ARTICLE

JOURNAL OF UNIVERSITY OF BABYLON
For Pure and Applied Sciences (JUBPAS)

Vol.30; No.4.| 2022

Evaluation of the Regression Coefficient between the Activity of *FoxP3* Gene on Regulatory T Cells and Glucose Level in Patients with type 1 Diabetes Mellitus In the City of Mosul.

Saad Imrrer Ali [1*], and Rojan G.M. AL-Allaff [2]

1College of Science, University of Mosul, saadimrrer@gmail.com Mosul, Iraq.

2 College of Science, University of Mosul, rojsbio57@uomosul.edu.iq Mosul, Iraq.

***Corresponding author email:** saadimrrer@gmail.com mobile: +9647740866030

تقييم معامل الانحدار بين فعالية الجين *FoxP3* في الخلايا المنظمة التائية ومستوى الكلوكوز لدى مرضى داء السكر النمط الاول في مدينة الموصل

سعد امرير علي*[1]، روجان غانم محمد العلاف[2]،

1 كلية العلوم، جامعة الموصل، saadimrrer@gmail.com ، الموصل، العراق

2 كلية العلوم، جامعة الموصل، rojsbio57@uomosul.edu.iq ، الموصل، العراق

Received:	19/11/2022	Accepted:	27/12/2022	Published:	31/12/2022

ABSTRACT

Still, external insulin therapy with its various types causes a variety of immune reactions through its variable control of the glucose level in patients with type 1 diabetes. However, major immune problems are uncommon, and less serious diabetic events have long-term effects on immune responses. The current study aimed to follow up the effect of glucose levels on the level of gene expression of the *FoxP3* gene, one of the most important genes responsible for the activity of Regulatory T cells in patients with type 1 diabetes. (26) blood samples were collected from individuals diagnosed with type 1 diabetes for a period of more than (5) years, their ages ranged from (15-35) years, and from both sexes, from Al-Wafa Center for the treatment of diabetics and endocrine glands in the city of Mosul. The patients were divided into four groups, depending on the type of insulin injection , These groups included (Actrapid patients group, Insulatard patients group, Insulatard / Actrapid patients patients group, and finally Mixtard patients group). The control group also included (7) blood samples of healthy people as donors, ages ranging from (15-30) years, (males and females), without communicable diseases, bacterial infections, or autoimmune diseases. . The results showed an effect of glucose concentration on the expression level of the *FoxP3* gene by (26%) in the group of patients who used insulin mixtard type, while the results of the effect analysis of glucose on the level of gene expression of the *FoxP3* gene showed a rate of (76%) in the group of patients who used insulin type Insulatard, On the contrary, there was no effect of glucose concentration on the level of *FoxP3* gene expression in patients using Actrapid and Insulatard / Actrapid insulin at ($P \leq 0.05$).

Key words:

Exogenous insulin, FoxP3, Type 1 diabetes, Glucose concentration.

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652

info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

الخلاصة

لا يزال العلاج بالأنسولين الخارجي بانواعه المتعددة يسبب مجموعة متنوعة من ردود الفعل المناعية من خلال سيطرته المتباينة على مستوى السكر لدى مرضى داء السكر النمط الاول. ومع ذلك، فإن المشاكل المناعية الرئيسية غير شائعة، والأحداث المرافقة لداء السكر الأقل خطورة لها تأثيرات طويلة الأمد على الاستجابات المناعية. هدفت الدراسة الحالية الى متابعة تأثير مستويات الكلوكوز على مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* احد اهم الجينات المسؤولة عن فعالية الخلايا المنظمة Regulatory T cells لدى مرضى داء السكر النمط الاول. تم جمع (26) نموذجاً من الدم لافراد مشخصين باصابتهم بداء السكر النمط الاول لمدة تزيد عن (5) سنوات، تراوحت اعمارهم من (15– 35) سنة، ومن كلا الجنسين من مركز الوفاء لمعالجة مرضى السكر والغدد الصم في مدينة الموصل ، تم تقسيم المرضى الى اربع مجاميع اعتماداً على نوع حقن الانسولين المستخدمة للسيطرة على مستوى الكلوكوز في مصولهم تضمنت هذه المجاميع (مجموعة مرضى الصافي Actrapid، مجموعة مرضى الخابط Insulatard، مجموعة مرضى الصافي والخابط Insulatard /Actrapid ، واخيرا مجموعة مرضى المزيج Mixtard)، كما تضمنت مجموعة السيطرة (7) عينات دم لاشخاص اصحاء كمتبرعين باعمار تراوحت من (15–30) سنة،(ذكور واناث)، غير مصابين بامراض انتقالية اوعدوى جرثومية اوامراض المناعة الذاتية. اظهرت النتائج اثر تركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* بنسبة (26%) لدى مجموعة المرضى الذين يستخدمون الانسولين نوع المزيج، في حين اظهرت نتائج تحليل الاثر للكلوكوز على مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* نسبة (76%) لدى مجموعة المرضى الذين يستخدمون الانسولين نوع الخابط ، على العكس من ذلك لم تظهر علاقة اثر لتركيز الكلوكوز على مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المستخدمين للانسولين الصافي و الصافي والخابط عند ($P\leq0.05$).

الكلمات المفتاحية:

الانسولين الخارجي، *FoxP3*، داء السكر النمط الاول، تركيز الكلوكوز.

المقدمة

تتصف متلازمة داء السكر النمط الاول باضطراب أو ارتفاع غير طبيعي في تركيز السكر في الدم ينجم عن عَوَزٍ في الأنسولين بسبب اضرار خلايا الجهاز المناعي للخلايا المنتجة للأنسولين في جزر لانكرهانز في البنكرياس .[1]. لوحظت مجموعة من الاستجابات المناعية الذاتية الخلطية والخلوية ضد الأنسولين الداخلي خلال مراحل ما قبل السريرية لظهور أعراض داء السكر النمط 1 [2] ، تبدأ المناعة الذاتية الموجهة ضد الأنسولين الخارجي بعد فترة من الاصابة بداء السكر النمط [3]. تعتبر الأجسام المضادة للأنسولين Insulin Autoantibodies (IAAs) واحدة من أهم الواسمات المناعية للتنبؤ بتطور داء السكر من النوع الأول. يحتاج مرضى داء السكر النمط 1 إلى جرعات صغيرة من الأنسولين الخارجي خلال المراحل المبكرة من تشخيص الداء، حيث لوحظ أن هذه الجرع تقلل من شدة الاستجابة المناعية للأنسولين الداخلي لدى اولئك المرضى [4].

تنشأ الخلايا التائية المنظمة Regulatory T cells (Treg) اما بشكل طبيعي في الغدة الثايموسية فتسمى الخلايا التائية المنظمة الطبيعية أو يتم انتاجها في المحيط فتسمى الخلايا التائية المنظمة التكيفية [5]. يتم التشفير لكل من $CD4^+CD25^+$ والمنظم النسخي Forkhead box P3 (FoxP3) في الخلايا التائية المنظمة، والذي يعد سمة مميزة للخلايا التائية عالية التنظيم $CD4^+CD25^+$ يعمل عامل النسخ كمنظم بارز في تكوين الخلايا التائية والحفاظ على وظيفتها في السيطرة على عدم

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية

تطور امراض المناعة الذاتية، حيث يلعب بروتين FOXP3 دوراً مهماً في الحفاظ على توازن الجهاز المناعي، ويوفر الاستقرارية الكاملة لعمل الخلايا المنظمة Treg، اضافة الى دوره في تنظيم عمل الخلايا التائية المساعدةHelper T cells والسامةCytotoxic T cells ، يمكن أن يعمل بروتين FOXP3 كعامل مثبط اومنشط لعملية الاستنساخ، كما يعتمد نوع نشاطه على تفاعله مع عوامل الاستنساخ الأخرى الموجودة في الخلية [6]. تشير الدراسات الى ان التغيير في مستوى التعبير الجيني للجين *Foxp3* يؤثر بصورة مباشرة على فعالية الخلايا المنظمة وخصوصاً لدى مرضى داء السكر النمط الاول. يوفر استخدام الأنسولين الخارجي كعلاج لمرضى داء السكر من النوع الأول نموذجًا مهمًا لدراسة التغيرات المناعية التي تحدث في الجسم خلال فترة طويلة من استخدامه. اعتمدت العديد من الدراسات التي تتناول البحث في داء السكر على متابعة تأثيرات هذا الداء على صحة الفرد بشكل عام لما لهذا الموضوع من اهمية بالغة وخصوصاً ان داء السكر بدأ بالازياد بشكل يكاد يكون شبه وبائي في جميع انحاء العالم، ولكن لحد الان لم تلاحظ اي دراسة على مستوى العراق وحتى على مستوى العالم تتابع مدى سيطرة الانواع المختلفة للانسولين على مستوى السكر في الدم والتي تنعكس على فعالية خلايا الجسم على نحو عام وفعالية الخلايا المناعية على نحو خاص، ومن الجدير بالذكر ومن خلال المتابعات الميدانية لمرضى داء السكر في (مركز الوفاء لمعالجة مرضى السكر/ نينوى) لوحظ ان اغلب مرضى داء السكر النمط الاول المعتمدين على الانسولين من مصادره الخارجية يعانون من الحاجة الدائمة الى زيادة جرع الانسولين من اجل السيطرة على مستوى السكر في الدم. لذلك هدفت الدراسة الحالية الى متابعة مدى تأثر مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* بالتغييرات في تركيز السكر في الدم اعتماداً على نوع الانسولين المستخدم في العلاج لدى مرضى داء السكرالنمط الاول.

المواد وطرائق العمل:

العينات :

تم جمع (26) نموذجاً من الدم لافراد مشخصين باصابتهم بداء السكر النمط الاول لمدة تزيد عن (5) سنوات، تراوحت اعمارهم من (15– 35) سنة، ومن كلا الجنسين من مركز الوفاء لمعالجة مرضى السكر والغدد الصم في مدينة الموصل ، تم تقسيم المرضى الى اربع مجاميع اعتماداً على نوع حقن الانسولين المستخدمة للسيطرة على مستوى الكلوكوز في مصولهم تضمنت هذه المجاميع (مجموعة مرضى الصافي Actrapid، مجموعة مرضى الخابط Insulatard، مجموعة مرضى الصافي والخابط Actrapid/Insulatard "يحضر بمزج نسبة من الصافي نسبة اخرى من الخابط "، واخيرا مجموعة مرضى المزيج Mixtard)، كما تضمنت مجموعة السيطرة (7) عينات دم لاشخاص اصحاء كمتبرعين باعمار تراوحت من (15–30) سنة،(ذكور واناث)، غير مصابين بامراض انتقالية اوعدوى جرثومية اوامراض المناعة الذاتية، تم اجراء قسم من الفحوصات في مختبرات كلية العلوم/ قسم علوم الحياة (جامعة الموصل) ام القسم الاخر من الفحوصات فقد تم اجرائها في مختبرات اهلية خاصة.

1– قياس تركيز السكر بعد الصيام Measuring glucose concentration after fasting تم اجراء فحص قياس تركيز الكلوكوز في المصل لجميع عينات الدراسة اضافة الى عينة السيطرة ، حيث أجري الفحص وفق الطريقة اللونية الأنزيمية Enzymatic Colorimetric باستخدام عدة الفحص المجهزة من قبل الشركة البريطانية Randox. اعتمد الفحص

على اكسدة الكلوكوز بوساطة أنزيم glucose-oxidase وإنتاج الكلوكونيت Gluconate وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، حيث أن تفاعل بيروكسيد الهيدروجين مع الفينول و4-amino-antipyrine يؤدي الى تكوين لون تتناسب شدته مع تركيز السكر في الدم كما في المعادلة :

$$Glucose+O_2+H_2O-H_2O_2+Gluconate$$

$$2H_2O_2+ Phenol+4-amino-antipyrine-H_2O+ Qsuinonimine .$$

بعد عملية التحضين عند (37) درجة مئوية لمدة (15) دقيقة تم قراءة الكثافة الضوئية Optical density بوساطة جهاز المطياف الضوئي apple الصيني المنشأ عند الطول الموجي (505) نانوميتر [7].

3- استخلاص الحامض النووي الريبي و تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي qPCR

تحضير البوادئPrimers :

تم استخدام عينات الدم المحيطي لتقييم مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3*). حيث تم استخلاص والحمض النووي الريبي باستخدام عدة الاستخلاص AddBio DNA / RNA. وتم تصميم بادئات *FoxP3* باستخدام البرنامج الخاص المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية NCBI.البادئ الأمامي للجين Foxp3 Homosipens (ACAGTAAAGGTCGGCACCTG)والبادئ العكسي (TCTCATACCGCCCTAGCACA). واستخدم جين *GAPDH* كجين housekeeping gene بتسلسل بادئ امامي (CGGGTCTTTGCAGTCGTATG) وبادئ عكسي (CTGTTTCTGGGGACTA GGG G).

تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي :

تم تحضير تفاعل تضخيم RT-PCR وباستخدام cDNA لتحضيرالنسخة المكملة لشريط RNA المستخلص، كما تم تعديل تركيز الحامض النووي إلى (100 ng/ml) بحجم نهائي (2.5µl) في ماء خالٍ منDNase و RNase. تم اضافة المزيج الرئيسي Go-Taq qPCR بحجم (12.5µl) المجهز من قبل شركة (Promega A6000) الامريكية، واضيف (2.5µl) من البادئات Primer الأمامية والعكسية،، وتم اضافة المياه الخالية من DNase و RNase حتى الوصول الى الحجم النهائي (22.5µl). وتم إغلاق اللوحة باستخدام غطاء لاصق بصري من شركةThermo Fisher Scientific، المملكة المتحدة، ونقلت الصفيحة إلى جهاز PCRmax Eco 48 Real-Time qPCR ، وتم برمجة الجهاز حسب الدورات الحرارية الى اربع مراحل كما ان والوقت التقديري لهذه المراحل كان لمدة 1 ساعة و 44 دقيقة، وكما موضح في الجدول (1).

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
www.journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | info@journalofbabylon.com

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

الجدول(1) مراحل الدورات الحرارية باستخدام جهاز PCRmax Eco 48 Real-Time qPCR

المراحل	درجة الحرارة	الدورات	الوقت
Pre Denaturation	95°C	دورة واحدة	دقيقة واحدة
Denaturation	95°C	50 دورة	عشر ثواني
Annealing	60°C	50 دورة	دقيقة واحدة
Detection	72°C	50 دورة	دقيقة واحدة

الحسابات:

ΔCT=Target gene CT – housekeeping gene CT(GAPDH)

ولان لدينا اكثر من مجموعة من المرضى يعالجون بانواع مختلفة من حقن الانسولين، اضافة لمجموعة السيطرة هنا نطرح قيم ΔCT لمجموعة السيطرة من ΔCT لعينات المجاميع الاخرى لينتج لنا قيمة ΔΔCT وحسب العلاقة.

ΔΔCT= ΔCT of the treated group – mean ΔCT of the control group

التحليل الاحصائي:

تم اجراء التحليل الاحصائي في المكتب الاستشاري التابع لقسم الاحصاء والمعلوماتية – جامعة الموصل، وباستخدام برنامج SPSS.24. تضمنت اهم الاختبارات الاحصائية اختبار تحليل التباين (ANVOA)، اختبار F، بالاضافة الى تحليل معامل الانحدار، تم اجراء جميع الاختبارات عند مستوى معنوية ($P\leq0.05$).

النتائج والمناقشة

1 . مجموعة مرضى داء السكر المعالجين بالانسولين (نوع المزيج)

يظهر الجدول (2) علاقة اثر تركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين نوع (المزيج)، وتضمنت هذه العلاقة مايلي:

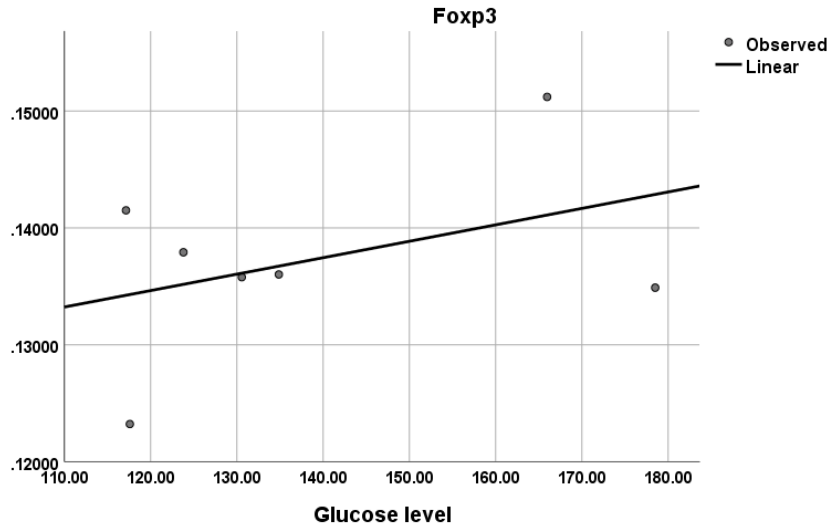
- تشير نتيجة تحليل التباين (ANOVA) أن نموذج اثر تركيز الكلوكوز في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) معنوي وذلك بدلالة القيمة الاحتمالية (p –value.) والتي ظهرت مساوية الى (0.007) وهي أقل من (0.05).
- هناك اثر طردي ومعنوي لـ (تركيز الكلوكوز) في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) وذلك بدلالة قيمة معامل الانحدار والتي ظهرت قيمته مساوية الى (0.000141) وهذا الاثر معنوي بدلالة القيمة الاحتمالية (p –value.) والتي ظهرت مساوية الى (0.003) وهي اقل من (0.05).
- من خلال ملاحظة قيمة معامل التحديد (R-Square) يتبين أن (26%) من التغيرات الحاصلة في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) سببها التغيير في تركيز الكلوكوز، وان (74%) من التغيرات الحاصلة في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) يعزى إلى متغيرات عشوائية أخرى لم تضمن في نموذج الانحدار، وكما موضح في الشكل (1).

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية

جدول(2)علاقة اثر تركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين نوع (المزيج)

تحليل الانحدار Regression analysis						
المتغير المعتمد / *FoxP3*						
المتغير المستقل	المعاملات Coefficients	الخطأ المعياري للمعاملات	تحليل التباين ANOVA	معامل التحديد R-squared	قيمة (t_{Cal}) المحسوبة	المعنوية P-value
	B	S_e(B)	F_{Cal} (P-value)			
(Constant)	0.118	0.020	3.335	**0.26**	5.928	.000
Glucose	**.000141**	.000040	**(0.007)**		2.750	**.003**



شكل (1) علاقة تحليل الاثر لتركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين المزيج

2 . مجموعة مرضى داء السكر المعالجين بالانسولين (نوع الخابط)

يظهر الجدول (3) علاقة اثر تركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين نوع (المزيج)، وتضمنت هذه العلاقة مايلي:

- تشير نتيجة تحليل التباين (ANOVA) أن نموذج اثر تركيز الكلوكوز في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) معنوي وذلك بدلالة القيمة الاحتمالية (p –value.) والتي ظهرت مساوية الى (0.024) وهي أقل من (0.05).
- ان العلاقة بين التغير في (تركيز الكلوكوز) و (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) هي علاقة من الدرجة الثانية.

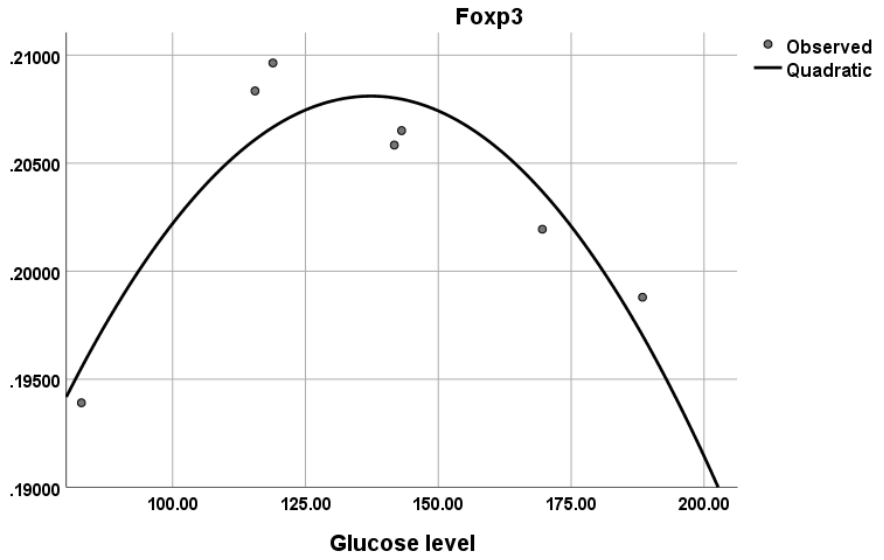
- هناك اثر طردي ومعنوي لـ (تركيز الكلوكوز) في (مستوى التعبيرالجيني للجين *FoxP3*) وذلك بدلالة قيمة معامل الانحدار والتي ظهرت قيمته مساوية الى (0.001) وهذا الاثر معنوي بدلالة القيمة الاحتمالية (p –value.) والتي ظهرت مساوية الى (0.010) وهي اقل من (0.05).
- هناك اثر عكسي ومعنوي لمربع (تركيز الكلوكوز) في (مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3*) وذلك بدلالة قيمة معامل الانحدار والتي ظهرت قيمته مساوية الى (4.240E–6–) وهذا الاثر معنوي بدلالة القيمة الاحتمالية (p –value.) والتي ظهرت مساوية الى (0.009) وهي اقل من (0.05).
- من خلال ملاحظة قيمة معامل التحديد (R–Square) يتبين أن (76%) من التغيرات الحاصلة في (مستوى التعبير الجيني للجين FoxP3) سببه التغير في مستوى الكلوكوز وان (24%) من التغيرات في (مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3*) يعزى إلى متغيرات عشوائية أخرى لم تضمن في نموذج الانحدار ،وكما موضح في الشكل (2).

جدول(3)علاقة اثر تركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين نوع (الخابط)

تحليل الانحدار Regression analysis						
المتغير المعتمد / *FoxP3*						
المتغير المستقل	المعاملات Coefficients	الخطأ المعياري للمعاملات	تحليل التباين ANOVA	معامل التحديد R–squared	قيمة (t_{Cal}) المحسوبة	المعنوية P–value
	B	S_e(B)	F_{Cal} (P–value)			
(Constant)	0.128	0.017	10.978 **(0.024)**	**0.76**	7.745	0.001
Glucose	**0.001**	0.000249			4.4667	**0.010**
Glucose ** 2	**–4.240E–6**	9.0551E–7			–4.683	**.009**

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com
مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية

ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com



شكل (2) علاقة تحليل الاثر لتركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى المرضى المعالجين بالانسولين الخابط

كما اظهرت النتائج عدم وجود علاقة اثر لتركيز السكر على مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* لدى مرضى داء السكر المستخدمين للانسولين نوع الصافي والخابط ، والانسولين الصافي .من خلال نتائج الدراسة الحالية ومتابعة نتائج تحليل علاقة الاثر، اظهرت الدراسة الحالية مدى تأثر مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* بمستويات السكر لدى المرضى المعالجين بالانسولين نوع المزيج بنسبة تصل الى (26%)، وعلى نحو لافت للانتباه ظهرت نفس الحالة لدى المرضى المعالجين بالانسولين الخابط بنسبة وصلت الى (76%)، قبل توصيف هذا التأثير يجب فهم مسار الكلوكوز داخل الخلايا المنظمة وهل لتركيز السكر داخل الخلية تأثير على فعاليتها، فنلاحظ من خلال الدراسات وعلى الرغم من النمط الظاهري غير المتجانس لخلايا التائية المنظمة Treg، فإن التعبير عن عامل النسخ (*FoxP3*) Forkhead Box Protein 3 يعتبر اهم مؤشرً موثوق لتحفيز هذا النوع من الخلايا [8]. يلعب *FoxP3* بالاشتراك مع مستقبلات الخلايا التائية (TCR)، ومستقبلات الانترلوكين IL−2 دورًا رئيسيًا في تعزيز تكاثر الخلايا المنظمة Treg ووظيفتها. ومع ذلك وللحفاظ على هذه العمليات تعتمد الخلايا المنظمة Treg على العديد من المحفزات، والمستقبلات، والمسارات الأيضية [9]. تختلف انواع محفزات الخلايا المنظمة فقد يكون لتدرج الأوكسجين، وتوافر الكلوكوز، الدهون دوراً كبيراً في تحفيز هذه الخلايا [10]. في السنوات الأخيرة، أظهرت العديد من الدراسات ان التغيير في العوامل الأيضية يؤثر وبشكل مباشر على وظيفة الخلايا المنظمة Treg. وهذا التأثير مهم جداً وذلك لأن الخلايا المنظمة Treg (المنتشرة أو المقيمة) تحتاج إلى البقاء على قيد الحياة والعمل في بيئات ميكروية متنوعة أثناء الأمراض الالتهابية [11].

عند التنشيط عن طريق التحفيز المشترك لمستقبلات الخلايا التائية (TCR) و CD28، تعمل سلاسل الإشارات على تعزيز امتصاص الكلوكوز (عبر ناقلات Glut1) وتحلل السكر [12]. تحدث هذه العملية في السيتوبلازم وتنتج وحدتين من الاديوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) لكل مول من الكلوكوز المحول إلى ثاني أكسيد الكربون [13]. وبموازة ذلك، تزيد خلاياالمنظمة Treg من تعبير *FoxP3*، والتكاثر الخلوي، والوظائف المثبطة للمناعة [14]. لم يتم تحديد سبب تحول الخلايا Treg إلى هذا البرنامج الأيضي الذي يولد ATP الأقل كفاءة بدلاً من الاستمرار في الفسفرة التاكسدية خاصة وأن التنشيط الخلوي يزيد من متطلبات التمثيل الغذائي من حيث تخليق البروتين.

هناك عملية أخرى يجب فهمها وهي تنظيم المنتجات النهائية لتحلل السكر (pyruvate أو lactate). يعتمد التوازن بين هذين المنتجين على نشاط انزيم lactate dehydrogenase (LDH) بالإضافة إلى مستويات nicotinamide adenine dinucleotide (الشكل المختزل NADH والشكل المؤكسد + NAD) [15]، علاوة على ذلك، في بيئة منخفضة الكلوكوز عالية lactate، يمكن لخلايا المنظمة Treg تحويل lactate إلى pyruvate أيضًا. بينما قد يؤثر lactate سلبًا على تكاثر الخلايا التائية ككل، إلا أنه لا يؤثر على كبت المناعة لخلايا المنظمة Treg [15].

اظهرت احدى الدراسات السابقة والتي اجريت على تعداد الخلايا اللمفاوية أن نسبة الخلايا التائية قد تغيرت بعد اجراء فحص تحمل الكلوكوز لدى الأشخاص غير المصابين بالسكري [16]. كما كشفت دراسة اخرى عن حدوث تغييرات في مجموعة الخلايا التائية الفرعية في كل من الأشخاص المصابين بداء السكر. كما وجدت نفس الدراسة وجود ارتفاع معنوي في المجموعة الفرعية من الخلايا التائية $CD4^+$، قابلها انخفاض معنوي في الخلايا التائية السامة $CD8^+$ [17]. يرتبط ظهور الاصابات البكتيرية اوالفايروسية المتكررة لدى مرضى داء السكر بسبب ضعف في الاستجابات المناعية [18]، لكن الآليات الجزيئية المرتبطة بوظيفة الخلايا المناعية المتغيرة لدى مرضى السكري لا تزال غير معروفة. قد تلعب الخلايا التائية المختلة دورًا محوريًا في ضعف المناعة في داء السكري [19]. ومع ذلك، فإن التأثيرات الدقيقة لفرط سكر الدم المزمن على وظيفة الخلايا المناعية لا تزال غير مؤكدة حيث تم الإبلاغ عن النتائج المتناقضة لكل من الخلايا التائية المفرطة الاستجابة [20] والمضعفة [21] في مرضى داء السكر. في حين ربطت العديد من الدراسات ارتفاع السكر في الدم بتحسين تنشيط الخلايا التائية وانتشارها [19]، تشير دراسات أخرى إلى أن التوازن غير الطبيعي للكلوكوز يعزز استجابة الخلايا التائية غير الكافية من خلال زيادة تواتر الخلايا التائية مع ضعف التكاثر [22]. وبالتالي، لم يتم تحديد ما إذا كانت الخلايا التائية المختلة وظيفية معطلة أو نشطة للغاية في داء السكر وما إذا كان ارتفاع السكر في الدم يسبب خلل في تنظيم الخلايا المناعية.

كشفت الخصائص الأيضية للخلايا وحيدة النوة لدى المرضى المصابين بداء السكر عن زيادة في تنفس الميتوكوندريا ونشاط تحلل السكر القاعدي، حيث كانت الزيادات كبيرة في معدل استهلاك الأوكسجين في الميتوكوندريا oxygen (OCR) consumption rateفي الوحيدة النواة للخنازير المصابة بداء السكر. ومن المثير للاهتمام، أن زيادة استهلاك الأكسجين ظهر أيضًا في الخلايا الوحيدة النواة والمعزولة من مرضى داء السكر [23] .

اظهرت احدى الدراسات اهتماماً بقياس الانتاج الأعلى لأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) في هذه الخلايا والضرر الذي يحدثه داء السكر الناجم عن الإجهاد التأكسدي في للميتوكوندريا. قد يؤدي ارتفاع السكر في الدم إلى زيادة الكلوكوز في الدم وبالتالي تنشيط أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) والذي بدوره يحفز"طريق التمثيل الغذائي الخاص بمرضى داء السكر" من خلال مجموعة من الانزيمات وهي(DAG) diacylglycerol و protein kinase C (PKC) وNADPH oxidase

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية
ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

[24]. ينتج عن هذا المسار التراكم لـ ROS داخل الخلايا، والذي له تأثيرات سامة على الخلية، مما قد يؤثر على قدرة الخلايا على التكاثر، ونظرًا لأن تخليق ROS ضروري للتنشيط المناعي الفسيولوجي للخلايا اللمفاوية ولكنه يؤدي إلى تلف الخلايا إذا تجاوز التركيز المطلوب [25]، على العكس من ذلك، تستخدم الخلايا المناعية تنفس المايتوكوندريا مع زيادة استهلاك الأوكسجين لتكملة تحلل السكر المتزايد، وهو المسار الأيضي الرئيسي الذي يغذي وظيفة المستجيب عند تنشيط الخلايا التائية. إلى جانب زيادة معدلات استهلاك الأوكسجين، مما يشير إلى أن ارتفاع السكر في الدم تسبب في التكيف الأيضي مع الظروف المحلية للخلايا المناعية وعزز حالة أكثر نشاطًا في الخلايا التائية [26]. تعد الزيادة السريعة في تحلل السكر عاملاً محددًا مهمًا في إنتاج الطاقة الخلوية وهي ضرورية لتكاثر الخلايا بشكل فعال، وتوسيع الحجم، والتمايز [27].يتضح مما تقدم وجود اختلاف لايض الكلوكوز داخل الخلايا اللمفاوية لدى مرضى داء السكر النمط الاول والذي بدوره ينعكس ليس فقط على مستوى التعبير الجيني وانما فعالية الخلايا الجسمية على نحو عام والخلايا المناعية على نحو خاص.قد يعلل الارتفاع في مستوى التعبير الجيني الى وجود مقاومة للانسولين نتيجة وجود اضداد الانسولين، او ارتباط وحدات السكر مع مستقبلات الانسولين مما يعيق ارتباط الانسولين الخارجي مع مستقبلاته، كما ان تعرض الخلايا الجسمية الى مستويات مرتفعة من الكلوكوز وخصوصاً الخلايا القريبة من مجرى الدم قد يحفز على ظهور طفرات على المستوى الجيني مما يؤدي الى حالة من الفوضى في ايض السكر.

الاستنتاجات:

ظهور علاقة اثر لتركيز الكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* بنسبة 26% لدى مجموعة المرضى الذين يستخدمون الانسولين نوع (المزيج)، في حين اظهرت نفس العلاقة اثراً للكلوكوز في مستوى التعبير الجيني للجين *FoxP3* بنسبة 76% لدى مجموعة المرضى الذين يستخدمون الانسولين نوع (الخابط) مما يستدعي اعادة النظر في استخدام الانسولين الخابط للسيطرة على مستوى الكلوكوز، مما يترتب عليه من تأثيرات مباشرة وغير مباشرة على الاستجابات المناعية والتي تنعكس على مقاومة مريض السكر لعوامل الاصابة.

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية
ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com

Conflict of interests.

There are non-conflicts of interest.

References

[1] L .Kahanovitz., P. M. Sluss., and S. J. Russell e2″Type 1 diabetes–a clinical perspective″. *Point of care*, *16*(1), 37, 2017 .

[2] J. T. Warshauer., J. A. Bluestone., and M. S. Anderson″ New frontiers in the treatment of type 1 diabetes . *Cell metabolism*, *31*(1), 46-61, 2020 .

[3] M. P. Morran ., A. Vonberg., A. Khadra and M. Pietropaolo (2015). Immunogenetics of type 1 diabetes mellitus″. *Molecular aspects of medicine*, *42*, 42-60, 2015 .

[4] A. D. Meglio., B. E. Molina and R. A. Oram″ Type 1 diabetes″. Lancet. *The Lancet* , *391* (10138), 2449-2462, 2018 .

[5] L. M. Ferreira., Y. D. Muller., J. A. Bluestone and Q.Tang ″Next-generation regulatory T cell therapy″. *Nature reviews Drug discovery*, *18*(10), 749-769 , 2019 .

[6] P. Georgiev., L. M. Charbonnier and T. A. Chatila ″Regulatory T cells: the many faces of Foxp3″. *Journal of clinical immunology*, *39*(7), 623-640, 2019 .

[7] G. D. Ogle., H. Kim., A. C. Middlehurst., M. Silink and A. J. Jenkins ″Financial costs for families of children with type 1 diabetes in lower-income countries″. *Diabetic Medicine*, *33*(6), 820-826, 2016 .

[8] M. Atif., A. Mohr., F. Conti., O. Scatton., G. Gorochov and M. Miyara, ″Metabolic optimisation of regulatory T cells in transplantation″. *Frontiers in Immunology*, *11*, 2005 , 2020

[9] M. Miyara., D. Chader., A. Burlion., J. Goldstein., D. Sterlin., F. Norol., ... and G. Gorochov ″ A combination of IL-2, rapamycin, DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors for the expansion of human regulatory T cells ″. *Oncotarget* , *8* (62), 104733 , 2017 .

[10] C. Ma., A. H. Kesarwala., T. Eggert., J. Medina-Echeverz ., D. E. Kleiner., P. Jin., and T. F. Greten, ″NAFLD causes selective CD4+ T lymphocyte loss and promotes hepatocarcinogenesis″ . *Nature*, *531*(7593), 253-257, 2016 .

[11] H. C. Jeffery ., L. E. Jeffery ., P. Lutz ., M. Corrigan ., G. J. Webb ., G. M. Hirschfield ... and Y. H. Oo ″ Low-dose interleukin-2 promotes STAT-5 phosphorylation, Treg survival and CTLA-4-dependent function in autoimmune liver diseases″. *Clinical & Experimental Immunology*, *188*(3), 394-411, 2017 .

[12] F. Gerriets ″Toll-like receptor signaling balance Treg cell anabolic metabolism for suppression″. *Nat Immunol* , (17) , 2016 .

[13] S. A. Mookerjee ., A. A. Gerencser ., D. G. Nicholls and M. D. Brand ″Quantifying intracellular rates of glycolytic and oxidative ATP production and consumption using extracellular flux measurements″. *Journal of Biological Chemistry*, *292*(17), 7189-7207, 2017 .

[14] D. Howie ., S. P. Cobbold ., E. Adams ., A. Ten Bokum ., A. S. Necula ., W. Zhang and H. Waldmann ″Foxp3 drives oxidative phosphorylation and protection from lipotoxicity″. *JCI insight*, *2*(3) , 2017 .

[15] A. Angelin., L. Gil-de-Gómez ., S. Dahiya ., J. Jiao ., L. Guo ., M. H. Levine and U. H. Beier ″Foxp3 reprograms T cell metabolism to function in low-glucose, high-lactate environments″. *Cell metabolism*, *25*(6), 1282-1293, 2017 .

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية
ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652 | www.journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | info@journalofbabylon.com

[16] R. von Känel ., P. J. Mills and J. E. Dimsdale, "Short-term hyperglycemia induces lymphopenia and lymphocyte subset redistribution". *Life Sciences*, *69*(3), 255-262, 2001.

[17] O. Osborn and J. M. Olefsky "The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease". *Nature medicine*, *18*(3), 363-374, 2012 .

[18] J. L. Harding ., M. E. Pavkov ., D. J. Magliano ., J. E. Shaw and E. W. Gregg "January 1. *Global trends in diabetes complications: a review of current evidence Diabetologia Springer Verlag* , 2019 .

[19] D. A. Nicholas ., E. A. Proctor ., M. Agrawal ., A. C. Belkina ., S. C. Van Nostrand ., and L. Panneerseelan-Bharath "Fatty Acid Metabolites Combine with Reduced β Oxidation to Activate Th17 Inflammation in Human Type 2 Diabetes". *Cell Metab* 30(3):447–61.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2019.07.004, 2019 .

[20] T. M. Nyambuya ., P. V. Dludla ., V. Mxinwa and B. B. Nkambule " T-cell activation and cardiovascular risk in adults with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis". *Clinical Immunology*, *210*, 108313, 2020 .

[21] Y. H. Lee ., S. R. Kim ., D. H. Han ., H. T. Yu ., Y. D. Han ., J. H. Kim and S. Park "Senescent T cells predict the development of hyperglycemia in humans". *Diabetes*, *68*(1), 156-162, 2019 .

[22] E. Y. M. Lau ., E. C. Carroll ., L. A. Callender ., G. A. Hood ., V. Berryman ., M. Pattrick and S. M. Henson " Type 2 diabetes is associated with the accumulation of senescent T cells". *Clinical & Experimental Immunology*, *197*(2), 205-213, 2019 .

[23] M. L. Hartman ., O. S. Shirihai ., M. Holbrook ., G. Xu ., M. Kocherla ., A. Shah and j. A. Vita "Relation of mitochondrial oxygen consumption in peripheral blood mononuclear cells to vascular function in type 2 diabetes mellitus". *Vascular medicine*, *19*(1), 67-74, 2014.

[24] O. C. M. Volpe ., P. Henrique Villar-Delfino. *Ferreira. Dos Anjos, PM* , 1-9, 2018.

[25] A. Alfatni ., M. L. Riou ., A. Charles ., A. Meyer ., C. Barnig ., E. Andres and B. Geny "Peripheral blood mononuclear cells and platelets mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and circulating mtDNA in cardiovascular diseases". *Journal of Clinical Medicine*, *9*(2), 311, 2020.

[26] F. Bonacina ., A. Baragetti ., A. L. Catapano and G. D. Norata "The interconnection between immuno-metabolism, diabetes, and CKD". *Current diabetes reports* , *19* (5), 1-8. , 2019.

[27] T. Gaber ., Y. Chen ., P. L. Krauß and F. Buttgereit " Metabolism of T lymphocytes in health and disease". *International review of cell and molecular biology*, *342*, 95-148, 2019.

مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية
info@journalofbabylon.com | jub@itnet.uobabylon.edu.iq | www.journalofbabylon.com ISSN: 2312-8135 | Print ISSN: 1992-0652