immunological markers; CD4⁺ and CD8⁺. These

correlations were (0.934) between CD4⁺ and IFN- γ , and (0.895) between CD8⁺ and IFN- γ in addition to (0.901) between CD4⁺ and CD8⁺.

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



**Study of some immunological parameters of smokers and
non-smokers in Diyala governorate**

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

By

Sarah Raad Ismail Al-Jubouri

B.Sc. Biology, 2013-2014

Supervised by

Dr.Mohammed Abdul-Daim Saleh

Professor

2018 A.D

Dr. Abbas Abood Farhan

Professor

1439 A.H