جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

الدور المناعي والوراثي للبين الابيضاضي السابع عشر (IL-17A) في عينة من مرضى السكري في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

جـــنان عزيـــز هـادي

بكالوريوس علوم حياة / جامعة ديالى (2016)

بإشراف

أ. د محمد عبد الدايم صالح

1441هـ 2019 م

1-1: المقدمة

داء السكري (Diabetes mellitus) هــو اضطراب أيـضي مزمـن يتميز بالنقص أو الفشل فــي الحفاظ على المستوى الطبيعي لأستتباب الكلـوكـوز (زيادة نسبة سكر الكلوكوز في الدم) (Yudhani, 2015). الـذي يحدث إما عـندما لا ينتج البنكرياس كمية كافية من الأنسولين (الهرمون الذي ينظم نسبة السكر في الدم) أو عندما لا يستطيع الجسم أستخدام الأنسولين الذي ينتــجه بشكل فعال بسبب مقاومة الأنسولين بواسطة الأنسجة (Joseph *et al*., 2010). هناك نوعان رئيسان من داء السكري هما النمط الأول أو داء السكري المعتمد على الأنسولين (IDDM)، النمط الثاني أو داء السكري غير المعتمد على الأنسولين (NIDDM) كما يعد سكـري الحمل هـو النمط الثالث Gestational diabetes الذي يتطور فقط أثناء الحمل وقد يختفي، أو لا يــختفي بعـد الولادة (ADA, 2016).

للحركيات الخلوية Cytokines دوراً فعالا في تسبب أو تفاقم داء السكري، عن طريق آليات مباشرة أو غـير مباشرة تـؤدي إلـى تحطم خـلايا بيـتا البنكرياسية المنتجة للأنـسولين (Daneshamandi *et al*., 2008). وترتبط مستويات بعض الحركيات الخلوية مع خطر الإصابة بداء السكري، ومنها البين الإبيضاضي السابع عشر Interleukin-17 (IL-17A) الـذي تنـتجـه خلايا Th17 والذي يـعد جسراً بين تكيف ونشـوء الأستجابة المناعية وذات دورا مهم في الجهاز المناعي التكيفي والذاتي (immune innate and adaptive)، وايضا له دور مـهـم فــي تطويــر أمراض الالتهابية وأمراض الـمناعة الذاتيــة وشخصت (6) أفراد مـن عائـلة (IL-17) وهــي(IL-17A-F) (Betelli *et al*., 2006)، وأثبتت بعض الدراسات أرتباط (IL-17A) مع إمراضية داء السكري النمط الأول(; Honkanen *et al*., 2010

Linhartova *et al*., 2015)، وأيضا ثبت ارتباطه مع إمراضية النمط الثاني لداء السكري (Zareian and Dizgah, 2014).

ثبتت الدراسات القليلة التي أجريت حول هذا الموضوع علاقة داء السكري بظاهرة التعدد الشكلي للجينGene polymorphism إذ أن جين البين الأبيضاضي السابع عشر *(IL-17A)* يقع على الكروموسوم رقم (6) في الموقع (12) (Chen *et al*., 2006)، والبروتين المشفر بواسطة هذا الجين هو الحركي الخلوي البادئ للألتهاب Proinflammatory Interleukin-17(IL-17A) (Kolls and Lindén, 2004).

توصي العديد من الدراسات على الفحص الدموي الروتيني للمرضى الذين يعانون من داء السكري لمنع المضاعفات (Uko *et al*., 2013)، وذلك لأن ضعف السيطرة على نسبة السكر في الدم يسبب تغير في مختلف المعلمات الدمية والكيميوحيوية مثل أرتفاع عدد خلايا الدم البيضاء (WBC)، انخفاض تركيز هيموغلوبين الدم الذي يعرف بفقر الدم وهو حالة شائعة في مرضى السكري مما يقلل بالتالي قدرة تحمل خلايا الدم الحمراء للأوكسجين وذلك يقود إلى نقص في تلبية احتياجات الجسم الفيسولوجية (Kumar *et al*., 2017). أعتلال الكلية السكري هو أحد مضاعفات داء السكري الشائعة الذي يتميز بزيادة إفراز الألبومين في البول ويسبب الفشل الكلوي، سواء كان في مرضى السكري النمط الأول أو النمط الثاني (Fioretto and Mauer, 2007). ونظرا لما تقدم أعلاه فأن الدراسة الحالية هدفت إلى مايلي:

أهداف البحث (Aims of study):

لقلة الدراسة المناعية حول البين الابيضاضي السابع عشر وعدم وجود دراسة وراثية لجين هذا الحركي الخلوي (في العراق) وندرتها عالمياً لذلك تهدف الدراسة الحالية لمعرفة الأهمية

المناعية والوراثية لجين البين الابيضاضي السابع عشر ودوره في إمراضية داء السكري عن طريــق:

1. قياس وتحديد مستوى البين الابيضاض السابع عشر(IL-17A) باستخدام تقنية مقياس الأمتزاز المناعي المرتبط انزيميا Enzyme Linked Immune Sorbent Assay
2. تحديد التباين الوراثي لجين البين الابيضاضي السابع عشر(*IL-17A*197- A/G) *IL-17* بواسطة تقنية (PCR- RFLR) وتحديداً في الموقع (rs2275913) ودوره في إمراضية داء السكري.
3. دراسة بعض المؤشرات الدمية والكيموحيوية لمرضى السكري ومدى تأثير داء السكري عليها، وتأثير البين الابيضاضي السابع عشر(IL-17A) على هذه المؤشرات.

الخلاصة

تعد هذه الدراسة هي الأولى من نوعها في العراق لدراسة التنوع الوراثي لجين الحركي الخلوي السابع عشر(*IL-17A*) على مرضى السكري، وقد هدفت لتحري عن الدور المناعي والوراثي لجين البين الإبيضاضي السابع عشر (IL-17A) ودوره في أمراضية داء السكري، قدرَ مستوى (IL-17A)في المصل بأستحدام تقنية الامتصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) كما تم تحديد التنوع الوراثي لجين الحركي الخلوي بواسطة تقنية (PCR-RFLR). كما هدفت الدراسة الى تحديد المؤشرات الدمية والتي تضمنت (الهيموغلوبين، مكداس الدم، تعداد خلايا الدم البيض، خلايا الدم الحمر، والصفيحات الدمية) وكذلك المؤشرات الكيموحيوية (سكر الدم الصائم، السكر التراكمي، اليوريا والكرياتينين). أذ أجريت هذه الدراسة في محافظة ديالى لمرضى داء السكري لنمطين كليهما (النمط الأول والنمط الثاني) والتي استمرت للمدة من بداية شهر تشرين الأول 2017 إلى 17 حزيران 2018

جمع (90) عينة دم شملت (30) عينة لمرضى السكري من النمط الأول وتضم (11) من الذكور و(19) من الإناث و (30) عينة للمصابين بداء السكري من النمط الثاني وتضم (13) من الذكور و(17) من الإناث بعد التشخيص من قبل الطبيب الاختصاصي في العيادة الإستشارية في مستشفى البتول للولادة والأطفال وكذلك في محافظة ديالى في العيادة الإستشارية في مستشفى بعقوبة التعليمي وعلى التوالي، وبحسب المعايير المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية لتشخيص مرض السكري وكما تم جمع (30) عينة من الأشخاص الأصحاء ظاهرياً كمجموعة سيطرة وتضم (14) من الذكور و(16) من الإناث.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة الإصابة لدى الإناث بداء السكري اكثر من نسبة الإصابة لدى الذكور ولكلا النمطين مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية بين الجنسين أذ كانت

P>0.05 . إما من ناحية العمر فـقد أظهرت نتائج هذه الدراسة أختلاف نسبة الأصابة بداء السكري بأختلاف الفئات العمرية حيث سجلت أعلى نسبة أصابة بالسكري النمط الأول في الفئة العمرية (10-19سنة) بنسبة (73.34%) إما داء السكري النمط الثاني فأن أعلى نسبة أصابة كانت في الفئة العمرية (40-49) سنة وأيضا بنسبة (46.66%) مع وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية عالية (P≤0.01)

إظهرت النتائج ارتفاعاً ملحوظاً فـي مستـوى تركـيز (IL-17A) في مصل دم المصابين بداء السكري للنوعين كليهما بالمقارنة مع العينة القياسية مـع وجود فرق معنوي عالي (P≤0.01) إذ بلغ تركيزه فـي مصل دم المصابين بـ (T1DM) (15.77±139.00) بيكوغرام/مليلتر، بينما كان تركيزه في مصل دم المصابين بـ (T2DM) (7.56±101.18) بيكوغرام/مليلتر وكان تركيزه في مجموعة السيطرة (1.87±64.16) بيكوغرام/مليلتر.

كما أظهر تركيز (IL-17A) مستوى أعلى في المدخنين مقارنة مع غير المدخنين مع وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية (P≤0.05)، إما بالنسبة للمؤشرات الدمية فلوحظ أنخفاض مستويات المؤشرات الدمية (الهيموغلوبين وكريات الدم الحمر ومكداس الدم) مع وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية (P≤0.05) وارتفاع مستوى (كريات الدم البيض والصفيحات الدمية)، إما بالنسبة للمؤشرات الكيموحيوية فقد إظهرت الدراسات الحالية ارتفاع مستويات (سكر الصيام والسكر التراكمي واليوريا والكرياتينين) في مرضى السكري بنمطيه الأول والثاني مقارنة بمجموعة السيطرة وبفرق معنوي عالي (P≤0.01)، كما أظهرت هذه الدراسة وجود ارتباط إحصائي ذي دلالة معنوية بين (IL-17A) والمؤشرات الدمية والكيميوحيوية.

تم التحري عن التنوع الوراثي لجين البين الابيضاضي السابع عشر(*IL-17A*197-A/G) عند الموقع (rs2275913) للمرضى ومجموعة السيطرة باستخدام تقنية PCR-RFLP. إظهرت النتائج

ثلاثة أنماط وراثية وهي (GG, AA and AG) في مرضى السكري ومجموعة السيطرة، اظهر النمط الوراثي (AG) زيادة في التكرار في المرضى النمط الأول والثاني وعلى التوالي (40.00%) و (66.66%) مقارنة مع مجموعة السيطرة (20%) في حين أظهر انخفاض تكرار النمط الوراثي (GG) في المرضى النمط الأول والثاني على التوالي (46.66%) و(33.33%) وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة (80%)، بينما النمط الوراثي الثالث وهو (AA) فقد أظهر في مرضى السكري النمط الأول فقط وبنسبة (13.33%) ولم يظهر في مجموعتي مرضى السكري النمط الثاني ومجموعة السيطرة، وبوجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في توزيع الأنماط الوراثية بين مجاميع الدراسة إذ كانت 0P≤0.05 تشير هذه النتائج إلى التأثير المحتمل للخطر لكل من النمطان الوراثيان (AA وAG) في تطور داء السكري. كما إظهرت هذه الدراسة علاقة طردية بين النمطان الوراثيان (AG,GG) ومستوى (IL-17A) على العكس من النمط الوراثي (GG).