View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۹، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶/ ۳۱-۲۴

مقاله پژوهشی

بررسی آلودگی انتروویروسی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ در استان چهارمحال و بختیاری و مقایسه با افراد سالم

امید زرگری سامانی[۱]، اعظم جمشیدیان[۲]، مهدی قطره سامانی[۲]، سلیمان خیری[۳]، هدایت الله شیرزاد[۲*]

[۱]دانشجو، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲]گروه ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۳]گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: **دیابت نوع ۱، یک بیماری خود ایمنی چندعاملی بوده که برهمکنش عوامل ژنتیکی و محیطی می‌تواند سبب بروز آن شود. ویروس‌ها، ازجمله انتروویروس ها، از مهم‌ترین عوامل محیطی در پاتوژنز دیابت نوع ۱ هستند. به‌منظور تعیین ارتباط میان انتروویروس ها و دیابت نوع ۱ در جمعیت بیماران ایرانی، به بررسی میزان عفونت انتروویروسی در سرم بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ پرداخته شد.**

روش بررسی: **در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، برای تشخیص وجود RNA انتروویروسی، از تست Nested-PCR و برای تعیین کلاس‌های مختلف از آنتی بادی‌های ضد انتروویروسی نیز از تست الایزا استفاده شد. آزمون‌های آماری مورد استفاده در این مطالعه شامل آزمون دقیق فیشر و کای اسکوئر بود.**

یافته ها: **از ۳۵ نمونه سرمی جمع‌آوری‌شده از بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱، در سرم ۱۲ بیمار (۳۴/۲٪) عفونت انتروویروسی به روش Nested-PCR مثبت شد، درحالی‌که تنها در یک مورد از افراد سالم مثبت بود (۲/۸٪) که اختلاف معنی داری را میان دو گروه نشان می دهد (P<۰/۰۵). آنتی‌بادی IgG ضد انتروویروسی در سرم ۱۳ بیمار (۳۷/۱٪) و این آنتی‌بادی از کلاس IgA، در سرم ۱۰ بیمار (۲۸/۵٪) یافت شد. این میزان در افراد سالم به ترتیب ۳ (۸/۵٪) و ۲ (۵/۷٪) نفر بود (برای هر دو آنتی بادی P<۰/۰۵). آنتی بادی ضد انتروویروسی از کلاس IgM، در سرم هیچ‌یک از بیماران و افراد کنترل یافت نشد (P=۱).**

نتیجه گیری: **نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد میزان شیوع عفونت انتروویروسی بیماران ایرانی مبتلا به دیابت نوع ۱ به شکل معنی‌داری بالاتر از افراد سالم است. این مطالعه نوعی ارتباط میان انتروویروس ها و بیماری دیابت نوع ۱ را در جمعیت مورد مطالعه نشان می‌دهد.**

واژه های کلیدی: **دیابت ملیتوس نوع ۱، عفونت انتروویروسی، Nested-PCR، استان چهارمحال و بختیاری.**

مقدمه:

خودایمنی، دسته‌ای از اختلالات دستگاه ایمنی است که در آن برخی از سلول‌ها و مولکول‌های درون بدن، بیگانه تلقی شده و به‌اشتباه مورد حمله‌ی دستگاه ایمنی بدن قرار می‌گیرند. به‌این‌ترتیب علیه سلول‌های خودی پاسخ ایمنی ایجاد می‌شود و دستگاه ایمنی به مبارزه با آن‌ها می‌پردازد. علل بروز این اختلال در دستگاه ایمنی بدن هنوز مشخص نیست. بااین‌حال، این واکنش ممکن است در اثر تولید نابه‌جا و نامتناسب سلول‌ها و پادتن‌هایی (اتوآنتی‌بادی) باشد که علیه پروتئین‌های سلول‌های بدن به وجود می‌آیند (۱). شکست تلرانس به علت به ارث رسیدن ژن‌های مستعد کننده و تماس با عوامل محیطی از عوامل اصلی ایجاد خود ایمنی می‌باشند (۱). دیابت نوع ۱، از جمله بیماری‌های خودایمنی است که با فقدان انسولین به علل خود ایمنی یا

نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه ایمنی شناسی- تلفن: ۰۳۸-۳۳۳۳۱۴۷۱، E-mail: shirzadeh@yahoo.com

ایدیوپاتیک همراه می‌باشد (۲). علت اصلی از دست رفتن سلول‌های بتا، تخریب سلولی ناشی از واکنش ایمنی سلولی است (۳). نشانه‌های کلاسیک بیماری شامل تکرر ادرار، عطش، پرخوری و کاهش وزن است و در حدود ۱۲٪ از مبتلایان به دیابت نوع ۱ دارای علائم بالینی افسردگی مشاهده می‌شود(۵،۴). دیابت نوع ۱، حدود ۵٪ تا ۱۰٪ از موارد ابتلا به دیابت را شامل می‌شود (۲). تعداد مبتلایان به دیابت نوع ۱ در سطح جهان به‌درستی مشخص نیست. هرچند تخمین زده می‌شود، هر ساله در حدود ۸۰۰۰۰ کودک به این بیماری مبتلا می‌شوند. میزان شیوع دیابت نوع ۱ هر ساله حدود ۳٪ افزایش پیدا می‌کند و در ایالات‌متحده نسبت افرادی که تحت تأثیر این بیماری قرار دارند، ۱ به ۳ میلیون است (۶). بروز موارد جدید در مناطق و کشورهای مختلف متفاوت بوده و به نظر می‌آید کمترین میزان مربوط به ژاپن و چین با حدود ۱ در ۱۰۰۰۰۰ مورد در سال بوده و بیشترین میزان در کشورهای اسکاندیناوی با میزانی نزدیک به ۳۵ مورد جدید در ۱۰۰۰۰۰ مورد در سال باشد. در آمریکا و اروپا میزان ابتلا ۸ تا ۱۷ مورد جدید در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال است (۷). بر اساس پیش‌بینی سازمان بهداشت جهانی انتظار می‌رود که تعداد افراد مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۳۰ میلادی به بیش از ۵۵۰ میلیون نفر برسد (۸).

دیابت نوع ۱، یک بیماری چندعاملی با ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی است که همان‌طور که گفته شد، علل ابتلا به دیابت نوع ۱ ناشناخته است (۱۰،۹). نظریات گوناگونی در این‌باره مطرح‌شده است که نشان می‌دهد، علت ابتلا می‌تواند یک یا مجموعه‌ای از عوامل زیر باشد: استعداد ژنتیکی، وجود یک عامل تحریک‌کننده‌ی بیماری‌زا و یا در معرض قرار گرفتن با آنتی‌ژن‌ها (۱۱). عوامل محیطی می‌توانند بر بروز دیابت نوع ۱ اثرگذار باشند، مثلاً در مورد دوقلوهای همسان، هنگامی‌که یکی از آن‌ها مبتلا به دیابت نوع ۱ باشد، دیگری تنها در ۳۰٪ تا ۵۰٪ موارد مبتلا می‌شود (۱۳،۱۲)؛ یعنی برخلاف داشتن ژنتیک کاملاً یکسان، تنها یکی از دوقلوها مبتلا به دیابت نوع ۱ می‌شود. این موضوع نشان می‌دهد علاوه بر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی نیز می‌توانند بر شیوع بیماری اثرگذار باشند. مورد دیگر از نقش عوامل محیطی، وجود یک تفاوت ۱۰ برابری از شیوع بیماری در میان نژاد سفیدپوست می‌باشد که در نقاط مختلف اروپا زندگی می‌کنند (۱۱). نظریه‌ای وجود دارد که طی آن پاسخ‌های خودایمنی تحریک‌شده به‌واسطه‌ی ویروس سبب بروز دیابت نوع ۱ می‌باشند، به‌طوری‌که طی آن سیستم ایمنی به سلول‌های آلوده در پانکراس حمله می‌کند (۱۴).

علی‌رغم مطالعات گسترده، چگونگی بروز دیابت توسط ویروس‌ها کاملاً به اثبات نرسیده. در مطالعه‌ی حاضر، به بررسی نقش انتروویروس در بروز دیابت در جمعیت مبتلا به دیابت نوع ۱ ایرانی پرداخته‌ایم. چراکه از میان عوامل محیطی، ویروس‌ها و از میان ویروس‌ها، انتروویروس‌ها، مهم‌ترین عامل در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۱ می‌باشند (۱۱). مطالعه بر روی ارتباط میان عفونت انتروویروسی و بروز دیابت نوع ۱ تاکنون بر روی مبتلایان به دیابت نوع ۱ ایرانی صورت نگرفته و این مطالعات تنها بر روی جمعیت‌های اروپایی، ژاپن و چند کشور دیگر ازجمله مصر انجام‌شده (۱۹-۱۵). بدین منظور، این مطالعه با هدف تعیین میزان عفونت انتروویروسی به روش Nested PCR، بر روی افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ شهرکرد طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

در این مطالعه شاهد موردی نمونه‌های خون، پس از کسب رضایت‌نامه از بیماران و یا والدین آن‌ها و تکمیل پرسش نامه مربوط به اطلاعات بالینی و دموگرافیک از ۳۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ که توسط پزشک متخصص از مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد پذیرش و معاینه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. جمعیت سالم نیز از افرادی که به‌منظور بررسی‌های معمول به آزمایشگاه‌های این مراکز مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند.

افراد زیر ۳۰ سالی که دارای سطح سرمی گلوکز بالاتر از ۱۲۶ در حالت ناشتا بوده بر اساس علائم بالینی و تست‌های آزمایشگاهی، توسط پزشک متخصص، مبتلا به دیابت نوع ۱ تشخیص داده می‌شوند وارد مطالعه شدند. نمونه ی افرادی که تحت درمان با داروهای خاص به‌ویژه داروهای سرکوب‌کننده یا محرک سیستم ایمنی یا مبتلا به اختلالات متابولیک و بدخیمی بودند و همچنین بیمارانی که دیگر اشکال بیماری‌های خود ایمنی در سابقه‌ی پزشکی آن‌ها یا بستگان درجه اول آن‌ها دیده شود از جمعیت این گروه حذف شدند.

بر اساس بررسی آخرین مطالعات انجام‌شده و همچنین مشورت با مشاور آماری و در نظر گرفتن محدودیت‌های مالی، با فرض اینکه آلودگی انتروویروسی در گروه دیابتی برابر با ۵۰٪ و برای افراد سالم جامعه برابر با ۱۰٪ باشد، با در نظر گرفتن اطمینان ۹۵٪ و توان ۹۵٪ حجم نمونه در هر گروه بر اساس فرمول:

$$\frac{2(Z_{1-\frac{\alpha}{2}}+Z_{1-\beta})^2 P(1-P)}{d^2}$$

برابر با ۳۵ نفر و در کل مطالعه برابر با ۷۰ نفر تعیین گردید. بعد از توضیحات کامل و جلب رضایت بیمار، از هر فرد به میزان ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA نیم مولار و لوله لخته (BD- آمریکا) دریافت شد و نمونه‌های خون تا زمان شروع استخراج RNA ویروسی و انجام تست‌های الایزا در ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج RNA ویروسی طبق دستورالعمل کیت (Cinnaclone PureViral- ایران) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (Nested PCR) جهت تکثیر قطعه ۱۶۵ جفت بازی از ناحیه 5'UTR انتروویروسی انجام گرفت. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر تنظیم شد. هر میکروتیوپ شامل ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (۱۰ PM)، ۰/۵ میکرولیتر دی کلرید منیزیم (۱۰۰Mm)، ۲/۵ میکرولیتر DNA، ۲/۵ میکرو لیتر بافر PCR(1X)، ۰/۳ میکرولیتر از آنزیم Taq پلی‌مراز (۵unit/µl)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰mM) (KBC- ایران) بود که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسیده بود.

شرایط انجام آزمایش Nested PCR در مرحله اول عبارت است از: مرحله واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت به مدت ۳۰ ثانیه و ۵۷/۵ ^{o}C درجه سانتی‌گراد جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف به مدت ۲۵ ثانیه، ۷۲ ^{o}C درجه سانتی‌گراد جهت گسترش رشته‌های مکمل به مدت ۴۰ ثانیه و سرانجام گسترش نهایی در ۷۲ ^{o}C درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. در این مرحله قطعه‌ای ۱۹۷ جفت بازی تشکیل می‌شود. مرحله دوم Nested PCR، انجام تست بر روی محصول PCR اولیه می‌باشد. کلیه محصولات به نسبت ۱ به ۱۰ با آب فاقد نوکلئاز رقیق شده و مرحله دوم با این شرایط ادامه انجام می‌شود: مرحله واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت به مدت ۳۰ ثانیه و ۶۰ ^{o}C درجه سانتی‌گراد جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف به مدت ۲۵ ثانیه، ۷۲ ^{o}C درجه سانتی‌گراد جهت گسترش رشته‌های مکمل به مدت ۴۰ ثانیه و سرانجام گسترش نهایی در ۷۲ ^{o}C درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه. در این مرحله قطعه‌ای ۱۶۵ جفت بازی تشکیل می‌شود که محصول نهایی ما بود.

توالی پرایمرهای مورد استفاده در مرحله اول آزمایش Nested PCR برای ناحیه 5'UTR انتروویروسی (GenBank: GU236144.1) که با نرم افزار Primer3 طراحی شدند شامل F: 5´-CCTCCGGCCCCTGAATG-3´ و R: 5´-CACCGGATGGCCAATCCA-3´ بود. این پرایمر ها توالی ۱۹۷ جفت بازی را تکثیر می‌کنند.

توالی پرایمرهای مورد استفاده در مرحله دوم آزمایش نیز شامل F: 5´-TATGTAAAACGACGGCCAGT-GCCCCTGAATGCGGCTAAT-3´ و R: 5´-ATTGTCACCATAAGCAGCCA-3´ بود. پس از انجام Nested PCR محصول بدست آمده بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز و با دستگاه ژل داک مشاهده گردید. تست الایزا جهت سنجش آنتی بادی ضد انتروویروسی از کلاس‌های IgA، IgG و IgM (Serion/Virion– آلمان)، طبق دستورالعمل کیت‌های مربوطه انجام شد. آزمون‌های آماری مورد استفاده در این مطالعه شامل آزمون دقیق فیشر و کای اسکوئر بود. در کلیه محاسبات سطح احتمال (P<۰/۰۵) از نظر آماری معنی دار فرض گردید. بررسی آنالیزهای آماری از طریق نرم افزار SPSS انجام گرفت.

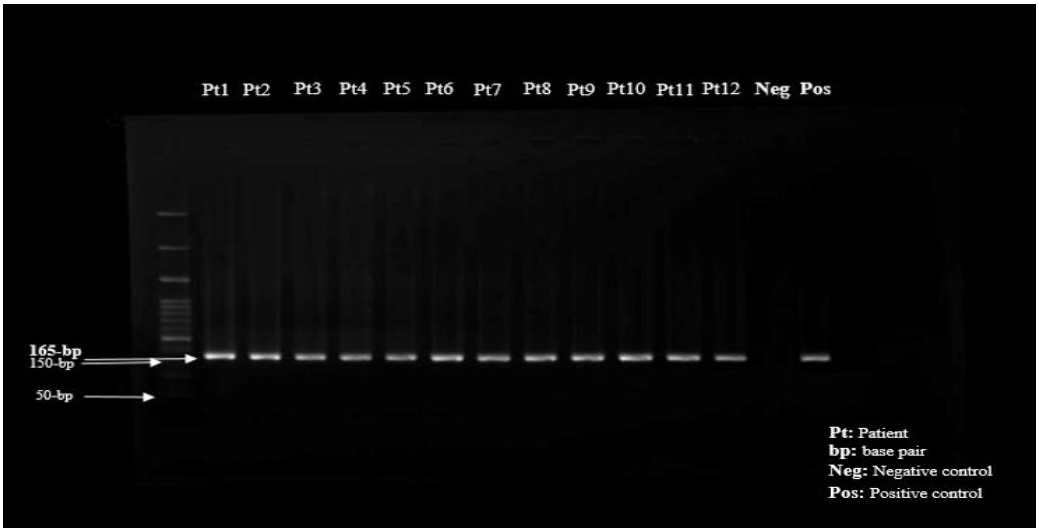
یافته‌ها:

افراد مورد مطالعه در دو گروه بیمار و شاهد از لحاظ میانگین سن و جنس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ۱۷ نفر (۴۸/۶٪) از افراد سالم و ۱۳ نفر (۳۷/۱٪) از افراد مبتلا به دیابت نوع ۱، مذکر و بقیه مونث بودند (P=۰/۴۳۳). سن بیماران گروه مورد، در دامنه‌ی ۲ تا ۲۷ سال با میانگین ۶/۰۶±۱۳/۷۵ و در گروه شاهد در دامنه‌ی ۱ تا ۲۷ سال با میانگین۷/۳±۱۳/۶ قرار دارد (P=۰/۹۲۲) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: خصوصیات دموگرافیکی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و افراد سالم

متغیر / گروه	بیمار	سالم
PCR + Nested مذکر / مونث	۷/۵	۰/۱–
حضور IgM Anti-VP1	–	–
حضور IgG Anti-VP1	۱۳	۲
حضور IgA Anti-VP1	۱۰	۲
جنسیت	۲۲/۱۳	۱۸/۱۷
محدوده‌ی سنی (سال)	۲–۲۷	۱–۲۷
میانگین ± انحراف معیار	۱۳/۶±۷/۳	۱۳/۷۵±۶/۰
تعداد	۳۵	۳۵

از ۳۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع یک، تست Nested-PCR (تصویر شماره ۱) در ۱۲ مورد مثبت شد (۳۴/۳٪) که این تعداد برای گروه کنترل تنها در ۱ مورد از ۳۵ نفر مشاهده شد (۲/۹٪). نتایج، بعد از تجزیه و تحلیل توسط آزمون دقیق فیشر، نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میان دو گروه بودند (P=۰/۰۰۱).



تصویر شماره ۱: نتایج Nested-PCR بر روی نمونه‌های بالینی

نتایج نشان می‌دهد، میان میزان وجود عفونت انتروویروسی در گروه سالم و بیمار اختلاف معنی‌دار وجود دارد (ladder 50bp- Fermentas). با استفاده از تست الایزا مشخص شد، آنتی‌بادی IgA اختصاصی ضد پروتئین VP1 انتروویروس در سرم ۱۰ بیمار از ۳۵ بیمار مورد بررسی حضور دارد. در حالی که این آنتی‌بادی تنها در سرم ۲ نفر از ۳۵ فرد گروه شاهد وجود داشت؛ بنابراین، شیوع سرمی آنتی‌بادی IgA اختصاصی ضد پروتئین VP1 انتروویروس در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک ۲۸/۵٪ و میزان سرمی این آنتی‌بادی در گروه شاهد ۵/۷٪ بود. آزمون دقیق فیشر نشان داد که ازنظر شیوع سرمی آنتی‌بادی IgA اختصاصی ضد پروتئین VP1 انتروویروس بین بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و افراد سالم اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۱۵). همچنین همین آزمون آماری نشان داد از نظر شیوع سرمی آنتی‌بادی IgG اختصاصی ضد پروتئین VP1 انتروویروس بین بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و افراد سالم اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۱۱). مقادیر مثبت آنتی‌بادی IgM اختصاصی ضد پروتئین VP1 انتروویروس در سرم هیچ‌یک از بیماران و افراد سالم مشاهده نگردید (P=۱).

بحث:

یافته‌های ما در مورد وجود ایمنی مخاطی و حضور IgA ضد پروتئین VP1 انتروویروسی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ با نتایج مطالعه‌ی Tanaka و همکاران مشابهت دارد (۴). همچنین در این مطالعه ما مشخص شد ۲۸/۵٪ از مبتلایان به دیابت نوع ۱ دارای IgA ضد پروتئین VP1 انتروویروسی در سرم خود بودند؛ اما این میزان برای آنتی‌بادی IgG ضد پروتئین VP1 انتروویروسی در همین گروه ۳۷/۱٪ بود. مطالعه ی Yeung و همکاران نشان داد افرادی که دارای آنتی‌بادی ضد جزایر پانکراس بوده، یا مبتلا به دیابت هستند یا دچار هر دو حالت می‌باشند، در کودکی میزان بالایی از آلودگی با انتروویروس‌ها داشتند که ارتباط بین این عفونت و خود ایمنی را نشان داده اند (۲۰). درست است که شروع عفونت انتروویروسی در سیستم گوارش افراد دیابتی به اثبات رسیده، اما این آنتی‌بادی طی گذشت زمان کاهش‌یافته و به نظر می‌رسد با توجه به این‌که IgG ضد پروتئین VP1 انتروویروسی برای سال‌ها در سرم افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ باقی می‌ماند، می تواند ملاک بهتری برای بررسی وجود آلودگی انتروویروسی تلقی گردد (۲۲،۲۱).

نتایج به دست آمده از این مطالعه به‌وضوح مشخص می‌کند که میزان شیوع عفونت انتروویروسی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ (۳۴/۲٪) به شکل معنی‌داری بالاتر از افراد سالم (۲/۸٪) است که این موضوع نیز در راستای مطالعات Kawashima و همکاران می‌باشد (۱۸). این میزان از شیوع عفونت انتروویروسی در جمعیت ایرانی مبتلایان به دیابت نوع ۱، مشابه مطالعات ذکرشده در دیگر کشورهای اروپایی و کشور ژاپن است (۱۸). همچنین نتایج به دست آمده نشان می‌داد ابتلا به عفونت انتروویروسی ارتباطی با جنسیت افراد ندارد که منطبق بر نتایج Kawashima و همکاران می‌باشد (۱۸). از طرفی در مطالعه‌ی Salvatoni در کشور ایتالیا، میزان شیوع عفونت انتروویروسی برای مبتلا به دیابت نوع ۱ که به‌تازگی به این بیماری مبتلا شده بودند، حدود ۷۹٪ و برای افراد کنترل ۳٪ گزارش‌شده است (۲۳). در مطالعه‌ی ما با توجه به این‌که دستیابی به موارد تازه تشخیص داده شده بسیار سخت بود، ارزیابی چنین بیمارانی میسر نشد. مطالعه‌ی Atkinson و Eisenbarth نشان دادند که بیشترین میزان بروز بیماری دیابت نوع ۱ معمولاً قبل از ۱۰ سالگی اتفاق می‌باشد (۲۴). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد میزان شیوع عفونت انتروویروسی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ بالای ۱۰ سال به شکل معنی‌داری بیشتر از افراد بیمار زیر ۱۰ سال می‌باشد. با توجه به مطالعه‌ی Atkinson و

Eisenbarth، این یافته اهمیت عوامل تحریک‌کننده‌ی محیطی و در رأس آن‌ها انتروویروس ها را در بروز بیماری به اثبات می‌رساند؛ ازآنجاکه به احتمال‌زیاد عامل ژنتیکی در بروز بیماری در سال‌های ابتدایی عمر (قبل از ۱۰ سالگی) نقش دارد. پس هرچه از سال‌هایی ابتدایی عمر بگذرد، از اهمیت عوامل ژنتیکی کاسته و عامل محیطی در بروز بیماری نقش غالب به خود می‌گیرند.

نتیجه گیری:

نتایج این مطالعه نقش انتروویروس ها در ابتلا به بیماری دیابت نوع ۱ را نشان می‌دهد. اگرچه مکانیسمی که توسط آن انتروویروس‌ها می‌توانند سلول‌های بتا را تخریب کنند، به‌درستی مشخص نشده و فرضیات گوناگون از قبیل برهم زدن تعادل زیر گروه‌های مختلف سلول‌های T به‌خصوص سلول‌های T سایتوتوکسیک، مکانیسم تقلید مولکولی و دست آخر، تخریب مستقیم سلول‌های بتا در این مورد مطرح می‌باشند. بررسی بیشتر مکانیسم‌هایی که با استفاده از آن ویروس سبب بروز دیابت می‌شود، ضروری به نظر می‌رسد چراکه بر فرض، اگر ویروس به‌طور مستقیم تخریب سلول‌های بتا را موجب شود، واکسیناسیون انتروویروسی می‌تواند مدنظر قرار گیرد. در مقابل، اگر واکنش متقاطع ایمونولوژیکی یا مواجه با اتو آنتی‌بادی‌ها توسط مکانیسم تقلید مولکولی سبب التهاب شوند، پاسخ‌های خود ایمنی در بیماری به‌واسطه‌ی واکسن تشدید می‌شود. ازاین‌رو، با شناخت مکانیسم عملکردی دقیق ویروس می‌توانیم استراتژی درمانی مناسب را اعمال کنیم. مطالعات بیشتر پیرامون مکانیسم‌های پاتوژنز انتروویروس‌ها در دیابت نوع ۱، می‌تواند منجر به ایجاد روش‌های تشخیصی- درمانی موثرتر شود که برای دست‌یابی به این مهم، شناسایی افراد مستعد قدم نخست است.

تشکر و قدردانی:

در پایان از اساتید عزیز خانم دکتر مریم ایزد و خانم دکتر لیلا محمود نیا که با راهنمایی‌های خود ما را در انجام هرچه بهتر این پروژه یاری دادند، کمال تشکر و سپاس را داشته و همچنین از خانم لادن صادقیان، خانم اکرم سرمدی، آقای امین سلطانی و کلیه همکاران محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، به جهت کمک‌های بی‌دریغشان صمیمانه قدردانی می گردد. این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی شماره ۱۳۹۳-۰۱-۷۰-۲۳۷۲ می‌باشد که در تاریخ ۱۳۹۴/۰۶/۳۱ در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به تصویب رسیده است.

منابع:

1. Knip M, Siljander H. Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. Autoimmun Rev. 2008; 7(7): 550-7.
2. Alberti K, Zimmet Pf. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 1998; 15(7): 539-53.
3. Rother KI. Diabetes treatment- bridging the divide. N Engl J Med. 2007; 356(15): 1499.
4. Tanaka S, Aida K, Nishida Y, Kobayashi T. Pathophysiological mechanisms involving aggressive islet cell destruction in fulminant type 1 diabetes-a review. Endocr J. 2013; 60(7): 837-4.
5. Roy T, Lloyd CE. Epidemiology of depression and diabetes: A systematic review. J Affect Disord. 2012; 142: 8-21.
6. Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL. Type 1 diabetes through the life span: A position statement of the american diabetesassociation. Diabetes Care. 2014; 37(7): 2034-54.
7. Patterson C, Gyürüs E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E, et al. Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989–2008: Evidence of non-uniformity over time in rates of increase. Diabetologia. 2012; 55(8): 2142-7.

8. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Res Clin Pract. 2011; 94(3): 311-21.
9. Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. Nature. 2010; 464(7293): 1293-300.
10. Xie Z, Chang C, Zhou Z. Molecular mechanisms in autoimmune type 1 diabetes: A critical review. Clin Rev Allergy Immunol. 2014; 47(2): 174-92.
11. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Akerblom HK. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. Diabetes. 2005; 54(l2): 125-36.
12. Barnett A, Eff C, Leslie RD, Pyke D. Diabetes in identical twins. Diabetologia. 1981; 20(2): 87-93.
13. Redondo M, Yu L, Hawa M, Mackenzie T, Pyke D, Eisenbarth G, et al. Heterogeneity of type I diabetes: analysis of monozygotic twins in Great britain and the United states. Diabetologia. 2001; 44(3): 354-62.
14. Fairweather D, Rose NR. Type 1 diabetes: Virus infection or autoimmune disease. Nat Immunol. 2002; 3(4): 338-40.
15. Moya-Suri V, Schlosser M, Zimmermann K, Rjasanowski I, Gürtler L, Mentel R. Enterovirus RNA sequences in sera of schoolchildren in the general population and their association with type 1-diabetes-associated autoantibodies. J Med Microbiol. 2005; 54(9): 879-83.
16. Richardson SJ, Willcox A, Bone A, Foulis AK, Morgan NG. The prevalence of enteroviral capsid protein vp1 immunostaining in pancreatic islets in human type 1 diabetes. Diabetologia. 2009; 52(6): 1143-51.
17. Oikarinen M, Tauriainen S, Honkanen T, Oikarinen S, Vuori K, Kaukinen K, et al. Detection of enteroviruses in the intestine of type 1 diabetic patients. Clin Exp Immunol. 2008; 151(1): 71-5.
18. Kawashima H, Ihara T, Ioi H, Oana S, Sato S, Kato N, et al. Enterovirus-related type 1 diabetes mellitus and antibodies to glutamic acid decarboxylase in Japan. J Infect. 2004; 49(2): 147-51.
19. Maha M, Ali M, Abdel-Rehim S, Abu-Shady E, El-Naggar B, Maha Y. The role of coxsackieviruses infection in the children of insulin dependent diabetes mellitus. J Egypt Public Health Assoc. 2002; 78(3-4): 305-18.
20. Yeung W-CG, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. BMJ. 2011;8: 342.
21. Morgan NG, Richardson SJ. Enteroviruses as causative agents in type 1 diabetes: loose ends or lost cause. Trends Endocrinol Metab. 2014; 25(12): 611-9.
22. Sarmiento L, Cabrera-Rode E, Lekuleni L, Cuba I, Molina G, Fonseca M, et al. Occurrence of enterovirus RNA in serum of children with newly diagnosed type 1 diabetes and islet cell autoantibody-positive subjects in a population with a low incidence of type 1 diabetes. Autoimmunity. 2007; 40(7): 540-5.
23. Salvatoni A, Baj A, Bianchi G, Federico G, Colombo M, Toniolo A. Intrafamilial spread of enterovirus infections at the clinical onset of type 1 diabetes. Pediatr Diabetes. 2013; 14(6): 407-16.
24. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: New perspectives on disease pathogenesis and treatment. Lancet. 2001; 358(9277): 221-9.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2017; 19(1): 24-31.

Original article

Evaluation of Enterovirus infection in people with type 1 diabetes in Chaharmahal and Bakhtiari province compared to healthy subjects

Zargari Samani O[1], Jamshidian A[2], Ghatreh Samani M[2], Khaeiri S[3], Shirzad H[2*]
[1]Student, Cellular and Molecular Research Center, immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Biostatistics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.
Received: 2/May/2016 Accepted: 6/Sep/2016

Background and aims: Type 1 diabetes is a multifactorial disease that combination of genetic and environmental factors can develop it. Viruses, Enteroviruses in particular, are major environmental candidates in the pathogenesis of type 1 diabetes. In order to clarify the relationship between Enteroviruses and type 1 diabetes mellitus in Iranian patients, it was investigated presence of enteroviral infection in serum from patients with type 1 diabetes mellitus.
Methods: In this case-control study, to detection enteroviral RNA, it was used Nested-PCR, and ELISA to detection different classes of anti-Enterovirus Abs. Statistical tests used in this study was Fisher's exact test and Chi-square.
Results: Nested-PCR for Enterovirus was positive in 12(34.2%) from 35 samples while only 1 healthy control (2.8%) was positive and there is a significant relationship between two groups ($P<0.05$). Anti-Enterovirus IgG antibody was positive in 13(37.1%) from 35 patients and this antibody in IgA class, was positive in 10(28.5%).While those antibodies were positive in 3(8.5%) and 2(5.7%) healthy people respectively (for both antibodies $P<0.05$). Also neither patients nor healthy people have anti-Enterovirus IgM antibody ($P=1$).
Conclusion: The results of this study show that the prevalence of enteroviral infection in people with type 1 diabetes is significantly higher than in healthy individuals. The study indicated some correlation between type 1 diabetes mellitus with Enteroviruses in studied population of patients.

***Keywords*: Type 1 diabetes mellitus, Enterovirus infection, Nested-PCR, Chaharmahal and Bakhtiari province.**

Cite this article as: Zargari Samani O, Jamshidian A, Ghatreh Samani M, Khaeiri S, Shirzad H. Evaluation of Enterovirus infection in people with type 1 diabetes in Chaharmahal and Bakhtiari province compared to healthy subjects. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(1): 24-31.

[*]**Corresponding author:**
Immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00983833331471, E-mail: shirzadeh@yahoo.com