



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة وراثية جزيئية ومصلية للبين الابيضاض التاسع IL-9 لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى مجلس

كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى كجزء من متطلبات نيل درجة

الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

اسيل جواد كاظم العزاوي

بكالوريوس علوم حياة 2015 - 2016 / جامعة ديالى

بإشراف

أ.م.د.أبتسام بداي حسان

أ.م.د.عمار احمد سلطان

تشرين الاول 2019 م

صفر 1440 هـ

1. المقدمة Introduction

التهاب المفاصل الرثوي (RA) Rheumatoid arthritis هو أكثر امراض المناعية الذاتية شيوعاً في العالم (McInnes و Schett, 2011). ويعتبر التهاب المفاصل الرثوي هو من المظاهر السريرية الأولية التي تؤثر بشكل رئيس على المفاصل الصغيرة في اليدين والقدمين (Widdifield وآخرون, 2013). وقد ينتشر التهاب المفاصل في الجسم مما يؤدي إلى التورم والتصلب والتلف المفصلي مع امكانية فقدانه لوظيفته (Lee وآخرون, 2012).

وقد سجلت في عام 1990 حوالي 28000 حالة وفاة على مستوى العالم (Page وآخرون, 2002). وفي عام 2010 نتج عنه حوالي 49000 حالة وفاة على مستوى العالم (Lozono وآخرون, 2012). وفي عام 2013 نتج عنه حوالي 38000 حالة وفاة, وكذلك أصيب أكثر من 24,5 مليون شخص بالتهاب المفاصل الرثوي في عام 2015 وتتراوح نسبة ألتهاب المفاصل الرثوي في البالغين حوالي 0.5-1% في الدول المتقدمة (Smolen وآخرون, 2016).

على الرغم من إن أسباب حدوث مرض التهاب المفاصل الرثوي غير معروفة لكن أسهمت عوامل عدة في الاصابة بالمرض منها عوامل وراثية وبيئية وعوامل مناعية وتفاعلها معاً تسهم في ظهور مرض التهاب المفاصل الرثوي (Firestein وآخرون, 2017). فالتدخين من العوامل البيئية الخطرة لحدوث التهاب المفاصل الرثوي في السكان القوقازيين, إذ يزيد من خطر الاصابة ثلاث مرات مقارنة مع غير المدخنين خاصة عند الرجال المدخنين المدمنين, أولئك يكون لديهم عامل الرثوي ايجابياً (Sugiyama وآخرون, 2010; Pollard, 2016). بينما تنخفض نسبة الاصابة بمرض (RA) عند الحمل نتيجة التحولات الهرمونية التي ترافق النساء أثناء الحمل لكن بعد الولادة تزداد نسبة الاصابة في النساء وخصوصاً عند النساء المتعددات الانجاب بسبب التدخل الهرموني بعد الولادة (deman وآخرون, 2014).

تؤدي العوامل الوراثية دوراً واضحاً في مخاطر مرض (RA) وشدته، وقد ذكرت إحدى الدراسات التي أجريت على التوائم المتماثلة الزيجة (Homozygote) لمرض RA حيث ازدادت نسبته حوالي 12-15% مقارنة بغير التوائم من عامة الناس بنسبة 1% وحوالي 5-2% للتوائم الاخوية الغير متماثلة (Heterozygote) وغيرها من الأقارب من الدرجة الاولى (Kaminsky وآخرون , 2009). وقد أسهم التاريخ العائلي جينياً في زيادة خطر الإصابة بالمرض من ثلاث إلى خمس مرات , وفي عام 2016 تم دراسة الجينات المسؤولة عن المرض , فوجدت نسبتها تتراوح بين 40-65% من حالات التهاب المفاصل الرثوي المصلي (Smolen وآخرون , 2016). يرتبط (RA) ارتباطاً قوياً بجينات من النوع الثاني لمعقد التوافق النسيجي Major (MHC) Histocompatibility complex Class II للمستضد HLA-DR4 هو العامل الجيني الرئيسي يختلف نسبياً بين المجموعات العرقية، أما الطفرات التي تؤثر على المسارات المناعية للاستجابة المشتركة، على سبيل المثال (CD28 , CD40) وزيادة تنشيط المسلك المناعي الذاتية يبدو أن تأثيرها اقل من طفرات HLA (Smolen وآخرون , 2016).

ان أخطر المخاطر الجينية لمرض (RA) موجود في الصنف الثاني من Class II MHC حوالي 40% من التأثير الجيني يشكل نسبة احتمالات تطور التهاب المفاصل الرثوي في الافراد الذين لديهم MHC class HLA-DR4 هو حوالي 1:5 . تم وصف هذا الارتباط بين HLA-DR و RA مبدئياً في عام 1970s مع ملاحظة ان HLA-DR4 موجود بشكل تسلسلات احماض امينية (QKRAA) glutamine-leucine-arginine-alanine-alanine والذي هو موجود في بعض مناطق DR4 و DR14 بالإضافة الى سلاسل DR1b (Weyand وآخرون , 1992).

تشارك خلايا محددة CD4+Tcell في تحفيز الاستجابة المناعية في التهاب المفاصل الرثوي على الأرجح كاستجابة لمستضد خارجي غير معروف او ذاتي المنشأ ونتيجة لذلك تنتج الخلايا الوحيدة والبلاعم والخلايا الليفية للحركيات الخلوية والتي هي جزيئات مناعية قوية ذات أدوار مهمة في الاستجابات للأصابة بالأحياء المجهرية أو الأعضاء . وقد أفادت العديد من الدراسات عن دور تعدد الأشكال الجيني للحركيات الخلوية في رفض زراعة او نقل الاعضاء وأمراض المناعة الذاتية والأمراض الخبيثة (Bukhari وآخرون, 2002; Nadeem وآخرون, 2015).

تعد الحركيات الخلوية Cytokine بمثابة عوامل لتنشيط الخلايا، والتمايز والوظيفة . هناك بحوث او دراسات عدة حول تعدد الأشكال الجيني للحركيات الخلوية ونتاجها مما يؤثر على توازن الاستجابة المناعية . إن معظم التغيرات الوراثية اما تكون تغيرات في نيوكليوتيده واحده وتسمى Single nucleotide polymorphism (SNPs) او Microsatelite التغيرات الوراثي التتابع الصغيرة وهناك انواع اخرى من التغيرات الوراثية مثل طفرات الإدراج Insertion لقاعدة مفردة او حذف قاعدة Deletion من التسلسل النيوكليوتيدي (Connelly وآخرون, 2015) . يعد عامل النخر الورمي- الفا TNF- α من الحركيات الخلوية المبدئ للالتهاب (Proinflammatory) يؤدي دوراً محورياً في تنظيم الاستجابة الالتهابية في التهاب المفاصل الرثوي وتوجد العديد من النظريات حول كيفية حدوث إطلاق TNF في RA (Ghaffar, 2016).

IL-1 وهو احد الوسائط المهمة في الاستجابة الالتهابية كما يؤدي دوراً حيوياً في الاستجابة الطبيعية للجسم وفي تطور الحالة المرضية التي تقود الى التهابات مزمنة، والتي تؤدي دوراً مهماً وحيوياً في المناعة الذاتية وأيضاً ينظم وظائف المناعة المكتسبة (Frasca وآخرون, 2008 وLwakura, 2010).

الخلاصة

التهاب المفاصل الرثوي (RA) Rheumatoid arthritis هو مرض مزمن يصيب المفاصل ويمر بأطوار متناوبة من الشفاء والانتكاس إذ أن له صفات جينية، سريرية، مرضية، ومناعية مميزة. تم إجراء الدراسة الحالية على مجموعة من المرضى المراجعين في مستشفى بعقوبة التعليمي/ العيادة الاستشارية من جميع اقصية محافظة ديالى، والفترة 20-7-2018 لغاية 1-2-2019، إذ تم جمع عينات الدم من 50 مريض مصاب (RA) تراوحت اعمارهم بين 29-75 سنة ومن ناحية اخرى جمعت 50 عينة دم من أشخاص أصحاء ظاهرياً كمجموعة سيطرة بعد أن تم تشخيص من قبل الطبيب المختص، تراوحت اعمارهم بين 25-75 سنة. شملت الدراسة الكشف عن التغيرات الوراثي لجين البين الابيضاض التاسع (IL-9) بتقنية ايجاد لتتابع النيوكليوتيدة sequencing وعلاقته بمرض (RA) كعامل من عوامل الخطورة المسببة للمرض، واجراء فحص مناعي للحركي الخلوية IL-9 بتقنية الاليزا.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة عالية من النساء المصابات بمرض (RA) بلغت 94% مقارنة ب 6% نسبة الاصابة بالذكور، وكانت اعلى نسبة للأصابة بالمرض (RA) بالفئة العمرية 45-54 سنة إذ بلغت 38% مقارنة ب 16% نسبة الاصابة بالمرض للفئة العمرية 65-75 في الدراسة الجزيئية تم التحري فيها عن التغيرات لجين IL-9 للمواقع rs2069882، rs1271895407، rs768274071، rs1284377142 أشارت نتائج الدراسة الحالية ان جين IL-9 في موقع rs2069882، rs1271895407 على التوالي، هو عامل من عوامل الخطر المصاحب للمرض، لوجود الطراز الوراثي AA,TT بالنسبة لمجموعة المرضى وبنسبة 55.55%، 44.44% واليلاهما A,T, بنسبة 77.78%، 72.22% على التوالي.

الخلاصة

التهاب المفاصل الرثوي (RA) Rheumatoid arthritis هو مرض مزمن يصيب المفاصل ويمر بأطوار متناوبة من الشفاء والانتكاس إذ أن له صفات جينية، سريرية، مرضية، ومناعية مميزة. تم إجراء الدراسة الحالية على مجموعة من المرضى المراجعين في مستشفى بعقوبة التعليمي/ العيادة الاستشارية من جميع اقصية محافظة ديالى، والفترة 20-7-2018 لغاية 1-2-2019، إذ تم جمع عينات الدم من 50 مريض مصاب (RA) تراوحت اعمارهم بين 29-75 سنة ومن ناحية اخرى جمعت 50 عينة دم من أشخاص أصحاء ظاهرياً كمجموعة سيطرة بعد أن تم تشخيص من قبل الطبيب المختص، تراوحت اعمارهم بين 25-75 سنة. شملت الدراسة الكشف عن التغيرات الوراثي لجين البين الابيضاض التاسع (IL-9) بتقنية ايجاد لتتابع النيوكليوتيدة sequencing وعلاقته بمرض (RA) كعامل من عوامل الخطورة المسببة للمرض، واجراء فحص مناعي للحركي الخلوية IL-9 بتقنية الاليزا.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة عالية من النساء المصابات بمرض (RA) بلغت 94% مقارنة ب 6% نسبة الاصابة بالذكور، وكانت اعلى نسبة للأصابة بالمرض (RA) بالفئة العمرية 45-54 سنة إذ بلغت 38% مقارنة ب 16% نسبة الاصابة بالمرض للفئة العمرية 65-75 في الدراسة الجزيئية تم التحري فيها عن التغيرات لجين IL-9 للمواقع rs2069882، rs1271895407، rs768274071، rs1284377142 أشارت نتائج الدراسة الحالية ان جين IL-9 في موقع rs2069882، rs1271895407 على التوالي، هو عامل من عوامل الخطر المصاحب للمرض، لوجود الطراز الوراثي AA,TT بالنسبة لمجموعة المرضى وبنسبة 55.55%، 44.44% واليالاتهما A,T, بنسبة 77.78%، 72.22% على التوالي.