Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Diyala

College of Science

Department of Biology

The effect of cigarette smoking on some cytokines and biomarkers in blood of men smokers

A thesis

Submitted to the Council of College of Science/ University of Diyala

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology

By

Suha Hameed Hajem Mohamed

B.Sc. Biology/ University of Diyala

(2004-2005)

Supervised by

Prof.Dr. Mohamed Abdul-Daim Saleh

2021 A.D **1442 A.H**

1- 1المقدمة Introduction

يعد التدخين من أكثر المشكلات انتشارًا في العالم الحديث و عاملاً مسبباً للأمراض المزمنة المختلفة ، بما في ذلك مجموعة متنوعة من الالتهابات والسرطانات ، وأمراض القلب وأمراض الجهاز التنفسي(Mehta واخرون، 2008 ، Zhong واخرون ، 2008) ٠

يعرف التدخين بانه الممارسة التي يتم فيها حرق مادة التبغ بتذوقه واستنشاقه وعلى الصعيد العالمي يقتل التدخين سنويا ما يقارب اكثر من 5 ملايين شخص(World Health Organization، 2012) ٠ وتقدر منظمة الصحة العالمية أنه بين الاعوام 2000 الى 2025 سوف يزداد عدد المدخنين من 1.2 الى 1.7 مليار وأن الرقم السنوي للوفيات الذي يقدر حاليا بحوالي 6 مليون سوف يتضاعف في العشرين السنه القادمة مع العديد من هذه الوفيات التي تحدث قبل الاوان ويقدر هذا العدد الاجمالي أيضا بحوالي 600000 شخص من أثار التدخين غير المباشر على الرغم من أنه غالبا ما يرتبط مع سوء الصحة والعجز والوفاة الناجمة عن الامراض المزمنة غير السارية و يرتبط تدخين التبغ ايضا بزيادة خطر الوفاة الناجمة من الامراض السارية (World Health Organization، 2015) . يعدّ التبغ عاملاً خطرا مسببًا للعديد من الأمراض المزمنة وتشمل مجموعة متنوعة من الالتهابات والسرطانات وأمراض القلب وتصلب الشرايين والاوعية الدموية وأمراض الجهاز التنفسي مثل مرض الانسداد الرئوي المزمن Chronic Obstructive pulmonary Disease (COPD) اذ يتعرض ما يقارب 36% من السكان بمرض احتشاء القلب بسبب التدخين (Asthana واخرون ، 2010) ، إن للنيكوتين أثر فعال في أتلاف مستقبلات خلايا الدماغ ويحفز على تحرير العديد من الناقلات العصبية المختلفة في الدماغ (Kappor وJones، 2005) ضبطت مستويات النيكوتين في بلازما الدم عند المدخنين ذوي التدخين الثقيل تقريبا من 20 – 30 سيجارة في اليوم خلال 30– 40 دقيقة حيث يكون عمر النصف الحيوي للنيكوتين 20– 30دقيقة (Fujinami وآخرون ،2009). يرافق تدخين السجائر احادي اوكسيد

الكاربون الذي يتحد مع الهيموغلوبين مكون كار بوكسي هيموغلوبين الذي يسبب نقص الاوكسجين في الأنسجة Tissue hypoxia زيادة في افراز erythropoietin وزيادة تكوين كريات الدم الحمراء erythropoiesis وأن احادي اوكسيد الكاربون يزيد من نفاذية الاوعية الدموية الشعرية ويقلل من حجم بلازما الدم مسببا تكون كثرة الخلايا الحمراء Polycythemia (Jena وآخرون ،2013). عند مرور الوقت يسمح التدخين بترسيب كميات هائلة من المواد المسرطنة في الفم والحنجرة والرئتين، وتقترح منظمة الصحة العالمية بان التدخين يعد عامل خطورة يمكن الوقاية منه لمعالجة الامراض القلبية الوعائية (Lao واخرون ، 2009) . يتسبب تدخين السجائر في الإصابة بالتهاب الشعب الهوائية المزمن ومرض الانسداد الرئوي المزمن ، وقد يؤدي التدخين إلى إطلاق وسطاء التهابات بواسطة الخلايا الظهارية القصبية (Mio واخرون ، 1997). على نحوٍ واسع يعرف بأن المدخنين لديهم خطورة للإصابة بأمراض القلب الوعائية ،ارتفاع ضغط الدم ، النوبة القلبية ،تكون خثرة الدم ، الامراض التنفسية المزمنة ، يضاف الى ذلك أن تدخين السجائر يعجل من نشوء الامراض السرطانية المختلفة مثل: سرطان الرئة ، سرطان البنكرياس ،سرطان الكبد وسرطان الكلية وكذلك يساعد التدخين على جعل محيط المعدة حامضيا مما يسبب الإصابة بالقرحة المعوية (Alhemieri ، 2008). إنّ المدخنين الجدد تظهر لديهم أثار جانبية ناتجة من استنشاق النيكوتين مثل الصداع والدوار وبعد فترة من الوقت تتعود اجسادهم عليها (Hetch، 2006؛ Rohleder وKirschbaum ، 2006) . وتحتل الامراض المتسببة عن التدخين المرتبة الثانية بعد ارتفاع ضغط الدم (Lim واخرون ، 2012) . يؤثر تدخين السجائر على الاستجابة المناعية التي تتوسطها الخلايا والاجسام المضادة (Arnson واخرون ، 2010) .حيث مبدا المناعة هو نظام الدفاع ضد الالتهابات وقتل الخلايا السرطانية (Wraith و Nicholson ، 2012) اذ يحتوي دخان السجائر على المثبطات قوية مثل النيكوتين ، الكاتيكول و هيدوكينون لإنتاج الحركيات الخلوية Cytokines مثل IFN-γ IL-2 , IL-1B , TNF-α في البشر والتي تفسر جزئيا انخفاض مستوى

(MCP−1) Monocyte Chemo attractant Protein-1 لدى المدخنين مقارنة مع غير المدخنين (Ouyang واخرون ، 2000) وبينت بعض الدراسات وجود زيادة في عدد كريات الدم البيضاء العدلة الخط الدفاعي الاول ضد الاصابات الميكروبية ولكن هناك نقصان في فعالية الخلايا البيضاء العدلة المتضمنة الجذب الكيميائي والالتصاق ولها القابلية على انتاج الحركيات الخلوية ، اذ اثبت ان التدخين يؤثر على عدد الخلايا اللمفاوية وانتاج الاجسام المضادة وتزداد مستويات TNF-a,IL8,IL7 (Petropoulos واخرون ، 2004) .

تلعب الحركيات الخلوية دورًا مهمًا في العدوى والالتهابات وهي وسطاء أساسيون في الارسال المتبادل بين الدماغ والجهاز المناعي واجهزة الجسم. بالإضافة الى البلاعم التي تعدّ حرس التوازن المناعي المعوي لأنها تميز بين المستضدات غير الضارة ومسببات الامراض المحتملة (Stakenborg واخرون ، 2019).

تعدّ خلايا Th1وTh2 بمجرد تنشيطها تظهر العديد من العلامات الهامة للالتهابات ، كأطلاق اعداد كبيرة من السايتوكينات ، حيث تنتج خلايا Th1 كل من (IFN− δ) و (IL−2) و(TNF−δ) ، مما يؤدي الى تنشيط المناعة الخلوية والالتهابات المعولة على البلاعم (Raphael واخرون ، 2015). تعتبر خلايا التهابية رئيسية في الانسجة الدهنية ، أذ يزداد عددها من (5−10%) بالأشخاص النحيفين ، اما في الاشخاص الذين يعانون من السمنة المفرطة بلغت 50% (Boutens and Stienstra ،2016) ، اذ البلاعم السايتوكينات الالتهابية بما في ذلك TNF-a و IL-6 و IL-1β ، التي تشارك في الالتهابات الموضعية والجهازية حيث تعمل هذه الحركيات الخلوية كوسائط التهابية موضعية Local Inflammation تؤدي الى تنشيط الجهاز المناعي المتأصل Innate immune system والعمليات الالتهابية (Donath and Shoelson, 2011) . تجسد الخلايا المستهدفة بالسايتوكين عن مستقبلات عالية التقارب في الغشاء بعد ارتباط السايتوكين ، تفضي المستقبلات الى اشارات داخل

الخلايا يؤدي الى تعديلات في النسخ الجيني ومن ثم تحور سايتوكينات التكاثر والتمايز وتحفز او تعدل وظائف تلك الخلايا (Berraondo واخرين ، 2019) .

2-1 أهداف الدراسة Amis of Study :

نظرا لقلة الدراسات المناعية حول التدخين وتأثيرها على الجهاز المناعي في العراق عموما وندرتها في ديالى خصوصا لذلك هدفت هذه الدراسة لمعرفة تأثير التدخين على بعض المؤشرات المناعية للمدخنين ومقارنة ذلك مع غير المدخنين والتي تشمل :

١) قياس مستويات تركيز الحركيات الخلوية التالية IL-8 و IL-17 و TNF-a في مصل الدم ويتم ذلك عن طريق قياس المؤشرات الحيوية المناعية بتقنية مقايسة الممتز المناعي بالأنزيم الاليزا Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA.

٢) قياس تراكيز بعض المعلمات الحيوية والتي تشمل المؤشرات الكيمو حيوية والمؤشرات الدموية الاتي: Cholesterol،Triglyceride،HDL،VLDL،Urea،Creatine،LDL،wbc،Neutrophil، Lymphocyte،Monocyte،Eosinophil ،Basophil، RBC ،Hb،HCT، PLT .

٣) معرفه علاقة المؤشرات الكيميائية والحيوية مع المؤشرات المناعية لدى المدخنين.

الخلاصة

تعنى هذه الدراسة ب(تأثير تدخين السجائر على بعض السيتوكينات والمؤشرات الحيوية في دم المدخنين من الرجال) في المدة من1/ 10 / 2020 الى 1/ 4 / 2021 في محافظة ديالى في عينة الدراسة 88 وهم 50 مدخنا وبمتوسط عمري 39.1 ±9.8 سنة للمدى من 15–55 سنة ، أما مجموعه السيطرة فتضم 38 غير مدخن بمتوسط عمري 34.9 ±10.2 سنه للمدى من 15–47 سنه ، مع عدم وجود فروق معنوية بين مجاميع الدراسة . إذ أظهرت النتائج أن أعلى نسبة في مجموعة المدخنين في الفئتين العمريتين 40–49 ، 30 – 39 سنه وبنسبة 32 ،26 % على التوالي وكانت أقل نسبة في الفئات10–19 ،20–29 > 50 سنه وبنسبة 4 ،20 ،16% على التوالي ، أما في مجموعة غير المدخنين فكانت أعلى نسبة في الفئة العمرية 20 – 29 سنه وبنسبة 31.6 % وكانت أقل نسبة في الفئات العمرية 10–19، 40–49، 30–39، >50 سنة وبنسبة 15.7 ،18 ، 18.4% على التوالي وبدون فرق معنوي بين مجموعتي الدراسة .

واوضحت نتائج الدراسة عند مقارنة الفئات العمرية مع عدد السجائر المستهلكة يوميا أن المجموعة التي أعطت أعلى نسبة هي المجموعة المستهلكة1 –20 سيجارة بنسبة 100 % للفئة العمرية من 10 –19 سنة ،مع وجود فرق معنوي . وعند مقارنة الفئات العمرية مع مدة التدخين أظهرت النتائج ان مدة التدخين التي اعطت اعلى نسبة هي 1–5 سنة وبنسبة 66.6 % للفئة العمرية 19 –10 سنة وبدون فروق معنوي في هذه الحالة .

إذ بينت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز IL-17 ذو مستوى أعلى في مجموعة المدخنين وكان 46.91 ± 9.2 عما هو عليه في مجموعة غير المدخنين وكان 42.61 ± 9.4٠ بينما كان مستوى تركيز IL-8 في مجموعة المدخنين184.1 ±18.4 مقارنة بمجموعة غير المدخنين 178.8 ± 25.8 . في حين

أنخفض مستوى TNF-a في مجموعة المدخنين 75.1 ± 20.5 مقارنة بمجموعة غير المدخنين 85.7 ± 19.8 مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة إحصائية في الحالات جميعها .

تم ايضا مقارنة مستوى IL-8 مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد ان الفئة 21 –40 سيجارة تشكل أعلى مستوى للبين الابيضاضي الثامن كان 194.2 ± 44.11 بينما الفئتان 1– 20 ، ≤40 سيجارة فقد شكلتا أقل متوسط IL-8 كان 183 ± 21.73 ، 158.3 ±15.87 على التوالي . اما عند مقارنة مستوى IL-17 مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد فقد لوحظ ان الفئة ≤40 سيجارة تشكل أعلى متوسط للبين الابيضاضي 17 كانت 112.3± 79.56 في حين أن الفئتين 1–20 ، 21– 40 سيجارة شكلتا أقل متوسط IL-17 كان 53.25 ± 13.55 ، 37.94 ± 11.33على التوالي . لوحظ عند مقارنة مستوى TNF-a مع عدد السجائر المستهلكة في اليوم الواحد وجد أن الفئة 1–20 سيجارة تشكل اعلى متوسط TNF-a وكانت 85.93 ± 27.61 بينما الفئتان 21– 40 ، ≤ 40 سيجارة شكلتا أقل متوسط TNF-a وكان 33.4 ± 28.66 ، 31.58 ± 38.15 على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في جميعها .

كما تم مقارنة مستوى IL-8 مع مدة التدخين وجد أن أعلى متوسط في الفئة 6 – 10 سنة والتي بلغت 309.2 ± 61.58 وأقل متوسط في الفئة 16 – 20 سنة والتي شكلت 199 ± 41.28 بوجود إرتباط إحصائي ذي فرق معنوي عالي . في حين لوحظ عند مقارنة مستوى IL-17 مع مدة التدخين أن أعلى متوسط له في الفترة 6 – 10 سنة التي شكلت 105 ± 34.79 وأقل متوسط له في الفترة 21 – 25 سنة التي شكلت 15.63±2.406 . وتم أيضا مقارنة مستوى TNF-a مع مدة التدخين أن أعلى متوسط ل TNF-a في الفئة 6 – 10 سنة التي بلغت 218.7 ± 71.78 وأقل متوسط في الفئة ≤ 25 سنة والتي بلغت 17.06 ± 11.32 مع وجود فرق معنوي ذي دلالة احصائية في جميع الحالات .

اظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة طردية ومعنوية ($P<0.01$) بين زيادة نسبة IL-8 واعداد RBC و Lymphocyte و HB وHCT ذات قيمة معنوية عالية .بالمقابل كانت العلاقة عكسية بين IL-8 واعداد

WBC وNeutrophil و Eosinophil أنخفضت عند أرتفاع البين الابيضاضي الثامن . كما ظهرت وجود علاقة طردية ومعنوية بين IL-17 و اعداد Neutrophil و Mono و Hb وHCT ذات قيم معنوية مختلفة بينما سجلت انخفاضا في اعداد WBC و Lymphocyte وEosinophil وBasophil و Plate بنسب معنوية مختلفة في حين لم تتأثر اعداد كريات الدم الحمراء . بينما وجدت زيادة نسبة اعداد Lymphocyte واعداد RBC وHb وHCT ولم تكن النتائج ذات قيمة معنوية في حين لم تتأثر قيم Monocyte والصفائح الدموية مع عامل التنخر الورمي الفا ولكن على العكس ظهرت علاقة عكسية بين TNF-a حيث انخفضت نسبة اعداد WBC وNeutrophil وEosinophil وبشكل معنوي ($p<0.1$) .

أظهرت نتائج الدراسة وجود ارتباط احصائي ذي دلالة معنوية عالية بين IL-8 و Cholesterol و LDL بلغت 0.1 وأنخفضت في TG وVLDL،في حين لم تتأثر اليوريا والكرياتين ،في حين كان معامل الارتباط عالي بين TNF-a و HDL يساوي 0.3 وبين IL-17 و LDL يساوي 0.1 ،بينما انخفضت بنسبة معنوية عالية مع VLDL .