



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية طب الأسنان

قسم النسيج والتشريح المرضي

**دراسة تأثير السكري المستحدث على الكولاجين من النمط
الرابع في الغدد اللعابية عند الأرانب**

**Studying the effect of induced diabetes
mellitus on the collagen type IV in salivary
glands of rabbits**

أطروحة قدّمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في كلية طب الأسنان في اختصاص
النسيج والتشريح المرضي الفموي

إعداد

بدور غرة

إشراف

الدكتور نبيل نادر قوشجي

أستاذ مساعد في قسم النسيج والتشريح المرضي

كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

1436 هـ / 2015 م

فهرس المحتويات

1.....	فهرس المحتويات
6.....	جدول الجداول
7.....	جدول الأشكال والمخططات البيانية
9.....	جدول الاختصارات
10.....	الملخص
12.....	تصريح
13.....	الإهداء
14.....	الشكر
15.....	المقدمة
16.....	الهدف من البحث
17.....	الباب الأول : المراجعة النظرية
18.....	1 - مرض السكرى
18.....	1-1 التعريف والتصنيف
21.....	1-1-1 سكرى النمط الأول
22.....	1-1-2 سكرى النمط الثانى

24.....	3-1-1 الأنماط الأخرى من السكرى
24.....	2-1 الأعراض والعلامات
26.....	3-1 السكرى والجينات
28.....	4-1 التشخيص والمعالجة
30.....	5-1 المظاهر الفموية للسكرى
31.....	6-1 اختلاطات داء السكرى
33.....	2- إحداث السكرى بالألوكسان عند حيوانات التجربة
33.....	1-2 تعريف مادة الألوكسان
33.....	2-2 التركيب الكيميائى للألوكسان
34.....	3-2 آلية تأثير الألوكسان
35.....	3- الغدد اللعابية
35.....	1-3 أنواع الغدد اللعابية
35.....	2-3 لمحة نسيجية عامة عن الغدد اللعابية
37.....	1-2-3 الخلايا المفرزة
38.....	2-2-3 الجهاز القنوي
39.....	3-2-3 الخلية العضلية البشرية

- 40..... 4-2-3 النسيج الضام
- 41..... 3-3 لمحة تشريحية ونسجية لكلّ غدة لعابية
- 43..... 4-3 البنية التشريحية للغدد اللعابية عند الأرناب
- 44..... 4- القالب خارج الخلوي للنسيج الضام**
- 45..... 1-4 أهم مكونات القالب خارج الخلوي
- 46..... 2-4 بنية الغشاء القاعدي
- 48..... 3-4 تأثير السكّري على مكونات القالب خارج الخلوي
- 49..... 5- بروتين الكولاجين**
- 49..... 1-5 تعريف الكولاجين وأهميته
- 50..... 2-5 آلية تصنيع الكولاجين
- 54..... 3-5 أنماط الكولاجين
- 55..... 4-5 بنية الكولاجين من النمط الرابع
- 56..... 5-5 واسم الكولاجين من النمط الرابع
- 57..... 6- تأثير السكّري على الغدد اللعابية**
- 57..... 1-6 تأثير السكّري على البنية الغديّة

60.....	2-6 تأثير السكرى على الإفراز اللعابي.....
62.....	7- الغدد اللعابية والكولاجين من النمط الرابع.....
62.....	1-7 أماكن وجود الكولاجين من النمط الرابع في الغدد اللعابية.....
63.....	2-7 أذيات الغدد اللعابية الناتجة عن اضطراب تصنيع الكولاجين من النمط الرابع.....
65.....	الباب الثاني : مواد وطرائق البحث.....
66.....	1- مواد البحث.....
66.....	1-1 حيوانات التجربة.....
66.....	2-1 مرافق الدراسة.....
68.....	3-1 عينة البحث.....
68.....	4-1 المواد والأدوات المستخدمة في إحداث السكرى عند حيوانات التجربة.....
70.....	5-1 مواد التلوين النسيجي التقليدي والمناعي.....
70.....	6-1 الأجهزة والأدوات المستخدمة.....
71.....	2- طرائق البحث.....
71.....	1-2 بروتوكول إحداث السكرى عند حيوانات التجربة.....
73.....	2-2 أخذ العينات.....

- 74.....3-2 تحضير العينات والتلوين النسيجي التقليدي (هيماتوكسيلين - ايوزين)
- 77.....4-2 تلوين العينات بالكاشف المناعي
- 82.....5-2 معايير قياس الدّراسة النسيجية المناعية
- 83.....الباب الثالث : النتائج
- 84.....أولاً: نتائج الدّراسة النسيجية المناعية
- 84.....1- نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية للعينتين الطبيعية والمصابة
- 87.....2- نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك للعينتين الطبيعية والمصابة
- 89.....ثانياً: الدراسة الإحصائية
- 89.....1- وصف العينة
- 91.....2- الدراسة الإحصائية التحليلية
- 98.....الباب الرابع : المناقشة
- 104.....الباب الخامس : الاستنتاجات
- 106.....الباب السادس : التوصيات والمقترحات
- 109.....الباب السابع : المراجع

جدول الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	الجدول
86	يبين نتائج قياس تعبيرية الكولاجين الرابع في الغدد اللعابية النكفية في عينتي الدراسة.	1
88	يبين نتائج قياس تعبيرية الكولاجين الرابع في الغدد اللعابية تحت الفك في عينتي الدراسة.	2
89	يبين توزع الأرناب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.	3
90	يبين توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.	4
90	يبين توزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.	5
91	يبين الدرجات المعتمدة لتعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث والقيم الموافقة المعطاة لكل درجة.	6
92	يبين نتائج مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدة المدروسة.	7
93	يبين متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية وفقاً للإصابة بالسكري.	8
93	يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري في الغدة النكفية.	9
94	يبين متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك وفقاً للإصابة بالسكري.	10
94	يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري.	11
96	يبين متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.	12
97	يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الغدد النكفية ومجموعة الغدد تحت الفك في عينة البحث، وذلك وفقاً للإصابة بالسكري.	13

جدول الأشكال والمخططات البيانية

الصفحة	اسم الشكل	الشكل
36	صورة ترسيمية توضح الوحدة الوظيفية في الغدة اللعابية.	1
38	صورة نسيجية تبين الخلايا المخاطية والمصلية في الغدة تحت الفك.	2
39	أنواع وأشكال الخلايا المكونة للغدد اللعابية.	3
50	يوضح جزيئة التروبوكلوجين.	4
53	مراحل تصنيع الكولاجين.	5
56	بنية الكولاجين من النمط الرابع.	6
67	حيوانات التجربة في الحواضن.	7
67	تأمين الغذاء والماء لحيوانات التجربة في الحواضن.	8
69	مادة الألوكسان.	9
69	الميزان الحساس.	10
69	جهاز معايرة السكر.	11
72	يوضح مراحل تحضير وحقن الألوكسان والغلوكوز.	12
73	مجموعة من الصور تبين مواقع الغدد اللعابية.	13
75	يبين فرن صهر الشمع والإدماج.	14
75	يبين المباشرة النسيجية.	15
75	يبين المحم المائي لفرش المقاطع النسيجية.	16
75	يبين فرن التجفيف.	17
75	يبين حمامات الكزيلول والكحول.	18
76	يبين حمامات الهيماتوكسيلين والأيوزين H&E .	19
76	يبين المقاطع النسيجية بعد تلوينها بالـ H&E.	20

76	يبين المجهر الضوئي المستخدم بالدراسة.	21
79	قلم لتحديد المقاطع النسيجية على الشرائح.	22
79	الممص المستخدم لتطبيق المواد على الشرائح.	23
79	الكيت المناعي المستخدم في التلوين.	24
80	يبين عمر الشرائح ضمن المحلول الدائري PBS .	25
80	يبين إحاطة العينة النسيجية بقلم التحديد.	26
80	يبين تطبيق Beroxidase /AP Blocker .	27
80	يبين الضد الخاص بالكولاجين الرابع Type iv .	28
80	يبين تطبيق الضد الخاص بالكولاجين الرابع Type iv .	29
81	يبين تطبيق Poly Detector/HRP label .	30
81	يبين تحضير وتطبيق المحلول DAB substrate chromogen solution .	31
81	يبين تلوين الشرائح بالهيماتوكسيلين.	32
84	يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة نكفية من العينة الشاهدة.	33
85	يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجربة.	34
85	يوضح تعبيرية متوسطة للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجربة.	35
86	يوضح تعبيرية شديدة للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجربة.	36
87	يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من العينة الشاهدة.	37
87	يوضح تعبيرية متوسطة للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من عينة التجربة.	38
88	يوضح تعبيرية شديدة للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من عينة التجربة.	39
89	يمثل النسبة المئوية لتوزع الأرناب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.	40
90	يمثل النسبة المئوية لتوزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.	41
91	يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.	42

92	يمثل النسبة المئوية لنتائج مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدة المدروسة.	43
95	يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدة المدروسة.	44
96	يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.	45

جدول الاختصارات

الصفحة	شرحه	الاختصار
100	matrix metalloproteinases	MMPs
100	tissue inhibitor of matrix metalloproteinase	TIMP
101	Advanced glycosylation end products	AGEs

ملخص

المقدمة والهدف: يعدّ جفاف الفم من الاختلالات الأكثر شيوعاً عند مريض السكري حيث تكون الغدد اللعابية من أعضاء الجسم الأكثر تأثراً باختلالات المرض ويهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير السكري المستحدث عند الأرناب على الكولاجين النمط الرابع في الغشاء القاعدي في الغدد اللعابية، وما يطرأ على تركيبه من تغيرات مرضية قد تكون السبب في الآلية الإمبراضية لتأدي الغدد اللعابية وتليّفها عند مريض السكري.

المواد والطرق: أجريت الدراسة على مجموعة من الأرناب الذكور عددها (40) أرناب قسّمت إلى مجموعتين: المجموعة الشاهدة تألفت من (20) أرناب ومجموعة التجربة تألفت من (20) أرناب والتي استحدثت السكري عندها عن طريق حقن الألوكسان 180 ملغ/كغ في البريتوان، وبعد 6 أسابيع من استحداث السكري تمّ التّضحية بالأرناب واستئصال أزواج الغدد اللعابية النّكفية وتحت الفك منها وحفظت الغدد في الفورمالين مدة 48 ساعة على الأقل ثمّ تمّ تحضير العينات وتلوينها وطبّق الضد الخاص ب الكولاجين النمط الرابع وبعدها تمّ فحص المحضرات وتقييم درجة تعبيرية الكولاجين الرابع في أربع ساحات مجهريّة عشوائية وأجري التحليل الإحصائي للبيانات.

النتائج: ظهرت إيجابية الكولاجين الرابع حول العنابات والأقنية الغديّة وفي جدار الأوعية الدّموية في اللحمية الضامة وذلك في كل من الغدتين النّكفية وتحت الفك وكانت درجة التعبيرية في مجموعة الأرناب المصابة بالسكري أعلى مما هي عليه في مجموعة الأرناب غير المصابة وذلك في كل من مجموعة الغدد النّكفية ومجموعة الغدد تحت الفكّيّة على حدة من عينة البحث بفروق ذات دلالة إحصائية ($P=0.000$) مهما كان نوع الغدة المدروسة، كما وجدت فروق إحصائية ($P=0.001$) بين زيادة درجة التعبيرية في الغدد النّكفية مقارنة مع الغدد تحت الفك في مجموعة التجربة حيث ازدادت درجة التعبيرية في الغدد تحت الفك بشكل أكبر مما هي عليه في الغدد النّكفية في حين لم توجد فروق إحصائية في درجة التعبيرية ضمن العينة الشاهدة حيث كانت متساوية بين مجموعتي الغدد النّكفية وتحت الفكّيّة.

الاستنتاجات: للسكري تأثير على إنتاج الكولاجين الرابع في الغدد اللعابية حيث يؤدي إلى زيادة تركيبه وتوضّعه في الغشاء القاعدي، ويكون تأثيره على الغدة تحت الفك أكبر من تأثيره على الغدة النّكفية.

Abstract

Background: Xerostomia is the most common complication of diabetes which mainly affects the salivary glands in the body. The aim of this research is to study the effect of induced diabetes on collagen type IV in salivary glands of rabbits and to investigate the changes in its synthesis, that can be the cause of salivary glands injury and fibrosis in diabetic patient.

Materials and Methods: Forty male rabbits were divided into two groups. The control group included 20 rabbit and the experimental one included 20 rabbit which have been induced through diabetes by alloxan injection 180 mg / kg intraperitoneal. Rabbits were kept after the development of diabetes for a period of 6 weeks, then they were killed and pairs of salivary glands (parotid and submandibular) were dissected and saved in formalin for 48 hours at least. Sampels were prepared and, monoclonal antibody collage type IV was applied. The expressive degree was scored in 4 high-power fields and statistical analysis of data was assessed.

Results: Positive expression of collagen type IV was concentrated around glandular acini, ducts, and blood vessels in stroma of both parotid and submandibular glands. The expressive degree increased significantly in diabetic rabbits compared to healthy ones ($p=0.000$). The expression degree was higher in submandibular glands than parotids in diabetic rabbits ($p=0.001$), while no difference was found in expression between submandibular and parotid glands in nondiabetic rabbits.

Conclusions: Diabetes can cause over expression and deposition of collagen type IV in salivary glands basement membrane. However, over expression in submandibular glands was more prominent than that in parotid glands.

ﺗﺼﺮﯨﺢ

" ﻻ ﻳﻮﺟﺪ ﺃﻱ ﺟﺰﺀ ﻣﻦ ﻫﺬﺓ ﺍﻻﻃﺮﻭﺡﺔ ﺗﻢ ﺁﺧﺬﻩ ﺑﺎﻟﻜﺎﻣﻞ ﻣﻦ ﻋﻤﻞ ﺁﺧﺮ ﺃﻭ ﺁﻧﺠﺰ ﻟﻠﺤﺼﻮﻝ ﻋﻠﻰ ﺷﻬﺎﺩﺓ

ﺁﺧﺮﻯ ﻓﻲ ﻫﺬﺓ ﺍﻟﺠﺎﻣﻌﺔ ﺃﻭ ﺁﻳﺔ ﺟﺎﻣﻌﺔ ﺁﺧﺮﻯ ﺃﻭ ﺃﻱ ﻣﻌﻬﺪ ﺗﻌﻠﯿﻤﻲ "

الإهداء

إلى من كان له الفضل عليّ في إنجاز هذا البحث

أبي وإخوتي

.....إلى الغالي الذي غير حياتي للأفضل.....

الشكر

أنتقدّم بجزيل الشكر والامتنان لأستاذي الدكتور **نبيل قوشجي** الذي قدّم الكثير في سبيل إنجاز هذا البحث وكان نبعاً للعطاء فله مني كلّ الشكر والعرفان.....

كما أنتقدّم بخالص الشكر إلى أعضاء لجنة الحكم الدكتور **شريف بركات** رئيس قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان جامعة دمشق والدكتور **أيمن صمون** الأستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية الطب البشري جامعة دمشق، لتفضّلهما بقبول المشاركة في تحكيم هذه الرسالة وإعطاء ملاحظاتهم القيّمة.

كما أودّ أن أشكر الأستاذة الدكتورة **رزان خطاب** عميدة الكلية، والأستاذ الدكتور **إياد الشعراني** وكيل الكلية للشؤون العلميّة، والأستاذ الدكتور **ياسر مدلل** وكيل الكلية للشؤون الإداريّة وذلك للجهود الكبيرة التي يبذلونها لتسهيل إنجاز البحث العلمي.

كما أشكر جميع الأساتذة في قسم النسيج والتشريح المرضي وعظيم الشكر لأصدقائي طلاب الدراسات العليا في قسم النسيج والتشريح المرضي والسيد **ناصر كتابي**.

والشكر الأخير والأكبر للأخت والزميلة الدكتورة **رانيه عثمان**.

المقدمة :

داء السكري Diabetes mellitus : مصطلح يصف حالة من اضطراب الاستقلاب العائد لأسباب متعدّدة والمتّسم بارتفاع مزمن في تركيز سكر الدم النّاجم إمّا عن عوز الأنسولين أو عن انخفاض حساسيّة الأنسجة الهدف للأنسولين أو كلا الأمرين.

يعاني من مرض السكري حوالي 347 مليون شخص حول العالم طبقاً لمنظمة الصحة العالميّة عام 2008 وحالات الإصابة بالمرض في تزايد مستمر وسريع، وبحلول عام 2030 فإنّه من المرجح أن يكون مرض السكري السّبب السّابع للوفاة في العالم.

اختلاطات داء السكري عديدة ومتنوعة تتمثّل بالتخرّب طويل الأمد وحدوث الخلل الوظيفي ومن ثمّ الفشل الذي يصيب أعضاء مختلفة من الجسم من أهمّها الكلية والكبد والمعتكلة وشبكية العين.

تتداخل مجموعة من العوامل الإمبراضيّة في تطور داء السكري وتضم تلك العوامل المسبّبة لتخرّب الخلايا بيتا في المعتكلة وبالتالي عوز هرمون الأنسولين وعوامل أخرى مسبّبة لنقص فعاليّة الأنسولين المفرز نتيجة انخفاض حساسيّة الأنسجة الهدف له. (World Health Organization.

(Dept. of Noncommunicable Disease Surveillance. 1999

هذا وقد وجد أنّ فعالية الغدد اللعابية تتأثّر عند الإصابة بداء السكري حيث أشارت الدّراسات إلى حدوث تبدّل في إفراز كلّ من الغدة النكفيّة والغدة تحت الفك في حال الإصابة. (Ibuki, Simoes

(et al. 2010

كما لوحظ أنّ هناك ارتباط وثيق بين تغيّرات مكوّنات القلب خارج الخلوي ومنها الكولاجين من النمط الرّابع وبين العديد من الحالات المرضية الحاصلة في سياق الإصابة بالسكّري مثل تصلّب الشرايين وتسمك الغشاء القاعدي للأوعية الشّعيرية حيث يشكل الكولاجين من النمط الرّابع المكون البنيوي الأساسي للغشاء القاعدي. (Gautieri, Redaelli et al. Chang, Uitto et al. 1980) ; (2013)

لذلك كانت فكرة هذا البحث في تفسير الآلية الإراضية لأدّيّات الغدد اللعابية الناتجة عن مرض السكّري من خلال دراسة التغيّرات التي تطرأ على الكولاجين من النمط الرّابع.

الهدف من البحث :

- 1- تحريّ تعبيرية واسم الكولاجين من النمط الرّابع في الغدد اللعابية.
- 2- تحريّ وجود تغيّرات في تعبيرية الكولاجين من النمط الرّابع بعد استحداث السكّري عند الأرناب.

الباب الأول

المراجعة النظرية

Literature Review

1 - مرض السكرى Diabetes mellitus

1-1 التعريف والتصنيف Definition and Classification

داء السكرى Diabetes mellitus : مصطلح يصف حالة من اضطراب الاستقلاب العائد لأسباب متعددة والمتسم بارتفاع مزمن في تركيز سكر الدم الناتج إما عن عوز الأنسولين أو عن انخفاض حساسية الأنسجة الهدف للأنسولين أو كلا الأمرين.

يعاني من مرض السكرى حوالي 347 مليون شخص حول العالم طبقاً لمنظمة الصحة العالمية عام 2008 (Danaei, Finucane et al. 2011) وحالات الإصابة بالمرض في تزايد مستمر وسريع، وبحلول عام 2030 فإنه من المرجح أن يكون مرض السكرى السبب السابع للوفاة في العالم. (Oliveira, Valente et al. 2009)

اختلاطات داء السكرى عديدة ومتنوعة تتمثل بالتخرب طويل الأمد وحدوث الخلل الوظيفي ومن ثم الفشل الذي يصيب أعضاء مختلفة من الجسم من أهمها الكلية والكبد والمعتكلة وشبكية العين.

تتداخل مجموعة من العوامل الإراضية في تطور داء السكرى وتضم تلك العوامل المسببة لتخرب الخلايا بيتا في المعتكلة وبالتالي عوز هرمون الأنسولين وعوامل أخرى مسببة لنقص فعالية الأنسولين المفرز نتيجة انخفاض حساسية الأنسجة الهدف له. (World Health Organization.)

(Dept. of Noncommunicable Disease Surveillance. 1999)

تقسّم منظمة الصحة العالمية السكرى إلى ثلاثة أنماط رئيسية وهي: سكرى النمط الأول وسكرى النمط الثاني وسكرى الحوامل. وكل نمط له أسبابه وأماكن انتشاره في العالم. ولكن تتشابه كل أنماط

السكّري في أنّ سببها هو عدم إنتاج كمية كافية من هرمون الأنسولين من قبل خلايا بيتا في المعنكلة ولكن أسباب عجز هذه الخلايا عن ذلك، تختلف باختلاف النمط. فسبب عجز خلايا بيتا عن إفراز الأنسولين الكافي في النمط الأول يرجع إلى تدمير (مناعي ذاتي) لهذه الخلايا في المعنكلة، بينما يرجع هذا السبب في النمط الثاني إلى وجود مقاومة للأنسولين في الأنسجة التي يؤثر فيها، أي أنّ هذه الأنسجة لا تستجيب لمفعول الأنسولين مما يؤدي إلى الحاجة لكميات مرتفعة فوق المستوى الطبيعي للأنسولين فتظهر أعراض السكّري عندما تعجز خلايا بيتا عن تلبية هذه الحاجة. أما سكّري الحوامل فهو مماثل للنمط الثاني من حيث أنّ سببه أيضاً يتضمن حدوث مقاومة للأنسولين لأنّ الهرمونات التي تُفرز أثناء الحمل يمكن أن تسبب مقاومة الأنسولين عند النساء المؤهلات وراثياً.

قد يتطور في الحالات الشديدة للسكّري الحماض الكيتوني Ketoacidosis أو فرط الأسمولية اللاكيتوني Non-ketotic hyperosmolar ويؤدي في النهاية إلى الغيبوبة ومن ثمّ الوفاة في حال عدم تقديم العلاج الفعّال والكافي للمرض، ولكن في الغالب لا تكون أعراض السكّري شديدة وإنما يتظاهر بأعراضه التقليدية مثل كثرة التبول polyuria والعطش thirst وفقدان الوزن وأحياناً قد تختفي الأعراض وعندها يكون ارتفاع سكر الدم غير العرضي كافي لإحداث تغييرات وظيفية مرضية تستمر لفترة طويلة قبل تشخيص المرض.

وبالنتيجة يتطور عن هذه الآثار طويلة الأمد اختلالات نوعية خطيرة مثل اعتلال الشبكية Retinopathy المترافق مع احتمالية فقدان البصر، وكذلك الاعتلال الكلوي Nephropathy والذي قد يؤدي إلى الفشل الكلوي، والاعتلال العصبي Neuropathy المترافق مع ارتفاع خطورة

تقرّح القدمين ممّا يؤدي إلى التّموت الذي قد يحتاج للبتر، واعتلال المفاصل عصبيّ المنشأ، والخلل الوظيفي في الجهاز العصبي المستقل، والاضطرابات الوظيفية الجنسية، كما وترتفع لدى مرضى السكّري خطورة الإصابة بالأمراض القلبية الوعائية والوعائية المحيطية والدماعية الوعائية (American Diabetes Association, 2010).

التصنيف :

يُعرف النمطان الرئيسيان المسببان لمرض السكّري بالنمط الأول والنمط الثاني. وقد حلّ مصطلح النمط الأول من السكّري محل العديد من المصطلحات السابقة مثل سكّري اليافعين أو السكّري المعتمد على الأنسولين Insulin-dependent diabetes وبالمثل حلّ مصطلح النمط الثاني محل مصطلحات مثل سكّري البالغين أو السكّري المرتبط بالبدانة أو السكّري غير المعتمد على الأنسولين Non-insulin-dependent diabetes وبخلاف هذين النمطين لا يوجد نظام تسمية قياسي متفق عليه لبقية الأنواع فمثلاً تسمّى بعض الجهات النمط الثالث من السكّري بسكّري الحوامل، وكذلك يوجد نمط آخر يُسمّى النمط الأول من السكّري المقاوم للأنسولين، أو السكّري المضاعف، وهو في الواقع تطور للنمط الثاني من السكّري فأصبح المريض بحاجة لحقن الأنسولين.

سكّري النمط الأول 1 Diabetes Type 1 :

كان يُشمل سابقاً تحت مصطلح السكّري المعتمد على الأنسولين وهو ناتج عن تخرب خلايا بيتا في المعتكلة بتوسط رد فعل مناعي ذاتي يجعل الخلايا التائية تهاجم خلايا بيتا وتسبب بالنتيجة عوز بالأنسولين.

يختلف معدّل تخرب الخلايا بيتا بين شخص وآخر فقد يكون سريعاً عند بعض الأشخاص وبطيئاً عند أشخاص آخرين، ويشاهد عادة التّموج المتطور سريعاً عند الأطفال مع إمكانية مشاهدته عند البالغين أيضاً أمّا التّموج بطيء التّطور يحدث بشكل عام عند البالغين ويشار إليه أحياناً بالسكّري المناعي الذاتي الكامن عند البالغين (American Diabetes Association, 2010) .

غالباً يبقى الأشخاص المصابون بالسكّري نمط أول معتمدين على الأنسولين مدى الحياة مع ضرورة المراقبة المستمرة لمستويات غلوكوز الدم فهم دائماً مؤهّبون لخطر الإصابة بالحماض الكيتوني الذي يصل معه مستوى الأنسولين المفرز إلى درجات منخفضة جداً وقد ينتهي بالغيوبة والوفاة. (World Health Organization. Dept. of Noncommunicable Disease Surveillance. 1999)

قد يكون التخرّب المناعي الذاتي لخلايا بيتا عند مرضى السكّري ناتجاً عن استعداد وراثي للإصابة عند الشخص مع ارتباطه بالعوامل البيئيّة وعادة مرضى السكّري من هذا النمط يعانون من اضطرابات مناعية ذاتية أخرى مثل: داء أديسون وداء هاشيمتو

يصيب النمط الأول من السكري الأشخاص تحت عمر /25/ سنة بنسبة تصل لأكثر من /95% /
وذروة الإصابة في الطفولة والمراهقة ولكن مع ذلك قد يصيب أي عمر من الطفولة إلى العقد التاسع
من الحياة وهو لا يميل لإصابة أحد الجنسين دون الآخر كما وتزيد نسبة الإصابة بهذا النمط في
مجتمعات الأشخاص البيض. (Mayfield 1998)

1-1-2 سكري النمط الثاني Diabetes Type 2:

كان سابقاً مشمولاً ضمن مصطلح السكري غير المعتمد على الأنسولين -Non-insulin-
dependent diabetes.

في هذا النمط يكون عوز الأنسولين نسبياً حيث يعاني المصاب بالسكري من مقاومة لفعالية
الأنسولين ولا يحتاج - على الأقل في بداية المرض - إلى العلاج بالأنسولين من أجل البقاء على
قيد الحياة.

يبقى عادة هذا النمط من السكري غير مشخّص لعدّة سنوات وذلك لأنّ ارتفاع سكر الدم غالباً ما
يكون غير شديد بشكل كافي ليحدث أعراض السكري الملاحظة ومع ذلك ترتفع خطورة تطوّر
الاختلالات الوعائية لدى هؤلاء المرضى.

هناك العديد من الآليات المحتملة في إنتاج السكري نمط ثاني ولا تزال المسببات النوعية لهذا
المرض غير معروفة تماماً حتى الآن.

يعاني غالبية مرضى السكري من النمط الثاني من البدانة والبدانة بحدّ ذاتها هي من العوامل
المضادّة لمفعول الأنسولين.

يعدّ الحمّاض الكيتوني نادر الحدوث في هذا النمط من السكّري وحدثه غالباً ما يكون مترافقاً مع الشدّات النفسيّة أو أمراض أخرى مثل الإبتان.

قد يبدو الأنسولين محافظاً على مستوياته الطبيعيّة أو مرتفعاً في هذا النمط من السكّري ومع ذلك يلاحظ ارتفاع كبير في مستوى سكر الدم عند هؤلاء المرضى إلا أنّ خلايا بيتا سليمة وتقوم بوظيفتها الطبيعيّة وهذا ما يفسّر بأنّ الاضطراب في هذا النمط يكمن في انخفاض حساسيّة الأنسجة تجاه الأنسولين ومقاومتها لمفعوله حيث لا تستجيب مستقبلات الأنسولين الموجودة في الأغلفة الخلويّة لمختلف أنسجة الجسم بصورة صحيحة. ولذلك يحدث خلل في إفراز الأنسولين ويصبح غير كافٍ ليعوّض عن الفعل المضاد للأنسولين حيث يؤدي استمرار مقاومة الأنسجة للأنسولين وتزايد نقص إفرازه إلى ضعف تحمل الجلوكوز Impaired glucose tolerance وإرهاق الخلايا بيتا وبمراحل تالية يتأجج عدم التّحمل الجلوكوزي ويرتفع سكر الدم. (Association. 2010)

وقد لوحظ أنّ خسارة الوزن وكذلك زيادة النّشاط الفيزيائي قد يكون كافياً لضبط سكر الدّم وإعادته للمستوى الطبيعي عند بعض مرضى السكّري من هذا النمط. (World Health Organization.) (Dept. of Noncommunicable Disease Surveillance. 1999)

تزداد خطورة الإصابة بالسكّري نمط ثاني مع تقدّم العمر ونقص الحركة والبدانة ويميل عادة لإصابة النّساء بنسبة أكبر وخاصة ممن لديهم قصة مرضية مع سكر الحمل كما يكثر انتشار هذا النمط عند الأشخاص السّود في مناطق أمريكا الشماليّة واللاتينيّة.

هذا النمط هو الشكل الأكثر شيوعاً ويطرافق غالباً مع قصّة عائلية للمرض حيث تعدّ الوراثة هي العامل الأساسي في تطور المرض إضافة لتدخل بعض العوامل البيئية، ولكن ما تزال المورثات المسؤولة عن إحداث المرض معقّدة وغير معروفة بشكل واضح. (Mayfield 1998)

أنماط أخرى من السكّري :Other Specific Types Of Diabetes

توجد العديد من المسبّبات النادرة لمرض السكّري والتي لا يمكن تصنيفها كمسببات للنمط الأول أو الثاني أو سكر الحمل لذلك صنّفت الحالات الناتجة عنها ضمن مجموعة واحدة سمّيت بأنماط أخرى نوعيّة للسكّري، وتضم هذه المجموعة الأشخاص المصابين بطفرات مورثية تؤدّي إلى خلل في وظيفة الخلايا بيتا أو اضطراب في فعالية الأنسولين وكذلك الأشخاص المصابين بأمراض المعتكلة مثل التهاب المعتكلة أو التليف الكيسي وأخيراً الأشخاص المصابين باضطرابات وظيفية في المعتكلة ناتجة عن تناول الأدوية أو المواد الكيماوية أو الانتانات... (Mayfield 1998).

2-1 الأعراض والعلامات : Signs and Symptoms

إنّ أعراض السكّري متشابهة في كلا نمطي السكّري مع وجود بعض الفروق المحدّدة بين النمطين الأول والثاني وأهمها سرعة ظهور الأعراض ففي النمط الأول تكون بداية ظهور الأعراض سريعة خلال أسابيع بينما تكون بطيئة في النمط الثاني فقد يبقى المرض كامناً لأشهر أو سنوات قبل أن يتمّ تشخيصه بالفحص الطبي الروتيني. إضافة إلى أنّ الأعراض في النمط الأول تكون أكثر وضوحاً للمريض على عكس النمط الثاني الذي تغيب أعراضه عن المريض وحتى عن الطّبيب. (MacKinnon 2002).

هناك ثلاثة أعراض أساسية مميزة لداء السكري هي: كثرة التبول polyuria والعطش الشديد polydipsia والجوع الشديد polyphagia، وهي مرتبطة بارتفاع سكر الدم والبييلة السكرية المرافقة للسكري. فعندما يرتفع سكر الدم بشكل كبير تفوق كمية الغلوكوز المرشحة من قبل الكبيبات الكلوية الكمية التي يمكن إعادة امتصاصها عبر الأنابيب الكلوية مما يؤدي إلى ظهور البييلة السكرية وفقد كمية كبيرة من الماء مع البول.

ينتج العطش الشديد عن التجفاف داخل الخلوي الذي يحدث مع ارتفاع سكر الدم حيث يسحب الماء خارج خلايا الجسم بما فيها الخلايا المسؤولة عن التحكم بالعطش في مركز العطش في المنطقة تحت الوطاء من الدماغ، وقد يغيب هذا العرض المبكر عند مرضى السكري من النمط الثاني وخاصة في حالة الارتفاع التدريجي لسكر الدم.

أما التهم أو الجوع الشديد فهو ينتج عن الجوع الخلوي واستنزاف مخزونات الخلية من السكريات والدهن والبروتينات وهو عرض شائع لدى مرضى النمط الأول وغير موجود عادة عند مرضى السكري النمط الثاني.

ومع وجود الشهية الزائدة أو حتى الطبيعية إلا أنه يحدث فقد الوزن بشكل شائع عند مرضى السكري النمط الأول غير المضبوط وسببه مضاعف: الأول فقد سوائل الجسم نتيجة إدرار البول التناضحي والثاني يعود إلى فقد أنسجة الجسم بشكل عام حيث يجبر نقص الأنسولين خلايا الجسم على استخدام مخزونها من المواد الدسمة وبروتيناتها الخلوية كمصدر للطاقة.

وفيما يتعلّق بفقد الوزن فهناك عادة فرق بين النمطين الأول والثاني ففي السكّري النمط الأول غير المضبوط يعدّ فقد الوزن ظاهرة شائعة ومتكررة بينما في السكّري النمط الثاني غير المضبوط غالباً هناك مشكلة مع البدانة.

من الأعراض والعلامات الأخرى لارتفاع سكر الدم: تشوش الرؤية المتكرر، الإرهاق والتعب العام، النمل والخدر والانتانات الجلديّة. وهي الأعراض التي تدفع مريض السكّري من النمط الثاني عادة ليطلب العلاج الطبي.

يتطوّر تشوش الرؤية نتيجة تعرّض العدسات والشبكية لضغط سوائل فرط التّناضح، كما يؤدّي نقص حجم بلازما الدم إلى الضّعف والإعياء أمّا الخدر فيعكس خلل وظيفي عابر في الأعصاب الحسيّة المحيطيّة، وتحدث الانتانات الجلدية المزمنة بشكل أكثر شيوعاً في النمط الثاني من السكّري حيث يساعد ارتفاع سكرّ الدم على نمو العضويات اللاهوائية. (Porth 2011)

3-1 السكّري والجينات Diabetes and Genes:

إنّ داء السكّري هو مجموعة من الاضطرابات غير المتجانسة والمتّسمة بارتفاع سكرّ الدم الدائم، وكلا نمطي السكّري الأكثر شيوعاً (الأول والثاني) ناتجان عن اتحاد عوامل الخطورة المورثيّة والبيئيّة إضافة لوجود أنماط أخرى نادرة ناتجة عن طفرات وراثيّة بشكل مباشر.

يمتلك أقارب الدرجة الأولى عامل خطورة أعلى لتطوّر مرض السكّري النمط الأول بشكل أكبر من الأشخاص غير الأقارب وهذا يقترح أنّ للعوامل الوراثيّة دور في تطوّر هذا المرض، هناك أدلّة حالياً على أنّ أكثر من 20 منطقة من الجينوم البشري تتدخل في الاستعداد الوراثي لتطوّر السكّري النمط

الأول. وتعدّ المورثات الموجودة في المنطقة HLA من الصبغي 6p21.3 هي الأكثر خطورة وتأثيراً في تطوّر السكّري من النمط الأول من بين هذه المناطق المحددة حيث تحتوي هذه المنطقة على عدة مئات من المورثات المسؤولة عن إحداث رد الفعل المناعي الذاتي.

وتعدّ مورثات HLA class 2 هي الأكثر ارتباطاً بتطور المرض مثل (HLA-DR,DQ,DP) وتساهم في حوالي 40-50% من قابلية الخطورة الوراثية للسكّري النمط الأول (Pociot and McDermott 2002)

وكذلك الأمر بالنسبة للسكّري النمط الثاني فبعد جهود كبيرة تمّ التوصل إلى معرفة عدد من المورثات الموجودة على الصبغي 2 (Horikawa, Oda et al. 2000) والتي تسبّب طفراتها سواء الأحادية أو المتعددة تطور السكّري نمط ثاني حيث أنّ الطفرات الأحادية في المورثات (ATK2,PPARgamma ومورثة مستقبل الأنسولين) وهي على ندرتها مسؤولة عن عيوب إفراز الأنسولين وتطور سكّري البالغين وإحداث مقاومة شديدة لمفعول الأنسولين.

أما الطفرات متعددة الجينات فهي أقل تأثيراً في تطور المرض ومن أمثلتها المورثات (PPRA gamma,KCJN11,مورثة الأنسولين, Caplain10)

إنّ التعدّد الشكلي الطافر للمورثات قد يكون في المنطقة المشفرة أو في الأجزاء المنظمة من المورثات. (Malecki 2005)

4-1 التشخيص والمعالجة: Diagnosis and Treatment

قبل عام 2010 كان يعتمد تركيز الجلوكوز في بلازما الدم كمقياس لتشخيص السكري وفي عام 2011 أوصت منظمة الصحة العالمية WHO باعتماد تركيز خضاب الدم السكري (HbA1c) كمقياس بديل لتشخيص السكري وهو يقيس نسبة سكر الدم المرتبط بخضاب الدم.

ويعتبر التركيز 48 ميلي مول/مول للـ (HbA1c) أي 6.5% أو أكثر هو الحد الفاصل في تشخيص السكري.

حيث تعتمد المعايير التالية في التشخيص عند وجود شك في الإصابة سريريًا:

* يتم معايرة (HbA1c) فإذا كان مساوي أو أكثر من 48 ميلي مول/مول مع وجود الأعراض تشخص الإصابة بالسكري أما في حال غياب الأعراض يعاد التحليل خلال أسبوعين فإذا بقي عند نفس القيمة يشخص داء السكري وفي حال انخفاض نتيجة المعايرة إلى ما دون 48 ميلي مول/مول يعدّ المريض عالي الخطورة للإصابة وتعاد معايرة (HbA1c) عنده خلال 6-12 أشهر أو أقل في حال تطوّر الأعراض.

* وعندها إذا كانت نتيجة معايرة (HbA1c) بين (42-47) ميلي مول/مول يعدّ المريض عالي الخطورة للإصابة وينصح بنظام حياتي وقائي مع إجراء فحوص دورية لتركيز (HbA1c) سنويًا ومراقبة ظهور الأعراض، وقد نلجأ إلى اختبارات قياس سكر بلازما الدم السابقة في حال ظهور الأعراض.

* أمّا إذا كانت نتيجة معايرة (HbA1c) أقل من 42 ميلي مول/مول يبقى لدى المريض خطورة للإصابة وينصح بنظام حياة صحي وتراقب حالته السريرية ويعاد التحليل خلال 3 سنوات أو أقل حسب تطور الحالة. (World Health Organization. 2011)

أمّا المعايير السابقة لتشخيص السكّري فتتضمن ظهور أعراض السكّري من كثرة التبوّل وفقدان الوزن إضافة إلى قياس تركيز سكر بلازما الدم عشوائي ومن الوريد ≤ 11.1 ميلي مول/ليتر

أو تركيز صيامي ≤ 7.0 ميلي مول/ليتر أو بعد ساعتين من تناول 75 غ من الغلوكوز فيكون تركيز سكر البلازما ≤ 11.1 ميلي مول/ليتر

في حال عدم ظهور أعراض لا نعتمد على اختبار واحد وإنّما يعاد الاختبار على الأقل مرّة إضافية في اليوم التالي وإذا كان الاختبار العشوائي أو الصيامي غير مشخّص نلجأ للاختبار الأخير. (World Health Organization. 2011)

معالجة السكّري:

تهدف معالجة كلا نمطي داء السكّري إلى إبقاء مستويات غلوكوز الدم قريبة من المستوى الطبيعي والوصول لصحة عامة جيدة بالإضافة لمنع تطوّر الاختلاطات المتأخرة للمرض.

ويتطلب تحقيق هذه الأهداف المعالجة بالأنسولين أو بالأدوية المخفضة لغلوكوز الدم وهذا يعتمد على نمط السكّري المعالج، إضافة إلى اتباع الحمية الغذائية المناسبة ومراقبة مستويات سكر الدم بشكل مستمر وتعزيز ثقافة المريض حول مرضه ووسائل تدبيره.

يعتبر الأنسولين هو الوسيلة الفعّالة المستخدمة لتخفيض مستوى غلوكوز الدم في السكّري النمط الأول مع الأخذ بعين الاعتبار تلك العوامل المؤثّرة على جرعة الأنسولين المطلوبة مثل نوعيّة الغذاء والنشاط الفيزيائي والمرض والشدّات النفسية حيث تختلف كمية الجرعة وكذلك عدد الجرعات في اليوم باختلاف هذه العوامل.

أما في السكّري النمط الثاني فتتركز المعالجة على اكتشاف الوسيلة الأكثر فعّالية لتخفيض سكر الدم وتجنب الاختلاطات طويلة الأمد الناتجة عنه سواء بتعديل نمط الحياة أو بالمعالجة بالأنسولين أو بالمخفضات الدوائية الفموية أو أي ربط بين هذه العوامل، حيث يلعب نمط الحمية الغذائية المتّبع دور هام في التّحكم بمستوى غلوكوز وشحوم الدم وكذلك فإنّ فقدان الوزن وإجراء التمارين الرياضية اليومية يعدّ من العوامل المساعدة على تحسين حساسية الأنسجة للأنسولين. (Loghmani 2005)

5-1 المظاهر الفموية للسكّري Oral Manifestations of Diabetes

يعتبر مرض السكّري واحداً من أكثر اضطرابات الاستقلاب خطورة حيث أنّ ارتفاع سكر الدم طويل الأمد والمستمر يؤثّر على كل أنسجة وأعضاء الجسم فمن الممكن حدوث اعتلال عصبي أو كلوي أو اعتلال شبكية أو أمراض قلبية وعائية كاختلاط لداء السكّري.

ومن الاختلاطات الفموية الشائعة للسكّري التهاب الأنسجة حول السنيّة Periodontitis والفقد المبكر للأسنان كما ويرتفع مشعر اللويحة الجرثوميّة وتزيد الالتهابات اللثوية. (Straka 2011)

كذلك يعاني مرضى السكّري من جفاف الفم Xerostomia نتيجة نقص تدفق اللعاب ونقص اللعاب بدوره يهيئ لنقص تمعدن المينا وتشكل النخور السنية. (Yeh, Harris et al. 2012)

وتزيد خطورة الانتانات الفموية ويفضل إجراء فحوص السكرى عند الأشخاص المصابين بتضخم الكفة غير العرضي. (Murrah 1985)

كما لوحظ أنه تزداد نسبة الإصابة بالآفات المخاطية الفموية مثل المبيضات البيض الغشائية والضمورية والتهاب اللسان المعيني المتوسط والتهاب اللسان الجغرافي والتهاب الفم الناتج عن استعمال الأجهزة السنية والتهاب الشفة الزاوي إضافة إلى آلام المخاطية الفموية وتزيد النسبة أكثر مع التدخين واستعمال الأجهزة السنية وسوء ضبط سكر الدم. (Guggenheimer, Moore et al. 2000)

وسجلت أيضاً حالات من الإصابة بالآفات قبيل السرطانية مثل الإصابة بالحزاز المنبسط. (Saini, Al-Maweri et al. 2010)

ووجد Arap انتشار كبير للألم الفموي الوجهي والحروق الفموية عند مرضى السكرى وكذلك لاحظ ارتباط فقدان حسّ الألم مع ارتفاع سكر الدم كاختلاط لداء السكرى. (Arap, Siqueira et al. 2010)

6-1 اختلاطات داء السكرى Diabetes Complications:

يترافق داء السكرى غالباً مع العديد من الاختلاطات الطويلة الأمد ويبقى مريض السكرى سواءً من النمط الأول أو الثاني مؤهباً للإصابة بهذه الاختلاطات والتي قد تكون أحياناً خطيرة ومسببة للوفاة.

إنّ أشيع الاختلاطات المميزة لداء السكرى هو اعتلال الشبكية Retinopathy والذي يشاهد بدرجات مختلفة وذلك حسب مدّة الإصابة حيث تبدأ الإصابة على شكل أمّ دم صغيرة الحجم تتشأ من

الأوعية الشعريّة الانتهائية للشبكيّة وقد يحدث النزف وتصبح الأوعية الدموية نفوذة وترتشح منها سوائل مصلية مؤدّية لتشكل الوذمة.

وتكمن خطورة النزف والوذمة عندما تحدث في منطقة قريبة من اللطخة الصفراء حيث تتجمّع السوائل المرتشحة من الأوعية المعيبة قرب البقعة المركزية Maculae من الشبكية مشكلة عائق أمام المسار الضوئي القادم لمنطقة اللطخة مما يؤدي بدوره إلى فقدان حدّة البصر.

وفي الحالات المتطورة والشديدة لاعتلال الشبكية قد تصبح الأوعية الدموية المعيبة مغلقة ويحدث نقص التروية أو الاحتشاء في مناطق من شبكية العين. (Nathan 1993)

من الاختلالات الشائعة أيضاً لمرض السكّري هي الاعتلال الكلوي Nephropathy حيث يتطوّر بنسبة 35-45 % عند مرضى السكّري من النمط الأول وبنسبة أقل من 20% في النمط الثاني. يبدأ الاعتلال الكلوي المشخّص سريرياً بظهور بيلة ألومينية قليلة بعد حوالي 5 سنوات من بدء المرض وبعد 5-10 سنوات تالية تصبح البيلة البروتينية واضحة وترتفع نسبة البروتينات في البول لتزيد عن 500 ملغ في اللتر خلال 24 ساعة وكذلك يتطوّر ارتفاع ضغط الدم مما يعطي الإنذار بتفاقم الاعتلال الكلوي لدى المريض. ففي المراحل التّالية يحدث تمدّد بالكبيبات الكلوية وتسمك بالغشاء القاعدي والنسيج الميزانثيمي حولها مما قد يؤدّي إلى انغلاق بعض الكبيبات وتصلّبها وفي حال عدم قدرة ما تبقى من الكبيبات الكلوية على المعاوضة ينتهي الأمر بكلّي ضامرة وكبيبات متليفة غير وظيفية. (Nathan 1993)

وكذلك يعاني مريض السكّري عادة من الاعتلالات العصبية Neuropathy حيث يعدّ الاعتلال العصبي الحسيّ الحركي المحيطي المتناظر هو الأكثر شيوعاً والذي يوصف بضعف التوصيل

العصبي الحسي الحركي عند غالب المرضى بعد 5-10 سنوات من الإصابة حيث تظهر أعراض التَّمَل والخدر. وبعد فقدان الحس في القدم هو أكثر مخاطر الاعتلال العصبي المحيطي لما ينتج عنه من رضوض وآفات تقرحية. وقد يترافق الاعتلال العصبي المحيطي عند بعض مرضى السكري بالألم الحارق المزعج.

كما وترتفع نسبة الإصابة بأمراض القلب وأمراض الشريان الاكليلي عند مرضى السكري. (Nathan 1993)

2- إحداث السكري بالألوكسان عند حيوانات التجربة Induction of Alloxan Diabetes :

1-2 تعريف مادة الألوكسان Alloxan Definition :

الألوكسان مادة كيميائية تستخدم بشكل بارز كعامل محدث للسكري (Diabetogenic Chemical Agent) في الأبحاث التجريبية المجرة عن مرض السكري حيث تتمتع هذه المادة بخواص سميّة انتقائيّة تجاه خلايا بيتا في المعنكلة وهي الخلايا المنتجة للأنسولين مما يسمح بإحداث داء السكري عند حيوانات التجربة. (Lenzen 2007)

2-2 التركيب الكيميائي للألوكسان Chemical Structure of Alloxan :

الصيغة الكيميائية $C_4H_2N_2O_4$ (Mohammed, Yaqub et al. 2013)

تتصف مادة الألوكسان بخواص مؤكسدة قويّة ويتمّ تحضيرها كيميائياً عن طريق أكسدة حمض البول (C5H4N4O3) بحمض الآزوت (NH3O) فينتج مادة الألوكسان واليوريا. (Cavalieri and Brown 1948)

3-2 آلية تأثير الألوكسان The Mechanisms of Alloxan:

تعتمد آلية الألوكسان على إحداث سمية انتقائية في الخلايا بيتا في المعنكلة عن طريق ميل جزيئات الألوكسان لتتجمع وتتراكم في الخلايا بيتا في المعنكلة.

إن وجود جزيئات الألوكسان داخل الخلايا بيتا مع بعض الجذور الأخرى وخاصة الغلوتياتيون يولد مركبات أكسجينية تفاعلية إضافة لإنتاج dialuric acid الذي يولد تأكسده الذاتي جذور فوق الأكاسيد و فوق أكسيد الهيدروجين وفي نهاية التفاعل يعطي جذور الهيدروكسيل.

هذه الجذور الهيدروكسيلية هي المسؤول الأساسي عن موت الخلايا بيتا بسبب انخفاض قدرتها الدفاعية المضادة للأكسدة نسبياً مما ينتج عنه حالة السكرى المحدث بالألوكسان.

كما يستطيع الألوكسان أن يثبط انتقائياً إفراز الأنسولين المحرّض بوجود السكر من خلال قدرته على التثبيط النوعي لأنزيم الغلوكوكيناز Glucokinase وهو بروتين ناقل للإشارة تفرزه الخلايا بيتا لتحسس وجود السكر حيث يتم تثبيطه من خلال أكسدة مجموعات الجذور الوظيفية الأساسية في هذا البروتين مما ينتج عنه فقد وظيفة الأنزيم وتراكم السكر. (Lenzen 2007)

3- الغدد اللعابية Salivary Glands:

3-1 أنواع الغدد اللعابية:

تصنّف الغدد اللعابية حسب حجمها وكميّة إفرازها إلى غدد لعابية كبيرة وصغيرة وكلا النوعين من الغدد يتكوّن من نفس أنواع الخلايا (مصلية , مخاطية أو كليهما)

يوجد في جسم الإنسان ثلاثة أزواج من الغدد اللعابية الكبيرة Major Salivary Glands وهي اللّكفة Parotid وتحت الفك Submandibular وتحت اللسان Sublingual ، وتتوضّع هذه الغدد خارج الحفرة الفموية وتتصل بها من خلال أفنيّتها المفرغة.

إضافة إلى غدد لعابية صغيرة Minor Salivary Glands تتوضّع في مناطق مختلفة من الحفرة الفموية في الطبقة تحت المخاطية Submucosal Layer ، ولهذه الغدد الصغيرة أفنية قصيرة تفتح مباشرة على سطح المخاطية. (Nanci 2013)(Hellquist and Skalova 2014)

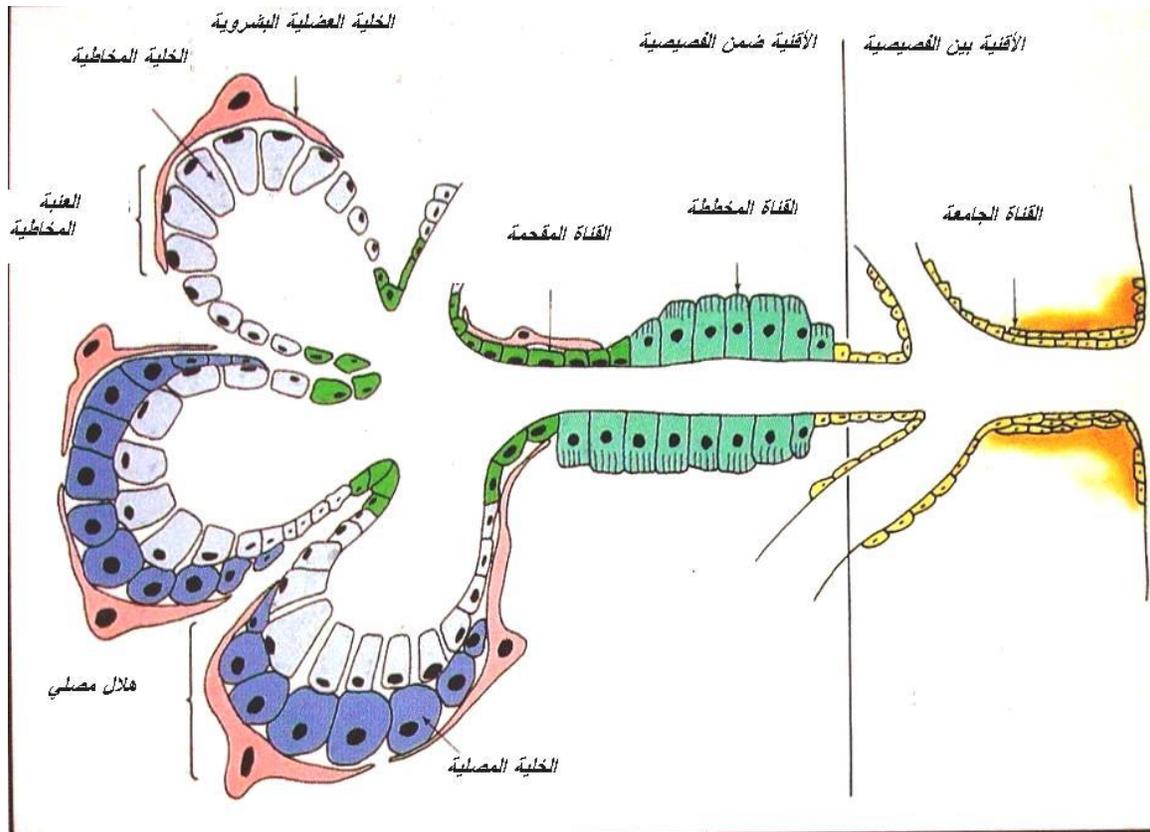
3-2 لمحة نسيجية عامة عن الغدد اللعابية Histology:

تتألّف الغدة اللعابية من عنبات أو وحدات نهائية مفرزة أنبوبية أو كرويّة spherical or tubular secretory endpieces تتصل بسلاسل من الأفنية المتفرعة Branched ducts مشابهة بذلك عنقود العنب وتفرّعاته حيث تشبه الفروع بالأفنية وحبّات العنب بالعنبات.

تتمادى لمعة العنبات مع الجزء الأولي من الجهاز القنيوي المسمى بالأفنية المقحمة Intercalated ducts التي تتجمّع لتشكّل أفنية أكبر تسمّى الأفنية المخطّطة Striated ducts والتي تشكّل معظم الجهاز القنيوي ضمن الفصيصي Intralobule وتلعب دوراً رئيسياً في تعديل

اللحباب الأولي المفرز من العنبات، وتتجمع هذه الأفتنية بدورها لتشكل الأفتنية المفرغة بين الفصيصية Interlobule والتي تتحد بدورها أيضاً لتشكل الأفتنية المفرغة بين الفصيّة Interlobe، وتنتهي الأخيرة بالقناة المفرغة الرئيسية للغدة والتي تفتح على الحفرة الفموية، الشكل (1).

وتوجد في بعض الغدد قننات بين خلوية Intercellular Canaliculi وهي عبارة عن امتدادات صغيرة من اللمعة توجد بين الخلايا المتجاورة ومن المحتمل أن هذه القننات تصل إلى قاعدة الخلايا المفرزة وتعمل على زيادة حجم الإفرازي للخلايا. (Nanci 2013)



الشكل(1)صورة ترسيمية توضح الوحدة الوظيفية في الغدة اللعابية (Berkovitz, Holland et al. 2002)

3-2-1 الخلايا المفرزة Secretary Cells:

يوجد نوعان رئيسيان من الخلايا المفرزة في الغدد اللعابية وهما: الخلايا المخاطية Mucous cells والخلايا المصلية Serous cells، الشكل (2). وتوجد بينهما فروقات في البنية والمظهر النسيجي وفي نوع المفرزات الناتجة عنها. (Nanci 2013) (Hellquist and Skalova 2014)

الخلايا المصلية Serous cells:

هي خلايا ذات شكل هرمي تجاور قاعدتها العريضة للحملة الضامة بينما تطلّ قمتها الضيقة على اللمعة حيث تجتمع كل 8-12 خلية حول لمعة لتشكل العنبات المصلية كروية الشكل ولللمعة امتدادات أصبعية ضيقة تمتد بين الخلايا المتجاورة لزيادة السطح الإفرازي تسمى Intercellular canaliculi، تتوضع أنوية الخلايا المصلية في الجزء القاعدي من الخلية أما الحبيبات الإفرازية فتوجد في القسم العلوي من هيولى الخلية حيث يفرز المصل من هذه الخلايا. (Nanci 2013)

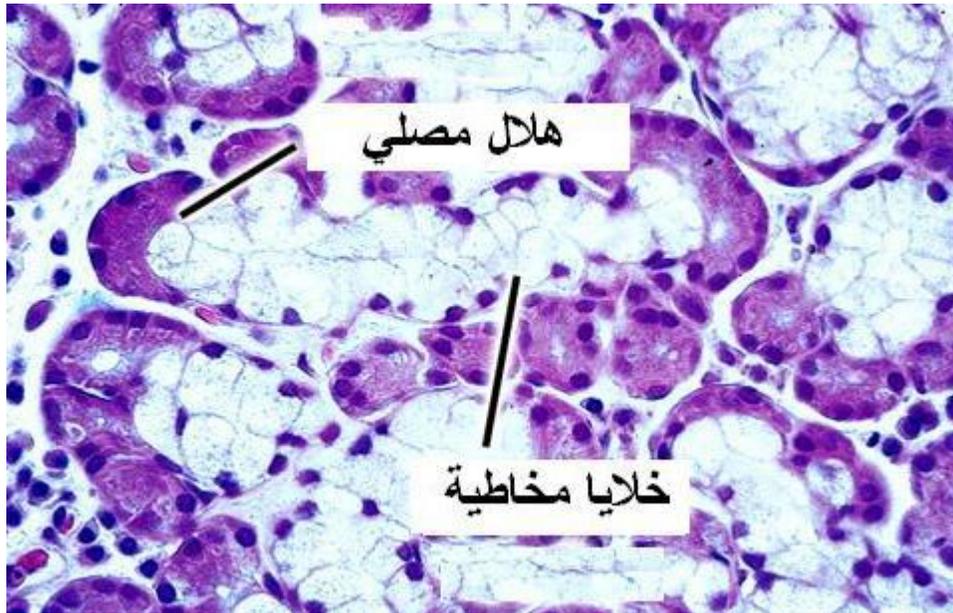
الخلايا المخاطية Mucous cells:

تأخذ العنبات المفرزة المخاطية الشكل الأنبوبي Tubular وتترافق في الغدد اللعابية الكبيرة وبعض الغدد اللعابية الصغيرة مع خلايا مصلية على شكل هلال Demilune يحيط بالخلايا المخاطية عند نهاية الأنبوب، وتأخذ هذه الوحدات الأنبوبية بالمقطع العرضي شكل دائري حيث تظهر الخلايا المخاطية محيطة بلمعة مركزية مشكّلة عنبة حجمها أكبر من حجم العنبة المصلية.

وأهم ما يميز الخلايا المخاطية هو تجمع كميات كبيرة من المخاط في القسم العلوي من هيولائها إذ تضغط على النواة والشبكة الهيولية باتجاه قاعدة الخلية وتظهر هذه المفرزات عديمة اللون في التلوين

التقليدي، وتتميز هذه الخلايا بجهاز كولجي ضخم يتوضع قاعدياً بالنسبة للحبيبات الإفرازية ولا تحتوي الخلايا المخاطية على قنيات بين خلوية باستثناء الخلايا المحاطة بالهلال المصلي. (Nanci)

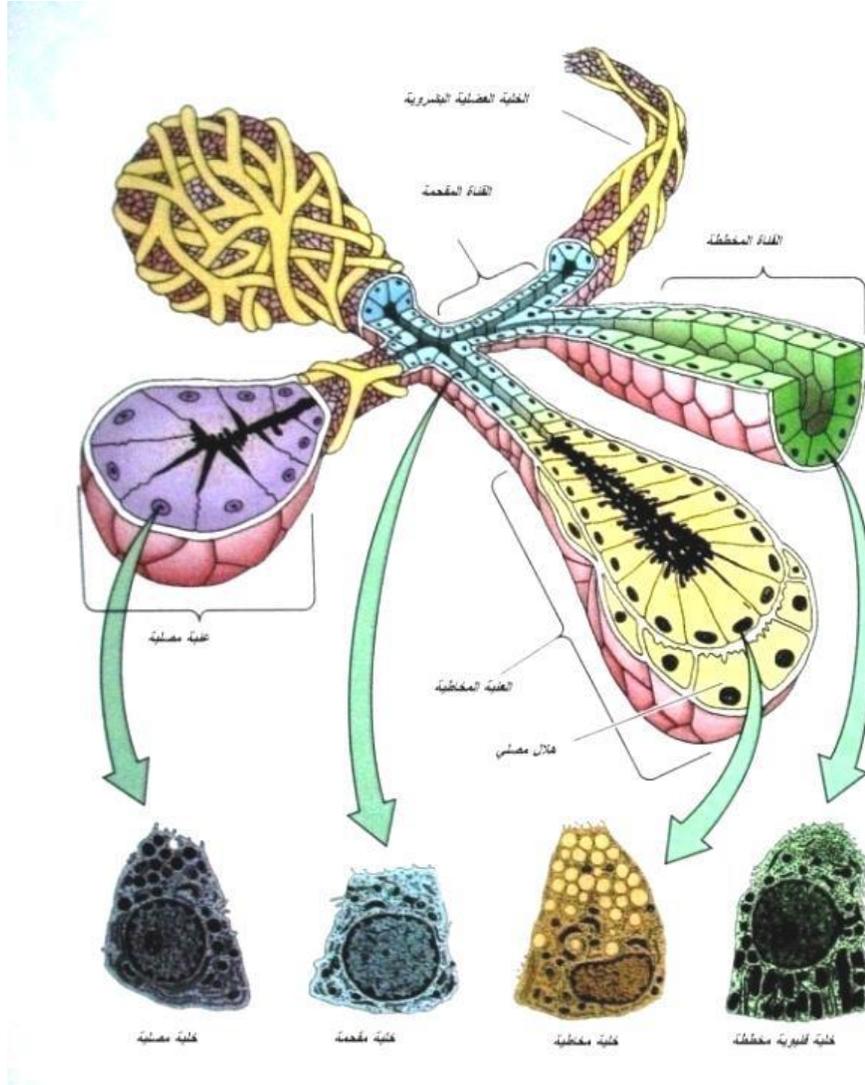
(2013)



الشكل(2) صورة نسيجية تبين الخلايا المخاطية والمصلية في الغدة تحت الفك (Nanci 2013)

2-2-3 الجهاز القنوي Ductal System:

إنّ الأَقنية هي شبكة من الأنابيب يزداد قطرها بدءاً من العنابت المفرزة وانتهاءً بالحفرة الفموية وهناك ثلاثة أنواع من الأَقنية: الأَقنية المخصوصة Intercalated duct والمخطّطة Striated duct والمفرغة Excretory duct، الشكل (3). (Nanci 2013)



الشكل (3) أنواع و أشكال الخلايا المكونة للغدد اللعابية

3-2-3 الخلية العضلية البشرية Myoepithelial cell:

هي خلية تترافق مع الأجزاء المفرزة والأقنية المخصوصة في الغدد اللعابية تتوضع بين الصفيحة القاعدية وخلايا العنبات أو الأقنية وتتصل بها عن طريق جسيمات الوصل وتمتلك الخلايا الموجودة حول العنبات شكلاً نجمياً إذ تمتد تفرعات كثيرة من جسم الخلية لتحيط وتعانق الجزء المفرز وتمتلئ هذه التفرعات بليبفات الأكتين والميوزين ويحتوي الغشاء الخلوي على فجوات كثيرة لها دور في بدء

التقلص ويوجد العديد من المتعضيات الخلوية في الهيولى حول النواة، أما الخلايا حول الأقفنية المخصوصة فإنها أكثر مغزلية وأقل تفرعاً وتمتد متطاولة مع القناة.

ويعتقد أنّ التقلص يؤمّن دعماً للأجزاء المفترزة خلال إفراس اللعاب ويساعد الخلايا في إطراح اللعاب الأولي من الجزء المفرز إلى الجهاز القنيوي، وربما تعمل الخلايا المحيطة بالأقفنية المخصوصة على تقصيرها وتوسيعها لتؤمّن انفتاحها. إلا أنّ هناك أبحاث متعددة تبين أنّ لهذه الخلية وظائف أخرى أهم من التقلص إذ تلعب هذه الخلية دوراً هاماً أثناء التطور الجنيني للغدة اللعابية يساهم في إعطاء الغدة شكلها المتفرع Branching morphogenesis، كما تعرّز تمايز الخلايا البشرية وتحافظ على استقطابها ولذا فهي تحافظ على الهندسة النسيجية للعبات. (Nanci 2013) (Hellquist and Skalova 2014)

3-2-4 النسيج الضام Connective Tissue:

يتألف النسيج الضام من المحفظة التي تحيط بالغدة اللعابية من الخارج وتفصلها عن النسيج المجاورة وتمتد من هذه المحفظة حواجز ضامة تقسم الغدة إلى فصوص وفصيصات، تحتوي هذه الحواجز على الأعصاب والأوعية الدموية التي تغذي البرانشيم إضافة إلى الأقفنية المفرغة. (Nanci 2013)

3-3 لمحة تشريحية ونسجية لكلّ غدة لعابية:

الغدة النكفية Parotid Gland:

- هي الغدة الأكبر بين الغدد اللعابية وتعطي 25% من مجمل اللعاب فقط.
- تتألف من جزأين سطحي تحت الجلد وعميق خلف رَأد الفك السفلي تتوضع في الناحية الجانبية للوجه أمام الأذن وهناك جزء ثالث (لاحق) يظهر عند 10% من البشر على مسار قناة الغدة عند العظم الوجني.
- تزن الغدة حوالي 14-28 غ وتحتاط بمحفظة ليفية ضامة كما تمتد قنواتها (قناة ستنسون Stensen s duct) على السطح الخارجي للعضلة الماضغة لتلتف عند حافتها الأمامية مارة من العضلة المبوقة وتفتح على التجويف الفموي في حليلة مقابل الرحي الثانية العلوية.
- مفرز هذه الغدة مصلي صرف ويحتوي القليل من المخاط عند حديثي الولادة حيث تلاحظ العنبات الغدية المصلية فقط في بنيتها النسيجية، وغالباً ما نشاهد النسيج الشحمي في الغدة.
- وهي المسؤولة عن الحصيل اللعابي الأعلى أثناء تناول الطعام. (Nanci 2013)
(Hellquist and Skalova 2014)

الغدة تحت الفك السفلي Submandibular Gland:

- تتوضع في القسم الخلفي من أرضية الفم على السطح الأنسي للفك السفلي وتلتف خلف الحافة الخلفية للعضلة الضرسية اللامية.

- وتكون بحجم متوسط وتعطى 60% من اللعاب تزن حوالي 10-15 غ.
- تعطى مزيج من الإفراز المصلي المخاطي غالبية مصلي أي أنّ مفرزها مختلط 80% مصلي و20% مخاطي.
- محاطة بمحفظة لكنها سهلة الانفصال عن الغدة.
- تمر قنواتها المفرغة والمسامة بقناة وارنون Whartons duct أمامياً على الضرسية اللامية وتفتتح على حليلة داخل الفم على جانبي لجام اللسان.
- وهي المسؤولة عن الحصيل اللعابي الأعلى اليومي وخارج أوقات تناول الطعام. (Nanci (Hellquist and Skalova 2014) (2013)

الغدة تحت اللسان Sublingual Gland:

- هي الغدة الأصغر بين الغدد اللعابية الرئيسية تزن حوالي 2 غ وتساهم بـ 5% من اللعاب، إفرازها مخاطي صافي تقريباً.
- تنتوضع في القسم الأمامي من أرضية الفم بين الغشاء المخاطي والضرسية اللامية.
- وتصبّ مفرزات الغدة في الحفرة الفموية من خلال سلسلة من القنوات الصغيرة (قنوات رفينوس Ducts of Rivinus) من 8_10 أقتنية المفتوحة على طول الطية تحت اللسانية وغالباً من خلال قناة أكبر تسمى قناة بارتولين Bartholins duct التي تفتح مع قناة الغدة تحت الفك في الميزاب تحت اللساني. (Nanci (Hellquist and Skalova 2014) (2013)

الغدد اللعابية الثانوية Minor Salivary Glands :

- يقدر عددها بـ 600_1000 توجد بشكل مجموعات منفصلة من النسيج المفرزة تحت الغشاء المخاطي متوزعة في معظم أنسجة التجويف الفموي عدا: 1- اللثة الملتصقة 2- الحنك الصلب (الثلاث الأمامي)، تفرز 10% من اللعاب.
- وهي تصنف حسب موقعها إلى: شفوية Labial وخدبية Buccal ولسانية Lingual وحنكية لسانية Glosspalatine وخلف رحوية Retromolar.
- كما تصنف إلى مخاطية ومصلية ومختلطة حسب إفرازها، تعطي كمية مشابهة للغدة تحت اللسانية من اللعاب، أغلبها من النوع المخاطي مع بعض استثناءات كغدد فون ايبنر Von Ebners Glands في اللسان فإنها مصلية وتفتح على الغوثرات حول الحليمات الكأسية. (Nanci 2013) (Hellquist and Skalova 2014)

3-4 البنية التشريحية للغدد اللعابية عند الأرانب:

يوجد عند الأرانب أربعة أزواج من الغدد اللعابية: النكفية وتحت الفك وتحت اللسان والوجنية تقع الغدة النكفية وهي الأكبر إلى الأمام و الأسفل من قاعدة الأذن بين الجلد والعضلة الماضغة حيث تكون مغروسة في النسيج الشحمي تحت الجلد في المنطقة الوحشية للعنق وتمتد قنواتها المفرغة على طول السطح الجانبي للعضلة الماضغة بالقرب من تفرعات العصب الوجهي وتفتح في جوف الفم مقابل الرحي العلوية الأخيرة، إنَّ الحجم الكبير للغدة النكفية وإمكانية الوصول لقنواتها المفرغة يجعلها نموذج جيد وشائع الاستخدام في الأبحاث العلمية.

الغدة تحت الفك لها شكل بيضوي محفظة وتقع عند زاوية الفك السفلي.

الغدة تحت اللسان صغيرة عند الأرنب. الغدة اللعابية الوجيهة غير موجودة عند العديد من الحيوانات الأخرى وهي غير موجودة عند البشر وتمتد تحت الغدة الدمعية مباشرة في الزاوية الأمامية البطنية للحجاج. (Suckow, Stevens et al. 2012)

نسيجياً: تظهر الغدة النكفية مجهرياً عند الأرانب بنية فصيصية تفصل بينها حجاباً ضامّة وتتألف بشكل أساسي من عنبات مصلية صرفة ذات لمعة ضيقة ومبطّنة بخلايا هرمية الشكل لها نواة مدورة قاعدية التوضع، وتظهر الغدة تحت الفك محاطة بمحفظة ضامة كثيفة ترسل حجاباً تقسمها إلى فصيصات متعددة الأشكال والحجم ولا يشاهد النسيج الشحمي الذي يعتبر مظهر مميز للنكفة، تتألف الفصيصات من عنبات مختلطة مصلية ومخاطية ونادراً ما يشاهد عنبات مخاطية محاطة بأهلة مصلية، أما الغدة تحت اللسان فتتألف من عنبات مختلطة تغلب عليها العنبات المخاطية بشكل أساسي مع قليل من الأهلة المصلية. (AL-SAFFAR and SIMAWY 2014)

يوجد نوع من الأفتنية موجود فقط عند الأرانب في الغدة الوجيهة وبعض القوارض الأخرى وغير موجود عند البشر يدعى الأفتنية الحبيبية granular ducts. (Amano, Mizobe et al. 2012) (Gargiulo, Ceccarelli et al. 1996).

4- القالب خارج الخلوي للنسيج الضام Extracellular Matrix of Connective Tissue

تعدّ الأنواع المختلفة للنسيج الضام مسؤولة عن تأمين شكل الجسم والمحافظة عليه. ومن الناحية الوظيفية الميكانيكية يؤمّن النسيج الضام القالب الذي يربط الخلايا والأعضاء ويعطي الدّعم للجسم.

بنيويًا: يُشكّل النسيج الضام من ثلاثة مكونات: الخلايا Cells والألياف Fibers والمادة الأساسية Ground Substance، وبشكل غير مشابه للنسيج البشري والعضلي والعصبي والتي تتألف بشكل أساسي من الخلايا فإن المكوّن الأساسي للنسيج الضام هو القالب خارج الخلوي Extracellular matrix بمكوّنيه الألياف البروتينية المختلفة Protein Fibers والمادة الأساسية. (Mescher 2013)

1-4 أهم مكونات القالب خارج الخلوي Extracellular Matrix Components:

تعدّ الخلايا المصورة للليف Fibroblasts هي الأشيع في النسيج الضام و تكون مسؤولة عن تركيب مكونات القالب خارج الخلوي حيث تركّب الخلايا المصورة للليف الكولاجين والمرنين والغليكوزامينوغليكانات والبروتينات السكرية المتعددة اللصوقة. يلاحظ في فعالية هذه الخلايا مرحلتين مرحلة نشاط و مرحلة هدوء. حيث يتميّز شكل الخلايا التي تمارس نشاطاً تركيبياً بوضوح عن الخلايا الساكنة والتي تكون مبعثرة ضمن القالب الذي رُكّب للتو. (Mescher 2013)

يتألف القالب خارج الخلوي من ألياف بروتينية مختلفة (غرائية، شبكية، ومرنة) و مادة أساسية. الألياف Fibers: تتألف بشكل أساسي من الكولاجين، تؤلّف الأوتار والصفاق ومحفظات الأعضاء، والأغشية التي تضمّ الجهاز العصبي المركزي (أغشية الدماغ). تؤلّف أيضاً الحواجز والجدران داخل العديد من الأعضاء، مشكّلة المكون الأكثر مقاومة للحمة الضامة Stroma أو النسيج الداعم للأعضاء.

المادة الأساسية Ground Substance: هي معقد لزج محب للماء بشدة يتألف من جزئيات شاردية كبيرة (غليكوزأمينوغليكانات وسكريات بروتينية) وبروتينات سكرية متعددة لصوقه (اللامينين والفيبرينوكتين وأخرى) والتي تمنح القوة والصلابة للقالب بواسطة الارتباط بمستقبلات بروتينية (Integrins) على سطح الخلايا وبالمكونات الأخرى للقالب. إضافة إلى وظيفتها البنوية، فإنّ جزئيات النسيج الضام تفيد في وظائف حيوية أخرى هامة كاحتياطي لهرمونات توجيه نمو الخلايا وتمايزها.

يعمل القالب خارج الخلوي للنسيج الضام أيضاً كوسيط يتمّ عبره تبادل المواد الغذائية والفضلات بين الخلايا وترويتها الدموية.

يعكس تنوع أنماط النسيج الضام في الجسم اختلافات في المكونات وكميات العناصر الرئيسية (الخلايا والألياف والمادة الأساسية) و التي تكون مسؤولة عن البنية الاستثنائية والوظيفية للنسيج الضام. (Mescher 2013)

2-4 بنية الغشاء القاعدي

الصفحة القاعدية، الغشاء القاعدي

Basal Lamina ,Basement Membrane

تتفصل الخلايا البشرية عن النسيج الضام المتوضع تحتها بطبقة من المواد خارج الخلية هي الصفحة القاعدية Basal Lamina وهو طبقة لاخلوية غنيّة بعديدات السكاكر البروتينية ذات ثخانات متنوعة.

ومن الصعب تمييز الغشاء القاعدي في المجهر الضوئي بسبب رقيقته من جهة وتلونه الخفيف بالأبوزين من جهة ثانية والذي يجعله غير قابل للتمييز عن بقية مكونات النسيج الضامة المجاورة له أشار الفحص بالمجهر الإلكتروني للغشاء القاعدي إلى وجود:

- طبقة كثيفة بثخانة 20-100 نانومتر مكونة بشكل أساسي من البروتيوغليكان لاسيما سلفات الهيباران وسلفات الكوندرويتين كما تحتوي على شبكة من اللييفات الرقيقة هي لييفات الكولاجين نمط IV الغنيّة بهيدروكسي البرولين وهيدروكسي الليزين تدعى الصفيحة القاعدية Basal Lamina أو الصفيحة الكثيفة Lamina densa.

- يوجد بين الصفيحة القاعدية وخلايا الظهارة منطقة نيرة تدعى الصفيحة النيرة Lamina lucida تتضمن خيوطاً دقيقة من اللامين تشكل جسوراً فوق المنطقة النيرة وتعمل على ربط الغشاء الهولي للخلية بالصفيحة القاعدية.

- ويوجد في الجهة المقابلة للصفيحة القاعدية باتجاه النسيج الضام لييفات الاتصال Anchoring fibrils أو اللييفات الدقيقة Micro fibrils وهي لييفات الكولاجين نمط VII تربط قالب الصفيحة القاعدية مع النسيج الضام أو الصفيحة الشبكية Reticular lamina التي تتوضع تحتها والمكونة من لييفات الكولاجين نمط III.

- طبقة الألياف الشبكية Reticular lamina التي تنشأ من النسيج الضام وليس من الخلايا الظهارية.

إنّ مفهوم الغشاء القاعدي والصفحة القاعدية هما مفهومان لبنية واحدة فالمفهوم الأول يتوافق مع التوصيفات التي قدّمها المجهر الضوئي بينما جاء الثاني مع توصيفات المجهر الإلكتروني للطبقة الكائنة بين الظهارة والنسيج الضام.

لكن هناك فريق من الباحثين يشير إلى أنّ الغشاء القاعدي لا يشتمل على الصفحة القاعدية فحسب بل أيضاً على طبقة إضافية من اللييفات الكولاجينية من النمط III تشكل الصفحة الشبكية Reticular lamina.

توجد الصفائح القاعدية ليس فقط في النسيج البشري وإنما أيضاً عندما تتواجد باقي أنماط الخلايا بتماس مع النسيج الضام مثل: حول العضلات، خلايا شوان في النسيج العصبي. (Junqueira

; Gartner and Hiatt 2012 and Carneiro 2005

3-4 تأثير السكرى على مكونات القالب خارج الخلوي:

يرتبط مرض السكرى بالعديد من تبدلات القالب خارج الخلوي للنسيج الضام حيث يحدث اضطراب في تركيب وتوضع بروتينات المادة الأساسية والألياف الكولاجينية والمرنة، وهذا عائد إلى تأثيره على تعبيرية المورثات المشفرة لبروتينات القالب خارج الخلوي.

ففي حالة الاعتلال الكلوي المرافقة عادةً لداء السكرى يحدث تسمك في الغشاء القاعدي للأوعية الكبيبية Glomerular basement membrane وتزداد بروتينات القالب خارج الخلوي للنسيج الميزانشيمي حولها وتتمدد مما يسبب ضغط على الأوعية الشعرية الكبيبية Glomerular capillaries وبالتالي ينقص السطح المتوفر للتشريح وقد تضيق اللمعة أو تتعدم. (Mason and

(Wahab 2003

وكذلك ففي حالة اعتلال الشبكية أظهر التلوين المناعي النسيجي لبروتينات الغشاء القاعدي للأوعية الدموية لشبكية العين ترافق تغير الخواص الفيزيولوجية والشكلية للغشاء القاعدي مع تغير تركيبه الكيميائي الحيوي حيث زادت نسبة بروتينات الأجرين Agrin والفيبرونكتين Fibronectin والتينسين Teascin مقارنةً مع الغشاء القاعدي للأوعية الدموية السليمة. (To, Goz et al. 2013)

كما وأثبتت دراسة أجريت على حيوانات التجربة حدوث تبدل في استقلاب الكولاجين من النمط الأول والثالث وزيادة المحتوى السكري لجزيئات الكولاجين عند الإصابة بالسكري إضافة إلى تغير محتوى المادة الأساسية من جزيئات الغلوكوزامينوغليكانات. (Muona, Jaakkola et al. 1989)

5- بروتين الكولاجين Collagen

5-1 تعريف الكولاجين وأهميته:

تتكون الأنماط الرئيسية الثلاثة للألياف في النسيج الضام (الكولاجينية Collagen والشبكية Reticular والمرنة Elastic) بدءاً من البروتينات التي تتكثف و تتبلر لتأخذ شكل بنيوي متطاول حيث يشكل بروتين الكولاجين الوحدة الأساسية للألياف الكولاجينية والشبكية ويشكل بروتين المرين أساس الألياف المرنة. ويعتبر نمط الألياف الغالب على النسيج الضام مسؤولاً عن الخواص النوعية لهذا النسيج.

يؤلف الكولاجين عائلة من البروتينات البنائية تتطور أثناء عملية تشكّل المتعضيات متعددة الخلايا وتتعدّل بتأثيرات بيئية ومتطلبات وظيفية للحياة العضوية، فتكتسب درجات متفاوتة من الصلابة

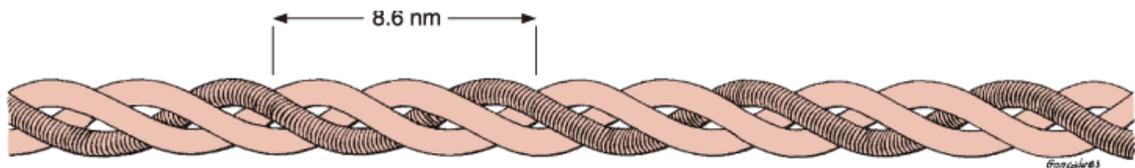
والمرونة والقوة وذلك حسب موقعها مثل في الجلد والعظم والغضروف والعضلات والملساء والطبقة القاعدية.

يعدّ الكولاجين البروتين الأكثر غزارة في الجسم الإنساني ويمثّل 30 % من وزنه الجاف. وتشمل عائلة الكولاجين أكثر من 28 نمط والتي تنتج من قبل أنواع مختلفة من الخلايا و تتميز بمركّباتها الجزيئية و صفاتها الشكّلية وتوزّعها ووظائفها وآلياتها المرضية. (Mescher 2013).

2-5 آلية تصنيع الكولاجين :

إنّ الحموض الأمينية الأساسية لتصنيع الكولاجين هي الغليسين (33.5%) والبرولين (12%) والهيدروكسي برولين (10%). كما ويميّز هذا البروتين وجود هيدروكسي البرولين Hydroxyproline وهيدروكسي الليزين Hydroxylysine.

تدعى وحدة البروتين التي تتجمّع لتشكل ليفات الكولاجين وهي جزيء متطاول بالتروبوكولاجين Tropocollagen، والذي يقيس 280 نانومتر في الطول و 1.5 نانومتر في العرض. يتألف التروبوكولاجين من ثلاث سلاسل متعدد الببتيد التي تتداخل بشكل حلزوني ثلاثي، الشكل (4) وتعدّ الاختلافات في البنية الكيميائية لسلاسل متعدد الببتيد مسؤولة عن التنوع في الكولاجين. (Junqueira and Carneiro 2005)



الشكل(4) يوضّح جزيئة التروبوكولاجين.

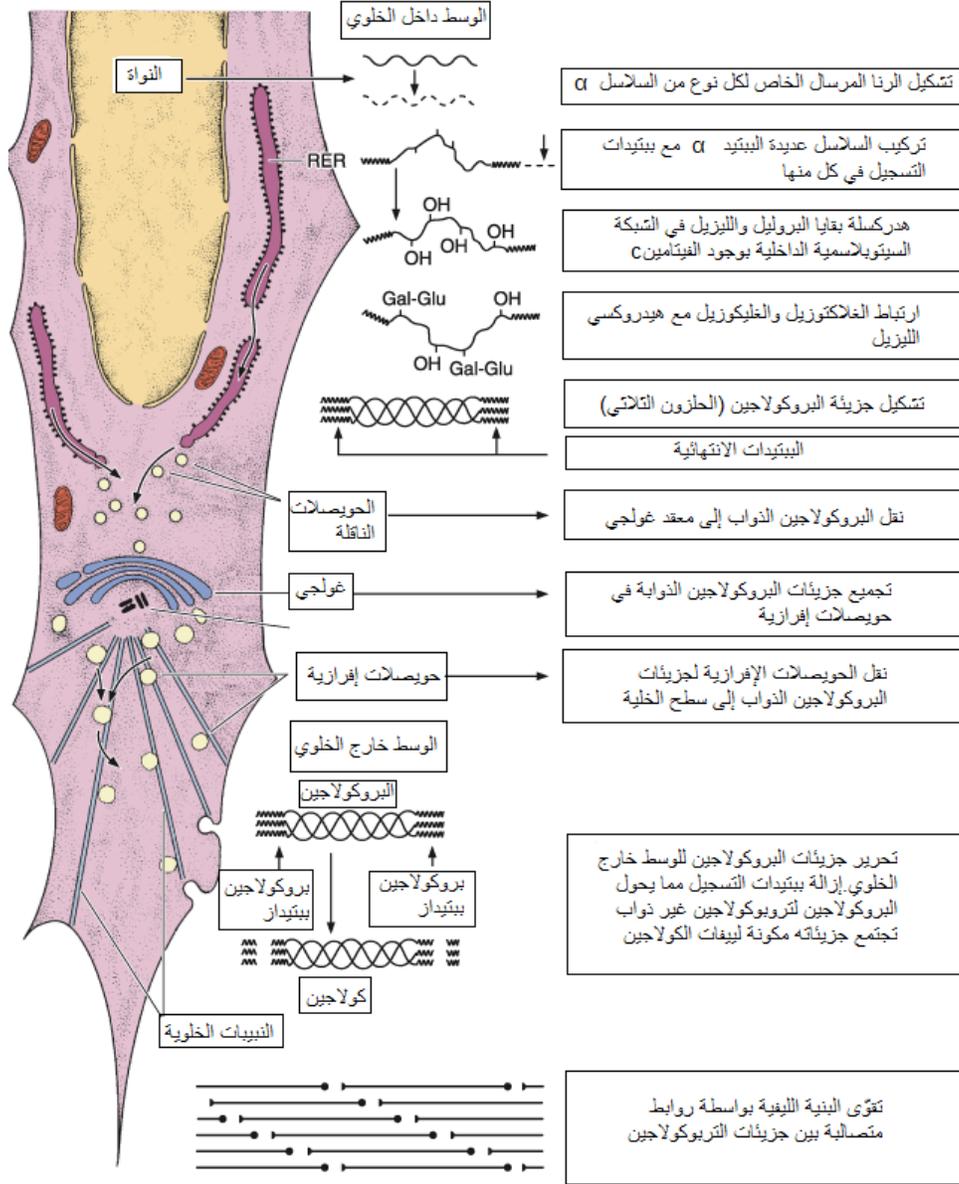
يتضمن تركيب الكولاجين العديد من الخطوات، و التي تلخص بالشكل التالي:

ضمن الخلية:

- 1- بداية يتم تركيب سلاسل متعددة الببتيد على ريبوزومات متعدّدة مرتبطة بغشاء الشبكة السيتوبلاسمية الداخلية للخلية وتحقن ثلاث سلاسل بشكل جزيئة بروكولاجين Procollagen
- 2- وبعد أن تصل كل سلسلة من السلاسل متعددة الببتيد المركّبة إلى الطول المحدد تحدث عملية هدركسلة للأحماض الأمينية البرولين والليزين في كل سلسلة وذلك بوساطة أنزيمين هما البرولين الببتيدي المهدركسل Peptidyl proline hydroxylase والليزين الببتيدي المهدركسل Peptidyl lysine hydroxylase.
- 3- وبعد عملية الهدركسلة يتم ارتباط الجلوكوز حيث تمتلك الأنواع المختلفة من الكولاجين كميات مختلفة من الكربوهيدرات على شكل الغلاكتوز أو غليكوزيل الغلاتوز مرتبطة بالهيدروكسي ليزين
- 4- تضمّ كل سلسلة مركبة من سلاسل عديدات الببتيد زيادة في طول الببتيدات تدعى بببتيدات التسجيل Registration peptides عند النهايتين الأمينة والكاربوكسيلية على حد سواء وهي تضمن التوضّع الصحيح للسلاسل متعددة الببتيد لتكوّن الحلزون الثلاثي. إضافة إلى ذلك، فإنّ الببتيدات الزائدة تجعل من جزيئات البروكولاجين procollagen molecule قابلة للذوبان وتمنع تراكبها داخل الخلوي قبل النضج وترسبها كليفات كولاجيلنية. ثم ينقل البروكولاجين خارج الخلية إلى القالب خارج الخلوي.

خارج الخلية :

- 5- خارج الخلية، يقوم بروتياز خاص يدعى بروكولاجين ببتيدياز Procollagen peptidases بإزالة ببتيديات التسجيل ويكون البروتين المعدل والمعروف باسم التروبوكولاجين Tropocollagen قابل للتجمّع بشكل ليفيات كولاجينية. تساهم بقايا الهيدروكسي برولين في استقرار الحلزون الثلاثي لجزئية تروبوكولاجين عن طريق تشكيل روابط هيدروجينية بين سلاسلها متعددة الببتيد.
- 6- تتراكم ليفيات الكولاجين بشكل عفوي مشكّلة الألياف. وتلعب البروتيوغليكانات والجليكوبروتينات البنيوية دوراً هاماً في تجميع جزيئات التروبوكولاجين لتشكّل الليفيات وكذلك في تشكل الألياف الكولاجينية بدءاً من الليفيات.
- 7- تُقوّى البنية اللييفية بواسطة روابط متصالبة تشاركية بين جزيئات التروبوكولاجين. (Gartner and Hiatt 2012) الشكل (5).



الشكل (5) مراحل تصنيع الكولاجين

تعدّ هذه الطريقة هي الآلية الأساسية لتشكيل كل أنماط الكولاجين والتي تختلف عن بعضها بالبنية الكيميائية للمتعدي الببتيد البروكولاجين أي باختلاف ترتيب الحموض الأمينية في السلاسل المكونة له وكذلك تختلف بطريقة تجمع جزيئات الثروبوكولاجين الناتجة مع بعضها. (Junqueira and

(Carneiro 2005

3-5 أنماط الكولاجين Collagen Types:

- **الكولاجين الذي يشكل ليفيات طويلة Collagen fibers:** تتراكم جزئيات التروبوكولاجين حتى تتشكل ليفيات تصبح مرئية بالمجهر الالكتروني. هكذا يشكّل الكولاجين نوع 1 والكولاجين نوع 2 و3 و5 و11
 - يعدّ الكولاجين نوع 1 الأكثر غزارة و الأكثر انتشاراً و توزعاً ويشكل بنى مثل العظم والعاج والأربطة ومحافظ الأعضاء والأدمة.
 - **كولاجين ربط الليفيات Fibril-associated collagens:** وهو عبارة عن بنى قصيرة تربط ليفيات الكولاجين إلى بعضها وإلى مكونات أخرى للقالب خارج الخلوي. و هي الكولاجين من النمط 9 و12 و14.
 - **الكولاجين المشكّل للشبكات Collagens that form networks:** وهو الكولاجين النمط 4 تتجمّع جزئياته بشكل شبكة مكوّنة الهيكل البنيوي للصفحة القاعدية.
 - **الكولاجين المشكّل لليفيات التثبيت Collagens that form anchoring fibrils:** كولاجين التثبيت أو النمط 7 يوجد في ليفيات التثبيت التي تربط ألياف الكولاجين بالصفحة القاعدية.
- إذاً في أنواع الكولاجين 1 و2 و3 تتراكم جزئيات التروبوكولاجين وتصبح تحت وحدات ليفية مجهرية والتي تتجمّع مع بعضها لتشكل ليفيات Fibrils رقيقة ومتطاولة البنية، و في الكولاجين 1 و3 ترتبط هذه الليفيات لتشكل الليف. وفي الكولاجين 1 يمكن أن ترتبط الألياف لتشكل حزمة. بينما في الكولاجين 2 (موجود في الغضاريف) يبقى كليفيات و لكن لا يشكل ألياف ولا

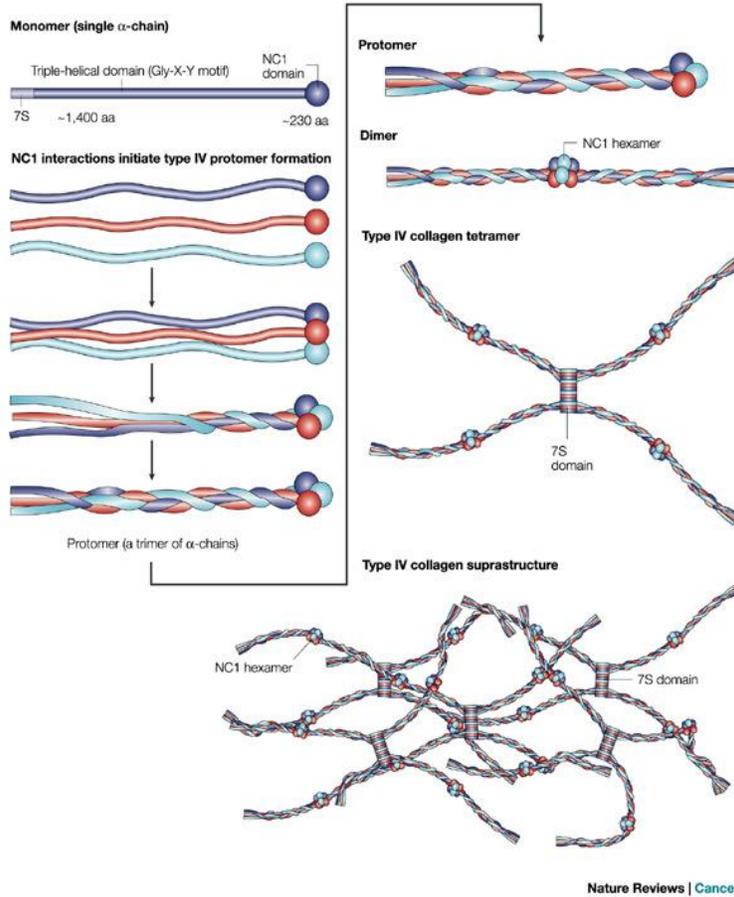
حزم. أما الكولاجين 4 يوجد في الغشاء القاعدي ولا يشكّل لبيفات ولا ألياف. (Junqueira)
(and Carneiro 2005)

4-5 بنية الكولاجين من النمط الرابع Collagen Type IV:

لهذا النمط من الكولاجين البنية النوعية والخاصة به فهو كما ذكر سابقا لا يأخذ شكل الألياف المتطاولة ولا حتى اللبيفات وإنما يشكّل شبكة تؤمّن الهيكل البنيوي للغشاء القاعدي Basement membrane مع بقية مكونات القالب خارج الخلوي الأخرى من اللامين والفيبرونكتين.

ويبدأ بناؤه كغيره من أنماط الكولاجين من جزيئة التروبوكولاجين ذات الشكل الحلزوني الثلاثي والمكوّنة من ثلاث سلاسل متعددة الببتيد، حيث يوجد ستة أنماط من هذه السلاسل $a_6, a_5, a_4, a_3, a_2, a_1$ يمكن أن تشارك في بناء الحلزون الثلاثي Triple helix والتي تختلف عن بعضها في البنية والوظيفة والتعبيرية المورثية الخاصة بها وحتى في الأمراض المختلفة التي قد تشمل سلاسل دون أخرى من هذا النمط من الكولاجين. وتجتمع السلاسل متعددة الببتيد وفق النموذج $(a_1)_2(a_2)$ أو $(a_3)(a_5)(a_4)$ أو $(a_5)_2(a_6)$ لتشكّل جزيئة التروبوكولاجين. (Hudson, ; Hudson, Tryggvason et al. 2003Reeders et al. 1993

لكل جزيئة تروبوكولاجين نهايتين الأولى هي النهاية الأمينية (NH_2) والثانية هي النهاية الكربوكسيلية $(COOH)$ حيث ترتبط في البداية جزيئتين تروبوكولاجين عند النهاية الكربوكسيلية لتشكّل ثنائية ثم تتحد أربع ثنائيات مع بعضها عند النهايات الأمينية لكل منها معطية الوحدة الأساسية في بناء هذا النمط من الكولاجين حيث تتشابه هذه الوحدات مع بعضها وترتبط بأجزائها الانتهاية آخذة شكل شبكة، الشكل (6). (Kalluri 2003)



الشكل (6) بنية الكولاجين من النمط الرابع

5-5 واسم الكولاجين من النمط الرابع Collagen Type IV Antibody :

يعدّ الكولاجين النمط الرابع هو المكوّن الأساسي للغشاء القاعدي ولذلك فإن وجود أعداد ترتبط مع جزيئات الكولاجين تؤكّد وجوده وتوحي بالمظهر الشكلي لهذه البنية، فبالإضافة إلى أنّه يفصل النسيج الظهاري عن النسيج الضام في الحالات الطبيعية يمكن أن يفيد في تصنيف بعض الأورام مثل ورم

غمد العصب والورم العضلي الأملس حسب وضوح حدود الورم وفيما إذا كان محدّد بشكل جيد. وكذلك في تحديد الطبيعة الوعائية للأورام.

وفي هذا البحث سيتمّ استخدام واسم مناعي عبارة عن ضد وحيد النسيلة يستهدف الكولاجين من النمط الرابع Collagen type IV monoclonal antibody وبالتالي هو وسيلة مفيدة لتمييز الغشاء القاعدي حيث يستطيع هذا الضدّ الارتباط بموقع معين من مستضد موجود في المجال (NC) من جزيئات الكولاجين. (Tamsma, van den Born et al. 1994)

6- تأثير السكّري على الغدد اللعابية Diabetes And Salivary Glands :

أثبتت الدراسات أنّ مرض السكّري هو سبب للعديد من التبدّلات في الغدد اللعابية فهو يؤثّر على بنية العنبات الغديّة وبالتالي على الإفراز اللعابي الناتج عنها. (Ibuki, Simoes et al. 2010)

6-1 تأثير السكّري على البنية الغدية :

عندما يرتفع تركيز الغلوكوز في الدم تطرأ كثير من التغيرات المرضية على بنية الغدد اللعابية بجميع مكوناتها من العنبات الغدية والأقنية المفرزة واللحمة الضامة المحيطة بها إضافة إلى الأعصاب والأوعية الدموية المغذية لها.

حيث تؤدّي هذه التبدلات المرضية في محصلتها إلى نقص في وزن الغدد اللعابية بشكل عام عند مريض السكّري وخاصة الغدة النكفية وذلك بعد استحالة العنبات الغدية المكونة لها وتعرضها للانكماش والضمور مما يؤدي بدوره إلى فقد الفعالية الوظيفية للغدة. (REUTERVING, Hägg)

(; Curcio, Stefan et al. 2012et al. 1987

تبدأ التغيرات البنوية المرافقة لداء السكري على مستوى الخلية العنبية الغدية حيث تتراكم المواد المفرزة البروتينية في سيتوبلازما الخلية وتتضخم الخلية الغدية ويزداد حجمها بسبب زيادة عدد الحبيبات الإفرازية أو زيادة الفجوات التنكسية Vacuolar transformation فيها حيث أنه ومع تزايد تراكم المواد المفرزة تبدأ التغيرات التنكسية في الخلية الغدية بالظهور مما يؤدي في النهاية إلى تموت الخلايا العنبية الغدية وتحللها ويستبدل مكانها بعناصر من النسيج الضام الليفي، ويستمر تنكس وفقد الخلايا الغدية مع تقدّم المرض والاختلالات الناجمة عنه. (Cutler, Pinney et al.)

(1979)(Lilliu, Solinas et al. 2013) (Donath and Seifert 1975)

تتغير الكثافة الحجمية Volume density للعنبات والأقنية الغدية وهي عادة تبقى ثابتة في الحالات الطبيعية حيث هنالك تناسب بين المساحة التي تشغلها العنبات والمساحة التي تشغلها الأقنية الحبيبية بنسبة 48% - 38% على الترتيب بينما تتغير هذه النسبة في حالة الإصابة بداء السكري لتصبح 62% للعنبات وتنخفض إلى 20% بالنسبة للأقنية. (Anderson, Suleiman et al. 1994)

وفي دراسة تقارن حجم العنبات المختلطة والأقنية الغدية نسبة لحجم الغدة العام في حالة الإصابة بالسكري لوحظ زيادة في حجم العنبات نسبة لحجم الغدة كاملة وكذلك زيادة في نسبة الأقنية المخططة داخل الفصيصية intra-lobular striated ducts بينما لوحظ نقص في نسبة الأقنية الحبيبية granular ducts والأقنية المقحمة intercalated ducts إلى الحجم الكلي للغدة. وكذلك لوحظ زيادة في الطول العام للأقنية المخططة ونقص عام في طول الأقنية الحبيبية. (High, Sutton et al. 1985)

هناك ظاهرة شائعة عند مرضى السكري يحدث فيها تضخم غير عرضي في الغدد اللعابية كالانتباخ المزمن ثنائي الجانب المشاهد في الغدة النكفية عادة. (Al-Maskari, Al-Maskari et al. 2011)

وأثبتت الدراسة النسيجية للغدد أنّ هذا التضخم غير التهابي-غير ورمي وإنما عائد إلى تضخم العنبات الغدية نتيجة الارتشاح الشحمي في البرانشيم الغدي حيث تتراكم قطيرات الشحم في الخلايا الغدية المفززة بسبب اضطراب استقلاب الشحوم ويزيد حجم الخلية وتصبح نواتها قاعدية التوضع وسيتوبلاسمها مملوءة بالحببيبات الإفرازية. (Carlson and Ord 2009)

وتختلف نسبة تراكم الشحوم في الخلايا حسب نمطها ففي الخلايا المصلية للغدتين النكفية وتحت الفك يكون تجمع الشحوم بأعلى نسبة وبشكل أقل في خلايا العنبات المختلطة للغدة تحت الفك بينما تكون قليلة أو حتى معدومة في الخلايا العنابية المخاطية للغدة تحت اللسان. (Anderson and Garrett 1986)

وإن استمرار هذه الظاهرة بتراكم الشحوم يؤدي إلى تنكس الخلايا الغدية واستحالة العنبات وتوضع نسيج شحمي في مكانها. (Carlson and Ord 2009)

ولا تقتصر تأثيرات داء السكري على البرانشيم الغدي وإنما تشمل اللحمية الضامة المحيطة به حيث لوحظ حدوث ارتشاح للنسيج الضام بالخلايا الالتهابية كما تزيد المكونات الليفية في القالب خارج الخلوي. (Daskala and Tesseromatis 2011; Curcio, Stefan et al. 2012)

ومع تطوّر المرض وتعرض العنبات الغدية للتخرّب والتليف قد تتداخل هذه العنبات مع اللحمية الضامة مترافقة مع تدني الفعالية الوظيفية الغدية. (Curcio, Stefan et al. 2012)

يعدّ الاعتلال العصبي Neuropathy والاعتلال الوعائي الدموي Microvascular abnormalities من الاختلالات الشائعة لمرض السكري ولها تأثيراتها على الأوعية والأعصاب في الغدد اللعابية أيضاً. حيث يتسمك جدار الأوعية الدموية المغذية ويحدث خلل وظيفي في الخلايا البطانية مما يؤدي إلى تلف التروية الدموية الشعرية في الغدد اللعابية وهذا بدوره يؤدي إلى نقص تركيب اللعاب وإفرازه. (Al-Maskari, Al-Maskari et al. 2011)

وكذلك فإن داء السكري يُضعف التنظيم العصبي للتدفق الدموي في الغدة اللعابية ويؤدي إلى نقص الاستجابة التوسعية الوعائية Vasodilatory responses المرتبطة بالآليات المعتمدة على الخلايا البطانية التي تتعرض للخلل الوظيفي في سياق المرض. (Anderson and Garrett 2004)

إضافة إلى تنكس الأعصاب التابعة للجهاز العصبي المستقل Autonomic nervous system والمسؤولة عن تعصيب الغدد مما ينتج عنه اضطراب في آليات التعصيب الغدي واضطراب عملية إفراز اللعاب من الخلايا الغدية. (Donath and Seifert 1975)

ولا تسلم الخلية العضلية البشرية Myoepithelial cell وهي المسؤولة عن تأمين الهيكل البنيوي للغدة من التأثير بالسكري حيث تتعرض للضمور والنقصان مع ارتفاع سكر الدم. (Nashida,) (Yoshie et al. 2013)

6-2 تأثير السكري على الإفراز اللعابي:

تترافق التبدلات البنوية في الغدد اللعابية مع خلل وظيفي واضح حيث تتراجع القدرة الإفرازية الغدية مع تطور المرض وتطراً التبدلات على المكون السائل والعضوي واللاعضوي لللعاب. (Mata, Marques et al. 2004)

وهذا ما أثبت من خلال دراسة أكدت نتائجها أنّ الأنسولين قادر على تحفيز إفراز اللعاب ولذلك عند انخفاض مستويات الأنسولين كما يحدث في داء السكري ينخفض إفراز اللعاب بشكل ملحوظ حيث يتناقص معدّل التدفق اللعابي عند مريض السكري بشكل ملحوظ سواءً في حالة الراحة أو في حالة الإفراز اللعابي المحفّز العائد إلى نقص التحفيز التعصيب الغدي (الأدرينالي والكولينيني) Adrenergic and Cholinergic stimulation الأمر الذي يجعل المريض مؤهّباً للإصابة بالانتانات الفموية. (van Amerongen 2008) (Mata, Marques et al. 2004)

وكما هو معروف أنّ مريض السكري مؤهّب للإصابة بالعديد من الاختلالات المزمنة مثل الاعتلال العصبي والاضطرابات الوعائية والخلل الوظيفي في الخلايا البطانية وهذا بدوره قد يكون سبب في تلف التروية الوعائية الشعرية للغدد اللعابية ممّا يفسّر معه نقص معدّل تدفق اللعاب وتركيبه. (Al-Maskari, Al-Maskari et al. 2011).

كما وترتفع نسبة النخور عند البالغين من مرضى السكري وهذا غير مترافق مع زيادة في نسبة الجراثيم اللبنية وعموماً يرتفع مشعر اللويحة. (van Amerongen 2008).

يعاني 40% من مرضى السكري من حالة جفاف الفم Xerostomia حيث يعزى نقص الإفراز اللعابي في حالة الراحة إلى التجفاف الناتج عن كثرة التبول والعطش الشديد وقد يكون جفاف الفم مرتبط بالأدوية المستخدمة لعلاج السكري (van Amerongen 2008) وفي دراسات أخرى تمّ تفسير حالة جفاف الفم بتبدّلات تطرأ على الغشاء القاعدي للعبات الغدية. (Al-Maskari, Al-Maskari et al. 2011).

كما لوحظ ارتفاع في نسبة البروتينات في اللعاب (Mata, Marques et al. 2004) وازدياد فعالية كل من أنزيمات الأميلاز والبيروكسيداز و الكتالاز وبالمقابل هناك نقص واضح في إجمالي محتوى اللعاب من حمض السياليك Sialic acid والذي يعزى إليه حالة جفاف الفم التي يعاني منها مريض السكرى. (Romero, Ibuki et al. 2012)

وبسبب أن المعتكلة أكثر تأثراً من الغدد اللعابية في سياق داء السكرى يصبح للأميلاز اللعابي دور مهم جداً في عملية تحلل النشويات في السبيل الهضمي ويكون الاعتماد على هذا الأنزيم عند مرضى السكرى أكثر منه عند الأشخاص السويين. (van Amerongen 2008)

ووجد مؤخراً أن السكرى يؤدي إلى تبدل في تعبيرية بروتين ستاتيرين Statherin وهو بروتين لعابي يلعب دوراً أساسياً في الحفاظ على سلامة الأسنان والذي يتسبب نقصه في إحداث العديد من الأمراض الفموية المشاهدة عند مريض السكرى. (Isola, Cossu et al. 2012)

7- الغدد اللعابية والكولاجين من النمط الرابع Salivary Glands and Collagen Type IV

7-1 أماكن وجود الكولاجين من النمط الرابع في الغدد اللعابية:

يفصل الغشاء القاعدي النسيج الظهاري عن النسيج الميزانشمي المحيط به ويلعب دوراً أساسياً في تطوّر الأعضاء (Kadoya and Yamashina 2005)

ويشكل الكولاجين الرابع الهيكل البنيوي للغشاء القاعدي لذلك يشاهد في الغدد اللعابية الطبيعية متوضعاً في الأغشية القاعدية حول العنبات الغدية والأقنية والخلايا الشحمية والأوعية الدموية والأعصاب المحيطة. (Skalova and Leivo 1992)

2-7 أدبيات الغدد اللعابية الناتجة عن اضطراب تصنيع الكولاجين من النمط الرابع:

يعدّ التفاعل الظهاري الميزانثيمي أساسياً لبدء تطوّر الغدد اللعابية بنظامها التفرّعي حيث يلعب القلب خارج الخلوي بمكوّناته دوراً هاماً في تشكيل الخلايا وتمايزها كما ويشارك في العديد من الآليات الإمبراضية التي تصيب الغدد اللعابية. (TUDOSIE 2011)

وتبقى الغدد الطبيعية محافظة على شكلها البنيوي ووظيفتها من خلال الدور المنظم الذي يقوم به الغشاء القاعدي في هذه الغدد، ولذلك فعند تعرّض الغشاء القاعدي بمكوّناته لاضطرابات تفقده دوره المنظم تظهر الآفات المرضية في الغدد اللعابية. ففي حالة متلازمة جوغرن Sjogrens syndrome وهي حالة مرضية تترافق مع حدوث جفاف بالفم أظهرت المقاطع النسيجية للغدد اللعابية ارتشاح لمفاوي غزير مع ضمور في الخلايا العنابية، ويعتقد أنّ للغشاء القاعدي دور في هذه التغيرات الحادثة فهو بدوره يخضع لتغيرات كبيرة متعلّقة بالعناصر المكونة له، حيث لوحظ وجود RNA المرسل الخاص بالكولاجين النمط الرابع بنسبة عالية إضافة إلى زيادة في تعبيرية اللامينين. (Poduval 2010)

وفي الحالات الالتهابية المشاهدة في الغدد اللعابية لوحظ زيادة في سماكة الغشاء القاعدي للخلايا البطانية في الأوعية الشعرية مما يسبّب تغيرات وعائية تؤثر على انتشار الأوكسجين أو الأضداد لموقع الالتهاب. (Wild 2011)

كما وتعزى حالة جفاف الفم المرافقة لداء السكّري عادة إلى نقص إفراز اللعاب وذلك وفق آليات إمبراضية عدّة منها ما هو مرتبط بتغيرات تطرأ على الغشاء القاعدي للعنابات والأقنية وكذلك الأوعية

الشعرية المغذية مما يؤدي إلى تخريبها وفقد التروية، ومنها ما هو مرتبط بالعلاج الدوائي للسكري.

(Wild 2011). (Al-Maskari, Al-Maskari et al. 2011)

إضافة إلى الاعتلال العصبي المؤدي إلى ضمور العنبات الغديّة حيث ترتبط الفعالية الوظيفية للغدد اللعابية بالتحفيز العصبي المستقل الأدرينالي وتعطلّ هذا التحفيز ينتج عنه الضمور ونقص وزن

الغدة. (Greaves 2011)

وعند الإصابة بالسكري تتغيّر نفوذية الغشاء القاعدي في الغدة النكفية حيث تصبح أعلى وهذا ما ينتج عنه زيادة نسبة ارتشاح الجلوكوز والأميلاز والبروتينات من الدم وبالتالي ترتفع مستوياتها في

اللعاب. (Panchbhai, Degwekar et al. 2010)

الباب الثاني

المواد والطرق

Materials and Methods

1 - مواد البحث:

1-1 حيوانات التجربة

تستخدم الأرانب على نطاق واسع في الأبحاث التجريبية المجراة على الغدد اللعابية وذلك بسبب التشابه النسيجي الذي تبديه الغدد عند الأرانب مقارنة مع الإنسان، الشكل(7). (Amano,) (Mizobe et al. 2012)

أجريت هذه الدراسة على مجموعة من الأرانب الذكور (عددها 40 أرنب) متوسط وزنها 2 كلغ تم تقسيمها إلى مجموعتين: مجموعة التجربة : تألفت من (20 أرنب) تم استحداث السكري عندها المجموعة الشاهدة: تألفت من (20 أرنب) خضعت لشروط المعيشة نفسها دون استحداث السكري ووضعت المجموعتين وفق نظامها الغذائي لمدة أسبوع كفترة تكيف قبل إجراء التجارب.

1-2 مرافق الدراسة

تم وضع الأرانب للمجموعتين الشاهدة والتجربة خلال مدة الدراسة في حاضنة حيوانات التجارب في كلية الصيدلة بجامعة دمشق حيث تم تأمين الوضع المناسب لها من درجة الحرارة والغذاء، الشكل(8) وتم أخذ الغدد اللعابية لحيوانات التجربة ومن ثم تقطيعها وتلوينها وإجراء الدراسة المجهرية في قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الاسنان بجامعة دمشق.



الشكل (7) حيوانات التجربة في الحواضن



الشكل (8) تأمين الغذاء والماء لحيوانات التجربة في الحواضن

3-1 عينة البحث

تألّفت عينة البحث من أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) مأخوذة من مجموعة التجربة التي استحدثت السكري عندها عن طريق حقن مادة الألوكسان وفق البروتوكول المحدد وأبقيت بعد استحداث السكري تحت المراقبة لفترة 6 أسابيع مع إجراء معايرة لمستوى غلوكوز الدم كل أسبوع. أما العينة الشاهدة فتألّفت من أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) مأخوذة من المجموعة الشاهدة التي لم يستحدثت السكري عندها.

4-1 المواد والأدوات المستخدمة في إحداث السكري عند حيوانات التجربة

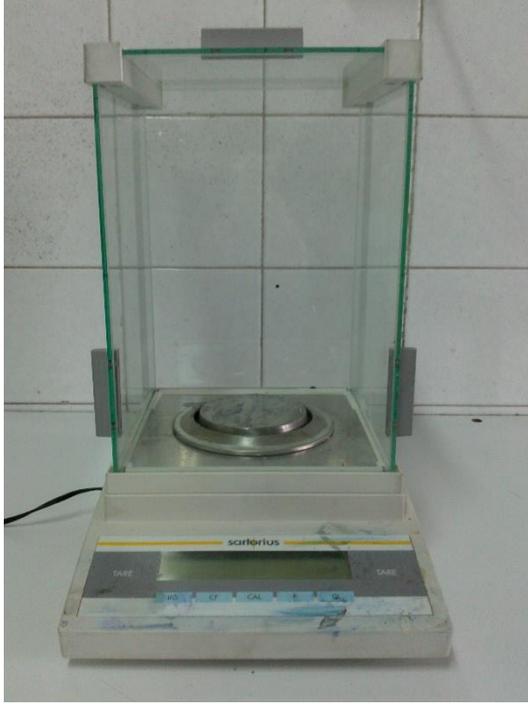
المواد:

- مادة الألوكسان Alloxan tetrahydrate من شركة سيغما (sigma-aldrich.com) ذات القوام الصلب المتناسك صيغتها الكيميائية $C_4H_2N_2O_4 \cdot 4H_2O$ ، الشكل (9).
- الماء المقطر لحل مادة الألوكسان والمحلول المائي للغلوكوز.
- غلوكوز.

الأدوات:

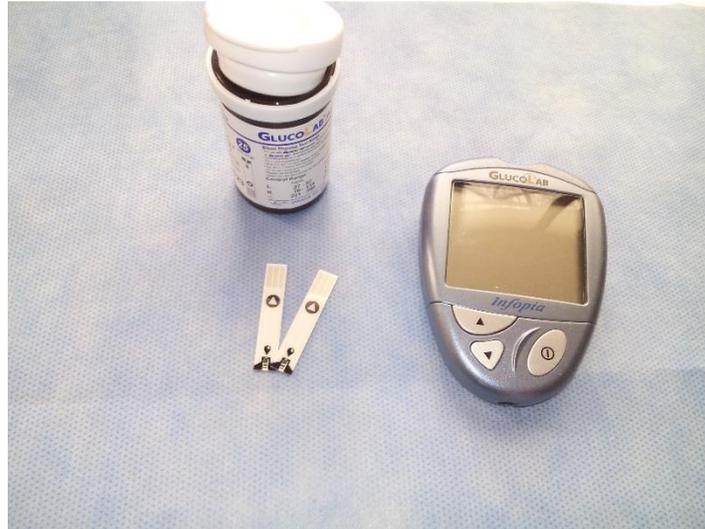
- ميزان لوزن الأرناب.
- ميزان حساس لوزن الألوكسان، الشكل (10).
- أطباق زرع لحل الألوكسان.
- سيرنجات لحقن المواد.
- جهاز معايرة السكري مع الشرائح الخاصة به، الشكل (11).

- قطن وشاش وكحول



الشكل (10) الميزان الحساس

الشكل (9) مادة الألوكسان



الشكل (11) جهاز معايرة السكر

1-5 مواد التلوين النسيجي التقليدي والمناعي

فورمول وكزيلول وكحول وماء مقطر وشمع البارافين.

شرائح زجاجية عادية وشرائح زجاجية للتلوين المناعي.

سائل استرجاع المستضد ومسحوق السائل الدارئ.

الملونات النسيجية التقليدية: الهيماتوكسمين والأيوزين.

الواسم المناعي : الكولاجين من النمط الرابع Collagen Type IV.

تمّ استخدام هذا الملون لتمييز الكولاجين من النمط الرابع وهو المكون الأساسي للغشاء القاعدي حول

العنابات والأقنية الغدية والأوعية الدموية.

1-6 الأجهزة والأدوات المستخدمة

أدوات للتضحية بحيوانات التجربة وأخذ الخزعات: حامل المشروط والمشروط والملقط النسيجي والقطن

وعبوات الفورمالين.

محمّ صهر الشمع والإدماج والمبشرة النسيجية Microtome ومحمّ مائي لفرش المقاطع النسيجية

وفرن التجفيف ومايكروويف والمجهر الضوئي.

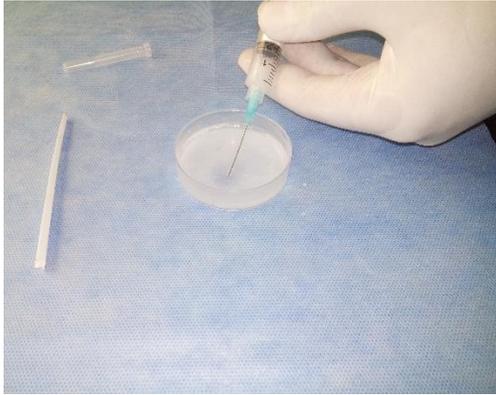
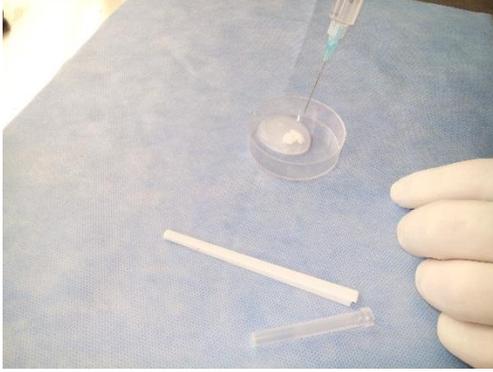
قلم التحديد والممص pipet

2- طرائق البحث:

1-2 بروتوكول إحداث السكري عند حيوانات التجربة

- تبقى الأرانب ليلة كاملة دون طعام (12 ساعة).
- نقوم بمعايرة سكر الدم الصيامي البدئي عند الأرانب قبل إحداث السكري وذلك بأخذ قطرة دم من (الوريد الأذني الهامشي) ووضعها على الشريحة الخاصة بجهاز المعايرة التي تدخل على الفور في حجرة التحليل للجهاز وبعد مرور 5 ثوان تسجل تراكيز الغلوكوز المقروءة.
- يتم تحضير جرعة الألوكسان الخاصة بكلّ أرنب وذلك حسب وزنه حيث يعطى بمقدار 180ملغ/كغ.
- يحلّ الألوكسان بالماء المقطر قبل الحقن مباشرة بنسبة 50 غ/ل.
- يتم حقن الألوكسان في البيروتوان.
- بعد حقن الألوكسان يتم حقن 10 مل من محلول الغلوكوز 20% المحضر مسبقاً تحت الجلد وذلك لمنع حدوث الصدمة.
- تكرر عملية الحقن السابقة 3 مرات بفارق زمني مدته أسبوع.
- بعد عملية الحقن الثالثة بـ 48 ساعة يتم معايرة سكر الدم الصيامي عند الأرانب: إذا كان مستوى السكر ضمن 180-250 mg/dL فالسكري المحدث متوسط الشدة، أما إذا كان أكثر من 250 mg/dL فهو شديد وهو المناسب للدراسة.

-يتمّ التّضحية بالأرانب بعد فترة 6 أسابيع من إحدّاث السكّري وهي فترة كافية لظهور اختلاطات المرض وخلال هذه الفترة تبقى الأرانب تحت المراقبة مع معايرة سكر الدم مرّة كلّ أسبوع.

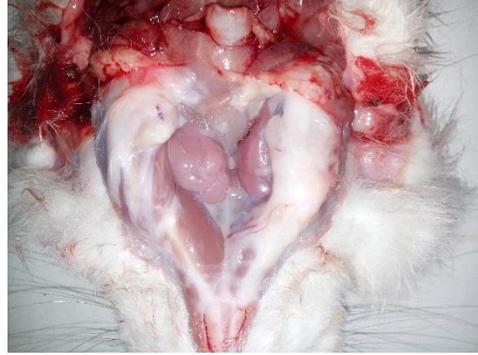


الشكل (12) يوضّح مراحل تحضير وحقن الألوكسان والغلوكوز

2-2 أخذ العينات

تمت التضحية بحيوانات عينة التجربة بعد انتهاء فترة المراقبة (6 أسابيع بعد استحداث السكري الشديد مع التأكد من ثبات شدته عن طريق المعايرة الأسبوعية لسكر الدم خلال هذه الفترة) وكذلك بحيوانات العينة الشاهدة بعد نفس المدة.

واستخدمت المواد والأدوات التقليدية لتشريح الأرنب واستئصال الغدد اللعابية وهي: حامل المشرط والمشرط والملقط النسيجي والقطن. وعبوات خاصة بالفورمالين وسائل الفورمالين. استؤصلت أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) اليمين واليسار من كل أرنب، وتم حفظ العينات بعد استئصالها بمحلول الفورمالين مدة 48 ساعة على الأقل.



الشكل (13) مجموعة من الصور تبين مواقع الغدد اللعابية

3-2 تحضير العينات والتلوين النسيجي التقليدي (هيماتوكسيلين - إيوزين)

1- بعد تثبيت العينات يتم تمريرها بالمراحل المعروفة لتصبح بلوكات شمعية.

تتضمن هذه المراحل: حمامات الكحول، ثم الكزيلول، ثم الإدماج بالبارفين المنصهر، ثم تُصبّ بقوالب خاصة لنحصل على بلوكات شمعية.

2- تم تقطيع العينات والحصول على مقاطع بسماكة 4 ميكرون وذلك باستخدام المبرشة النسيجية ومن ثم نفرش المقاطع في محمّ مائي يحوي ماءً مقطراً، بدرجة حرارة 45 - 40 درجة مئوية، وذلك لإزالة تجاعيدّها، وتحميلها على الشرائح الزجاجية، ثم توضع على الشرائح الزجاجية في فرن بدرجة لا تتجاوز 50 - 45 درجة مئوية لمدة (30-60) دقيقة لتجفيفها من الماء.

3- تمرر الشرائح ضمن أحواض تحوي الكزيلول لمدة 2-3 دقائق في كلّ منها للتخلص من البارفين ثم تنقل إلى حمامات متتالية من الكحول المتدرج للتخلص من آثار الكزيلول، ثم تغسل الشرائح بالماء المقطر.

4- تغمس الشرائح النسيجية في المحلول المائي للهيماتوكسيلين مدة تتراوح بين 3-5 دقائق ثم تغسل بالماء الجاري لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد وتنقل بعدها إلى وعاء يحوي المحلول المائي للإيوزين لمدة تتراوح بين الدقيقة والثلاث دقائق ثم تغسل بالماء مرة أخرى لإزالة الإيوزين الزائد.

5- تمرر الشرائح بعدها ضمن حمامات متتالية من الكحول لإزالة الماء من النسيج ومن ثم الكزيلول لطرد الكحول.

6- و يتبع ذلك عملية ستر الشرائح الزجاجية بالسواتر الزجاجية باستخدام بلسم كندا ثم تفحص بالمجهر الضوئي.



الشكل (15) يبيّن المبرشة النسيجية



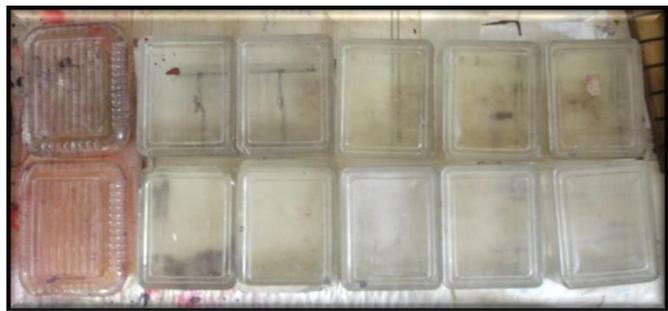
الشكل (14) يبيّن فرن صهر الشمع والإدماج



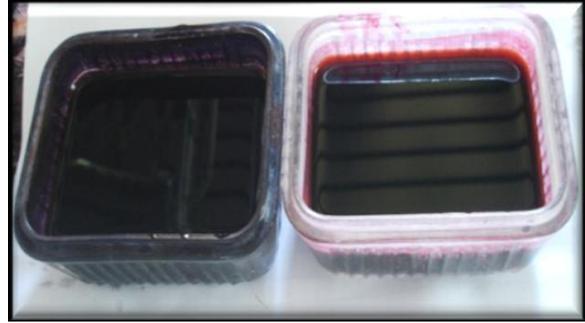
الشكل (17) يبيّن فرن التجفيف



الشكل (16) يبيّن المحم المائي لفرش المقاطع النسيجية



الشكل (18) يبيّن حمّامات الكزيلول والكحول



الشكل (19) يبيّن حمامات الهيماتوكسيلين والأيوزين H&E الشكل (20) يبين المقاطع النسيجية بعد تلوينها بالـ H&E



الشكل (21) يبيّن المجهر الضوئي المستخدم بالدراسة

4-2 تلوين العينات بالكاشف المناعي

- تحضّر المقاطع النسيجية بالمبشرة النسيجية بسماكة 4 ميكرون.
- توضع المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية المناعية.
- توضع الشرائح في فرن التجفيف مدة 30 دقيقة.
- توضع المحضّرات في حمامين من الاكزيلول النقي لمدة خمس دقائق لكل حمام ثمّ توضع في حمامات متتالية من الكحول (كحول مطلق ثمّ 75% ثمّ 50%) مدة خمس دقائق لكل حمام وبعدها تغسل بالماء الجاري.
- تغمس الشرائح الزجاجية ضمن سلات في المحلول المظهر للمستضد وتوضع ضمن المايكروويف حيث يبرمج المايكروويف مدة 20 دقيقة بدرجة الحرارة 125 درجة مئوية ثمّ مدة 10 ثوان بدرجة الحرارة 90 درجة مئوية.
- تترك الشرائح الزجاجية لتبرد بدرجة حرارة الغرفة من 10-20 دقيقة.
- تغسل الشرائح بالماء الجاري خمس دقائق.
- تغمر الشرائح ضمن المحلول الدارئ PBS مدة 3 دقائق حيث يتم تحضيره وفق تعليمات الشركة بإضافة قرص منه لكل 100 مل من الماء المقطر.
- إحاطة العينة النسيجية بقلم تحديد لمنع تسرب المواد المطبقة على النسيج.
- يغمر النسيج بعد ذلك في peroxidase/AP Blocker لمدة خمس دقائق.
- تغسل السلايدات ثلاث مرات في المحلول الدارئ PBS مدة ثلاث دقائق لكلّ مرة.

- يغطى النسيج بالكاشف المناعي باستخدام الممص حيث طبق ضد الخاص لـ Collagen iv على (160) شريحة مدة 45 دقيقة.
- تغسل الشرائح بالمحلول الدارئ PBS ثلاث مرات.
- تغطية النسيج بـ Poly Detector HRP label مدة 45 دقيقة.
- غسل الشرائح ثلاث مرات بالمحلول الدارئ.
- تحضير DAB substrate chromogen solution حيث يضاف قطرة واحدة من PolyDetector DAB Buffer لكل مل من PolyDetector DAB Chromogen

ويخلط

- تغطية النسيج بـ DAB substrate chromogen solution لمدة 10 دقائق.
- تغسل الشرائح بالماء المقطر خمس مرّات.
- تلون الشرائح بالهيماتوكسيلن ثمّ تغسل بالماء.
- يسحب الماء من النسيج بحمامات الكحول ثمّ يتبع بحمامات الاكزيلول.
- وأخيرا يتمّ الستر بالسواتر الزجاجية ويلبسم كندا.

وبذلك نكون قد حصلنا على (160) شريحة ملونة بالهيماتوكسيلين إيوزين التقليدي و(160) شريحة

ملونة بالتلوين المناعي (لمجموع العينة الشاهدة وعينة التجربة).

حيث تمّ فحص الشرائح الملونة بالهيماتوكسيلين إيوزين بالمجهر الضوئي للتأكد من نوعية العينة

وخلوّها من أي علامات التهابية.



الشكل (23) الممص المستخدم لتطبيق المواد على الشرائح

الشكل (22) قلم لتحديد المقاطع النسيجية على الشرائح



الشكل (24) الكيت المناعي المستخدم في التلوين



الشكل (26) يبين إحاطة العينة النسيجية بقلم التحديد

الشكل (25) يبين غمر الشرائح ضمن المحلول الدائري PBS



الشكل (27) يبين تطبيق Beroxidase /AP Blocker



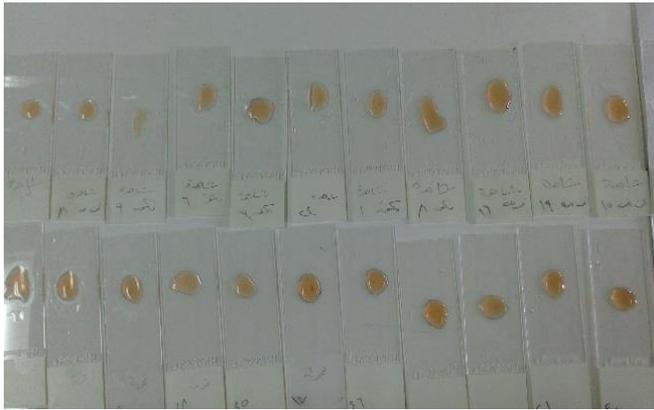
الشكل (29) يبين تطبيق الضد الخاص بالكولاجين الرابع



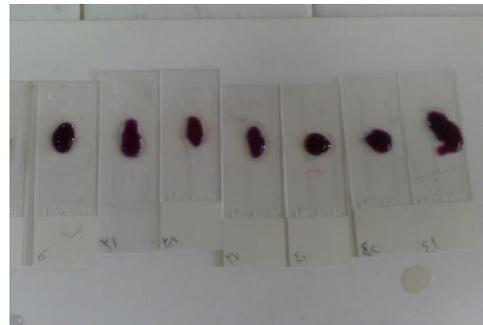
الشكل (28) يبين الضد الخاص بالكولاجين الرابع



الشكل (30) يبيّن تطبيق Poly Detector/HRP label



الشكل (31) يبيّن تحضير وتطبيق المحلول DAB substrate chromogen solution



الشكل (32) يبيّن تلوين الشرائح بالهيماتوكسيلين

5-2 معايير قياس الدراسة النسيجية المناعية:

- بما أنّ الكولاجين الرابع هو البروتين الهدف بالنسبة للواسم المناعي المستخدم فقد تمّت المقارنة بين كثافة كولاجين الغشاء القاعدي في كلّ نوع من الغدد اللعابية المستأصلة من حيوانات العينة الشاهدة مع كثافته في نفس نوع الغدد اللعابية المستأصلة من حيوانات عينة التجربة.
- وتمّت دراسة العينات من قبل مختصين اثنين بأوقات مختلفة مع التعمية.

تمّ اعتماد المعايير التالّية عند الدراسة النسيجية الكيميائية المناعيّة:

- في العينة الشاهدة : تمّ اعتماد درجة التعبيرية (خفيف) هي الدرجة الطبيعية لتعبيرية الواسم المناعي وهي واحدة في جميع محضرات العينة الشاهدة. (Molina, Alliende et al.) (2006)

- في عينة التجربة : تمّت مقارنة درجة التعبيرية في كل محضر مع الدرجة الطبيعية (خفيف) للعينة الشاهدة، وأعطيت التعبيرية ثلاث درجات: (خفيف) في حال عدم مشاهدة فرق في التعبيرية عن العينة الشاهدة و(متوسط) في حال وجود زيادة متوسطة في درجة التعبيرية و(شديد) في حال ملاحظة تغير كبير في درجة التعبيرية. (Molina, Alliende et al.) (2006)

- تمّ فحص المحضرات الملونة مناعياً تحت المجهر الضوئي حيث درست أربع ساحات مجهرية عشوائية وأعطيت قيمة وسطية لدرجة التعبيرية لكامل المحضر.

الباب الثالث

النتائج

Results

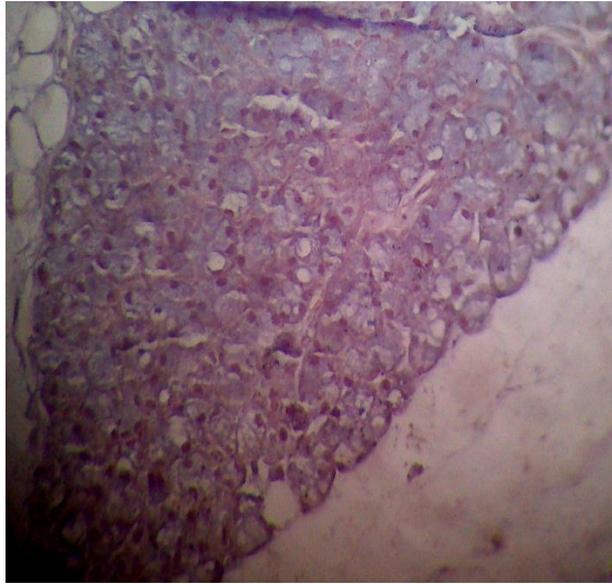
أولاً : نتائج الدراسة النسيجية المناعية :

تركزت إيجابية الكولاجين الرابع في الغشاء القاعدي حول العنبات والأفنية الغدية وحول الأوعية الدموية في اللحمية الضامة وذلك في كل من الغدتين النكفية وتحت الفك حيث بلغت عدد الغدد المدروسة (80) غدة نكفية و (80) غدة تحت فك موزعة بين العينتين الشاهدة والتجربة.

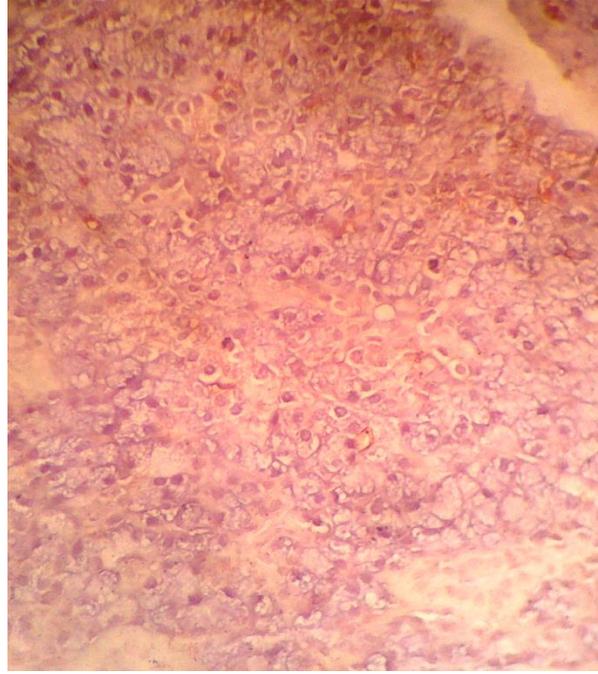
ولكن لوحظت زيادة في تعبيرية الواسم المناعي للكولاجين الرابع في عينة التجربة مقارنة مع التعبيرية في العينة الشاهدة وتراوحت زيادة التعبيرية ضمن ثلاث درجات (خفيفة ومتوسطة وشديدة) بين الحالات المقاسة للغدتين النكفية وتحت الفك.

1- نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية للعينتين الطبيعية والمصابة :

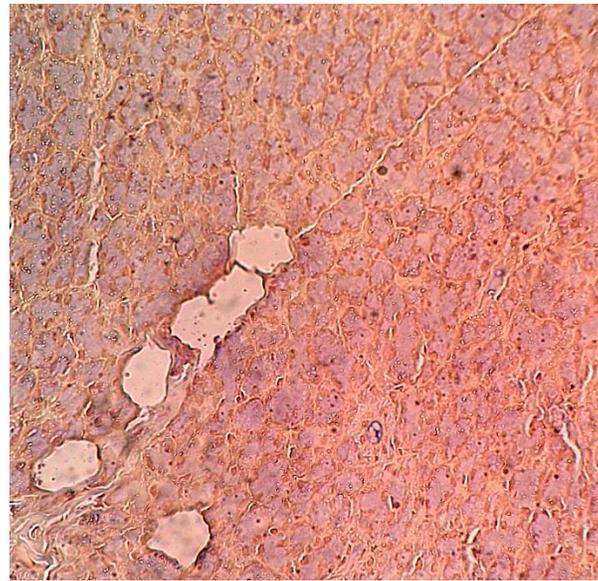
توضّح الأشكال (33-34-35-36) والجداول (1) نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في مجموع الغدد النكفية لعينتي الدراسة



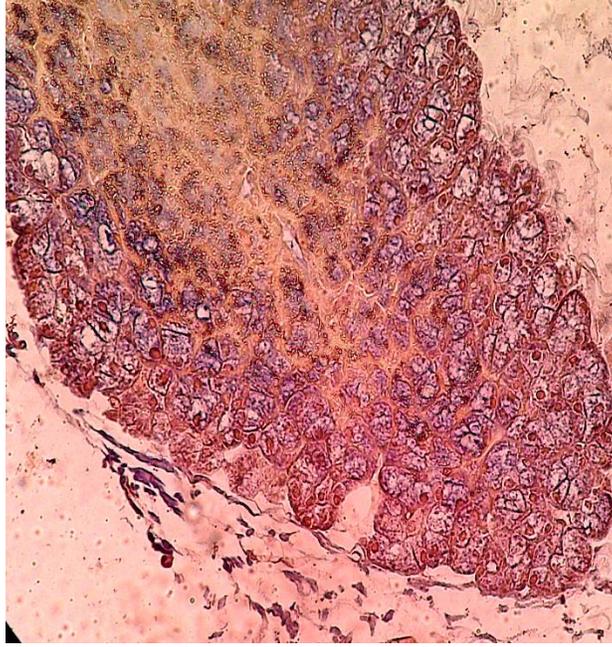
الشكل (33) يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة نكفية من العينة الشاهدة بتكبير X40



الشكل (34) يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجريبية بتكبير X40



الشكل (35) يوضح تعبيرية متوسطة للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجريبية بتكبير X40



الشكل (36) يوضح تعبيرية شديدة للكولاجين الرابع في غدة نكفية من عينة التجربة بتكبير X40.

الجدول (1) يبين نتائج قياس تعبيرية الكولاجين الرابع في الغدة اللعابية النكفية في عيني الدراسة.

النسبة المئوية			درجة التعبيرية			عدد الحالات	العينة المدروسة	الواسم المدروس	الغدة المدروسة
شديد	متوسط	خفيف	شديد	متوسط	خفيف				
-	-	100%	-	-	40	40	طبيعية	كولاجين النمط الرابع	النكفة
30%	50%	20%	12	20	8	40	مصابة		

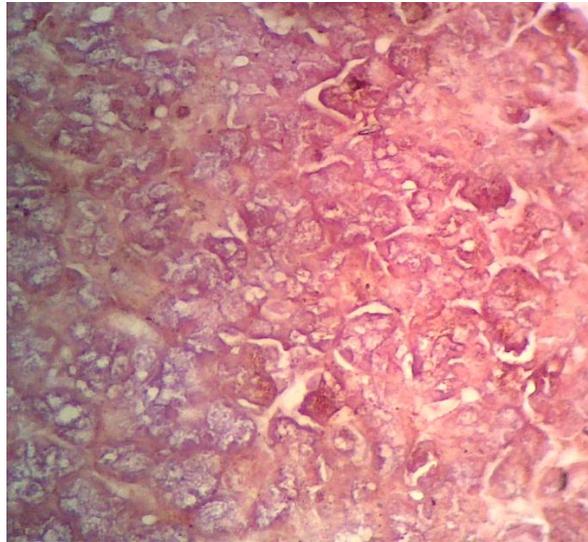
2- نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك للعنيتين الطبيعية والمصابة :

توضّح الأشكال (37-38-39) والجدول (2) نتائج قياس تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في مجموع

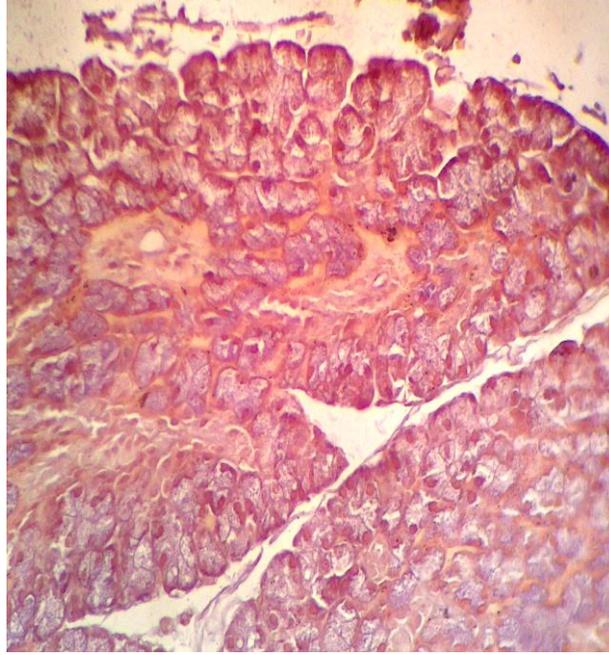
الغدد تحت الفك لعينتي الدراسة



الشكل (37) يوضح تعبيرية خفيفة طبيعية للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من العينة الشاهدة بتكبير X40.



الشكل (38) يوضح تعبيرية متوسطة للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من عينة التجربة بتكبير X40.



الشكل (39) يوضح تعبيرية شديدة للكولاجين الرابع في غدة تحت فكية من عينة التجربة بتكبير X40.

الجدول (2) يبين نتائج قياس تعبيرية الكولاجين الرابع في الغدة اللعابية تحت الفك في عيني الدراسة.

النسبة المئوية			درجة التعبيرية			عدد الحالات	العينة المدروسة	الواسم المدروس	الغدة المدروسة
شديد	متوسط	خفيف	شديد	متوسط	خفيف				
-	-	100%	-	-	40	40	طبيعية	كولاجين النمط الرابع	تحت الفك
60%	40%	-	24	16	-	40	مصابة		

ثانياً: الدراسة الإحصائية :

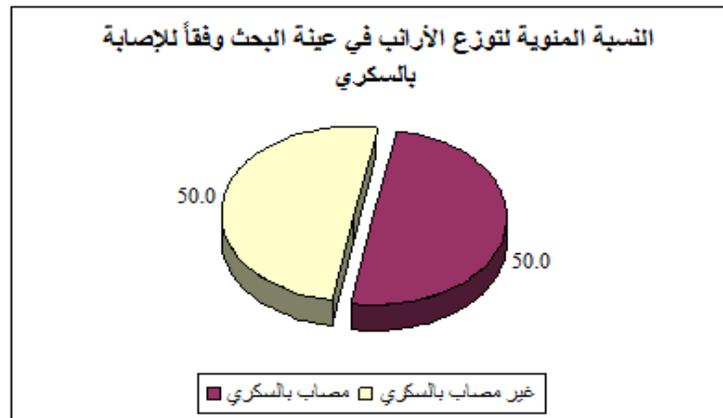
1- وصف العينة:

تألفت عينة البحث من 160 غدة لعابية لدى 40 أرنباً، قُسمت الأرانب إلى مجموعتين متساويتين وفقاً للإصابة بالسكري (مجموعة الأرانب المصابين بالسكري، مجموعة الأرانب غير المصابين بالسكري (مجموعة شاهدة)). كما قُسمت الغدد اللعابية المستأصلة إلى مجموعتين (مجموعة الغدد النكفية، مجموعة الغدد تحت الفكية) حيث توزعت عينة البحث كما يلي:

1-1 توزيع الأرانب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري:

جدول رقم (3) يبين توزع الأرانب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

النسبة المئوية	عدد الأرانب	الإصابة بالسكري
50.0	20	مصاب بالسكري
50.0	20	غير مصاب بالسكري
100	40	المجموع

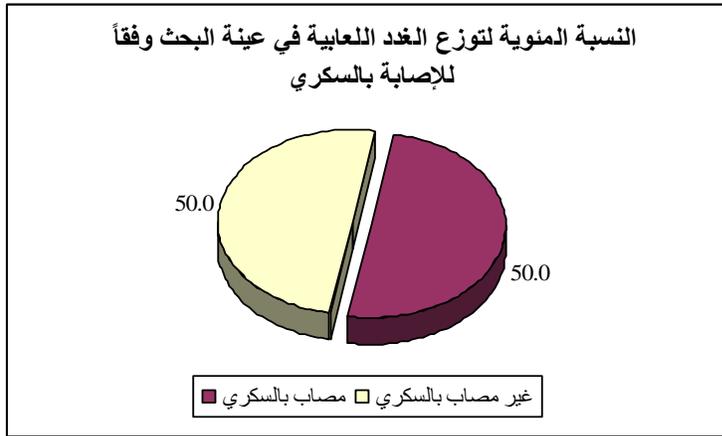


مخطط رقم (40) يمثل النسبة المئوية لتوزع الأرانب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

1-1 توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري:

جدول رقم (4) يبين توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

النسبة المئوية	عدد الغدد	الإصابة بالسكري
50.0	80	مصاب بالسكري
50.0	80	غير مصاب بالسكري
100	160	المجموع

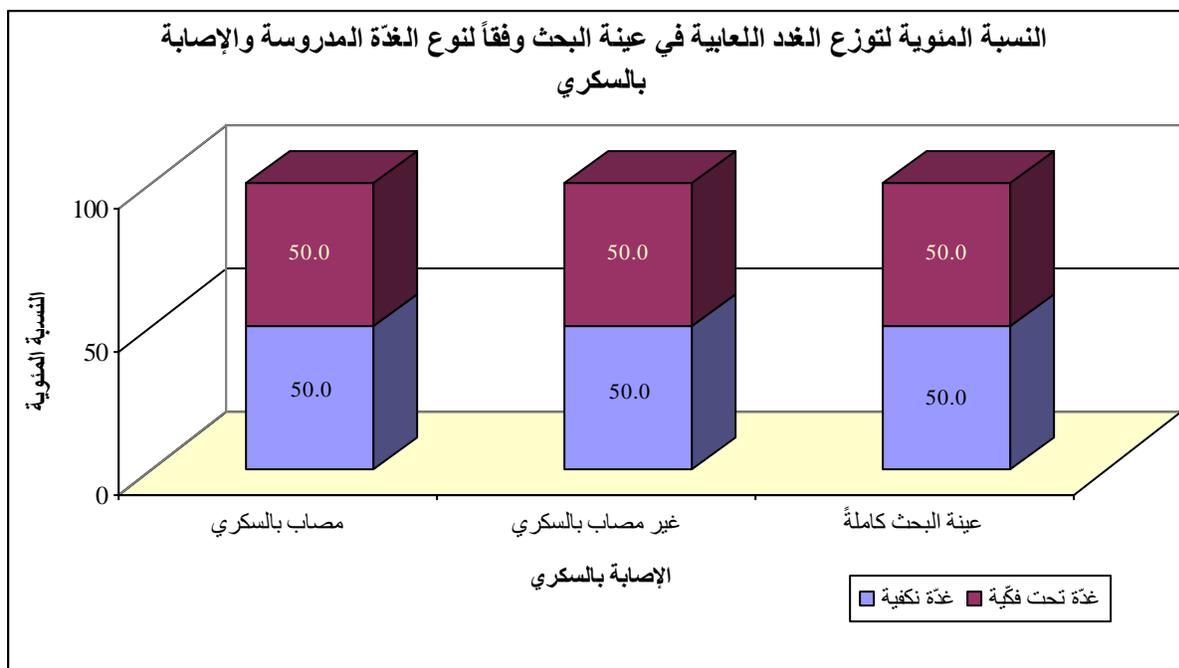


مخطط رقم (41) يمثل النسبة المئوية لتوزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

2-1 توزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري:

جدول رقم (5) يبين توزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

النسبة المئوية			عدد الغدد			الإصابة بالسكري
المجموع	غدة تحت فكية	غدة تكفية	المجموع	غدة تحت فكية	غدة تكفية	
100	50.0	50.0	80	40	40	مصاب بالسكري
100	50.0	50.0	80	40	40	غير مصاب بالسكري
100	50.0	50.0	160	80	80	عينة البحث كاملة



مخطط رقم (42) يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

2- الدراسة الإحصائية التحليلية:

تمت مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع لكل غدة من الغدد المدروسة في عينة البحث. وقد تم إعطاء كل درجة من درجات التعبيرية قيمة متزايدة تصاعدياً وفقاً لشدة التعبيرية كما في الجدول التالي:

جدول رقم (6) يبين الدرجات المعتمدة لتعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث والقيم الموافقة المعطاة لكل درجة.

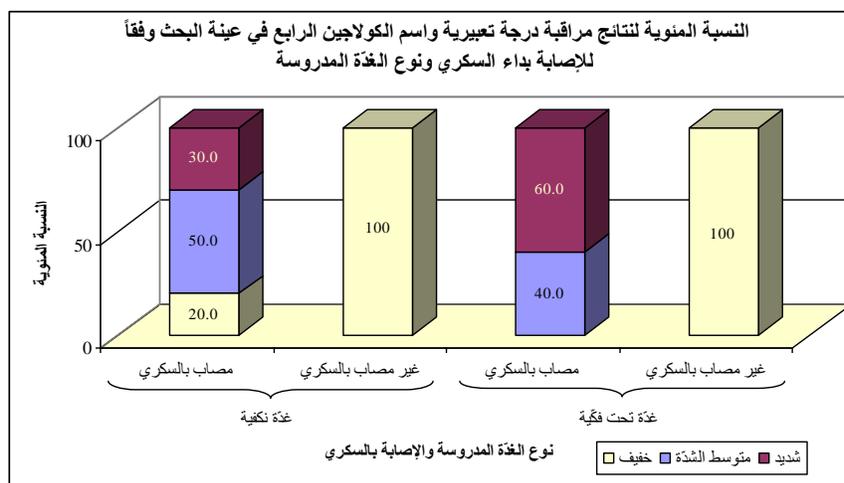
القيمة الموافقة المعطاة	درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع
1	خفيفة
2	متوسطة الشدة
3	شديدة

ثم تمّت دراسة تأثير الإصابة بالسكري ونوع الغدّة المدروسة في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وكانت نتائج التحليل كما يلي:

1-2 نتائج مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً لنوع الغدّة المدروسة والإصابة بالسكري:

جدول رقم (7) يبيّن نتائج مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدّة المدروسة.

النسبة المئوية				عدد الغدد				الإصابة بالسكري	نوع الغدّة المدروسة
المجموع	شديد	متوسط الشدّة	خفيف	المجموع	شديد	متوسط الشدّة	خفيف		
100	30.0	50.0	20.0	40	12	20	8	مصاب بالسكري	غدّة نكفية
100	0	0	100	40	0	0	40	غير مصاب بالسكري	
100	60.0	40.0	0	40	24	16	0	مصاب بالسكري	غدّة تحت فكّيّة
100	0	0	100	40	0	0	40	غير مصاب بالسكري	



مخطط رقم (43) يمثل النسبة المئوية لنتائج مراقبة درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدّة المدروسة.

2-2 دراسة تأثير الإصابة بالسكري على درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية:

تم إجراء اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري، كما يلي:

- إحصاءات الرتب:

جدول رقم (8) يبين متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة النكفية وفقاً للإصابة بالسكري.

المتغير المدروس	نوع الغدة المدروسة	الإصابة بالسكري	عدد الغدد	متوسط الرتب
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	غدة نكفية	مصاب بالسكري	40	56.50
		غير مصاب بالسكري	40	24.50

- نتائج اختبار Mann-Whitney U:

جدول رقم (9) يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري في الغدة النكفية.

المتغير المدروس	نوع الغدة المدروسة	U قيمة	قيمة مستوى الدلالة المقدر	دلالة الفروق
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	غدة نكفية	160.0	0.000	توجد فروق دالة

يلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 ، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري، وبدراسة قيم

متوسطات الرّتب نستنتج أن درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في مجموعة الأرناب المصابين بالسكّري كانت أعلى منها في مجموعة الأرناب غير المصابين بالسكّري، وذلك في مجموعة الغدد النكفية.

3-2 دراسة تأثير الإصابة بالسكّري على درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك:

تم إجراء اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكّري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكّري كما يلي:

- إحصاءات الرّتب:

جدول رقم (10) يبيّن متوسط الرّتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك وفقاً للإصابة بالسكّري.

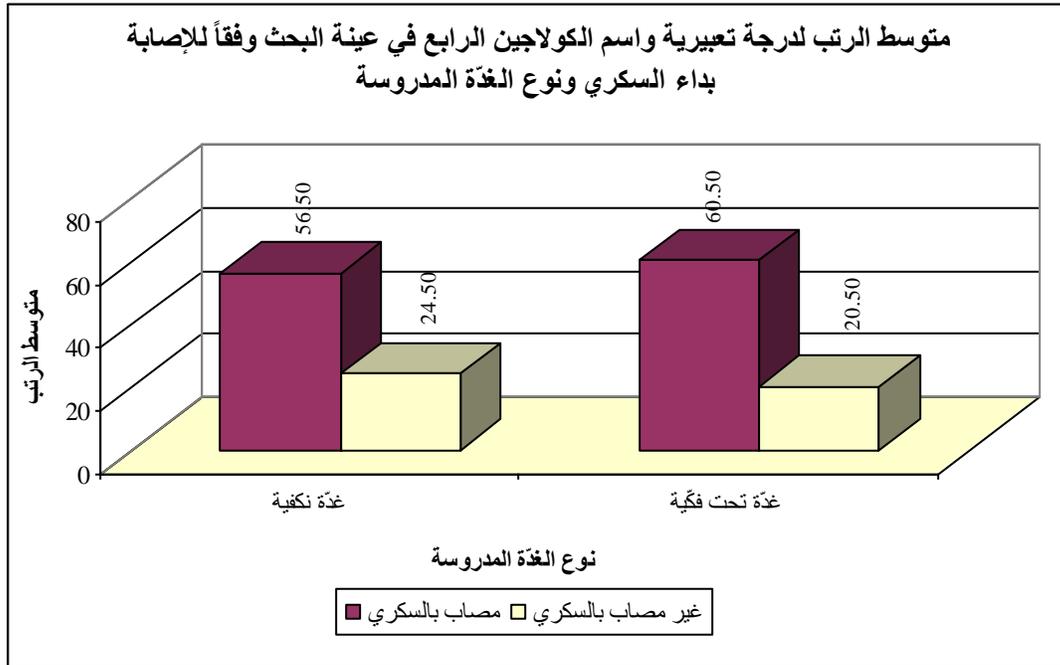
المتغير المدروس	نوع الغدة المدروسة	الإصابة بالسكّري	عدد الغدد	متوسط الرّتب
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	غدة تحت فكّية	مصاب بالسكّري	40	60.50
		غير مصاب بالسكّري	40	20.50

نتائج اختبار Mann-Whitney U:

جدول رقم (11) يبيّن نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في الغدة تحت الفك بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكّري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكّري.

المتغير المدروس	نوع الغدة المدروسة	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة المقدرّة	دلالة الفروق
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	غدة تحت فكّية	0	0.000	توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 ، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الأرناب المصابين بالسكري ومجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري، وبدراسة قيم متوسطات الرتب نستنتج أن درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في مجموعة الأرناب المصابين بالسكري كانت أعلى منها في مجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري، وذلك في مجموعة الغدد تحت الفكية.



مخطط رقم (44) يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري ونوع الغدة المدروسة.

4-2 دراسة تأثير نوع الغدة المدروسة على درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث:

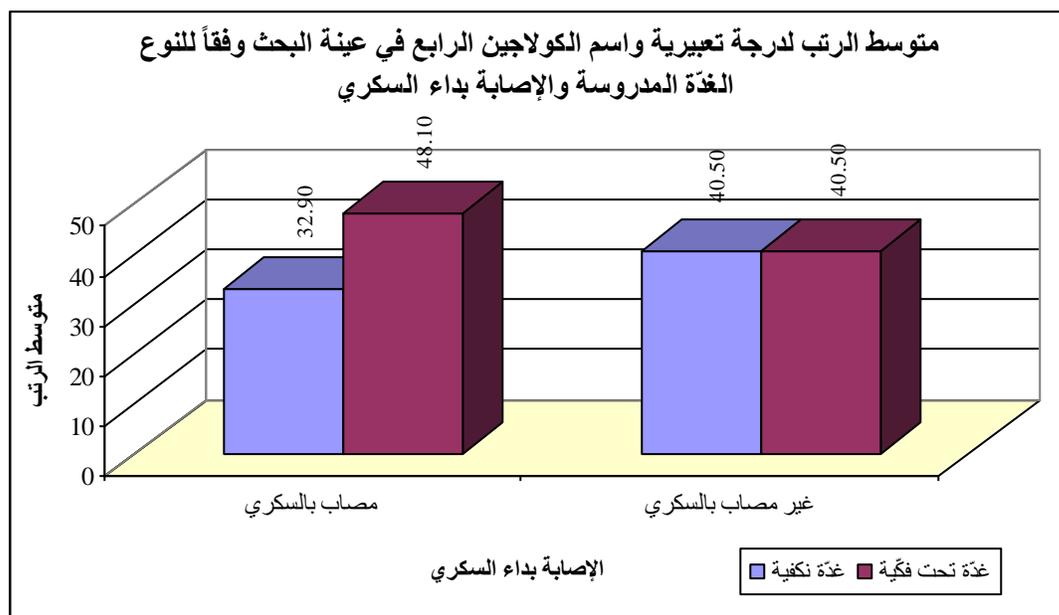
تم إجراء اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم

الكولاجين الرابع بين مجموعة الغدد النكفية ومجموعة الغدد تحت الفك في عينة البحث كما يلي:

- إحصاءات الرتب:

جدول رقم (12) يبين متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

المتغير المدروس	الإصابة بالسكري	نوع الغدة المدروسة	عدد الغدد	متوسط الرتب
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	مصاب بالسكري	غدة نكفية	40	32.90
		غدة تحت فكية	40	48.10
	غير مصاب بالسكري	غدة نكفية	40	40.50
		غدة تحت فكية	40	40.50



مخطط رقم (45) يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

- نتائج اختبار Mann-Whitney U :

جدول رقم (13) يبيّن نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الغدد النكفية ومجموعة الغدد تحت الفكّية في عينة البحث، وذلك وفقاً للإصابة بالسكري.

المتغير المدروس	الإصابة بالسكري	Uقيمة	قيمة مستوى الدلالة المقدرّة	دلالة الفروق
درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع	مصاب بالسكري	496.0	0.001	توجد فروق دالة
	غير مصاب بالسكري	800.0	1.000	لا توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أنّ قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 في مجموعة الأرناب المصابين بالسكري، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الغدد النكفية ومجموعة الغدد تحت الفكّية في مجموعة الأرناب المصابين بالسكري من عينة البحث، وبدراسة قيم متوسطات الرتب نستنتج أن درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع في مجموعة الغدد النكفية كانت أقل منها في مجموعة الغدد تحت الفكّية في مجموعة الأرناب المصابين بالسكري.

أما بالنسبة لمجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة تعبيرية واسم الكولاجين الرابع بين مجموعة الغدد النكفية ومجموعة الغدد تحت الفكّية في مجموعة الأرناب غير المصابين بالسكري.

الباب الرابع

المناقشة

Discussion

إن الارتباط الوثيق بين تغيّرات القلب خارج الخلوي والاضطرابات التي تصيب الغدد اللعابية عند الإصابة بداء السكري وجّه الأبحاث إلى دراسة هذه التغيرات كوسيلة لتحري الآليات الإمبراضية لأمراض الغدد اللعابية السكريّة ومع وجود العديد من الدراسات الكثيرة التي أجريت بصدد فهم هذه الآليات إلا أنّها لا تزال غير مفهومة بشكل دقيق، لذلك كان الغشاء القاعدي في الغدد اللعابية والذي هو عبارة عن تنظيم صفيحي الشكل لبروتينات القلب خارج الخلوي هدفاً للأبحاث بجميع مكوناته فهو يقوم بالدور المنظم لنمو وتمايز الخلايا البشرية وحاجزاً ذو نفوذية انتقائية داعماً ومغذياً لها.

تمّ التركيز في هذا البحث على الكولاجين النمط الرابع وهو المكون البنيوي الأساسي للغشاء القاعدي حيث يشكل شبكة من الجزيئات تدعم الخلايا الغدية العنبية والقنوية والخلايا البطانية للأوعية الدموية المغذية للغدد، حيث تمّت المقارنة بين درجة تعبيرية الكولاجين الرابع بين عينات الغدد اللعابية الطبيعية والمصابة.

وقد لوحظ من خلال النتائج أنّ إيجابية الكولاجين الرابع قد تركّزت حول العنبات والأقنية الغدية وكذلك في جدار الأوعية الدموية بشكل مستمر على امتداد الغشاء القاعدي وكانت درجة التعبيرية خفيفة ومتقاربة في جميع غدد العينة الشاهدة سواء في الغدة النكفية أو تحت الفك ولعلّ ذلك يعود كون بروتين الكولاجين في الحالة الطبيعية يتشكّل بسويته العادية لذلك كانت درجة التعبيرية المشاهدة من حيث كثافة الكولاجين الرابع واحدة في جميع الغدد وذلك في ظروف تحضير وتلوين ودراسة مجهرية واحدة لمحضرات المجموعة الشاهدة.

أما في مجموعة التجربة فقد لوحظ في عينة الغدد النكفية تفاوت في درجة التعبيرية مقارنة مع الدرجة الطبيعية للتعبيرية في الغدد النكفية للمجموعة الشاهدة حيث أنه 20% من الغدد النكفية المصابة لم يطرأ عليها تغيير وفي 50% منها كان التغيير متوسطاً وفي 30% من الحالات كان التغيير شديداً. وكذلك لوحظت زيادة في درجة تعبيرية الكولاجين الرابع في عينة الغدد تحت الفك المصابة مقارنة مع درجة التعبيرية الطبيعية الخفيفة للغدد تحت الفك في العينة الشاهدة حيث توزعت النسب بين 40% كتعبيرية متوسطة و60% تعبيرية شديدة.

يمكن أن تفسر هذه النتائج بأن زيادة التعبيرية ناتجة عن زيادة كثافة الكولاجين الرابع المنتج أو نقص تخزيه وهو ما يتحكم به مجموعة الأنزيمات الحالة لبروتينات القالب خارج الخلوي (MMPs) ومثبطاتها (TIMP) وهي عناصر تفرزها غالب خلايا الجسم وتكون مسؤولة عن حل بروتينات القالب خارج الخلوي وفق آلية معقدة ودقيقة تنظمها مجموعة من عوامل النمو خلال مراحل عديدة من إنتاجها مما يحقق التوازن بين عمليات التركيب والتخريب لبروتينات القالب خارج الخلوي ولذلك فإن فقد هذا التوازن في بعض الحالات المرضية يؤدي إلى خلل في مكونات القالب خارج الخلوي، فالتراكيز العالية لغلوكوز الدم يخفض من تعبيرية هذه الأنزيمات الحالة لبروتينات القالب خارج الخلوي ومنها الكولاجين الرابع وتزيد من تعبيرية مثبطاتها وكذلك يمكن أن تؤثر على تفعيل المثبطات عن طريق تخفيض تعبيرية مستقبلاتها الغشائية. (McLennan, Fisher et al. 2000)

كما وقد تترافق انخفاض تعبيرية (MMP) وارتفاع تعبيرية (TIMP) مع زيادة تعبيرية المورثات المسؤولة عن تشفير RNAm الرنا المرسل الخاص بالكولاجين الرابع حيث يحدث الخلل في تعبيرية المورثة في مرحلة النسخ المورثي (Wu, Setty et al. 1997) حيث يرتفع تركيز RNAm الرنا

المرسال الخاص بالبروكولاجين الرابع ويتراكم الكولاجين الرابع في الغشاء القاعدي المتمسك نتيجة فرط إنتاجه.

وقد يتعرّض الكولاجين الرابع المفرز لتغيرات ما بعد مرحلة الترجمة والتي تنتج عن ارتباطه بالغلوكوز وتشكيل المعقد (AGEs) وهي معقدات بروتينية سكرية تنقص من حساسية الكولاجين الرابع لـ أنزيمات (MMPs) الحالة للكولاجين مما يسبب سماكة الغشاء القاعدي. (Sternberg, Grigorova-Borsos et al. 1993)

تتفق نتائج دراستنا مع نتائج دراسة S Roy وزملاءه 1994 التي أجريت لتحري تعبيرية كولاجين الغشاء القاعدي المتزايدة في حالة اعتلال الشبكية عند مرضى السكري حيث أثبتت دراسته حدوث تسمك بالغشاء القاعدي لأوعية الشبكية نتيجة زيادة تركيب الكولاجين الرابع باكتشاف زيادة مضاعفة لمستوى RNAm الرنا المرسال الخاص بالكولاجين الرابع. (Roy, Maiello et al. 1994)

كذلك توافقت نتائجنا مع نتائج دراسة مشابهة لـ Arup وزملاءه 1990 أجريت في سبيل تحري زيادة الكولاجين الرابع واللامنين في الغشاء القاعدي للأوعية الشعرية في شبكية العين عند الجرذان بعد استحداث السكري عندها وتمّ التوصل إلى حدوث زيادة في كثافة الكولاجين الرابع واللامنين في الغشاء القاعدي المتمسك لأوعية الشبكية عند الجرذان المصابة بالسكري. (Das, Frank et al. 1990)

وعند المقارنة مع دراسات أخرى أجريت عن الاعتلال الكلوي المصاحب لداء السكري عادة وجدت نتائج مشابهة لنتائج بحثنا من حيث زيادة كثافة الكولاجين الرابع في الغشاء القاعدي للأوعية الكبيبية والأنابيب الكلوية وذلك وفق آليات إمرضية عديدة منها ما يفسر التغيرات التي تطرأ على الغشاء

القاعدي على أنّها عائدة إلى ضمور الخلايا البشرية المبطنة له والتحريض على إنتاج مكونات القلب خارج الخلوي بكميات متزايدة. (Ziyadeh 1993)

وهنا يمكن أنّ نتوصل إلى وجود علاقة متبادلة بين الخلايا البشرية وما تفرزه من مكونات القلب خارج الخلوي التي تتحكم فيما بعد بفعالية هذه الخلايا وتنظيم نموها وتمايزها أي أنّ أذية الخلايا الغدية قد يؤدي إلى اضطرابات في إنتاج مكونات الغشاء القاعدي من الكولاجين الرابع واللامنين وغيرها وبنفس الوقت فإن الخلل بإنتاج هذه المكونات قد يؤثر سلباً على الخلايا الغدية.

كذلك أوضحت أبحاث أخرى أنّ تحزّب الكلية الناتج عن مرض السكري يحدث بسبب عوامل عديدة منها زيادة إنتاج المعقدات (AGEs) التي تؤدي إلى تحريض غير طبيعي للخلايا الكلوية مما يجعلها تنتج كمية أكبر من عامل النمو TGF وزيادته تؤدي إلى توضع زائد لبروتينات القلب خارج الخلوي (الكولاجين الأول والخامس والرابع والسادس والفيبرونكتين واللامنين) على مستوى الكبيبات الكلوية مما يسبب تمدد الميزانشيم وتسمك الغشاء القاعدي. (Schena and Gesualdo 2005)

وبالتالي يمكن لارتفاع السكر وبآلية مشابهة أن يؤدي إلى زيادة كثافة الكولاجين الرابع في الغشاء القاعدي للعنبات والأقنية في الغدد اللعابية مما يسبب تسمكه.

وجدنا من خلال نتائج هذه الدراسة أن الغدة تحت الفك كانت أكثر تأثراً بالسكري من الغدة النكفية من حيث زيادة تعبيرية الكولاجين الرابع والتي كانت أعلى في الغدة تحت الفك وفق الدراسة الإحصائية وقد يعود ذلك إلى أنّ حساسية الغدة تحت الفك للتأثيرات طويلة الأمد أعلى مقارنة مع الغدة النكفية حيث يعتبر ضمور الغدد اللعابية وتلييفها من الاختلالات طويلة الأمد للسكري، حيث سبق لدراسات أخرى حول تأثير الغدد اللعابية بالأشعة حيث كان تخرب العنبات أكثر وضوحاً في

الغدة تحت الفك، مما يقترح أن التغيرات النسيجية تظهر في الغدة تحت الفك بشكل بارز أكثر منه في الغدة النكفية. (Cheng, Wu et al. 2014)

الباب الخامس

الاستنتاجات

Conclusion

الاستنتاجات:

- 1- تظهر تعبيرية الكولاجين من النمط الرابع بوضوح حول العنبات والأقنية والأوعية الدموية في الغدد اللعابية.
- 2- يزداد تركيب الكولاجين من النمط الرابع وتوضعه في الغشاء القاعدي حول العنبات والأقنية والأوعية الدموية للغدد اللعابية عند الإصابة بالسكري.
- 3- إن زيادة تعبيرية الكولاجين من النمط الرابع تكون أعلى في الغدة تحت الفك مقارنة مع الغدة النكفية مما يعطي دلالة أنّ الغدة تحت الفك تتأثر بالسكري أكثر من الغدة النكفية.
- 4- إنّ تأثر الغدة تحت الفك بالسكري بشكل أكبر من النكفة يفسر حالة جفاف الفم عند مريض السكري كون الغدة تحت الفك مسؤولة عن الحصيل اللعابي الأعلى فهي تعمل في فترات الراحة وعلى مدار اليوم.

الباب السادس

المقترحات والتوصيات

Suggestions and

Recommendations

المقترحات

- 1- دراسة تأثير السكرى على الخلايا العنبيّة الغديّة.
- 2- دراسة تأثير السكرى على الأوعية الدمويّة بالخاصّة في الغدد اللعابيّة.
- 3- دراسة مدى تأثر الخلية العضلية البشرية في الغدد اللعابيّة باختلاطات الناتجة عن السكرى.
- 4- إجراء بحث يقارن بين تأثير السكرى النمط الأول و تأثير السكرى النمط الثاني على الخلايا العنبيّة الغديّة و الخلايا العضلية البشرية.
- 5- المقارنة بين تأثير السكرى النمط الأول و تأثير السكرى النمط الثاني على الأوعية الدمويّة في الغدد اللعابيّة.
- 6- دراسة السكرى الحلمي بشكل خاص وتحريّ فيما إذا كان تأثيره على الغدد اللعابيّة عابر أو نسيجي غير ردود.

التوصيات:

- 1- نوصي بزيادة الاهتمام بالبحث عن الأمراض العامة ذات التأثيرات الفموية والتحرّي عن آلياتها الإمراضية.
- 2- نوصي بإيجاد وسائل تقنية تساعد في تحديد درجة تعبيريّة البروتينات خارج الخلوية لتسهيل العمل وإعطاء نتائج أكثر دقة.
- 3- الاهتمام بإعادة تأهيل مرضى السكّري فموياً وتدبير الاختلاطات الفمويّة الناتجة عن المرض.
- 4- الاهتمام بتخصيص جزء من مقرر حول داء السكّري واختلاطاته يُدرّس في كلية طب الأسنان.
- 5- نوصي بإنشاء سجل وطني لمرضى السكّري في سوريا ليسهل إمكانية إجراء الدراسات والبحوث العلمية على عينات كافية.

الباب السابع

المراجع

References

- Al-Maskari, A. Y., M. Y. Al-Maskari, et al. (2011). "Oral Manifestations and Complications of Diabetes Mellitus: A review." Sultan Qaboos Univ Med J 11(2): 179-186.**
- AL-SAFFAR, F. and M. SIMAWY (2014). "Histomorphological and histochemical study of the major salivary glands of adult local rabbits." International Journal 2(11): 378-402.**
- Amano, O., K. Mizobe, et al. (2012). "Anatomy and Histology of Rodent and Human Major Salivary Glands:—Overview of the Japan Salivary Gland Society-Sponsored Workshop—." Acta histochemica et cytochemica 45(5): 241.**
- Amano, O., K. Mizobe, et al. (2012). "Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: -overview of the Japan salivary gland society-sponsored workshop." Acta Histochem Cytochem 45(5): 241-250.**
- Anderson, L. C. and J. R. Garrett (1986). "Lipid accumulation in the major salivary glands of streptozotocin-diabetic rats." Arch Oral Biol 31(7): 469-475.**
- Anderson, L. C. and J. R. Garrett (2004). "Neural regulation of submandibular gland blood flow in the streptozotocin-diabetic rat: evidence for impaired endothelium-dependent vasodilatation." Arch Oral Biol 49(3): 183-191.**
- Anderson, L. C., A. H. Suleiman, et al. (1994). "Morphological effects of diabetes on the granular ducts and acini of the rat submandibular gland." Microsc Res Tech 27(1): 61-70.**
- Arap, A., S. R. Siqueira, et al. (2010). "Trigeminal pain and quantitative sensory testing in painful peripheral diabetic neuropathy." Arch Oral Biol 55(7): 486-493.**
- Association., A. D. (2010). "Diagnosis and classification of diabetes mellitus." Diabetes Care 33 Suppl 1: S62-69.**
- Berkovitz, B., G. R. Holland, et al. (2002). Oral anatomy, embryology and histology, Mosby Incorporated.**
- Carlson, E. and R. Ord (2009). Textbook and color atlas of salivary gland pathology: diagnosis and management, John Wiley & Sons.**
- Cavalieri, L. F. and G. B. Brown (1948). "The Mechanism of the Oxidation of Uric Acid Studied with Isotopic Nitrogen as a Tracer1." Journal of the American Chemical Society 70(3): 1242-1243.**
- Chang, K., J. Uitto, et al. (1980). "Increased collagen cross-linkages in experimental diabetes: reversal by beta-aminopropionitrile and D-penicillamine." Diabetes 29(10): 778-781.**

- Cheng, S., V. Wu, et al. (2014). "Assessment of post-radiotherapy salivary glands." *Assessment* 84.(1001)
- Curcio, S. A., L. F. Stefan, et al. (2012). "Hypoglycemic effects of an aqueous extract of *Bauhinia forficata* on the salivary glands of diabetic mice." *Pak J Pharm Sci* 25(3): 493-499.
- Cutler, L. S., H. E. Pinney, et al. (1979). "Ultrastructural studies of the rat submandibular gland in streptozotocin induced diabetes mellitus." *Virchows Archiv A* 382(3): 301-311.
- Danaei, G., M. M. Finucane, et al. (2011). "National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants." *Lancet* 378(9785): 31-40.
- Das, A., R. N. Frank, et al. (1990). "Increases in collagen type IV and laminin in galactose-induced retinal capillary basement membrane thickening—prevention by an aldose reductase inhibitor." *Exp Eye Res* 50(3): 269-280.
- Daskala, I. D. and C. C. Tesseromatis (2011). "Morphological changes of parotid gland in experimental hyperlipidemia." *Int J Dent* 2011: 928386.
- Donath, K. and G. Seifert (1975). "Ultrastructural studies of the parotid glands in sialadenosis." *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 365(2): 119-135.
- Gargiulo, A., P. Ceccarelli, et al. (1996). "The presence of granular excretory ducts in the rabbit zygomatic gland." *Anatomia, histologia, embryologia* 25(3): 175-176.
- Gartner, L. P. and J. L. Hiatt (2012). *Color atlas and text of histology*, Lippincott Williams & Wilkins.
- Gautieri, A., A. Redaelli, et al. (2013). "Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: Candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products." *Matrix Biol*.
- Greaves, P. (2011). *Histopathology of preclinical toxicity studies: interpretation and relevance in drug safety evaluation*, Academic Press.
- Guggenheimer, J., P. A. Moore, et al. (2000). "Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of *Candida* and *Candidal* lesions." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 89(5): 570-576.

- Hellquist, H. B. and A. Skalova (2014). *Histopathology of the Salivary Glands*, Springer.
- High, A. S., J. Sutton, et al. (1985). "A morphometric study of submandibular salivary gland changes in streptozotocin-induced diabetic rats." *Arch Oral Biol* 30(9): 667-671.
- Horikawa, Y., N. Oda, et al. (2000). "Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus." *Nat Genet* 26(2): 163-175.
- Hudson, B. G., S. T. Reeders, et al. (1993). "Type IV collagen: structure, gene organization, and role in human diseases. Molecular basis of Goodpasture and Alport syndromes and diffuse leiomyomatosis." *J Biol Chem* 268(35): 26033-26036.
- Hudson, B. G., K. Tryggvason, et al. (2003). "Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen." *New England Journal of Medicine* 348(25): 2543-2556.
- Ibuki, F. K., A. Simoes, et al. (2010). "Antioxidant enzymatic defense in salivary glands of streptozotocin-induced diabetic rats: a temporal study." *Cell Biochem Funct* 28:508-503 :(6)
- Isola, M., M. Cossu, et al. (2012). "Diabetes reduces statherin in human parotid: immunogold study and comparison with submandibular gland." *Oral Dis* 18(4): 360-364.
- Junqueira, L. C. U. a. and J. Carneiro (2005). *Basic histology : text & atlas*. New York ; London, McGraw-Hill Medical: 94 -164.
- Kadoya, Y. and S. Yamashina (2005). "Salivary gland morphogenesis and basement membranes." *Anat Sci Int* 80(2): 71-79.
- Kalluri, R. (2003). "Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis." *Nat Rev Cancer* 3(6): 422-433.
- Lenzen, S. (2007). "Alloxan and streptozotocin diabetes." *Diabetologia* 51: 216-226.
- Lilliu, M. A., P. Solinas, et al. (2013). "A morphometric study of human submandibular gland in type 2 diabetic status." *Italian Journal of Anatomy and Embryology* 118(2): 115.
- Loghmani, E. (2005). "Diabetes mellitus: Type 1 and type 2".
- MacKinnon, M. (2002). *Providing Diabetes Care in General Practice: a practical guide to integrated care*, Class Publishing Ltd.
- Malecki, M. T. (2005). "Genetics of type 2 diabetes mellitus." *Diabetes Res Clin Pract* 68 Suppl1: S10-21.
- Mason, R. M. and N. A. Wahab (2003). "Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy." *Journal of the American Society of Nephrology* 14(5): 1358-1373.

- Mata, A. D., D .Marques, et al. (2004). "Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human." *Mol Cell Biochem* 261(1-2): 137-142.
- Mayfield, J. (1998). "Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria." *Am Fam Physician* 58.1370-1369 ,1362-1355 :(6)
- Mclennan, S. V., E. Fisher, et al. (2000). "Effects of glucose on matrix metalloproteinase and plasmin activities in mesangial cells: possible role in diabetic nephropathy." *Kidney International* 58: S81-S87.
- Mescher, A. L. (2013).(*Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas* , by Anthony L. Mescher.
- Mohammed, S., A. Yaqub, et al. (2013). "Review on diabetes, synthetic drugs and glycemic effects of medicinal plants." *J. Med. Plants. Res* 7(36): 2628-2637.
- Molina, C., C. Alliende, et al. (2006). "Basal lamina disorganisation of the acini and ducts of labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome: association with mononuclear cell infiltration." *Ann Rheum Dis* 65(2): 178-183.
- Muona, P., S. Jaakkola, et al. (1989). "Diabetes induces the formation of large diameter collagen fibrils in the sciatic nerves of BB rats." *Matrix* 9(1): 62-67.
- Murrah, V. A. (1985). "Diabetes mellitus and associated oral manifestations: a review." *J Oral Pathol* 14(4): 271-281.
- Nanci, A. (2013). *Salivary Glands. Ten Cate's Oral Histology-Pageburst on VitalSource: Development, Structure, and Function, Elsevier Health Sciences.*
- Nashida, T., S. Yoshie, et al. (2013). "Atrophy of myoepithelial cells in parotid glands of diabetic mice; detection using skeletal muscle actin, a novel marker." *FEBS open bio* 3: 130-134.
- Nathan, D. M. (1993). "Long-Term Complications of Diabetes Mellitus." *New England Journal of Medicine* 328(23): 1676-1685.
- Oliveira, A. F., J. G. Valente, et al. (2009). "Global burden of disease attributable to diabetes mellitus in Brazil." *Cad Saude Publica* 25(6): 1234-1244.
- Panchbhai, A. S., S. S. Degwekar, et al. (2010). "Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India ".*J Oral Sci* 52(3): 359-368.
- Pociot, F. and M. F. McDermott (2002). "Genetics of type 1 diabetes mellitus." *Genes Immun* 3(5): 235-249.

- Poduval, P. (2010). "Basement membrane and provisional matrix components (collagen type IV, laminins and von Willebrand factor) in rheumatoid arthritis and Sjögren s syndrome".**
- Porth, C. (2011). Essentials of pathophysiology: concepts of altered health states, Lippincott Williams & Wilkins.**
- REUTERVING, C. O., E. Hägg, et al. (1987). "SALIVARY GLANDS IN LONG-TERM ALLOXAN-DIABETIC RATS. A QUANTITATIVE LIGHT AND ELECTRON-MICROSCOPIC STUDY." Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series A: Pathology 95(1-6): 131-136.**
- Romero, A. C., F. K. Ibuki, et al. (2012). "Sialic acid reduction in the saliva of streptozotocin induced diabetic rats." Arch Oral Biol 57(9): 1189-1193.**
- Roy, S., M. Maiello, et al. (1994). "Increased expression of basement membrane collagen in human diabetic retinopathy." J Clin Invest 93(1): 438-442.**
- Saini, R., S. A. Al-Maweri, et al. (2010). "Oral mucosal lesions in non oral habit diabetic patients and association of diabetes mellitus with oral precancerous lesions." Diabetes Res Clin Pract 89(3): 320-326.**
- Schena, F. P. and L. Gesualdo (2005). "Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy." Journal of the American Society of Nephrology 16(3 suppl 1): S30-S33.**
- Skalova, A. and I. Leivo (1992). "Basement membrane proteins in salivary gland tumours." Virchows Archiv A 420(5): 425-431.**
- Sternberg, M., A. M. Grigorova-Borsos, et al. (1993). "[Changes in collagen type IV metabolism in diabetes]." C R Seances Soc Biol Fil 187(2): 247-257.**
- Straka, M. (2011). "Oral manifestations of diabetes mellitus and influences of periodontological treatment on diabetes mellitus." Bratisl Lek Listy 112(7): 416-420.**
- Suckow, M .A., K. A. Stevens, et al. (2012). The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. American College of Laboratory Animal Medicine series. London, Academic Press: 195-215.**
- Tamsma, J. T., J. van den Born, et al. (1994). "Expression of glomerular extracellular matrix components in human diabetic nephropathy: decrease of heparan sulphate in the glomerular basement membrane." Diabetologia 37(3): 313-320.**

- To, M., A. Goz, et al. (2013). "Diabetes-induced morphological, biomechanical, and compositional changes in ocular basement membranes." *Exp Eye Res* 116: 298-307.
- TUDOSIE, M. T. (2011). "Changes of the extracellular matrix components in the salivary glands pathology".
- van Amerongen, A. N. (2008). *Systemische aandoeningen en speeksel. Speeksel, speekselklieren en mondgezondheid*, Springer: 271-290.
- Wild, S. (2011). *Diabetes Public Health—From Data to Policy*, WB Saunders.
- World Health Organization. (2011). *Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: abbreviated report of a WHO consultation*. Geneva, World Health Organization.
- World Health Organization. Dept. of Noncommunicable Disease Surveillance. (1999). *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part ,1 Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Geneva, World Health Organization: 59 p.
- Wu, K., S. Setty, et al. (1997). "Altered kidney matrix gene expression in early stages of experimental diabetes." *Cells Tissues Organs* 158(3): 155-165.
- Yeh, C .K., S. E. Harris, et al. (2012). "Hyperglycemia and xerostomia are key determinants of tooth decay in type 1 diabetic mice." *Lab Invest* 92(6): 868-882.
- Ziyadeh, F. N. (1993). "Renal tubular basement membrane and collagen type IV in diabetes mellitus." *Kidney International* 43: 114-114.