وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جـامعة ديـالى

كلية التـربية للعلوم الصرفة

قسم عـلوم الحيـاة

تعدد الاشكال الوراثية للبين ابيضاضي - 9 لدى المرضى العراقيين المصابين بالربو

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى

كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

علا مؤيد علي العبادي

بكالوريوس علوم الحياة 2016 – 2017/ كلية التربية للعلوم الصرفة/

جامعة ديالى

بأشراف

أ.م. د. إبتسام بداي حسان

1443هـ **2021م**

1. المقدمة Introduction

يعد الربو Asthma احد امراض الحساسية وهو التهاب مزمن يصيب الشعب الهوائية بالرئتين عند الأطفال والبالغين, ويحدث كلما ضاقت المسالك الهوائية بالرئتين جراء الالتهاب وانقباض العضلات المحيطة بالشعب الهوائية الصغيرة. مؤديًا إلى ظهور أعراض الربو كالسعال، والأزيز، وضيق التنفس، وضيق الصدر. وتظهر هذه الأعراض من حين إلى أخر وتزداد حدتها في الليل أو أثناء ممارسة الرياضة. وهناك "مثيرات" أخرى شائعة قد تزيد من تفاقم أعراض الربو. وتختلف المثيرات من شخص لآخر، غير أنها قد تشمل حالات العدوى الفيروسية (نزلات البرد)، والغبار، والدخان، والأبخرة، والتغيرات في الطقس، والعشب وحبوب الطلع، وفراء وريش الحيوانات ، وأصناف الصابون والعطور القوية، وعندما يحصل هذا الالتهاب تحدث تغيرات في الرئتين إذ تضيق مجاري الهواء لأنقباض العضلات الموجودة في جدار الشعب الهوائية وتتقلص ويزداد افراز المادة المخاطية من الشعب الهوائية وتتضخم الاغشية المبطنة لها (Rawi, 2013 ; Athari, 2019).

ينتشر مرض الربو في أغلب دول العالم خصوصاً في الدول الفقيرة و بحسب بيانات منظمة الصحة االعالمية لعام (2020) والتي وصلت فيها أعداد الوفيات الناتجة عن مرض الربو الى (80%) بمعدلات أعلى لدى الأطفال الصغار منه لدى الكبار,وفي الأناث منه لدى الذكور,وقد ازدادت أعداد المرضى في عام 2015 الى(358) مليون شخص مقارنة بـ (183) مليون شخص لعام 1990م,حيث توفي منهم حوالي (397.100) شخص في 2015 (القريدي وعزب 2020; Enilari و Sinha, 2019 ; 2020,WHO).

بحسب ما أشير له في دليل مرضى الربو وعائلاتهم الذي اصدرته وزارة الصحة الأمريكية عام 2016 ان انتشاره في العالم اكثر من (300) مليون مصاب بمرض الربو (بما يقدر بـ339 مليون شخص) ويسبب وفاة شخص واحد من بين كل (250) حالة وفاة في العالم حسب تقديرات منظمة الصحة العالمية بما يقارب (417.819) حالة وفاة بسبب الربو على الصعيد العالمي كما ويتوقع ان تزداد وفيات الربو بنسبة (20%)في السنوات العشرة القادمة اذا لم تتخذ اجراءات فعالة لمعالجة المرض بالرغم من صعوبة الشفاء التام من مرض الربو.على صعيد الدول العربية بينت أحدى الدراسات التي أجريت بين أطفال المنطقة الشرقية من المملكة العربية السعودية مقارنة بالمناطق الأخرى. تلعب العوامل البيئية أدواراً رئيسة في التسبب في المرض في المضيفات المهيأة وراثيًا. في هذه الدراسة قاموا بتمييز نمط الحساسية لدى الأطفال المصابين بالربو في المنطقة الشرقية من المملكة العربية السعودية.إذ بلغ عدد المصابين بالربو في المملكة العربية السعودية(24.8) مليون في عام 2016م وبمعدل انتشار يتراوح ما بين (15 – 25%) بحسب المناطق. (Alkhater,2017 ; WHO, 2020).

كما ويعاني حوالي (مليون و200 ألف)جزائري منه,وذكر اصحاب الاختصاص ان نسبة المصابين بأمراض الحساسية والربو ما بين (20 إلى 33)بالمائة من مجموع سكان الجزائر، وبلغت الوفيات أكثر من (1500) جزائري سنوياً نتيجة الربو، وتصيب الأمراض التنفسية فرداً جزائرياً من بين ثلاثة افراد. كما تعد الأمراض التنفسية من الاسباب الرئيسية والاساسية للربو، اكثر وفيات الربو في المستشفيات هم من الاطفال. وبحسب أحصائيات اليونيسيف فإن الجزائريموت فيها(38) طفلاً من أصل (1000) سنوياً، وهذا مما جعلها في المرتبة الـ (75) عالمياً كما هو الحال في الدول النامية (مزردي,2017).

ان أسباب حدوث مرض الربو قد تكون ناجمة عن مجموعة من العوامل الوراثية والعوامل المناعية والبيئية مثل الطقس الجاف جداً أو الرطب أو العاصف وكذلك المهيجات الكيميائية وتلوث الهواء والتدخين والانفعالات وتفاعلها معاً تسهم في ظهور مرض الربو

(Reader وآخرون, 2003; Cao وآخرون ,2019 ; WHO , 2020).

يتم تنظيم التهاب مجرى الهواء الكامن وراء الربو من خلال شبكة من السايتوكينات المتفاعلة بشكل متبادل إذ تقوم بتنشيط العملية الالتهابية إذ تقوم الخلايا المناعية بانتاج السايتوكينات المحفزة للعملية الالتهابية, وتلعب خلايا المساعدة من نوع الثاني (Th2) دوراً مهما في هذه العملية إذ تفرز نوعين من الانترلوكين وهما (IL-4,IL-5) ويكون ل(IL-4)دورا اساسي في عملية التحسس الأولية لمسببات الحساسية وكذلك يحفز فرط الحمضات في المسالك الهوائية,كما يشارك(IL-5)في تنشيط وانتقال الحمضات(الخلايا الحمظة Eosinophil) إلى المسالك الهوائية مما يؤدي إلى التهاب الشعب الهوائية (Cao وآخرون, 2019; Athari, 2019). كما ان هناك العديد من الانترلوكينات الاخرى المرتبطة بخطر الاصابة بالربو والمنتجة من خلايا (Th2)منها-IL-2,IL (IL-13,IL-1,IL-6و(IL-9) هذا السايتوكين متعدد الاتجاهات وقد تمت دراسته في المقام الأول في سياق الحالات المرضية المناعية المرتبطة بـ (Th2) (T helper 2) مثل الربو والالتهابات الطفيلية. أظهرت الدراسات الحديثة أن له مصادر خلوية متعددة ويشارك بشكل حاسم في التسبب في الأمراض الالتهابية وفي حماية التحمل المناعي.يلعب الدور الاساسي في الافراز المفرط للمخاط وكذلك له دور كبير في التسبب في الربو (Nicolaides وآخرون1997, ;Reader وآخرون, 2003)وإن السايتوكينات تكون بمثابة عوامل لتنشيط الخلايا والتمايز والوظيفة وهناك أيضاً العديد من التقارير حول تعدد الأشكال الجينية للسايتوكينات وإنتاج الانترلوكينات التي تؤثر على توازن الاستجابة المناعية (Sharma وآخرون ,2011).

إنَّ معظم تعدد الأشكال سجلت من نوع تعدد الأشكال النيوكليوتيدية المفردة (SNP) أو تعدد الأشكال الميكروستلايت، ولكن تم ملاحظة أنواع أخرى مثل الإدراج والحذف (Connelly وآخرون, 2015

الخلاصة Summary

صممت الدراسة الحالية لتقييم الحالة المناعية والوراثية الجزيئية على مجموعة من المرضى المراجعين للعيادة الاستشارية للأمراض التنفسية والتدرن الرئوي في محافظة ديالى للمدة من شهر تشرين الأول 2020 ولغاية شهر أذار 2021, وجمع (74) عينة دم من المرضى المشخصين بمرض الربو وكان عدد الاناث (45) وعدد الذكور (29) بمعدل عمر (16 – 87) سنة, وجمع عينات دم من (26) شخص غير مصاب بالربو وكان عدد الاناث (5) وعدد الذكور (21) بمعدل عمر (25 – 45) سنة تمثل مجموعة الاصحاء (السيطرة), وقد تشتمل الجزء العملي لهذه الدراسة أجراء فحوصات الحركي الخلوي للأنترلوكين–9– بأستخدام تقنية الامتصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA). أضافة الى أجراء دراسة جزيئية لمعرفة العلاقة بين التباين الوراثي لجين الأنترلوكين –9– وعلاقته بمرض الربو كعامل من عوامل الخطورة المرتبط بالمرض.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي في الاصابة بمرض الربو في متوسط عمر(2.14 ± 43.16) سنة وعند المقارنة مع مجموعة الاصحاء (2.22 ± 38.35) سنة. وأظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعاً معنوياً في نسبة إصابة الاناث بمرض الربو بنسبة (59.4%) مقارنة بالذكور بنسبة (40.6%). وأظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي (P<0.030) في مستوى C3 في الدم في مجموعة المرضى المصابين بالربو (2.63)Mg/dl وعند المقارنة مع مجموعة الاصحاء (2.25) Mg/dl . بينما سجلت النتائج عدم وجود فرق معنوي (P< 0.319) وعدم وجود اختلاف في مستوى C4 في مصل الدم في مجموعة المرضى المصابين بالربو(0.052) Mg/dl مقارنة بمجموعة الاصحاء (0.052)Mg/dl . بينما أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي (P <0.008) في مستوى IgA في الدم في مجموعة المرضى المصابين بالربو(24.14)IU/ml وعند المقارنة مع المجموعة الاصحاء(22.82)IU/ml . كما أظهرت النتائج في الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي(P <0.004) في مستوى IgE في الدم في مجموعة المرضى المصابين بالربو(82.60) IU/ml وعند المقارنة مع المجموعة الاصحاء (77.98) IU/ml. توصلت الدراسة الحالية من خلال هذه النتائج إلى ان العوامل المناعية لاسيما بروتينات المتمم والكلوبيولينات المناعية يكون لها دور في الالية المسببة لمرض الربو إذ اظهرت ارتباطاً وثيقاً في حدوث المرض وشدته.

كما توصلت نتائج الدراسة الحالية ان جين الأنترلوكين التاسع للتتابع rs 1799962 هو عامل من عوامل الخطر المصاحب لمرض الربو. ان النمط الوراثي المتماثل CC واليله C سجل ارتفاعاً ملحوظاً لدى مجموعة المرضى المصابين بالربو وحسب النسب المذكورة

). هناك اكثر من(100)جين مرتبط بمرض الربو إذ وجد Saba وآخرون, (2017) ان SNP للأنترلوكين (10)و(13) له علاقة كبيرة بمرض الربو في باكستان. توصلت دراسة حديثة إلى ان زيادة كبيرة في مستويات الانترلوكين 9 في الدم لوحظ في الربو التحسسي لدى المرضى العراقيين وأشارت الدراسة إلى أن زيادة (IgE) الكلية في الدم بالإضافة إلى زيادة انترلوكين – 9 في الدم يعد مكوناً رئيساً في الربو التحسسي والتسبب في المرض (Jebur وآخرون, 2020).

على الرغم من ان لمرض الربو أهمية طبية ولكن هناك القليل من البحوث التي ركزت على التغايرات المناعية والوراثية الجزيئية الحاصلة لدى مرضى الربو و9 –IL في محافظة ديالى خصوصاً والمجتمع العراقي عموماً, لهذا جاءت هذه الدراسة.

2. أهداف الدراسة Aims of Study

نظراً لما تقدم من أهمية لمرض الربو و قلة وجود دراسات وراثية جزيئية ومناعية عن هذا المرض في مجتمع ديالى لذا اقترح موضوع الدراسة ليشمل الجوانب التالية :-

1. معرفة بعض العوامل ذات العلاقة بمرض الربو منها العمر والجنس .
2. تقييم مستوى بروتينات المتمم (C3,C4) في مصول مرضى الربو والاصحاء بأستخدام تقنية الاليزا.
3. التحري عن مستوى الاضداد المناعية (IgA, IgE) في مصول مرضى الربو والاصحاء بأستخدام تقنية الاليزا.
4. الكشف جزيئياً عن الطفرات أو التغايرات الموجودة في جين الأنترلوكين (9–IL) المسببة للمرض باستخدام تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل(PCR) وبأستخدام تقنية(SNP).