



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة جزئية ومناعية للنساء المصابات بالتهاب المفاصل الرثياني في محافظة كربلاء

رسالة تقدمت بها
الطالبة
هدى صباح شهاب الدين احمد
سنة التخرج 2009

إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء وهي جزء
من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة - علم الحيوان

بإشراف

أ. م. د. ياسمين خضير خلف الغانمي



(اَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ * خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ *
اَقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ * الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ * عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ
يَعْلَمُ)

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

الإهداء

إلى ابن عم المصطفى : . علي المرتضى واله الطيبين الطاهرين
صلوات الله عليهم أجمعين .
إلى من تصعد دعواتهما لي في كل صلاة : . أمي وأبي .

إلى من أمرضعتني الحب والحنان مرمر الحب وبلسم الشفاء
ينبوع الصبر والتفائل ، القلب الناصع بياضاً : . والدتي الحبيبة .
إلى من أثاروا في نفسي الحماسة والمثابرة أخوتي الأعزاء .

إلى من أمدوني بالعلم والمعرفة أساتذتي الأفاضل

شكر وتقدير

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد ،الذي لم يلد ولم يولد ،ولم يكن له كفواً أحد، الذي أفاض العلم من معدن الكرم وفتح أبواب رحمته الواسعة بالقلم وعلم الإنسان ما لم يعلم ،والصلاة والسلام على محمد عبده المجتبي، ورسوله المصطفى ، وعلى أهل بيته مصابيح الدجى وعلى أصحابه النجباء .

يطيب لي وأنا انتهي من إعداد رسالتي أن أتقدم بجزيل شكري وبالغ امتناني إلى الدكتورة الفاضلة ياسمين خضير الغانمي، لاقتراحها موضوع البحث ،وجهدا المتواصل في المتابعة والإرشاد والتوجيهات السديدة طيلة مدة الإعداد، فجزاها الله أوفـر الجزاء لتفـيد من علمها غيري من الباحثين الذين يصبون للمعرفة.

أوجه شكري وتقديري إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة للجهود المبذولة في تذليل كثير من عقبات البحث.

ويسرني أن أتقدم بوافر الشكر والاحترام إلى الدكتور قيصر عبد السجاد محمد السلـمان كلية التربية للعلوم الصرفة : لما قدمه لي من عون وإرشاد علمي سديد أثناء مسيرـة البـحث.

والاعتزاز والتقدير للأخوة الأعزاء زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا. وأتقدم بالشكر الجزيل إلى الأكف البيض التي دفعتني للسير قدماً في طريق العلم وزرعوا في نفسي روح المجاهدة وصولاً إلى تحقيق الهدف المنشود. إلى من كانوا سندي في الحياة وافر محبتي واعتزازي ... عائلتي.

واقدم شكري الى كافة المرضى الذين ساعدوني في اتمام موضوع دراسة بحثي . وأخيراً أوجه شكري وتقديري إلى كل من غاب اسمه وحضر فضله، وبقي حسن عمله إلى كل من مدّ يده العون والمساعدة ولم يبخل علي بنصيحة أو دعاء.

وأسأل الله العلي العظيم الموفقية للجميع ...

الباحثة

هدى

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية جمع (44) عينة من الدم من النساء المصابات بمرضى التهاب المفاصل الرثياني والغير معالجين ، و22 عينة من النساء الاصحاء من محافظة كربلاء، والمراجعات لمستشفى الإمام الحسين الطبية في العيادة الاستشارية الخاصة بمرضى المفاصل من النساء بإعمار تتراوح من (20-60) سنة، وللمدة من الاول من تشرين الثاني2018 ولغاية الاول من أيار 2018، تمّ تشخيص المرضى من أطباء الاستشارية في مستشفى الإمام الحسين الطبية، وتضمنت الدراسة محورين تضمن المحور الاول الدراسة الجزيئية أذ كشفت الدراسة الجزيئية التي أجريت بتقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل ال Polymerase chain Reaction (PCR) أنّ نسبة ظهور الجين في عينات المرضى (98%)، وعينات الاصحاء(100%)، كما تم إجراء الوصف الجزيئي وذلك باستخدام تقنية (PCR) للجين المشمول بالدراسة، وهو جين ال Single transducer and activator of transcription4 (STAT4)، و تم استخدام تقنية التوصيف الجزيئي وهي أيضاً تعتمد على تقنية ال (PCR) وهي Restriction fragment length polymorphism (RFLP)، وذلك لمعرفة التعدد الشكلي للجين (STAT4) وتم تحديد ثلاث طرز جينية هي GG والطراز الجيني GT والطراز TT في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة الاصحاء. و كانت نسبة الطراز GT هي الأعلى ويلبها الطراز GG أما الطراز TT فكانت النسبة المئوية له هي الادنى في مرضى التهاب المفاصل الرثياني، كما كشفت الدراسة الحالية بارتباط التقدم بالعمر والزيادة بالوزن مع ازياج نسبة الاصابة بالمرض وكذلك سجل المرض نسبة اعلى في المرضى الذين يوجد لديهم تاريخ عائلي مسبق مع الاصابة وارتفعت نسبة الاصابة بالمرض في المرضى المدخنين والمصابين بداء السكري كما سجلت الدراسة ارتفاع الاصابة بضغط الدم المرتفع في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني.

أما الدراسة المناعية فقد تضمنت قياس مستوى ثلاث سايتوكينات وهي الانترلوكين 1-بيتا (IL-1beta) والانترلوكين 4 (interleukin4) والانترفيرون كما (interferon gama) أذ بينت نتائج الاختبارات المناعية وحوود ارتفاع معنويا ($P \leq 0.05$) في مستوى تركيز السايتوكين المناعي الانترلوكين 4 وفي مستوى في تركيز السايتوكين المناعي الانترلوكين 1_بيتا وفي مستوى السايتوكين المناعي الانترفيرون كما في مجموعة المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما توصلت الدراسة الحالية الى وجود علاقة ارتباطية بين الطرز الجينية لجين STAT4 وبعض المعايير المناعية، اذ يلاحظ ارتفاع مستوى السايتوكين المناعي الانترلوكين 4 لدى حملة الطراز GT في مجموعة المرضى بالمقارنة مع حملة الطراز TT والطرز GG، ويلاحظ ارتفاع مستوى السايتوكين المناعي الانترلوكين 1-بيتا والانترفيرون كما في مجموعة المرضى من حملة الطراز GT بالمقارنة مع بقية الطرز.

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
I	خلاصة
II	قائمة المحتويات
III	قائمة الجداول
VII	قائمة الأشكال والصور
VIII	قائمة المختصرات
	الفصل الاول
1	1.1 المقدمة Introduction
3	2.1 أهداف البحث
4	الفصل الثاني استعراض المراجع Literature Review
4	2-1 التهاب المفاصل الرثياني : Rheumatoid arthritis
7	2.2 عوامل الخطورة لمرض التهاب المفاصل الرثياني risk factor for rheumatoid arthritis
7	1-2-2 العمر age
8	2-2-2 الجنس :- sex
9	3-2-2 الوزن weight
9	4-2-2 التاريخ العائلي :- family history
10	5-2-2 عوامل بيئية :- Environmental factors
10	6-2-2 التدخين :- smoking
11	7-2-2 الإصابات البكتيرية والفيروسية :- Infection Bacterial and virus

11	3.2 التشخيص السريري لالتهاب المفاصل الرثياني Clinical Diagnosis of RA
13	4-2- الأساس الوراثية لالتهاب المفاصل الرثياني :- the genetic basis for rheumatoid arthritis
14	5.2 جينات STAT (signal transducer and activator of transcription)
14	1.5.2 جين STAT4 :-
17	6-2 آلية الإصابة بالمرض :- mechanism of infection 6.2 الأمراض
17	7.2 الآلية المرضية المناعية
17	1-7-2 الخلايا البلعمية Macrophage
18	2-7-2 الخلايا اللمفية lymphocyte
18	1-2-7-2 الخلايا التائية المساعدة T Helper cell
19	2-2-7-2 الخلايا البائية B Cell
20	3-2-7-2 الخلايا المتعادلة Neutrophili
22	الفصل الثالث : المواد وطرق العمل
22	1-3 المواد وطرائق العمل Materials & methods
22	1-1-3 المواد والاجهزة المستخدمة
24	2-3 طرائق العمل Methods
24	1-2-3 عينات الدراسة study samples
25	3-3 تصميم التجربة Experiment Design
26	4-3 جمع عينات الدم Collection of Blood sample
26	5-3 استخلاص الـ DNA DNA Extraction
28	6-3 الترحيل الكهربائي للـ DNA على هلام الأكاروز
29	7-3 الكشف الجزيئي للجين المدروس
29	1-7-3-أولا: اختيار البادىء Primers

29	2-7-3 ثانيا: تخفيف البادىء Primer Dilution :-
30	8-3 تفاعل أنزيم الكوثره المتسلسل للجين STAT4 Polymerase Chain Reaction (PCR) for STAT4 gene
31	9-3 الكشف الجزيئي باستخدام طريقة RFLP
31	10-3 الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي في جين STAT4 :-
31	11-3 الترحيل الكهربائي لنواتج الكشف الجزيئي باستخدام تقنية PCR- RFLP
32	3-12 قياس المعايير المناعية :-
33	3-13 الوسائل الاحصائية :-
34	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة Result and Discussion
34	1-4 الدراسة الجزيئية :-molecular study
34	1-4 استخلاص الدنا :-DNA extraction
35	2-4نسبة ظهور الجين
36	3-4 الترحيل الكهربائي لنواتج ال electrophoresis of PCR products :- PCR
37	4-4 الكشف الجزيئي بتقنية RFLP
38	5-4 النسب المنوية لظهور الطرز المرتبطة بالتعدد الشكلي للجين STAT4 في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة
41	6-4 العلاقة بين الطرز الجينية للجين STAT4 وبعض عوامل الخطورة :. the relationship between genotype of gene stat4 and some risk factor
41	1-6-4 حسب الفئات العمرية:- AGE
43	2-6-4 حسب الوزن :- weight
45	3-6-4 حسب التاريخ العائلي :- by family history
47	4-6-4 التدخين :- Smoking
49	5-6-4 حسب الإصابة بارتفاع ضغط الدم :- hypertension

51	diabetes affected with-: حسب الإصابة بداء السكري-6-6-4
54	immunological study -2-4 الدراسة المناعية:-
54	IL-4 :-cytokine immune interleukin 4 -1-2-4 الساييتوكين المناعي
56	IL-1beta : cytokine immune interleukin IL- -2-2-4 الساييتوكين المناعي 1beta
57	IFN- γ interferon gama cytokine immune -3-2-4 الساييتوكين المناعي
59	The -3-4 العلاقة بين الطرز الجينية للجين STAT4 وبعض المعايير المناعية :- relationship between STAT4 gene and some immunological parameters
65	الفصل الخامس :الاستنتاجات والتوصيات Decisions & Recommendations
64	1-5 الاستنتاجات:-
65	2-5 التوصيات :-
66	References -6 المصادر

قائمة الجداول

رقم الصفحة	الموضوع
12	جدول (1-2) يوضح معايير الجمعية الأمريكية للتهاب المفاصل الرثياني لسنة 1987 (JHU- 2004).
22	جدول رقم (1-3) يوضح الأجهزة المستخدمة في الدراسة المتناولة في البحث
23	جدول رقم (2-3) يوضح المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة.
29	جدول (3-3) يوضح البودائى المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الجينات المدروسة
30	الجدول (4-3) يوضح مواد التفاعل لتقنية Polymerase chain reaction
30	جدول (5-3) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن جين STAT4
35	جدول (1-4) يوضح نسبة ظهور الجين
38	جدول (2-4) النسب المئوية للطرز TT,GT,GG في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة
41	جدول (3-4) يوضح الفئات العمرية
43	جدول (4-4) يوضح حسب الوزن
45	جدول (5-4) يوضح توزيع حسب التاريخ العائلي
47	جدول (6-4) التدخين
49	جدول (7-4) يوضح التوزيع حسب الإصابة بارتفاع ضغط الدم
51	جدول (4 - 8) يمثل النسب المئوية لظهور الطرز الجينية في الجين STAT4 ناتج pb147 حسب الإصابة بمرض السكري
54	جدول (9-4) يمثل مقارنة النتائج لتراكيز السايبتوكين المناعي IL-4 مقاسة بيكوغرام/مل في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة
56	جدول (4 - 10) يمثل مقارنة النتائج لتراكيز السايبتوكين المناعي IL-1beta مقاسة بيكوغرام/مل في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة
57	جدول (11-4) يمثل مقارنة النتائج لتراكيز السايبتوكين المناعي IFN- γ مقاسة بيكوغرام/مل في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة
59	جدول (12-4) العلاقة بين الطرز الجينية والسايبتوكين المناعي IL-1beta
60	جدول (13-4) العلاقة بين الطرز الجينية والسايبتوكين المناعي IL-4

61	جدول (14-4) العلاقة بين الطرز الجينية والسايٲوكين المناعي IFN- γ
61	جدول (15-4) العلاقات الارتباطية بين المؤشرات المناعية لدى المرضى والاصحاء

قائمة الأشكال والصور

رقم الصفحة	الموضوع
7	صورة رقم (1-2)العقد الروماتزمية عند أحد المصابات
12	صورة رقم (2-2) توضح أشعة لمقطع عظم مصاب واخر سليم
13	صورة رقم (3-2) توضح أعراض مرض التهاب المفاصل لبعض المصابات في المستشفى
20	شكل (1-2) : خلايا الجهاز المناعي المشتركة في تقدم مرض التهاب المفاصل
25	شكل رقم (1-3) يوضح تصميم التجربة المستخدمة في البحث
34	صورة (1-4) الترحيل الكهربائي الاول ل DNA للجين STAT4
62	شكل (1-4) العلاقة الارتباطية بين السايٲوكين IL-1beta و IL-4 لدى مرضى RA
62	شكل (2-4) العلاقة الارتباطية بين السايٲوكين IL-1beta و IFN-y لدى مرضى RA
36	صورة (2-4) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR لعينات السيطرة والمرضى على 2% جل الأكاروز عند 70 فولت لمدة ساعتين
37	صورة(4-3) النواتج بعد الترحيل على هلام الاكاروز 3% بفولتية 100 لمدة ساعتين باستخدام انزيم القطع Hpa1 للطراز GG، TT، GT لعينات السيطرة والمرضى

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
ACPA	Anti-citrullinated protein antibodies
Anti- CCP	Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies
Ag	Antigens
C	Cytotoxic _T_lymphocyte associated protein 4
DNA[Deoxyribonucleic acid
DMARD s	Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs
EBV	Epstein Barr Virus
(EULAR)	European League Against Rheumatism
Enos	Endothelial nitric oxide synthase
GB	Collection tube
HLA	Human Leukocyte Antigen
Hpa1	Highly pathogenic Avian influenza
, IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IFN γ	Interferon gamma
IL-1beta	Interleukin-1beta
IL-4	Interleukin-4
IL23R	Interleukin-23 receptor
JAK	Janus kinases
MTX	Methotrxate

NSAID	non steroidal anti- inflammatory drug
PCR	Polymerase chain reaction
PTPN22	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22
RFLp	Restriction Fragment length polymorphisms
RA	Rheumatoid arthritis
RNA	Ribonucleic acid
STAT4	signal transducer and activator of transcription
SLE	Systemic lupus erythmatosus
Th1	Thelper-1
TRAF1	TNF receptor-associated factor 1
TNF- α	Tumar nicroses factor

الفصل الاول

1.1 المقدمة Introduction :-

يعرف التهاب المفاصل الرثياني بأنه مرض مناعي ذاتي مزمن وجهازي يصيب مختلف المفاصل في جسم الإنسان مما يؤدي إلى ألم في المفاصل وتورمها وفقدان وظائفها وتقل قابلية المفصل على الحركة (Hidalgo,2010). يعد التهاب المفاصل الرثياني Rheumatoid arthritis (RA) أكثر الأمراض المنتشرة في العالم ؛ إذ سجلت البيانات العالمية أنه يصل إلى أكثر من 1% من العالم (Scott et al., 2005). ويتميز بكونه يصيب أجزاء من المفاصل المختلفة من الجسم بصورة متوازية في جانبي الجسم الأيمن والأيسر ، يؤثر إتهاب المفاصل الرثياني في أكثر الأحيان في المفاصل الصغيرة لليد و القدم والركبة والكاحل ويسـتهدف الغشاء المفصلي (Synovial membrane)؛الذي يتكون من طبقتين من الخلايا الطلائية و يحتوي بداخله على السائل الزلالي (Synovial fluid) ، إذ يكون هذا الغشاء في المفاصل المصابة الأكثر سماكة وقوة مع تجمع كبير للخلايا الالتهابية (الخلايا المفاوية T، و البلعميات الكبيرة) مما يؤدي إلى تلفه (Dobkin et al., 2008 ; Aletaha et al.,2010).

تتداخل العديد من الأسباب التي تؤدي إلى تحفيز الإصابة بالمرض منها ما يرتبط بالعوامل الوراثية و تمثل هذه العوامل نسبة تصل إلى (40-60)% من قابلية الفرد على الإصابة بالمرض ، كما أظهرت الدراسات العلاقات المهمة المرتبطة بالمرض التي أجريت على العديد من العوائل وبيّنت وجود علاقة قوية بين الأساس الوراثي و ظهور المرض (Smolen et al,2017).

كما ذكرت دراسة أن أقرباء الدرجة الأولى للشخص المصاب بالتهاب المفاصل الرثياني يكونون أكثر عرضة لخطر الإصابة بالمرض بثلاث أضعاف من أقرباء الدرجة الأولى للشخص غير المصاب بالمرض (Prahalad et al .,2002).

وقد وجد أنّ بعض الجينات لها دور كبير في حدوث المرض منها جينات HLA وجينات ال STAT؛ إذ تعمل جينات ال HLA (human leukocyte antigens) على صنع بروتينات مستضدات الكريات البيض في الإنسان إذ تساعد جينات ال HLA على تمييز البروتينات الموجودة في الجسم من البروتينات التي تصنعها البكتيريا والفيروسات (Khan *et al.*, 2007).

إن دور الجهاز المناعي في كلّ من الساييتوكينات المناعية المحفزة للإلتهابات هو تكاثر الخلايا الزليلية التي تكون التليف لتشكيل الغشاء الزليلي الملتهب (pannus) الذي يؤدي إلى تآكل العظم وتلف الغضروف وإنتاج الأنزيمات المحللة للبروتين (Gorman and Cope, 2008) التي تعمل على تحلل الأنسجة الضامة، وبذلك تعد من الوسائط اللازمة في تخريب المفصل أثناء الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني (Choy and Panayi, 2001).

إنّ الجهاز المناعي يقوم بتوجيه الأجسام المضادة (ACPA) (Anti-citrullinated protein antibodies) ضد الفرد نفسه و يسبب التحور في عمل الخلايا المناعية فتدمر هذه الخلايا المفصل وتسبب تآكله وتدميره، وكثيراً ما إكتشفت الخلايا الإلتهابية بكميات كبيرة في دم المرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الرثياني ومن الممكن أيضاً إن يدمر جهاز المناعة أعضاء أخرى من الجسم مثل الرئتين والجلد والكليتين . ويمكن أن يصيب أي مفصل من مفاصل الجسم ،مثل: مفصل العمود الفقري الرقبي وفي بعض الحالات يسبب المرض الإعاقة التي تؤدي إلى فقدان القدرة على الحركة والإنتاجية (Hidalgo, 2010 : Majithia and Geraci ., 2007).

وقد وجد إن الكثير من العوامل البيئية تزيد من أخطار الإصابة بالتهاب المفاصل الرثياني وأكثر العوامل خطورة هو التدخين فقد بينت الدراسات إن التدخين يزيد من قابلية تطور المرض (Deane *et al.*, 2017 : Liao *et al.*, 2009). ولا يقتصر ذكر العوامل البيئية على التدخين بل هناك عوامل عدة متمثلة بالعمر و الجنس و الهرمونات و نوع الغذاء وتناول الكحول، والنقص في الفيتامين والإصابة بالبكتيريا والفيروسات (Tobón *et al.*, 2009).

2.1 اهداف البحث :-

- 1-دراسة التعدد الشكلي للجين STAT4 لدى النساء المصابات بالتهاب المفاصل الرثياني وارتباط الطرز الوراثة مع مستوى تركيز السايٲوكينات المناعية
- 2- علاقته بعض المعايير المناعية مع المرض
- 3- إعطاء تنبؤ لحدوث المرض في العائلات التي تكون فيها أصابات مسبقة .

الفصل الثاني

إستعراض المراجع : Literature Review

2-1 التهاب المفاصل الرثياني :- Rheumatoid arthritis

التهاب المفاصل الرثياني Rheumatoid arthritis أصل الكلمة مشتق من اللغة اليونانية وتعني **rheuma** " ينبع " اما "oid" فتعني "يشبه" أو " يتكون من " إن و هذه الكلمة تستخدم للدلالة على أي إنحراف أما "Arthritis" منشأها فمن كلمة "arthros" التي تعني "المفصل " و هذا المرض يزداد ويصبح أسوأ بسبب الطقس الرطب (Copeman WSC :1964) .

إنّ السبب الرئيسي لالتهاب المفاصل الرثياني غير واضح ، ويعتقد أنه ينطوي على مجموعة من العوامل البيئية والجينية، يعد التهاب المفاصل الرثياني هو واحد من المشاكل الطبية والاجتماعية والاقتصادية الهامة في المجتمع الحديث إذ يكون معدل وفيات المرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الرثياني أكبر مرتين من عموم السكان ويصبح هذا المعدل أسوأ من سنة إلى أخرى (Hashizume and Mihara 2011) .

وهناك العديد من الدراسات التي اشارت الى ان مرض التهاب المفاصل الرثياني مرتبط بالعديد من العوامل الوراثية البيولوجية النفسية (Salt and Peden, 2011:) (Treharne et al., 2007) .

عرف هذا المرض لأول مرة على الأقل في حوالي تاريخ 4500 قبل الميلاد في القبائل الهندية القديمة في شمال غرب ألاباما و تينيسي، فقد كان غير معروف واكتشف في عام 1600م (Rothschild et al.,2003) . عرف مرض التهاب المفاصل الرثياني بالنسبة للبعض من الرسومات التي ظهرت في القرن السادس عشر (Majithia and Geraci, 2007). ويعتقد أن المرض انتقل إلى أوروبا ، وأن البحارة قد جلبوه إلى أوروبا بعد رجوعهم ، ويعد هذا المرض سائدا في الوقت الحالي في امريكا اللاتينية. إنّ التهاب المفاصل الرثياني عالمي الإنتشار؛ إذ يبلغ معدل إنتشاره حوالي 3% من السكان (Silman and pearson, 2002) و يصيب نحو 1% من سكان الولايات المتحدة (Gabriel et al., 2001) .

سجلت أدنى نسبة إصابة للمرض في جنوب أوروبا إذ بلغت (0.3-0.7)%، وسجلت نسبة وبائية المرض في هولندا من (0.2) إلى (0.4) لكل 1000 شخص (Nielen and Nispen , 2009). و لوحظ ارتفاع نسب الإصابة بهذا المرض في الإناث مقارنة بالذكور بنسبة (3:1) (Hyde, 2000)،

إنّ أول من وصف مرض التهاب المفاصل الرثياني هو الطبيب الفرنسي Augustin Jacob Landre Beauvi عام 1800 (Silman and Pearson, 2002). أما اسم مرض التهاب المفاصل الرثياني "Rheumatoid arthritis" فقد وضع عام 1859 من البريطاني Alfred Baring Garrod (McIlwain et al., 2007)، وإنّ أول من ميز بين إلتهاب المفاصل الرثياني (RA) وإلتهاب المفاصل الناتج عن الأنواع الأخرى مثل النقرس (gout) هو Garrod (1858) م (Storey, 2009).

في العراق أصبح هذا المرض أحد أهم الأمراض الخطرة والأكثر شيوعاً من بين الأمراض الأخرى وتبين إنّ نسبة إنتشاره تصل إلى 1% ، وأنّ هذه النسبة مساوية لنسب الإصابة في الدول الأوروبية وأمريكا ودول أخرى عديدة (Mohsen and Dujaily, 2011; Aletaha et al ., 2010).

والتهاب المفاصل الرثياني هو إضطراب مناعي ذاتي طويل الأمد يؤثر بشكل أساسي على المفاصل ؛ إذ تصبح المفاصل متورمه ومؤلمة ومتشنجة ، وعادة ما يزداد الألم والتصلب عند الراحة (Hidalgo, 2010). ومن الممكن إن يصيب أي مفصل زلالي إلا إن مفاصل اليدين والقدمين هي التي تصاب في معظم الأحيان ، وتكون الإصابة في حالات كثيرة بصوره متناظره على جانبي المفصل (Aletaha et al., 2010)، وقد يؤثر المرض على أجزاء عديدة من الجسم ، ويسبب أيضاً انخفاض في معدل عدد الكريات الحمراء ، والتهاب في الرئتين والتهاب في القلب وكذلك حمى وإنخفاض الطاقة في الجسم ، والأعراض تأتي تدريجياً على مدى أسابيع إلى شهور (Hueber et al., 2003).

ويؤثر التهاب المفاصل الرثياني RA على الفقرات العنقية ولأسيما الفقرتين الأولى والثانية، ويؤدي إلى ألم وتيبس العنق، ويعانى المريض من إرتفاع درجة الحرارة وارهاق، وتعب وانخفاض في الوزن وبخاصة أوقات زيادة النشاط (الهيجان) و يحدث في المفاصل المتأثرة بـRA تقرحات عظمية وتدمير للأربطة والأوتار (Smolen et al., 2017).

إن الآلية الأساسية للإصابة تعود إلى جهاز المناعة في الجسم الذي يهاجم المفاصل، ويتسبب في تدميرها ، ويؤدي هذا إلى التهاب وسماكة كبسولة المفصل مما يؤدي إلى صعوبة في الحركة (Majithia and Geraci, 2007).

والجهاز المناعي عادة يحمي الجسم من الخلايا الغريبة مثل الفيروسات أو البكتيريا في التهاب المفاصل الرثياني ، يعد الغشاء الزليلي، وهو غشاء رقيق يربط المفاصل ، غريبا فيلتهب بشده ويهاجمه الجهاز المناعي مما يسبب تورم الأنسجة وتلفها وحصول الألم، إذ يقوم الجهاز المناعي بتوجيه الأجسام المضادة (ACPA) ضد الفرد نفسه مما يسبب التحور في عمل الخلايا فتدمر هذه الخلايا المفصل وتتسبب بتآكله وأكتشف وجود هذه الخلايا بكميات كبيرة في دم مرضى التهاب المفاصل الرثياني (Hidalgo, 2010).

ومن الممكن أيضا ان يدمر جهاز المناعة اعضاء أخرى في الجسم مثل الرئتين والجلد والكليتين ويمكن ان يصيب أي مفصل من مفاصل الجسم مثل مفصل العمود الفقري الرقبي وفي بعض الحالات يسبب المرض الاعاقة المؤدية الى فقدان القدرة على الحركة والانتاجية (Hidalgo, 2010 : Majithia and Geraci 2007).

إنّ مرض إتهاب المفاصل الرثياني RA من الأمراض الأتهابية المتسببة عن الجذور الحرة، وهذه الجذور الحرة النشطة للأوكسجين والتي تشمل (H₂O₂) تساهم في التدمير المباشر للغضروف المفصلي المتآكل، وهو الذي تتطور فيه الحالة إلى التلف أو العجز الكلي للمفصل , (Boers *et al.*, 2012: Puent *et al.*, 2003).

وهناك بعض الملامح التي قد تظهر في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل منها تكوين عقد صغيرة روماتزميه كما في الصورة (1-2) والتهاب شرياني، واختلال عصبي ، والتهاب التامور واعتلال الغدد اللمفاوية وضخامة الطحال، إنّ مرض إتهاب المفاصل الرثياني من الأمراض التي يمكن إن تصيب الإنسان في جميع الأعمار و يمكن أن يصيب النساء أكثر من الرجال وإنّ أعلى احتمالية لحدوث المرض عند النساء في عمر 30 إلى 50 سنة (Majithia and Geraci, 2007).



صورة (1-2) العقد الروماتزمية عند احد المصابات

2.2 عوامل خطوره لمرض إتهاب المفاصل الرثياني :- Risk factor for rheumatoid arthritis

1-2-2 العمر :- Age

يعد المرض احد الاسباب المهمة الشائعة في الإعاقة عند النساء المتقدمات في السن، اذ يؤدي المرض الى تشوه المفصل المصاب وفقدانه وظيفته الأساسية وهو أحد المشكلات الصحية الشائعة الانتشار في العالم، ويحتل مرض التهاب المفاصل الرثياني المرتبة الأولى من بين الامراض التي تؤدي للإعاقة في أمريكا (AARDA, 2002; Al-Herz et al., 2016).

كما يصيب هذا المرض جميع الأعمار، ولكن تزداد نسبة الإصابة مع التقدم في السن، وتكون شدة المرض بين اعمار الستين والاربعين سنة (Muhammed et al., 2014).

وأجريت دراسات قليلة عن هذا المرض في بلدان جنوب أوروبا مما يدل على حدوث الإصابة بالمرض بنسب قليلة فيها، أما الدراسات في شمال أوروبا فكانت أكبر؛ وذلك لكثرة إنتشار المرض بين السكان، وقد أشارت دراسات أجريت في اليابان إلى إرتفاع معدلات الإصابة بالمرض في حين وصلت نسبة انتشار المرض في الصين وجنوب افريقيا الى (0.2-0.3%) أما في تركيا فقد بلغ معدل انتشار المرض (360-380) حالة إصابة لكل 1000 شخص (Alamanosa and Drosos, 2005; Malaviyx *et al.*, 1993).

2-2-2 الجنس :- sex

يعد مرض التهاب المفاصل الرثياني (RA) من الأمراض الشائعة في الوقت الحاضر، وهو يصيب كلا الجنسين وجميع الأعمار ويستهدف أجزاء مختلفة ومتنوعة من الجسم منها الفك والركبتين والذراع و لوحظت نسبة إصابة النساء بنحو 2-3 أضعاف أكثر من الرجال قبل سن اليأس وبعد سن اليأس تصبح النسبة متساوية مما يدل على وجود دور كبير للهرمونات الجنسية في تطور الإصابة كما إن المرض يتحسن خلال مدة الحمل ويعود خلال المراحل المبكرة من النفاس وإن حدوث المرض يكون بنسبه قليله عند النساء اللواتي يتناولن حبوب منع الحمل (Bernnan *et al.*, 1994) إذ لوحظ إنه عندما يرتفع هرمون الأستروجين في اوقات الحمل يقلل من قابلية المرض وتطوره ، وتزداد قابلية الإصابة بالمرض بعد الولادة، وذلك بسبب الزيادة التي تحصل في هرمون البرولاكتين (Robert *et al.*, 2016 : Bernnan *et al.*, 1994;).

كما أشار الباحثان Symmon و Harrison (2000) إلى أن نسبة الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني ترتفع عند النساء العقيمات، كما أشارا الى تأثير حبوب منع الحمل في تقليل شدة الإصابة بالمرض.

3-2-2 الوزن :- weight

أثبتت العديد من الدراسات إنَّ هناك ارتباطاً كبيراً بين كتلة الجسم وتطوير خطر الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني وقد أجريت هذه الدراسات بالتعاون بين جمعية السمنة وجمعية التهاب المفاصل الرثياني في أمريكا أثبت أنَّ الزيادة في وزن الجسم عن الحد غير الطبيعي يزيد من خطر الإصابة بالمرض (Bhole *et al.*, 2012: Uhlig *et al.*, 1999) على عكس بعض الدراسات التي لم تحدد أن السمنة عامل مهم مرتبط مع المرض (Wesley *et al.*, 2013: Rodriguez *et al.*, 2009).

أشارت دراسة (Harpsoe *et al.*، 2014) على ارتباط السمنة وزيادة كتلة الجسم عن الحد الغير الطبيعي للجسم بتطور الإصابة لاحقاً بالتهاب المفاصل الرثياني إذ إزداد معدل إصابة الرجال الذين يعانون من السمنة بمعدل غير طبيعي بنسبة ثلاثة أضعاف عن الأشخاص الطبيعيين في الوزن وقد لوحظ التطور عند عمر 50 سنة أو قبل ذلك، لذا عدت السمنة عامل خطورة آخر زيادة إلى بقية العوامل الأخرى التي تزيد من تطور المرض (Lu B *et al.*, 2014).

4-2-2 التاريخ العائلي :- family history

يعدّ التاريخ العائلي من أهم عوامل الخطورة لمرض التهاب المفاصل الرثياني إذ أدرجت العوامل الوراثية ضمن أهم العوامل لتصنيف المراحل المبكرة لمرض التهاب المفاصل الرثياني حيث تشير البيانات التي تم الحصول عليها في الدراسات العائلية ودراسات التوائم أنَّ ما يصل إلى 60% من هذا المرض يرجع إلى العوامل الوراثية ؛ تشكل العوامل الوراثية في إنتقال المرض نسبة 40-60% من نسب الإصابة، إذ وجد في حالات التوائم المتماثلة أنَّ نسبة تشابه الموروثات تتمثل بنسبة 30-15% أما عند حالة التوائم غير المتماثلة فتشكل 5% مقارنة مع التوائم المتماثلة (Salt and Peden, 2011: Wordsworth and Bell, 1991).

وفي دراسة أخرى أجريت في العراق في جامعة الكوفة لتقييم بعض العوامل الوراثية في مرضى التهاب المفاصل الرثياني و شملت الدراسة 40 مريض من الذين يعانون من التهاب

المفاصل الرثياني من الذين لديهم تاريخ وراثي ، وقد تمت دراسة التوزيع الوراثي لمستضدات الخلايا البيض فأثبتت هذه الدراسة أنّ الطراز (HLA-DR4) كان أكثر شيوعاً في 70 % من المرضى المصابين والذين لديهم تاريخ عائلي ، على حين أنّ (HLA-DR1) عادة أقل شيوعاً في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني من الذين لديهم تاريخ عائلي ، مما أثبت أنّ أليل (HLA-DR4) مرتبط بالمرضى الذين لديهم تاريخ عائلي مع المرض (الياسري وآخرون، 2013).

2-2-5- عوامل بيئية :- Environmental factors

تتمثل هذه العوامل بمنطقة السكن ونوع الغذاء، مثل شرب القهوة أو تناول اللحوم المفرط وكذلك نقل الدم يعد من عوامل خطر الإصابة بـ RA (Klareskog *et al.*, 2006) وفضلاً على النقص الذي يحدث في فيتامينات الجسم واختلال الهرمونات (Tobón *et al.*, 2009) .
أن جميع هذه العوامل تكون خارج الجسم ولا أساس وراثي لها لذلك سميت بالعوامل غير الوراثية المضيفة Host Non genetic factor (Silman and Pearson, 2002).

2-2-6- التدخين :- Smoking

يعد التدخين من العوامل الخطرة التي لها دور كبير في زيادة تطور الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني ؛ إذ بينت الدراسة الوبائية أنّ التدخين هو عامل خطر مستقل بحد ذاته يسهم في تطور الإصابة (Yin *et al.*, 2017: Klareskog *et al.*, 2006) ، ولا سيما ارتفاع العامل الرثياني الإيجابي (RF) للمرض ، كما وجد أنّ التدخين يعد مؤشراً مرتبطاً بظهور التراكيب الوراثية HLA-DRB1 بالدرجة الأولى في مجموعة كبيرة من المرضى الذين يعانون من مرض التهاب المفاصل الرثياني، كما أكدت على تداخل العوامل الوراثية والبيئية في التهيئة للـ RA . كما بينت بعض الدراسات إلى أنّ الاستجابة العلاجية للمرضى كانت أسوأ في المدخنين (Arnson *et al.*, 2010).

7-2-2-2-الاصابات البكتيرية والفيروسية Bacterial and viral Infection:-

وجد أن للإصابات البكتيرية والفيروسية تداخلاً في بدء الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني ، مثال ذلك وجد في بكتريا *Escherichia coli* و بكتريا *Mycobacterium tuberculosis* أما الإصابات الفايروسي؛ مثالها فيروس (Epstein-) Barr virus (Chervonsky, 2010).

إن بكتريا الـ *E.coli* تعمل على زيادة ارتفاع الخلايا اللمفاوية التائية في السائل الزليلي في مرضى التهاب المفاصل ؛ وذلك بسبب التشابه الجزيئي الذي بين مستضدات الخلايا البيض الموجودة في الإنسان التي هي من نوع (HLADR-B) والأحماض الأمينية للبكتيرية (Swardfager *et al.*, 2010; Albani *et al.*, 1994).

أكدت العديد من الدراسات على الدور الكبير لفيروس (Epstein-Barr virus (EBV) والحميات مثل حمى B12 ودورها في حدوث مرض التهاب المفاصل الرثياني حيث ترتفع نسبة أضداد EBV في مصل المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي ، وقد تم التأكد من وجود الحامض النووي RNA لفيروس EBV في عدد من الخلايا البائية الموجودة في النسيج الزليلي للمصابين بالمرض (Meron *et al.*, 2009).

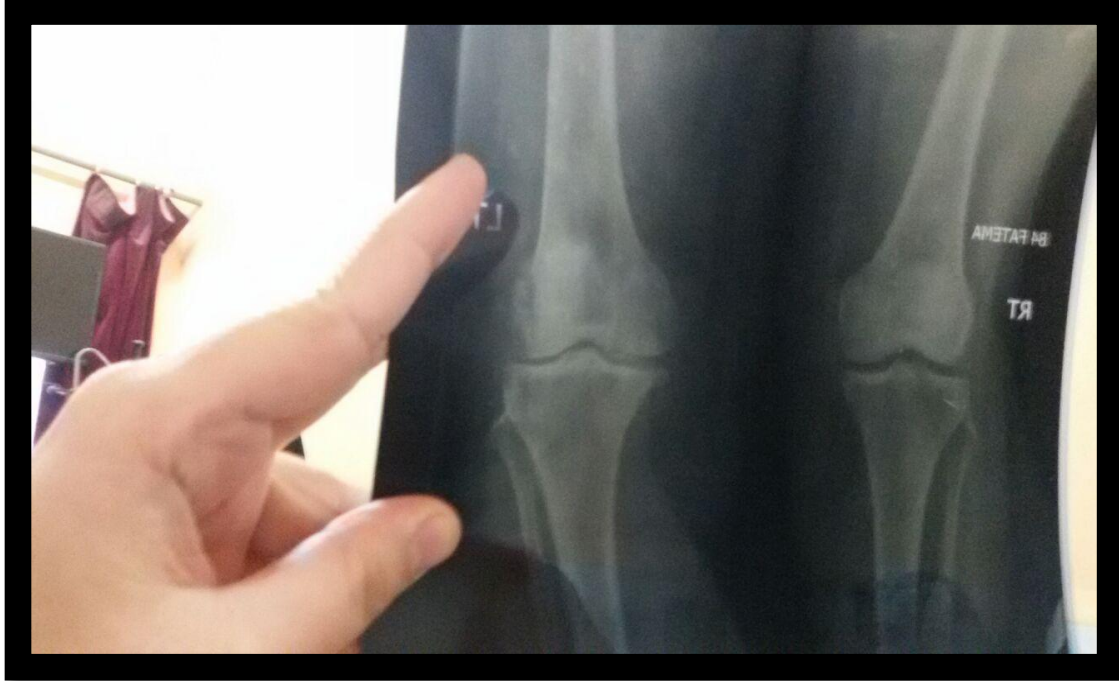
3.2 التشخيص السريري لالتهاب المفاصل الرثياني Clinical Diagnosis of RA

يشخص مرض التهاب المفاصل الرثياني دون عن بقية الأمراض الروماتزمية عن طريق الفحوص السريرية، وزيادة على أعراض المرض التي حددت وفق معايير من الكلية الأمريكية والجمعية الأوروبية للروماتيزم (EULAR) European League Against Rheumatism في عام 2010 وكذلك حددت الرابطة الأمريكية لالتهاب المفاصل الرثياني في عام 1987 معايير لازالت معتمدة إلى حد الآن لغرض تمييز مرض التهاب المفاصل الرثياني من الأمراض الأخرى (Aletaha *et al.*, 2010).

هناك سبع أدلة لتحديد وتمييز مرض التهاب المفاصل الرثياني من خلال الفحص السريري

Physical Examination ومن خلال الفحوصات المختبرية Laboratory Examination

وكذلك عبر تصوير الأشعة Radiographic Findings كما في الصورة (2-2) والسيرة المرضية للفرد المصاب (Arnett *et al.*, 1988)



صورة (2-2) أشعة لمقطع عظم مصاب وآخر سليم من المشفى

جدول (1-2) معايير الجمعية الأمريكية لإلتهاب المفاصل الرثياني لسنة 1987 (JHU- 2004).

الاعراض	symptoms
1- التصلب الصباحي في حدود ساعة	Morning stiffness
2- التهاب المفاصل (3 مفاصل على الاقل)	Arthritis of at least 3 area
3- التهاب مفاصل اليد : المعصم، المفاصل بين السلاميات الدانية كما في الصورة (2-3)	Arthritis of hand joint
4- التهاب المفاصل المتماثلة	Symmetrical arthritis
5- العقد والتكتلات الروماتيزمية	Rheumatoid nodule
6- العامل الروماتويدي	Serum Rheumatoid Factor
7- التغييرات الحاصلة التي يمكن مشاهدتها بالأشعة	Radiographic changes



صورة (2-3) أعراض مرض التهاب المفاصل لبعض المصابات في المستشفى

2-4- الأساس الوراثية لإلتهاب المفاصل الرثياني :- the genetic basis for rheumatoid arthritis

إنّ التقدم السريع في مجال التكنولوجيا الوراثية قد سمح بتحديد مئات من عوامل الخطر الوراثية للكثير من الأمراض المعقدة، تم إلى الآن تحديد أكثر من 100 موقع للجينات المرتبطة مع مرض التهاب المفاصل الرثياني، إنّ وراثة مرض التهاب المفاصل الرثياني تشير إلى أنّ نسبة كبيرة من الاصابة بالمرض يمكن أن يكون نتيجة مساهمة عوامل الخطر البيئي، ويعتقد على نطاق واسع إنّ فهم التفاعل المعقد بين علم الوراثة والبيئة، وأدوارها في التسبب، أمر واجب للحصول على مزيد من التبصر في فهم الآليات التي تدفع لتطور المرض وتقدمه ولم يقتصر ارتباط الجينات بالمرض فقط، بل ارتبطت بعض الملامح الجينية مع الاستجابة وعدم الاستجابة لعلاج المرض (Nielen et al., 2004 : Deane et al., 2017).

وقد وجد أن العديد من الجينات مثل جينات HLA وجينات STAT تؤدي مهمة أساسية وتكون ذات حساسية وقابلية لحصول مرض التهاب المفاصل الرثياني (Okada et al., 2014 ; Eyre et al., 2012).

2-5- جينات STAT) signal transducer and activator of transcription (:-

هي عائلة بروتينية وعوامل نسخ خلوية تسيطر على جوانب المناعة الخلوية منها الانتشار ، التمايز ، الموت المبرمج للخلايا ، يتم تنشيطها أولاً بواسطة مستقبلات الغشاء المرتبطة بمعقد يسمى Janus kinases (JAK) ، لوحظ أن الخلل في مسار هذه الجينات يتكرر في الأورام الإبتدائية ويؤدي ذلك إلى زيادة تولد الأوعية الدموية مما يعزز بقاء الورم وفقدان المناعة وكتبتها ، وقد أثبتت العديد من الدراسات أن لبروتينات ال STAT دوراً كبيراً في تطوير وظائف في الجهاز المناعي وتلعب دور مهم في السيطرة على الأورام هناك سبعة أنواع من بروتينات ال STAT تم تحديدها وهي STAT1، STAT2، STAT3، STAT4، STAT5 و STAT6، ويقسم STAT5 إلى نوعين STAT5A، STAT5B وكذلك إن لبروتينات ال STAT أهمية كبيرة في التعبير الجيني وقد تم وصف بروتينات ال STAT على أنها عوامل نسخ سيتوبلازمية ضرورية (Shahmarvand et al., 2018: Visconti et al., 2000:)

3.1.5.2 جين STAT4 :-

ينتمي جين STAT4 إلى عائلة STAT وهي عائلة متعددة الجينات، إذ تتكون من سبع جينات ، يكون موقع الجين الخلوي على الذراع الطويل للكروموسوم الثاني في الإنسان (2q323) ، أما الموقع الجزيئي في الزوج القاعدي من 191,029,576 إلى 191,172,684. يتكون بروتين جين STAT4 من 748 من الأحماض الأمينية ، أما الوزن الجزيئي Molecular weight فهو 85941 دالتون (Goswami and Kaplan, 2017: Visconti et al., 2000)

كذلك يتكون جين STAT4 من 24 أكسون وتكون بإمتداد 120Kb ويشفر للانترلوكينات 12,23,27 وكذلك يشفر للانترفيرون من النوع الأول كإشارة لخلايا T المساعدة والخلايا الوحيدة والتي تؤدي الى تمايز خلايا Th1 وTh17 والخلايا الوحيدة وإنتاج إنترفيرون كما (Korman et al., 2008).

إنّ الوظيفة الطبيعية للجين STAT4 هي توفير المعلومات للبروتينات التي تقوم بعملية النسخ وبالتالي إنه يعمل على إرتباط مناطق محددة للـ DNA ويحافظ على نشاط بروتينات محددة ، إن بروتين ال STAT4 يزيد نشاط الجينات التي تساعد الخلايا المناعية التائية إلى التحول إلى خلايا متخصصة والتي تتخصص من خلايا التائية وتتحول إلى خلايا مساعدة أولية Th1 والتي تنتج سايتوكينات متعددة وتحفز الخلايا المناعية الأخرى على التخلص من الأمراض .

أثبتت العديد من الدراسات التي أجريت عل نطاق الجينات إكتشاف الأساس الجيني للإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني واكتشاف المواقع الجينية المرتبطة مع هذا المرض فقد أجريت دراسة في الجمهورية الارمينية والتي أكتشفت ارتباط مناطق معينة من الكروموسوم 2 مع المرض و تمّ إكتشافه في العائلات ذات الأصول الأوربية ، وكذلك حددت دراسات متتابعة أوضحت أنّ الانترون الثالث مرتبط ببعض الأشكال المتعددة في الجين STAT4 والموجود في الذراع الطويل للكروموسوم الثاني ، وحددت عدة أشكال متعددة للجين STAT4 rs7574865 وكرر الإرتباط بمرض التهاب المفاصل الرثياني وداء الذئبة الاحمرارية مع الطراز (TT) (GT), وكذلك في دراسة أخرى أجريت على المجتمعات الكورية والإسبانية والسويدية حددت تكرار إرتباط الشكل المتعدد للجين STAT4 مع التهاب المفاصل الرثياني (Remmers et al., 2007; Lee et al., 2007).

أرتبط الشكل المتعدد للجين STAT4 مع عدد من الإضطرابات المناعية منها داء الذئبة الإحمراري والتهاب المفاصل الرثياني (Allanore et al., 2010) ، وبين الباحثون إن التداخل بين العوامل البيئية والوراثية تؤدي دورا مهما في تطور أمراض المناعة الذاتية ، إذ يزداد ظهور التعدد الشكلي للجين STAT4 فيسبب الإصابة بتصلب الجلد الجهازى وهو إضطراب مناعي ذاتي يعمل على تراكم النسيج الليفي في الجلد والأعضاء الداخلية (Radstake et al., 2010).

إنّ البروتين الذي يشفر لجين STAT4 هو واحد من بروتينات عائلة ال STAT تتفسر بواسطة المستقبلات المرتبطة بالكاينيز kinases ويشكلون ما يسمى heterodimers والتي تنسخ إلى النواة وتعمل منشطاً للنسخ. وهذا البروتين مهم لتوسط استجابة أنترلوكين 12 في الخلايا اللمفية وينظم تمايز الخلايا التائية ويعبر في القلب والدماغ والطحال والطفرة في هذا الجين تؤدي إلى الإصابة بأمراض جهازية مثل داء الذئبة الإحمراري والتهاب المفاصل الرثياني، وكذلك يلعب دور مهم في تطور وتمايز Th1 وذلك في إستجابة للإنترلوكين 23 (Mathur et al., 2007).

في دراسة أجريت على مرضى لمعرفة الطرز الجينية genotype المرتبطة مع التهاب المفاصل الرثياني عبر بحث أجري على مرضى مصريين حيث أخذ 50 مريضاً مصاباً بالتهاب المفاصل الرثياني و50 مريض مصاب بداء الذئبة الحمراء و50 أصحاء وتمت المقارنة بين الطرز الجينية وقد وجد ارتباط الطرز الجينية GT و TT للجين STAT4 والإصابة بهذه الأمراض، وفي كلا المرضين التهاب المفاصل الرثياني ومرض الذئبة تكرر النمط الجيني (GT) والذي يصبح بإزدياد ومتكرر في المرضى المصابين مقارنة بالأصحاء وقد لوحظ توزيع مختلف للطرز TT بين مرضى التهاب المفاصل الرثياني وداء الذئبة الإحمراري SLE مقارنة بالأصحاء . إنّ المرضى الحاملين للطرز TT يكون لهم مستوى عالي للإصابة بالتهاب المفاصل الرثياني وداء الذئبة الإحمراري بالمقارنة مع الأصحاء، أن مرضى التهاب المفاصل الرثياني الحاملين للطرز الجيني TT و GT يكون لديهم مستويات عالية في معدب ترسيب الكريات الحمراء ومعدل C-Reactive protein (CRP) ومعدل anti-cyclic (anti ccp) citrullinated peptide بالمقارنة مع النمط الجيني للأصحاء GG (Zhou et al., 2014). إنّ الجين STAT4 يعبر في الخلايا الملتزمة الزليلة يكون كمنظماً أو كمفتاحاً لحدوث الأمراض في التهاب المفاصل الرثياني (Shen et al., 2013).

6-2 آلية الإصابة بالمرض :- mechanism of infection

6.2 الأمراض :-

تتداخل العديد من العوامل البيئية والوراثية والهرمونية لتنشط مرض إلتهاب المفاصل الرثياني إذ إن الفسلجة المرضية لإلتهاب المفاصل الرثياني تتميز بوجود تفاعل بين خلايا النظام المناعي المختلفة والمتمثلة بنظام المناعة الفطرية التي من أمثلتها خلايا macrophage و neutrophils والنظام المناعي المكتسب والتي تتمثل بخلايا T وخلايا B . (Firestein and McInnes, 2017 : Panayi *et al.*,2005)

7.2 الآلية الإمرضية المناعية :-

تبدأ الإمرضية لمرض إلتهاب المفاصل الرثياني عن طريق تسرب الخلايا الرئيسية عبر الغشاء الزليلي الرقيق وهذه الخلايا تتمثل :-

1-7-2- الخلايا البلعمية Macrophage :-

تعد الخلايا البلعمية من أكثر الخلايا وفرة في الغشاء الزليلي إذ إنّ هذه الخلايا بعد تخليقها تهاجر من الدم الى النسيج الزليلي الملتهب (Borghet *et al.*, 2001: Laria *et al.*, 2016) تزداد العملية الإتهابية وتتعرز وذلك عن طريق إفراز العديد من الساييتوكينات والتي من أمثلتها أنترلوكين IL-1beta وعامل نخر الورم TNF α (Tumor necrosis factor) وأنترلوكين IL-6 التي تكون بادئة للإلتهاب وتؤدي دوراً أساسياً في بدء الإلتهاب (Kinne *et al.*, 2007) وكذلك بعض الساييتوكينات الخلوية الإتهابية التي من أمثلتها (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor) وكذلك (Neopterin) (monocyte) وكذلك تفرز العديد من الساييتوكينات المضادة للإلتهاب مثل أنترلوكين IL-4, وأنترلوكين IL-15 وأنترلوكين IL-13 وأنترلوكين IL-10. (Orman *et al.*, 2011). إن تنشيط الخلايا البلعمية الإتهامية في الغشاء الزليلي يمكن أن يتم بواسطة الخلايا التائية T-cell والبائية B-cell عند التلامس المباشر للخلايا أو عن طريق التلامس غير المباشر بواسطة إنتاج الساييتوكينات (Toubi *et al.*, 2007 : Beech *et al.*, 2006) .

2-7-2 الخلايا اللمفية -: lymphocyte

2-7-2-1- الخلايا التائية المساعدة -: T Helper cell

إنّ للخلايا اللمفية التائية دوراً كبيراً و أساسياً في تطور وبدء الإلتهاب في مرض التهاب المفاصل الرثياني ونشوءه عن طريق تطوير الإستجابات المناعية التخصصية (Skapenko et al., 2005 : Boissier et al., 2008).

أنّ الخلايا التائية للمفاوية تتسرب عبر الغشاء الزليلي الملتهب وتنظم نفسها بشكل تجمعات متحدة المركز لكي تبدأ العملية الإلتهابية (Deng and Lenard, 2006).

إنّ الخلايا التائية تقسم حسب إنتاجها للسايوكينات على أنواع وهي الخلايا التائية الاولية Thelper-1 والخلايا التائية الثانوية T-helper-2 وخلايا T-helper-17 (Boissier et al., 2008)

أشارت الدراسات (Chen et al., 2012; Henderik & Lipsky , 2004 ;) إلى أنّ خلايا Th1 تتنشط عند حدوث إصابة داخلية وتفرز الوسائط الإلتهابية الاولية pro-inflammatory التي تتضمن السايوكينات ($IFN\gamma$, $TNF-\alpha$, $IL-2$) إذ تقوم هذه الوسائط الإلتهابية بتحفيز الخلايا الملتهمة وتزيد من قابليتها لإبتلاع المستضد وإفراز جذر الأوكسجين الحر (OR) وأكسيد النتريك (NO) ؛ وذلك لتدمير الخلايا المصابة ، بينما تفرز الخلايا المساعدة Th2 السايوكينات المضادة للإلتهاب مثل ($IL-4$, $IL-5$, $IL-10$, $IL-13$) التي تدخل في استجابة المناعة الخلطية (humoral response) التي تخفض من نشاط الخلايا الملتهمة البلعمية (Macrophage) ، في حالة الإصابات الإعتيادية تكون هناك حالة من التوازن بين السايوكينات المحفزة والسايوكينات المثبطة للإلتهاب . لكن في حالة الإصابة بالتهاب المفاصل يؤدي ذلك إلى زيادة إرتشاح الخلايا المساعدة الأولية Th1 إلى الغشاء الزليلي مما يسبب زيادة في افراز السايوكينات و التي تعمل على قلب حالة التوازن تلك لصالحها، كما إنّ إفراز الإنترلوكين-2 ($IL-2$) و $IL-17$ والذي يفرز من خلايا Th17 التي تعد منظمة لنشاط الخلايا T- وإنتاج الأجسام المضادة مثل (RANKL-Antibodies) تكون لهذه الأنترلوكينات وظيفه تشابهه وظيفه عامل النخر الورمي إذ تقوم بإفراز الأنزيمات الحالة $Matrix metalloproteinases$ و $Cyclooxygenase-2$, $Prostaglandin E2$ وبذلك تعمل على تدمير وتآكل النسيج المفصلي ، كما إنّ الـ $IL-17$ ومستقبلات $IFN\gamma$ تعبر

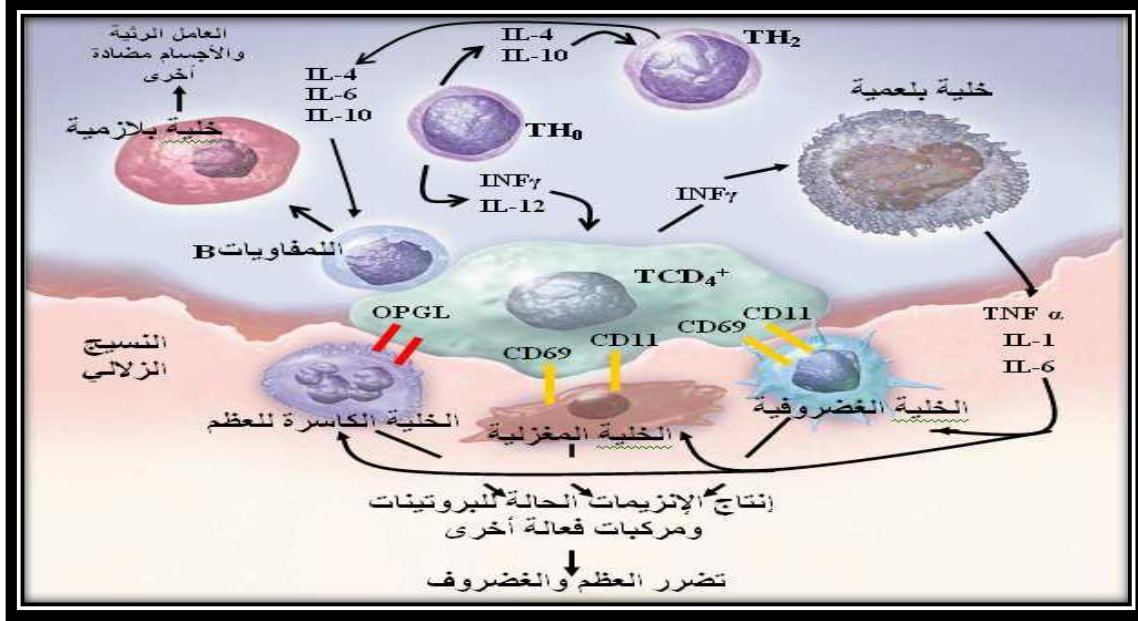
إلى سطح الخلايا الغضروفية (chondrocytes) والخلايا البانية للعظم (Osteoblasts) وبذلك تعمل على تعزيز وزيادة في عملية هدم العظم (Osteoclastogenesis) ومن ثم تآكل العظم عند مرضى التهاب المفاصل الرثياني RA (Steinman ,2007 ; Lundy *et al.*,2007) .

2-2-7-2 الخلايا البانية B Cell :-

إنّ أكثر الدراسات المتناولة ركزت على دور الخلايا التائية في تقدم المرض في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ، ولم يتم الآن معرفة الدور الأساسي وفهم الدور الدقيق للخلايا البانية في تقدم مرض التهاب المفاصل الرثياني ونظراً للكمية الكبيرة من الخلايا البانية الموجودة في الغشاء الزليلي فيعتقد إن لها دوراً كبيراً في تقدم مرض التهاب المفاصل الرثياني وتعد أحد عوامل الكشف عن المرض (Firestein and McInnes, 2017: Mease *et al.*, 2008) ، إن الغشاء الزليلي الذي يعاني الإلتهاب يتميز بوجود حويصلات من الخلايا اللمفاوية المترشحة خلاله تمثل تجمعات من خلايا B و أظهرت دراسة ان هذه الخلايا تظهر في 30% من المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني (Choy & Panayi ,2001).

تعمل خلايا T- اللمفاوية الموجودة في الغشاء الزليلي على تحفيز وتحويل الخلايا البانية الى خلايا بلازمية Plasma-cells والتي تعمل على تكوين اجسام مضادة مناعية والتي تقوم بتحفيز الخلايا المتعادلة Nutrophil واطلاق الوسائط الالتهابي ، يتركز دور الخلايا البانية على إنتاج الأجسام المضادة الذاتية (Auto-antibody production) والتي من أهمها (Anti-cyclic CCP) (citrullinated peptide antibodies - anti-) وكذلك العامل الرثياني (RF) Rheumatoid factor (Moura *et al.*, 2010 ; Buch & Emery , 2002) .

إنّ الجذور الحرة النشطة للأوكسجين التي تشمل (H2O2) تساهم في التدمير المباشر للغضروف المفصلي المتآكل، وهو الذي تتطور الحالة فيه إلى التلف أو العجز الكلي للمفصل (Puent *et al.*, 2003).



شكل (1-2) : خلايا الجهاز المناعي المشتركة في تقدم مرض التهاب المفاصل (Ernest *et al.*, 2001).

3-2-7-2- الخلايا المتعادلة Neutrophil:-

إن الخلايا العدلة هي أول الخلايا التي تصل إلى المواقع التي فيها التهابات ولكن من الصعب أن يتم تمييزها وتحديدتها في الغشاء الزليلي الملتهب وكذلك أن الخلايا العدلة هي التي تكون مسيطرة في السائل الزليلي الملتهب (Synovial fluid) وتكون وظيفتها جذب خلايا الدم البيضاء إلى المواقع التي يحصل فيها التهاب وتعمل على تسهيل إلتصاقها بجدار الوعاء الدموي (Raymondje, 2007; Mourao *et al.* , 2010). يكون للوعاء الدموي دور كبير في تآكل العظام والغضاريف وذلك عن طريق تكوين (Proteases و Prostaglandins) وكذلك تكوين الجذور الاوكسجينية الحرة (Cascao *et al.*, 2010).

الخلايا المتعادلة لها دور كبير ومهم ضد الاحياء المجهرية لانها تقوم بانتاج الجذور الاوكسجينية السامة "التي تشمل (H2O2) والتي تساهم في التدمير المباشر للغضروف المفصلي" وحببيبات تكون موجهة ضد البكتريا المتواجدة في السائل الزليلي والخلايا العدلة تعمل على تحفيز تآكل الغضروف وذلك عن طريق انتاج الانزيم الذي يدعى بأنزيم الكولاجيناز (Collagenases) وكذلك انتاج انزيم (Elastase) (Pillinger *et al.*, 2004).

كذلك الخلايا المتعادلة لها قدرة كبيرة على افراز سايتوكينات ومواد كيميائية جاذبة تتمثل IL-8, 1β , التي تساعد على زيادة الالتهاب عن طريق تكوين الكثير من الخلايا المتعادلة وكذلك خلايا مناعية؛ مثل الخلايا البائية والتائية (Skapenko *et al.*, 2005). ومن الدراسات المناعية التي اجريت في العراق عن مرض التهاب المفاصل الرثياني لتقدير الكلوبولينات المناعية في مرضى التهاب المفاصل الرثياني إذ أظهرت هذه الدراسة ارتفاعا معنويا في تراكيز بعض الكلوبولينات المناعية في مرضى التهاب المفاصل الرثياني والتي تمثلت ب IgA, IgG, بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (حسن وآخرون، 2012).

1-3 المواد وطرائق العمل Materials and methods

1-1-3 المواد والأجهزة المستخدمة

جدول رقم (1-3) الأجهزة المستخدمة في الدراسة المتناولة في البحث

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	حافطة مبردة لنقل العينات		China
2	الكابينة المعقمة Laminar air flow Cabinet	Sartorius	Germany
3	حمام مائي Water bath	Julabo	Japan
4	منظومة الاليزا ELISA	Awareness	USA
5	جهاز النبذ المركزي Centrifuge	Hereaus	Germany
6	جهاز النبذ المركزي المبرد Cooling Centrifuge	Labtech	Korea
7	ميزان الكتروني حساس Electrical sensitive balance	Sartorius	Germany
8	محراك مغناطيسي Magnetic stirrer	Labtech	Germany
9	جهاز تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل Thermal cycler DAN incubator	Labnet	USA
10	جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis apparatus	Labnet	USA
11	جهاز التوثيق الفوتوغرافي Photo documentation system	Labnet	USA

USA	Labnet	UV light transillminator جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية	12
USA	Dubuque	Vortex مازج	13
Germany	Labtech	Autoclave الموصدة	14

جدول رقم (2-3) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة.

المنتشأ	الشركة المصنعة	المادة الكيميائية	ت
USA	Geneaid	Genomic DNA DNA عدة استخلاص Mini Kit (Blood/Cultured cell) Cat.No GB100/300)	1
Canada	BIO BASIC	Agarose أكاروز	2
Canada	BIO BASIC	10X TBE Buffer محلول بفر منظم Solution	3
Korea	Bioneer	DNA ladder Marker(معلومات الحجم-100 (pb100-50) (1000 bp	4
Korea	Bioneer	Primers بوادي	5
Korea	Bioneer	PreMix	6
Canada	BIO BASIC	Ethidium Bromide بروميد الاثيديوم	7
Canada	BIO BASIC	ethanol 96% ايثانول	8
Russia	Scharlau	Hpa1 انزيم قاطع	9
USA	Promega	proteinase k بروتينيز	10

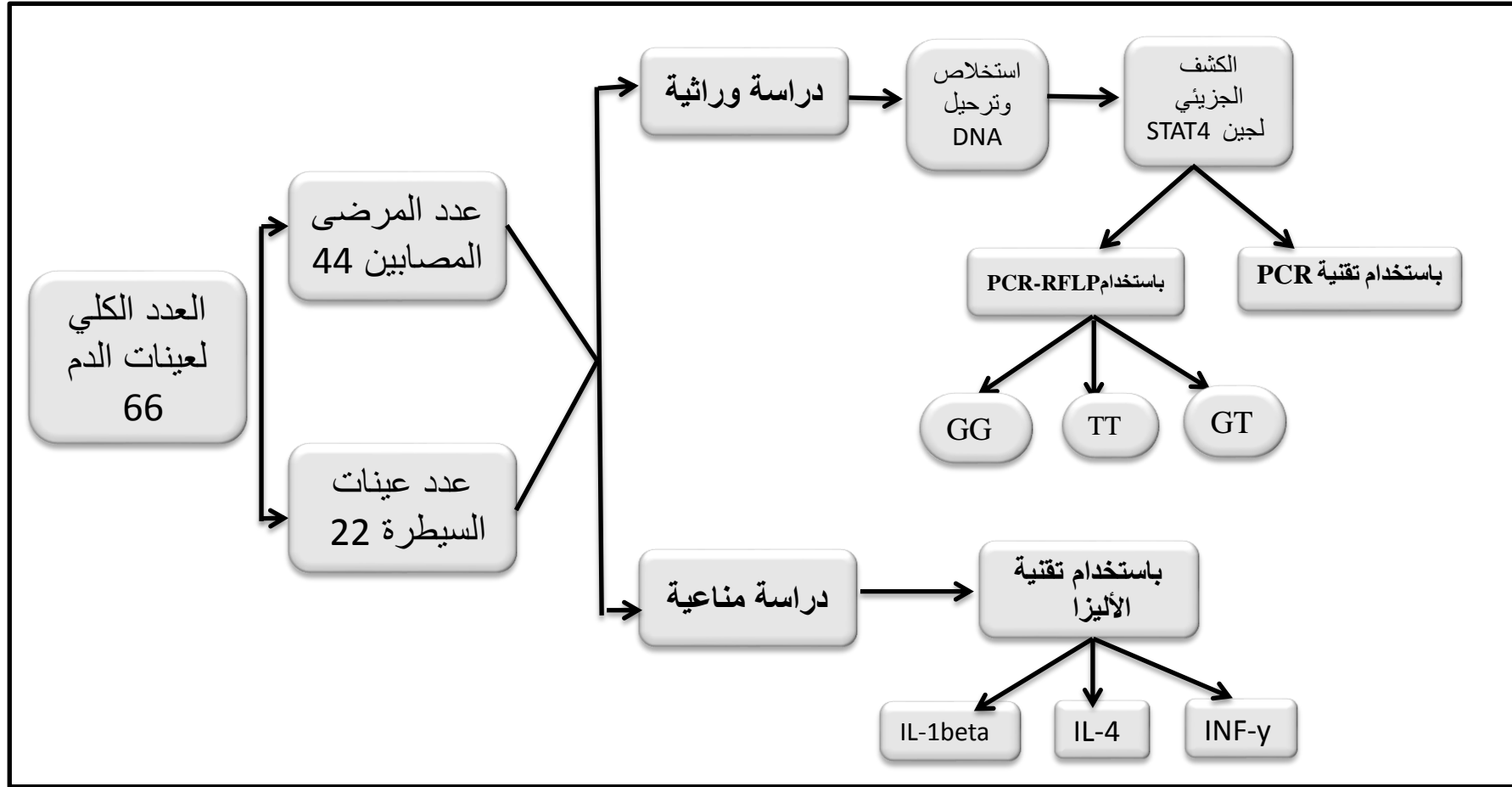
Canada	Aquarama	Deionized water ماء مزال الأيون	11
USA	Peprotech	IFN-γ Enzyme Immune Assay عدة الكت	12
USA	Peprotech	IL-1β Enzyme Immune Assay عدة كت	13
USA	Peprotech	IL-4 Enzyme Immune Assay عدة الكت	14

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 عينات الدراسة :- Study samples

أستخدمت في هذه الدراسة عينات دم تضمنت 44 عينة من النساء المصابات بمرض التهاب المفاصل الرثياني و 22 عينة من الأشخاص الأصحاء من مستشفى الإمام الحسين في محافظة كربلاء المقدسة في فترة من 2018/1/1 الى 2018/5/1 و أخذت عينات الدم من المرضى المراجعين في الاستشارية الخاصة بمرضى المفاصل بعد أخذ موافقتهم كما تم أخذ المعلومات الإستبائية المبينة ادناه، وكانت اعمار المرضى تتراوح من 18 سنه الى 61 سنة وتم تقسيم العينات كما في الشكل (1-3) تم تشخيص المرض بناءً على ما أشارت إليه منظمة الصحة العالمية من التحليلات المناعية الخاصة بالمرضى مع الأعراض المصاحبة للمرض من تورم للمفاصل والصعوبة في الحركة وكذلك تشوه المفصل ، وذلك بالإعتماد على تشخيص طبيب المفاصل المختص.

3-3 تصميم التجربة Experiment Design :-



شكل رقم (1-3) تصميم التجربة المستخدمة في البحث

4-3 جمع عينات الدم

Collection of Blood sample

تم سحب (4 مل) من الدم الوريدي من المصابات بمرض التهاب المفاصل الرثياني ، وكذلك الأشخاص الأصحاء ، بواسطة المحقنة ، ثم وضع 2مل منه في أنابيب مانعة للتخثر EDTA و تم رجها بشكل خفيف لمنع تخثر الدم وحفظت العينات تحت درجة حرارة -4 م نقلت بواسطة صندوق مبرد إلى مختبر الدراسات العليا- قسم علوم الحياة- كلية العلوم في جامعة كربلاء بوقت لا يتعدى (24) ساعة لإجراء الفحوصات الجزيئية لها، والجزء المتبقي من الدم (2مل) وضع في أنابيب بلاستيكية Gel tube وذلك لعزل المصل للحصول على الكمية الكافية من المصل وتركت الأنابيب لمدة 15دقيقة، ثم نبذت الأنابيب مركزياً بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق لفصل المصل وقسم المصل في عدة أنابيب ابندروف Eppendroff tubes وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة-20 م لغرض إجراء الاختبارات المناعية .

الدراسة الجزيئية :-

5-3 استخلاص الـ DNA

DNA Extraction

تمت عملية استخلاص الـ DNA من الدم بحسب العده الجاهزه لشركة Geneaid وكما مبين في الخطوات الاتية :

- 1-إضافة 200مايكروليتر من الدم إلى إنبوب ابندروف 1.5ملليتر.
- 2-إضافة 20 مايكروليتر من انزيم proteinase K (10mg/ml) إلى الدم ويمزج قليلاً بجهاز ال vortex. ثم حضن الخليط 5 دقائق في الحمام المائي في درجة حرارة 60 c⁰.
- 3-أضيف 200 مايكروليتر من محلول GB Buffer مع الرج ل 3دقائق .
- 4-. وضع الخليط في vortex وبعدها تم الحضن في الحمام المائي لمدة 5 دقائق مع قلب العينات كل 2 دقائق .
- 5-حضر (Elution buffer) و تم وضع 100 مايكروليتر لكل عينة في أنبوبة ابندروف نظيفة و توضع في الحمام المائي في درجة حرارة 60c⁰ .

- 6- إضافة 200 مايكروليتر من كحول الإيثانول المطلق ووضعت العينات في vortex لمدة 10 ثوان.
- 7- وضع عمود GS (الفلتر) في الأنبوب الجامع 2 مايكروليتر ا.
- 8- يوضع عمود GS اذا وجدت اي ترسبات في العمود GB (الانبوب الجامع) يجب التخلص منها.
- 9- تمت عملية الطرد المركزي للأنابيب لمدة 5 دقائق .
- 10 - نهمل السائل المتجمع في أنبوب الجمع.
- 11- أضيف 400 مايكروليتر من W 1 Buffer إلى أنبوب Gs tube بعدها تم الطرد المركزي للأنابيب لمدة دقيقتين.
- 12- تم التخلص من السائل المتجمع في أنبوب الجمع وترجع ال GS الى انبوب الجمع.
- 13- أضيف 600 µl من Wash buffer إلى Gs تيوب وتمت عملية النبد المركزي للأنابيب لمدة 2 دقيقة .
- 14- أهمل السائل الموجود في أنبوب الجمع ويرجع عمود GS الى انبوب الجمع مره أخرى ونبذت الأنابيب مره أخرى لمدة 3 دقائق لغرض التجفيف .
- 15- وضعت الGS في أنبوبة أبندروف نظيفة ومن ثم تمت إضافة 100 مايكروليتر من محلول Elution buffer ويترك لمدة 3 دقائق وبعدها يطرد مركزياً لمدة 30 ثانية.
- 16- نهمل الأنبوبGS وتحفظ الأنابيب الحاوية على الDNA في درجة حرارة (20 °-) في الثلاجة (Freezer).

3-6 الترحيل الكهربائي للـ DNA على هلام الأكاروز Agarose Gel Electrophoresis

أعدت طريقة (Sambrook *et al.*, 1989)

وكما هو مبين في الخطوات الآتية :-

1-أذيب (0.8غم) من الأكاروز في (100 مل) من 1 X TBE وسخن المزيج إلى ان وصل لدرجة الغليان وذلك بإستخدام صفيحة حرارية إلى ان تمت إذابة كل دقائق الجل وأصبح المزيج صافي ولا توجد أي دقائق عالقة فيه .

2-أضيف (2مايكروليتر) من صبغة بروميد الأثيديوم Ethidium Bromide إلى سائل الأكاروز المذاب .

3- تم تحريك سائل الأكاروز حتى يمتزج و وكذلك لتجنب حدوث فقاعات هوائية .

4- تم صب المزيج في صفيحة الإسناد وبعدها غمس المشط comb قرب إحدى نهايتي الصفيحة وترك المزيج لكي يتصلب في درجة حرارة الغرفة .

5تمت إزالة المشط بهدوء وكذلك تمت إزالة مساند الصفيحة .

6-تم وضع الصفيحة في مسندها في جهاز الترحيل الكهربائي ثم تمت تغطيته ببفر الترحيل 1X TBE وعلى ارتفاع (1 ملم) فوق سطح الجل .

7- تم مزج 5مايكروليتر من الـ DNA مع 3مايكروليتر من صبغة DNA loading Dye الزرقاء لتخفيف الـ DNA و حملت العينات في الحفر الموجودة في الجل.

8- تمت عملية ترحيل العينات على طاقة كهربائية كان مقدارها (70 فولت) ولمدة ساعتين ، إذ تمت عملية الترحيل الكهربائي من الكاثود السالب إلى الأنود الموجب الإشارة.

9- وبعد ذلك استخدم جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية UV light transillminator وذلك لغرض مشاهدة حزم الـ DNA، وقد تمّ تصوير الحزم الملونة بصبغة برومايد الاثيديوم باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي Photo documentation system.

7-3 الكشف الجزيئي للجين المدروس Molecular detection of studied gene

3-7-1-أولاً: اختيار البادئ:- Primer

تم إختيار البادئ Primer وكما موضح في الجدول رقم (3-5) لغرض إجراء الكشف الجزيئي على الطفرات التي تمت دراستها .

جدول (3-3) البوادئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الجينات المدروسة

Primers	Primer sequences	Length	Product size	Reference
STAT4	F 5'- AAA GAA GTG GGA TAA AAA GAA GTT TG -3'	26pb	147pb	(Zervou <i>et al.</i> ,2008)
	R 5'- CCA CTG AAA TAA GAT AAC CAC TGT- -3'	24pb		

F = Forward

R = Reverse

3-7-2 ثانياً: تخفيف البادئ Primer Dilution:-

جهزت البوادئ من شركة Bioneer Company/ Korea كمسحوق Lyophilized product بتراكيز مختلفة، تم تحضير المحلول الأصلي Stock solution ومحلول العمل Working solution بحسب التعليمات المثبتة من الشركة Bioneer. حُضر المحلول الأصلي وذلك بواسطة إضافة الماء المزال الأيون Deionized water وذلك لغرض الحصول على التركيز النهائي للعالق وهو (100بيكومول /مايكروليتر). أما محلول العمل Working solution فقد حُضر بواسطة أخذ (10مايكروليتر) من المحلول الأصلي

(100بيكومول/مايكروليتر) وخفف بـ (90 مايكروليتر) من الماء المزال الأيون؛ وذلك للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل و هو (10بيكومول /مايكروليتر) .

8-3 تفاعل أنزيم الكوثرمة المتسلسل للجين STAT4

Polymerase Chain Reaction (PCR) for STAT4 gene

تمت إضافة المواد بحسب ما هو موضح في الجدول (3-6) إذ تمزج المواد في إنبوبة PCR وكما موضح في أدناه :

الجدول (3-4) مواد التفاعل لتقنية Polymerase chain reaction

Volume	Chemicals
3µL	Primer Forward .
3µL	Primer Reverse.
2µL	DNA
12µL	D. W.
20 µL	Total volume

تم مزج المواد بالرج الخفيف ونفالت الانابيب الى جهاز الـPCR والجدول التالي يمثل البرنامج المستخدم للكشف عن الجين STAT4

جدول (3-5) البرنامج المستخدم للكشف عن جين STAT4

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	95°C	5min.	1
2	Denaturation	95°C	30sec.	35
3	Annealing	56°C	30sec.	
4	Extension	72°C	1min.	
5	Final Extension	72°C	5min.	1
6	Final hold	4	-	

9-3 الكشف الجزيئي باستخدام طريقة RFLP -: Molecular detection using RFLP method

تم استخدام نواتج ال PCR للجين المشمول بالدراسة وهو جين STAT4 ذو التعدد الشكلي وذلك لغرض الكشف الجزيئي باستخدام تقنية RFLP وباستخدام PCR Matrix.

10-3 الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي في جين STAT4 -: Molecular Detection of polymorphism in Gene STAT4

- 1- تمت عملية الكشف الجزيئي عن الجين STAT4 وذلك باستخدام تقنية RFLP،
- 2- تم استخدام 19 مايكروليتر من نواتج الكثرة للتفاعل المتسلسل مع 1 مايكروليتر من الأنزيم القاطع Hpa1 .
- 3- وتم الحضان لمدة 3 ساعات .

11-3 الترحيل الكهربائي لنواتج الكشف الجزيئي باستخدام تقنية RFLP- PCR -:

1. تمت عملية الترحيل للنواتج لجين STAT4 بعد إضافة الأنزيم القاطع له وبتركيز 3% من الأكاروز وعلى طاقة كهربائية (100v) لمدة ساعتين.
2. 2- وصبغ الهلام بصبغة برومايد الأثيديوم بمقدار 2.5 مايكروليتر وتمت مشاهدة حزم ال DNA بواسطة مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV transiluminater) كما تم تصويرها بالمطياف الضوئي بواسطة جهاز التوثيق الفوتوغرافي photo documentation (system).

3 - 12 قياس المعايير المناعية :- Measurement of immunological standards

Procedure

تم اتباع الخطوات حسب طريقة العمل التي جهزت من قبل شركة (PeproTech) الأمريكية وكما يلي :-

1. وضعت جميع المحاليل والعينات التي تم تحضيرها في درجة حرارة الغرفة مدة (30دقيقه) قبل البدء بعمل اي اختبار للحركيات الخلوية .
2. أضيف (100)مايكروليتر في كل حفرة من محلول (Capture antibody) في صفيحة Microtiter Plate وتحضن في درجة حرارة (18-25) م طوال الليل بعدما تغطي بغطاء من بلاستيك.
3. غسلت الصفيحة باليوم التالي وذلك بأضافة (300مايكروليتر) من المحلول الخاص بالغسل (4)مرات وتنقر على ورق نشاف لكي يتم التجفيف من الغسل واضيف للصفحة أيضا (300)مايكروليتر من محلول الغلق وبعد يغطي بلاصق ويترك لمدة تتراوح من ساعه إلى ساعه ونصف ومن ثم يعاد الغسل ايضا مره أخرى .
4. أضيف (100) مايكروليتر من محلول القياس للحركيات (IFN- γ , IL-4, IL-1b) وتتم الإضافة بتركيز تصاعدي (1000, 500, 250 , 125 , 62.5 , 31.2, 15.6, 7.8,0) بيكوغرام/مل وتوضع بشكل مكررين لعمل منحنى القياس للحركيات الخلوية
5. أضيف بعد ذلك (100) مايكروليتر من عينات المرضى والعينات السليمة في كل حفرة في الصفيحة وفقا للخريطة التي وضعت مسبقا وبعد ذلك يتم تركها لمدة ساعه إلى ساعتين في درجة حرارة الغرفة ويتم غسلها بمحلول الغسل (4) مرات وتنقر لكي يتم تجفيفها على ورق نشاف.
6. أضيف (100) مايكروليتر من المحلول الكاشف عن الأجسام المضادة الذي حضر لكل حفرة في الصفيحة وتغطي الحفرة بورق لاصق و تم تركها من ساعه ونصف إلى حوالي ساعتين وتم غسلها وتنقر على ورق التنشيف لكي يتم التجفيف.

7. اضيف (100) مايكروليتر من محلول الاقتران في كل حفرة وتم تغطيتها بورق لاصق وتم تركها نصف ساعة وتغسل الصفيحة بعد ذلك وتنقر على ورق التنشيف للتجفيف.
 8. اضيف الى كل حفرة (100) مايكروليتر من محلول المادة الأساس Substrate Solution ويوضع غطاء للصفيحة تم الحضان لمدة (10) دقائق .
 9. اضيف محلول Stop Solution (H_2SO_4) إلى كل حفرة في الصفيحة.
 10. تم نقل الصفائح إلى جهاز الاليزا للقراءة وتم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي (405) نانوميتر و تمت القراءة بمعدل ثلاثة قراءات بين كل قراءة (5) دقائق.
- تم حساب النتائج (Calculation of Results) و حساب مستوى الحركيات الخلوية في النماذج بالإعتماد على معادلات خاصة بالحركيات الخلوية (IL-4 ، IFN- γ , IL-1beta,).

3-13 التحليل الاحصائي :- Statistical analysis

استخدمت الوسائل الاحصائية الآتية :-

- حللت البيانات لنتائج البحث احصائيا باستخدام اختبار T لعينتين مستقلتين Independent sample T-Test للمقارنة بين معدل متوسطات العينات واختبار مربع كاي Chi square عند مستوى المعنوية ($P \leq 0.05$) للمقارنة بين الطرز الجينية .
- علما أن جميع التحليلات الإحصائية تمت بإستخدام البرنامج الإحصائي SPSS.V.25

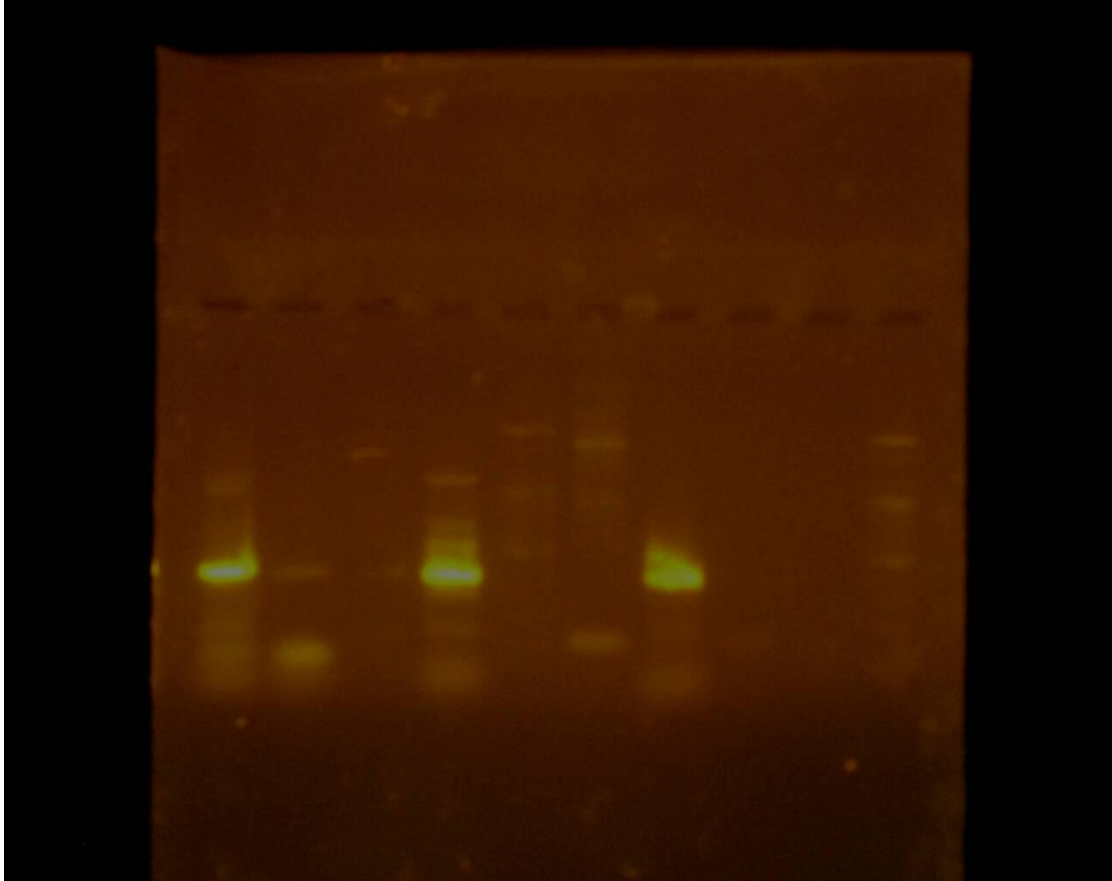
النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1-4 الدراسة الجزيئية :- molecular study

1-4 استخلاص الدنا :- DNA extraction

تم استخلاص الـ DNA من جميع عينات الدم المشمولة بالدراسة، وتم إجراء عملية الترحيل الكهربائي وذلك للتأكد من وجود حزم الـ DNA على الجل وبتركيز (0.8%) عند 70 فولت لمدة ساعتين و تمت مشاهدتها بإستخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية بعد صبغها بصبغة الإثديوم برومايد كما موضح في الصورة (1-4).



صورة (1-4) الترحيل الكهربائي الاول ل DNA للجين STAT4

2-4 نسبة ظهور الجين :- percentage of gene appearance

أظهرت نتائج الدراسة الحالية التي أجريت على مرضى التهاب المفاصل الرثياني تحديد الجين المسمى بجين STAT4 وكان حجم الناتج (147bp) كما مبين في الجدول (1-4) بنسبة (98%) في مرضى التهاب المفاصل الرثياني والاصحاء بنسبة 100% .

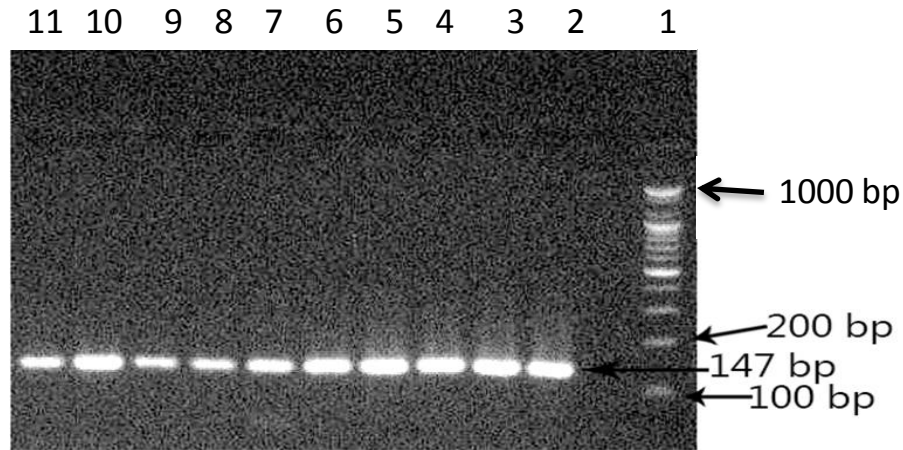
يؤدي الجين STAT4 دوراً مهماً بوصفه عامل نسخ يضم مسار لإشارات بعض السابتوكينات مثل إنترلوكين 12 وإنترلوكين 23 وإنترفيرون نوع ألفا أن ميكانيكية STAT4 هي توسط إشارات إنترلوكين 12 في الحماية إذ يعمل على تطوير الإستجابات المناعية من عن طريق تحفيز خلايا Th1 كما يعمل على تنظيم تمايزها ويعمل على إنتاج إنترفيرون كما يكون موقع الجين STAT4 حسب الخارطة الجينية للإنسان على الكروموسوم الثاني (Martínez et al., 2008; Glosson-Byers et al., 2014:) .

جدول (1-4) نسبة ظهور الجين STAT4 في المرضى والاصحاء

النسبة المئوية %	عدد المصابين	نسبة ظهور الجين في المرضى
98%	44	المجموع الكلي
النسبة المئوية %	عدد الاصحاء	نسبة ظهور الجين في الاصحاء
100%	22	المجموع الكلي

3-4 الترحيل الكهربائي لنواتج الـ PCR : electrophoresis of PCR products

كما تم إجراء الوصف الجزيئي وذلك باستخدام تقنية PCR للجين المشمول بالدراسة وهو جين STAT4، إذ توضح الصورة (2-4) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للجين الانترون الثالث (STAT4) حجم الناتج 147 bp في عينات السيطرة والمرضى وذلك باستخدام 2% من جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة زمنية مقدارها ساعتين إذ يمثل العمود الأول الدليل الحجمي (Size marker) بحجم (100-1000) زوج قاعدة، تظهر الأعمدة (2، 3، 4، 5) تمثل عينات السيطرة وكان الحجم للحزم 147bp زوج قاعده والتي تمثل العينات التي يظهر بها الجين اما الأعمدة (6,7,8,9,10,11) تمثل عينات المرضى .

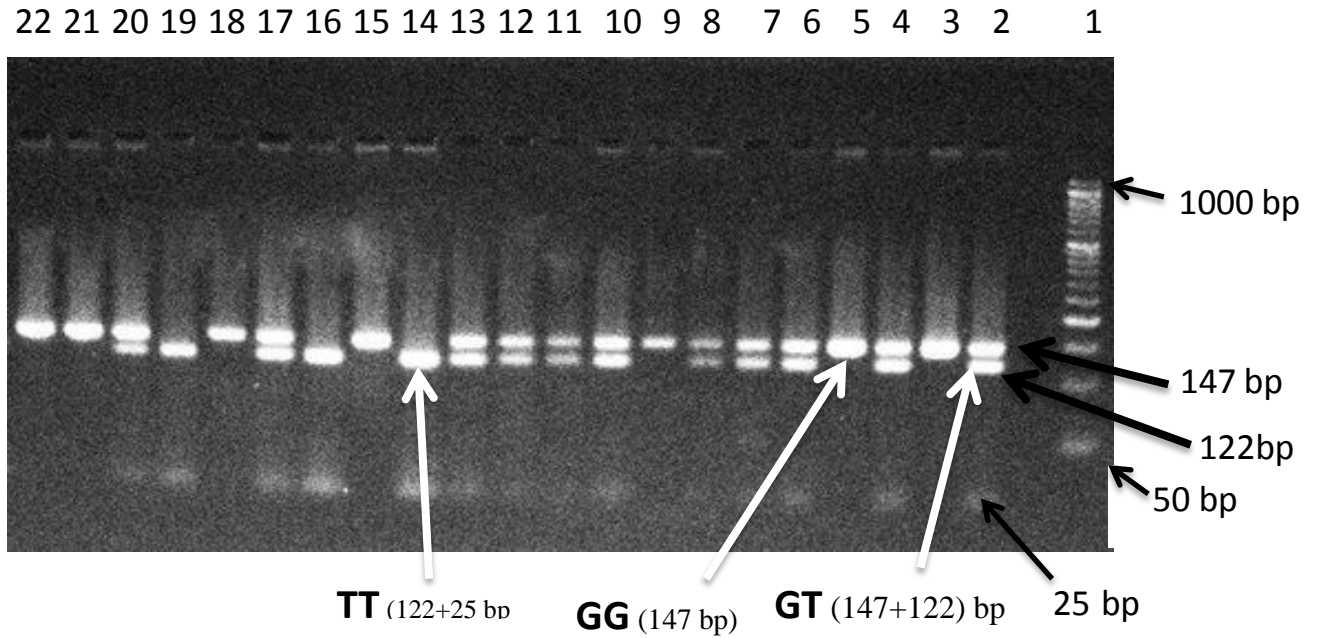


صورة (2-4) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR لعينات السيطرة والمرضى على 2% جل الأكاروز عند 70 فولت لمدة ساعتين .

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنّ حجم ناتج الـ PCR للجين STAT4 بعد ترحيله هو 147pb وجاءت نتائج الدراسة الحالية مطابقة لما جاء به (El-Saadany *et al.*, 2016) .

4-4 الكشف الجزيئي بتقنية Restriction Fragment length polymorphisms RFLP

إن النتائج التي استخدمت في تقنية ال PCR لم تكن كافية لتحديد التعدد الشكلي لعينات المرضى والاصحاء المدروسة ولذلك تم استخدام تقنية للتوصيف الجزيئي وهي أيضا تعتمد على تقنية ال PCR وتعرف هذه التقنية باسم تباين أطوال قطع التقييد RFLP وذلك لمعرفة التعدد الشكلي للجين STAT4 وتوضح الصورة (3-4) الطرز الجينية للتعدد الشكلي للجين STAT4 وتم قطع ناتج ال PCR بواسطة أنزيم القطع Hpa1 وتمت عملية الترحيل على هلام الاكاروز بتركيز 3% لمدة ساعتين وبفولتيه مقدارها 100 فولت .



صورة (3-4) النواتج بعد الترحيل على هلام الاكاروز 3% بفولتيه 100 لمدة ساعتين باستخدام انزيم القطع Hpa1 للطرز GG، TT، GT لعينات السيطرة والمرضى

الصورة (3-4) حيث يوضح العمود الأول الدليل الحجمي (Size marker) بحجم 50-1000pb) أما العمود (8 , 7, 6, 4, 2,) فيمثل الطراز الجيني GT بحجم (147+122pb).

كما يمثل العمود (3,5) الطراز الجيني GG في عينات المرضى والاصحاء بحجم 147 زوج قاعدي . أما العمود (1,6,14) فيمثل الطراز TT بحجم (122+25pb).

5-4 النسب المئوية للطرز الوراثة لتعدد الشكلي لجين STAT4 في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة :-

بينت النتائج الموضحة في الجدول (2-4) أدناه النسب المئوية لظهور الطرز إذ سجلت النسبة الأعلى للطراز GT التي بلغت (69.8)% في مرضى التهاب المفاصل الرثياني أما الطراز GG فقد بلغت النسبة المئوية لظهوره في مرضى التهاب المفاصل الرثياني (23.2) % وسجل الطراز TT أدنى النسب في الظهور فقد بلغت (7.0) % من بين مرضى التهاب المفاصل الرثياني .

جدول (2-4) النسب المئوية للطرز TT,GT,GG في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة

المعنوية	Total	الطرز الجيني			العينة
		GT	TT	GG	
0	43	30	3	10	مرضى
	100.0%	69.8%	7.0%	23.3%	
	66.2%	46.2%	4.6%	15.4%	
0.088	22	7	0	15	أصحاء
	100.0%	31.8%	0.0%	68.2%	
	33.8%	10.8%	0.0%	23.1%	
0.002	65	37	3	25	Total
	100.0%	56.9%	4.6%	38.5%	
	0.002	0.000	0.760	0.317	المعنوية

أما النسب المئوية لمجموعة الأشخاص السليمين (السيطرة) فقد بينت النتائج الموضحة في الجدول (2-4) إن النسبة الأعلى كانت للطراز GG، وقد سجلت (68.2) % ، وتليها نسبة الطراز GT التي سجلت نسبة تبلغ (31.8) %، أما الطراز TT فكانت نسبة ظهوره 0.0%. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي على وجود فروقات دالة معنوية بين مجموعات المرضى للطرز الجينية الثلاث للجين STAT4 ولم تظهر فروقات دالة معنوية بين مجموعات

السيطرة ، كما لم تظهر فروقات دالة معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء للطرازين GG و TT بينما وجدت فروقات دالة معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء للطراز الجيني GT .

النتائج التي توصلت إليها الدراسة في العراق وفي محافظة كربلاء بالتحديد تبين أنّ نسبة الطراز GT التي بلغت (69.8)% هي أعلى نسبة في مرضى التهاب المفاصل الرثياني أما نسبة الطراز في مجموعة السيطرة فكانت (31.8)% مما يدل على إرتباط الطراز GT بمرض التهاب المفاصل الرثياني في محافظة كربلاء .

أما الطراز GG فكانت نسبة ظهوره في مجموعة السيطرة (68.2)% أما المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني فقد بلغت (23.3)% . أما الطراز TT فلم يظهر نسبة ملحوظة في مرضى التهاب المفاصل الرثياني التي بلغت (7.0)% ولا في مجموعة السيطرة التي سجلت نسبة ظهور 0% .

النتائج المذكورة تبين أنّ النسبة الأعلى للنمط الجيني والذي يكون حامله أكثر عرضة لخطر الإصابة بالتهاب الرثياني في محافظة كربلاء هو النمط الجيني GT و يليه النمط GG لم تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليها Soon Lee وآخرون (2007) ودراسة الباحث El-Saadany وآخرون (2016) إلى أنّ النمط الجيني الأكثر عرضة لخطر الإصابة بالتهاب المفاصل الرثياني هو النمط TT في المجتمع الكوري والمصري ويمكن ان يعود السبب في هذه الإختلافات في النمط الجيني إلى الأصول العرقية لكل مجتمع إذ لم يسجل ظهور الطراز TT نسبة ظهور ملحوظة في هذه الدراسة .

اتفقت دراسة Settin وآخرون (2014) إلى ازدياد نسبة الإصابة بـ RA للأشخاص الحاملين للطراز الجيني GT بنسبة 51.8% أما الدراسة الحالية فكانت نسبة الطراز GT (69.8)% .

كما اتفقت دراسة El-Saadany وآخرون (2016) الى ارتباط النمط GT بنسبة 46% بمرض التهاب المفاصل الرثياني مقارنة بمجموعة السيطرة والتي يرتبط بها بنسبة 26% ، إن الأشخاص الحاملين للطراز TT يكون لديهم خطر عالي للإصابة ب RA وهذا ما وصلت اليه الدراسة الحالية التي كانت نسبة ظهور الطراز GT (69.8%) اما في مجموعة السيطرة فكانت النسبة (31.8%) ، ولم تتفق دراسة El-Saadany وآخرون (2016) في نسبة ظهور الطراز GG فكانت نسبة ظهوره في مجموعة المرضى (40%) وقد اتفقت في نسبة ظهوره مع الاصحاء بنسبة (70%) ، اما الدراسة الحالية فكانت نسبة ظهوره في مجموعة المرضى (23.3%) اما في الاصحاء فكانت (68.2%)، واتفقت دراسة El-Saadany وآخرون (2016) في نسبة ظهور الطراز TT فكانت نسبة ظهوره في مجموعة مرضى ال RA (14%) اما في مجموعة الاصحاء فكانت نسبة ظهوره (4%) اما الدراسة الحالية فكانت نسبة ظهوره في مجموعة المرضى (7.0%) اما الاصحاء فكانت (0%).

إنّ إختلاف إرتباط الأشكال المتعددة للجين STAT4 بمرض التهاب المفاصل الرثياني يمكن أن تعود أسبابه إلى إختلاف المجتمعات إذ لكل مجتمع نمط خاص به وهذا ما أشار إليه (Soon Lee et al., 2007) .

ان نمط توزيع الطرز الجينية يختلف من مجتمع سكاني لآخر باختلاف العرق كما ذكرت الدراسات التي تفحص توزيع تردد الطرز الجينية بين المجموعات السكانية المختلفة إذ وجدت اختلافات قدرت من 15 % إلى 20 % بين المجموعات السكانية في طرق توزيع تردد الطرز الجينية (Burchard et al., 2003) .

The 6-4 relationship between genotype of gene STAT4 and some risk factor
العلاقة بين الطراز الجينية لجين STAT4 وبعض عوامل الخطورة :-

1-6-4 النسب المئوية للنساء المصابات وغير المصابات حسب الفئات العمرية:-AGE

جدول (3-4) نسب الإصابة حسب الفئات العمرية

المعنوية	اصحاء			مرضى			العينة
	الطراز الجيني			الطراز الجيني			
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.088	0	0	5	1	0	1	20- 30
	0.0%	0.0%	22.7%	2.3%	0.0%	2.3%	
0.008	0	0	5	2	0	0	31 – 40
	0.0%	0.0%	22.7%	4.7%	0.0%	0.0%	
0.033	1	0	5	8	3	3	41 – 50
	4.5%	0.0%	22.7%	18.6%	7.0%	7.0%	
0.181	6	0	0	19	0	6	51 – 60
	27.3%	0.00%	0.0%	44.2%	0.0%	14.0%	
	0.058		0.000	0.000	0.780	0.150	المعنويه
	0.000			0.277			

أظهرت النتائج المدرجة بالجدول (3-4) أنّ نسبة ظهور الطراز الجيني المرتبط بالمرض تزداد مع التقدم بالعمر إذ بلغت نسبة ظهور الطراز GT في الفئة العمرية (60-51) في مرضى التهاب المفاصل الرثياني (44.2)% وتلتها الفئة العمرية (50-41) لنفس الطراز الجيني لمجموعة المرضى وكانت (18.6)% أما الفئة العمرية (40-31) فكانت نسبة ظهور الطراز (4.7) %وقد سجلت الفئة العمرية (30-20) أدنى نسبة لظهور الطراز ؛ إذ بلغت (2.3) % ، أما في مجموعة السيطرة فقد سجلت أعلى نسبة لظهوره في الفئة العمرية (60-51) والتي بلغت (27.3)% أما فيما يخص الطراز الجيني TT فسجل نسبة ظهور في مجموعة المرضى للفئة العمرية (50-41) بنسبة (7.0)% ولم يسجل نسبة ظهور في باقي الفئات العمرية الأخرى في مجموعات المرضى و كذلك لم يسجل هذا الطراز أي نسبة ظهور في أي فئة عمرية في مجموعات السيطرة .

أما الطراز الجيني GG الذي يرتبط بالأصحاء فقد كانت نسبة ظهوره في مجموعات المرضى في الفئة العمرية الرابعة (14.0%) ، أما نسبة ظهوره في مجموعات السيطرة فقد سجلت نسب متساوية في أول ثلاث مجاميع للفئات العمرية إذ بلغت النسبة (22.7)، في ضوء نتائج التحليل الإحصائي يتبين من الجدول الى عدم وجود فروقات دالة معنوية في مجموعة المرضى والأصحاء في الفئة الأولى والرابعة لجميع الطرز الجينية، وقد وجدت فروقات دالة معنوية في الفئة الثانية والثالثة لمجموعة المرضى والأصحاء للطرز الجينية الثلاث .

ولم يكن هناك فروقات دالة معنوية لظهور الطرازين GG,TT في جميع الفئات العمرية لمجموعة المرضى وكذلك لم يكن هناك فروقات دالة معنوية لظهور الطراز GT لجميع الفئات العمرية في مجموعة الأصحاء ، كما أظهرت أنّ هناك فروقات دالة معنوية في الطراز الجيني GT لجميع الفئات العمرية لمجموعة المرضى ، كذلك أظهر التحليل الإحصائي في الجدول أنّ هناك فروقات دالة معنوية لظهور الطراز GG لجميع الفئات العمرية في مجموعة الأصحاء .

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Jassim, 2015) الذي أشار الى أنّ الفئة العمرية (30-49) من أكثر الفئات إصابة بالمرض ، في حين أشار Tehlirian وآخرون (2008) إلى أنّ مرض التهاب المفاصل الرثياني يبدأ بأي مرحلة عمرية ولكن أعلى نسبة إصابة للمرض تكون في العقد الرابع والخامس، إذ ازداد ظهور المرض في المجموعة الثالثة والرابعة ، واتفقت نتائج الدراسة مع ما أشار اليه Muhammed وآخرون (2014) إلى ارتفاع نسبة الإصابة بالمرض عند الفئة العمرية (30-50) سنة .

أنّ تقدم السن يلعب دوراً مهماً في ظهور الأشكال المتعددة للجين ، كما يؤدي تقدم السن إلى شيخوخة الجهاز المناعي للإنسان ، إذ تفقد الخلايا التائية البشرية حوالي 3000 زوج قاعدي من تسلسلات التيلومير بين سن 20 الى 60 سنة من أصل 5000 الى 6000 زوج قاعدي ، في حالة الإصابة بمرض ال RA يفقد التيلومير 1500 زوج قاعدي الخاص بخلايا T المساعدة (Fujii et al.,2009) .

في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Yüksel وآخرون (2014) حيث لم يظهر ارتباط بين العمر والطرز الجينية GT,TT المرتبطة بالمرض . يعمل أنترلوكين 12 على تنظيم تمايز الخلايا التائية المساعدة في استجابة لبروتين STAT4، في حين يعمل أنترلوكين 23 على تطوير وتمايز الخلايا المساعدة الأولية Th1 في استجابة للبروتين نفسه (Lee et al., 2017: Mathur et al., 2007). إن الاختلاف الكبير بين الفئات العمرية المصابة بالمرض من الممكن أن يرجع إلى عوامل عدة منها عوامل وراثية أو بيئية أو عوامل هرمونية إذ يعتقد إنّ التراكيز المنخفضة من الأستروجين تقوم بتنشيط وتحفيز التفاعلات المناعية الخلوية إذ أشير إلى أنّ الاستروجين يمكن أن يكون عادةً عاملاً محفزاً (Trigger Factor) للمناعة الذاتية الخلوية عند المستويات المنخفضة ومثبطاً عند المستويات المرتفعة (Deane et al., 2017).

4-6-2- حساب الوزن :- weight

جدول (4-4) النسب المئوية حسب الوزن

المعنوية	اصحاء			مرضى			الفئات حسب الوزن
	الطرز الجيني			الطرز الجيني			
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.16	2	0	4	0	1	1	45 – 64
	9.1%	0.0%	18.2%	0.0%	2.3%	2.3%	
0.50	4	0	3	5	2	5	65 – 74
	18.2%	0.0%	13.6%	11.6%	4.7%	11.6%	
0.00	1	0	8	25	0	4	75 – 100
	4.5%	0.0%	36.4%	58.1%	0.0%	9.3%	
	0.37	0	0.25	0.00	0.56	0.27	المعنوية
	0.146			0.003			

بينت النتائج الموضحة في الجدول(4-4) أعلاه أنّ نسبة ظهور الطرز الجينية المرتبطة بمرض التهاب المفاصل الرثياني تزداد ظهوراً مع إزداد وزن الجسم عن الحد غير الطبيعي إذ سجلت الفئة ذات الوزن (100-75) أعلى نسبة ظهور للمرض إذ بلغت نسبة الإصابة

(58.1%) التي إرتبطت بالطراز الجيني GT ،أما الطراز الجيني GG الذي إرتبط بمجموعة الأصحاء فكانت نسبة ظهوره في مجموعة المرضى الفئة نفسها (9.3) %، أما في مجموعة السيطره فقد كانت أعلى نسبه للطراز GG والتي سجلت في الفئة الثالثة إذ بلغت (36.4) % .لم يلاحظ وجود فروقات دالة معنوية في أعداد نسب ظهور الطرز الجينية الثلاث في مجموعة المرضى وفي مجموعة الأصحاء للفئة الاولى والثانية، ولوحظ وجود فروقات دالة معنوية في أعداد نسب ظهور الطرز الجينية الثلاث في مجموعة المرضى والأصحاء للفئة الثالثة، ولم توجد فروقات دالة معنوية في مجموعة المرضى للطرازين GG,GT ولوحظ وجود فروقات دالة معنوية في مجموعة المرضى للطراز GT ، أما في مجموعة السيطرة فلم يلاحظ وجود فروقات دالة معنوية للطرز الجينية الثلاثة .ولوحظ وجود فروقات دالة معنوية في مجموعة المرضى للطرز الجينية الثلاث للمجاميع الثلاثة ، ولم يلاحظ وجود فروقات دالة معنوية للطرز الجينية للمجاميع الثلاثة في مجموعة السيطرة .

تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاءت به دراسة Qin وآخرون (2015) إذ بينت هذه الدراسة أن نسبة الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني ترتفع مع ازدياد كتلة الجسم او وزن الجسم عن الحد غير الطبيعي ووجد إن الإصابة بالمرض ترتفع بالفئات ذات الاوزان المرتفعة جدا أي إن المرض مرتبط بالسمنة .

اتفقت الدراسة مع ماتوصل اليه الباحث Zervou وآخرون (2008) إذ أشار الى أن السمنة من اهم اسباب الإصابة بالتهاب المفاصل الرثياني وتؤثر كذلك على زيادة معدل الإصابة بمرض السكري وعزى ذلك الى ارتباط النمط الوراثي GT بمرض السكري .

و توصلت بعض الدراسات إلى دور الأنترلوكين 12 في السيطرة على مسار الأنسجة الدهنية وإنّ جين STAT4 هو الذي يتوسط ويسيطر على إشارة الإنترلوكين 12 (Chakrabarti et al., 2011; Good et al., 2009).

إنّ السمنة تعدّ من العوامل المهمة فضلاً على العديد من العوامل الأخرى ومنها الجينية وطرق العيش وشرب الكحول والعوامل البيئية في تطور مرض التهاب المفاصل الرثياني (Bossini-Castillo et al., 2015).

كما بينت دراسة Bhole وآخرون (2012) ودراسة الباحثان Rantapää- و Ljung وDahlqvist (2016) أيضا إلى أنّ مرض التهاب المفاصل الرثياني مرتبط بالسمنة وعدّ من العوامل المهمة في تطور المرض وهذا ما وصلت إليه نتائج الدراسة الحالية. كما لم تحدد بعض الدراسات أهمية عامل السمنة كعامل مهم في تطور مرض التهاب المفاصل الرثياني على عكس ما توصلت إليه الدراسة الحالية في أهميتها وأعتبارها كعامل مهم في تطور المرض (Wesley et al., 2013 : Rodriguez et al .,2009).

3-6-4- التاريخ العائلي :- family history

جدول (5-4) توزيع حسب التاريخ العائلي

المعنوية	الأصحاء			المرضى			العينة
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.008	2	0	6	27	2	7	يوجد تاريخ عائلي
	9.1%	0.0%	27.3%	62.8%	4.7%	16.3%	لا يوجد تاريخ عائلي
0.296	5	0	9	3	1	3	المعنوية
	22.7%	0.0%	40.9%	7.0%	2.3%	7.0%	
	0.26		0.44	0.00	0.56	0.21	
	0.604			0.236			

يعدّ التاريخ العائلي من العوامل المهمة التي تؤثر بالإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني إذ بينت النتائج الموضحة في الجدول (5-4) أدناه علاقة المرضى ومجموعة السيطرة بالتاريخ العائلي حسب الطراز الجيني إذ سجل الطراز الجيني GT في مجموعة المرضى ممن لديهم تاريخ عائلي أعلى نسبة ظهور؛ إذ بلغت (62.8)% أما في مجموعة الأصحاء فقد سجل (9.1)% أما الطراز TT فقد كانت نسبة ظهوره في مجموعة المرضى ممن لديهم تاريخ عائلي مسبق (4.7)% وفي مجموعة الأصحاء لم يسجل أي ظهور ، وكانت نسبة ظهور الطراز GG في مجموعة المرضى ممن لديهم تاريخ مسبق (16.3)% ، وفي مجموعة السيطرة بلغت نسبته (27.3)% ، سجل الطراز الجيني GG أعلى نسبة ظهور في مجموعة الأصحاء ممن لم

يكن لهم تاريخ عائلي مسبق وقد بلغت (40.9%) أظهرت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول وجود فروقات معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء ممن يمتلكون تاريخاً عائلياً مسبقاً و فروقات غير معنوية ممن لم يمتلكوا تاريخاً عائلياً، وكذلك وجود فروقات غير معنوية في مجموعة المرضى والأصحاء لجميع الطرز الجينية ممن يمتلكوا تاريخاً عائلياً مسبقاً والذين يمتلكون تاريخاً مسبقاً .

تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه Hemminki وآخرون (2009) ومع مانوصل إليه Frisell وآخرون (2016) إذ بينت هذه الدراسات أنّ مرض التهاب المفاصل الرثياني يرتبط مع التاريخ العائلي للمريض وقد أجريت دراسات على مرضى التوائم المتماثلة والأبناء والآباء ممن لديهم تاريخ وراثي مع المرض وعلى عدة عائلات أخرى واثبتت أنّ لهذا المرض ارتباطاً وراثياً ينتقل بين العائلات وهذا ما توصلت إليه الدراسة الحالية.

ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار به الباحث Settin وآخرون (2014) حيث لم ترتبط الطرز الوراثية GT و TT للشكل المتعدد للجين STAT4 للمرضى المصابين ب RA ممن يمتلكون تاريخ عائلي مسبق للإصابة على عكس ما جاءت به الدراسة الحالية .

كما أتفقت دراسة Worthington (2005) التي أجريت على التوائم المتماثلة وغير المتماثلة على أنّ خطر الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني يكون أعلى إصابة في التوائم المتماثلة مما هو عليه في غير المتماثلة وهذا يدل على ارتباط المرض بالوراثة .

يعد التاريخ العائلي مهماً جداً في معرفة أو التنبؤ بحدوث الإصابة بالمرض قبل معرفة النمط الجيني للشخص المصاب وهذا ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية فكانت نسبة ظهور الطراز الجيني GT التابع للجين STAT4 ذي التعدد الشكلي في المرضى الذين لديهم تاريخ عائلي مسبق أعلى ممن لم يمتلكوا تاريخاً مسبقاً للإصابة (Hemminki et al ., 2006) .

كما اشارت دراسة Saghafi وآخرون (2014) الى عدم تباين الطرز الوراثية لـ HLA-DRB1 بنسب كبيرة في الأشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني والتي ترتبط مع شدة المرض للذين يمتلكون ولا يمتلكون تاريخ عائلي مسبق للإصابة بالمرض .

4-6-4-التدخين :- Smoking-

جدول (6-4) توزيع الاصابة بحسب عامل التدخين

المعنوية	اصحاء			مرضى			العينة
	الطرز الجيني			الطرز الجيني			
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.268	7	0	2	26	3	2	مدخن
	31.8%	0%	9.1%	60.5%	7.0%	4.7%	
0.023	0	0%	13	4	0	8	غير مدخن
	0.0%	0	59.1%	9.3%	0.0%	18.6%	
	0.01	0%	0.005	0.000	0.28	0.058	المعنوية
	0.000			0.000			

تؤدي عوامل الخطورة دورا كبيرا في زيادة الإستعداد بالإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني إذ بينت النتائج الموضحة في الجدول (6-4) أدناه أنّ الاصابة بمرض التهاب المفاصل تتأثر بعوامل عديده ومنها التدخين حيث أثبتت النتائج المبينة بالنسب المئوية إن النسبه الأعلى لظهور الطرز الجينية في الجين STAT4 للأشخاص المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثياني هم من فئة المدخنين ومن الطراز (GT) إذ بلغت (60.5) %، في حين سجلت نسبة الأشخاص غير المدخنين المرضى ولنفس الطراز (9.3 %) مما يدل على إرتباط المرض بعامل التدخين وتأثره به ، أما نسبة الطراز TT فقد سجل نسبة ظهور في المرضى المدخنين (7.0 %) والمرضى غير المدخنين فلم يسجل أي نسبة ظهور ، وقد سجل الطراز GG أعلى نسبة ظهور في المرضى غير المدخنين والتي بلغت (18.6) % ، أما في مجموعة السيطرة فقد سجل (59.1) % للفئة نفسها .

بينت النتائج في الجدول (6-4) عدم وجود فروقات دالة معنوية بين المرضى والأصحاء لجميع الطرز الجينية لفئة المدخنين ، كما لوحظ وجود فروقات معنوية بين المرضى والأصحاء لجميع الطرز في الفئة غير المدخنين ، كما وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي إلى عدم وجود فروقات معنوية في المرضى للفئتين المدخنين وغير المدخنين للطرز الجيني GT,TT لوحظ

أيضاً وجود فروقات معنوية في مجموعة المرضى المدخنين وغير المدخنين للطراز الجيني GT، أما في مجموعة الأصحاء فقد لوحظ وجود فروقات دالة معنوية للفئتين وللطرازين GT,GG ولم يلاحظ وجود فروقات دالة معنوية في الطراز TT . كما لوحظ وجود فروقات دالة معنوية لمجموعة المرضى والأصحاء من الفئتين ولجميع الطرز الجينية .

أتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه الباحثان Esquide و Sanmartí (2012) إذ أشارت نتائج هذه الدراسة الى ارتباط التدخين مع خطر الإصابة بالتهاب المفاصل الرثياني والزيادة من تقدم وتطور المرض بتأثيره على النمط المظهري وإحداثه أضراراً بالمفصل .

كما أشارت دراسة Padyukov وآخرون (2004) ودراسة الباحث Yin وآخرون (2017) إلى ارتباط التدخين بتطور المرض وهذا ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لفئة الأشخاص المدخنين وتأثيره على الجهاز المناعي للشخص.

وبينت اغلب الدراسات على امراض المناعة الذاتية ان التدخين يعتبر من عوامل الخطورة التي تؤدي الى حدوث هذه الامراض ومن الممكن ان يكون لها تأثير على مستوى الطرز الجينية كما أشارت دراسة Kiyohara و آخرون (2009) على مرض داء الذئبة الحمراء ازدياد ظهور نسبة الطرز الجينية المرتبطة بامراض المناعة الذاتية للأشخاص من فئة المدخنين حيث ارتبط ظهور الطراز TT المرتبط بمرض داء الذئبة الاحمراري بنسبة 49% في الاشخاص المدخنين ، في حين بينت نتائج الدراسة الحالية بارتباط الطراز GT المرتبط بالمرض المناعي بنسبة 60.5% بعامل التدخين .

وقد بينت دراسة Arnson و آخرون (2010) الى أنّ التدخين يؤثر في زيادة الخلايا الالتهابية الأولية عن طريق زيادة السايوكينات الالتهابية (IL-1 ,IL-6,IL-8, TNF-alpha) ويقلل من إنتاج السايوكينات المثبطة للالتهابية التي من أمثلتها IL-10 .

hypertention -5-6-4- الإصابة بارتفاع ضغط الدم :-

جدول (7-4) التوزيع حسب الإصابة بارتفاع ضغط الدم

المعنوية	اصحاء			مرضى			العينة
	الطرز الجيني			الطرز الجيني			
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.379	5	0	2	22	1	3	مصاب بالضغط
	22.7%	0.0%	9.1%	51.1%	2.3%	7.0%	
0.156	2	0	13	8	2	7	غير مصاب بالضغط
	9.1%	0.0%	59.1%	18.6%	4.7%	16.3%	
	0.257		0.005	0.000	0.564	0.206	المعنوية
	0.006			0.000			

النتائج الموضحة في الجدول (7-4) بينت أن هناك إرتباطاً بين المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثياني وبين الإصابة بارتفاع ضغط الدم إذ سجلت أعلى نسبة ظهور للطراز الجيني GT المرتبط بالمرض للجين STAT4 للمصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم في مرضى التهاب المفاصل الرثياني (51.1%) مما يدل على وجود علاقة بين ضغط الدم المرتفع والاصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني ، أما نسبة غير المصابين بارتفاع ضغط الدم قد بلغت نسبة ظهور الطراز الجيني (18.6) % وكانت الأدنى مقارنة بنسبة المصابين به ، أما الطراز TT فقد سجل نسبة ظهور (2.3)% في المرضى المصابين بارتفاع ضغط الدم وقد سجل الطراز GG نسبة في المرضى غير المصابين بارتفاع ضغط الدم (16.3)%، سجل الطراز GG المرتبط بالسليمين في مجموعة السيطرة غير المصابين بارتفاع ضغط الدم نسبة ظهور (59.1) % , بينت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول عدم وجود فروقات دالة معنوية لجميع الطرز الجينية في المرضى والأصحاء المصابين بارتفاع ضغط الدم وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم ، كما لوحظ عدم وجود فروقات دالة معنوية لظهور الطرازين TT,GG في المرضى المصابين وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم وكذلك لوحظ وجود فروقات دالة معنوية للطراز GT للمرضى المصابين وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم ، كما قد لوحظ وجود فروقات دالة

معنوية لمجموعة السيطرة المصابين وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم العائدة للطراز GG، ولوحظ كذلك عدم وجود فروقات دالة للطرازين GT,TT لمجموعة السيطرة المصابين وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم ، كما بيّن التحليل الإحصائي وجود فروقات دالة معنوية في المرضى والاصحاء ولجميع الطرز الجينية في المصابين وغير المصابين بارتفاع ضغط الدم .

إنّ ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية قد اتفقت مع ما جاء به Iannaccone وآخرون (2011) إذ اشارت الدراسة إلى أنّ هناك ارتباطاً بين ضغط الدم الانقباضي المرتفع وبين الإصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني لأنّ هناك ارتباطاً بين الإلتهابات التي تحصل في السائل الزليلي التي تقاس بقياس معدل C-reactive protein CRP في مرضى التهاب المفاصل التي تكون مرتفعة مقارنة مع الأشخاص السليمين وبين ضغط الدم الانقباضي الذي يبقى أيضاً مرتفعاً .

واتفقت بعض الدراسات التي أجريت على بعض الأمراض المناعية الذاتية التي ترتبط بالجين STAT4 ومنها مرض داء الذئبة الأحمراري مع ماتوصلت إليه الدراسة الحالية في ارتباط الطرز الجينية بخطر الإصابة بارتفاع ضغط الدم في مرضى RA، حيث ارتبطت الطرز الجينية GT و TT في مرض داء الذئبة الاحمراري للشكل المتعدد للجين STAT4 بخطر الإصابة بارتفاع ضغط الدم ومرض الاوعية الدماغية الذي يسبب السكتة الدماغية في مرضى داء الذئبة الاحمراري. (Svenungsson et al ., 2010).

كما اتفقت الدراسة الحالية مع ما جاء به Gonzalez-Gay وآخرون (2008) في ارتباط بعض أمراض القلب الوعائية التي يسببها ارتفاع ضغط الدم بمرضى التهاب المفاصل الرثياني وبعض الأنماط الجينية في بعض الجينات مثالها الشكل المتعدد للجين (MTHFR1298) (methylene tetrahydrofolate reductase) إذ يمنح الطراز AA والطرز CC خطراً متزايداً للإصابة بأمراض القلب الوعائية في مرضى التهاب المفاصل الرثياني ، وهذا ماتوصلت إليه الدراسة الحالية إذ ان الشكل المتعدد للجين STAT4 منح خطراً متزايداً للإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم إذ لوحظ ارتباطه بكثرة بالطراز الجيني GT بنسبة (26.8)% في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني .

إن الدراسات التي تبين العلاقة بين ضغط الدم و الالتهابات لها أهمية في مرضى التهاب المفاصل الرثياني إذ تكون نسبة خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية هي أعلى مقارنة بالأشخاص الطبيعيين الذين هم من العمر والجنس نفسه لأن أسباب ارتفاع ضغط الدم لدى المرضى بسبب إن المرض هو بطبيعته التهابي فيزيد العبء على الجهاز الوعائي فضلاً على المفاصل لذلك يزيد خطر الإصابة المبكرة بأمراض القلب كما وإن الساييتوكينات المتمثلة بالإنترلوكين 12 و إنترلوكين 23 تعدّ من الساييتوكينات الإلتهابية وهذه الساييتوكينات تزيد من التهابية الجهاز الوعائي في مرضى التهاب المفاصل الرثياني لذلك تزداد قابلية الإصابة بارتفاع ضغط الدم وإن الجين المسيطر على توسط إشارة هذه الساييتوكينات هو الجين STAT4 فأن زيادة الساييتوكينات الإلتهابية يعني وجود خلل في الجين المذكور وظهور الشكل المتعدد للجين STAT4 (Avina-Zubieta et al., 2012). كما اشارت دراسة الباحث Manavathongchai و آخرون (2013) على وجود علاقة بين مرضى التهاب المفاصل الرثياني والإصابة بارتفاع ضغط الدم .

وإنفقت الدراسة الحالية أيضاً مع ماجاء به الباحث Gonzalez-Gay وآخرون (2007) والباحث Zegkos وآخرون (2016) إذ أشار إلى ارتفاع خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية وتصلب الشرايين في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني .

6-6-4- الإصابة بداء السكري:- affected with diabetes

جدول (4 - 8) النسب المئوية لظهور الطرز الجينية في الجين STAT4 حسب الإصابة بمرض السكري في للنساء المصابات بالتهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة

المعنوية	اصحاء			مرضى			العينة
	الطرز الجيني			الطرز الجيني			
	GT	TT	GG	GT	TT	GG	
0.057	0	0	1	21	1	3	مصاب بالسكري
	0.0%	0.0%	4.5%	48.8%	2.3%	7.0%	
0.112	7	0	14	9	2	7	غير مصاب بالسكري
	31.8%	0.0%	63.6%	20.9%	4.7%	16.3%	
	0.07		0.00	0.03	0.56	0.21	المعنوية
	0.48			0.06			

بينت نتائج الموضحة في الجدول أعلا (4-8) نسب ظهور الطرز الجينية للجين STAT4 لمرضى التهاب المفاصل الرثياني المصابين وغير المصابين بالسكري إذ كانت النسبة الأعلى لظهور الطرز الجينية للمرضى المصابين بداء السكري ارتبطت بالطراز GT، إذ بلغت النسبة (48.8%) أما المرضى غير المصابين بداء السكري فقد سجلت النسبة لظهور الطراز (20.9%) وكانت النسبة الأدنى وقد سجل الطراز TT في المرضى المصابين بداء السكري نسبة (2.3%) أما الطراز GG فكانت نسبة ظهوره أعلى في المرضى غير المصابين بداء السكري التي كانت (16.3%) وقد سجل الطراز GG المرتبط بالأصحاء أعلى نسبة في مجموعة السيطرة غير المصابين بداء السكري والتي بلغت (63.6%) ، وقد سجل الطراز GT نسبة ظهور (31.8%) في مجموعة الأصحاء غير المصابين بداء السكري .

بينت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية في المرضى والأصحاء ولجميع الطرز الجينية للمصابين وغير المصابين بداء السكري ، وعدم وجود فروقات معنوية للطرازين GG, TT للمرضى المصابين وغير المصابين بداء السكري ، أما الطراز الجيني GT فقد بينت النتائج فروق معنوية للمرضى المصابين وغير المصابين بداء السكري ، وكما لوحظ وجود فروقات معنوية للطراز GG في مجموعة السيطرة الأصحاء المصابين وغير المصابين بداء السكري ، ولم يلاحظ وجود فروقات معنوية في الطرازين GT, TT في مجموعة السيطرة المصابين وغير المصابين بداء السكري ، كما لم يلاحظ وجود فروقات معنوية بين المرضى والأصحاء ولجميع الطرز الجينية واللفنتين المصابين وغير المصابين بداء السكري .

إن معرفة العلاقة بين الأمراض الروماتزمية كالتهاب المفاصل الرثياني وداء السكري لها أهمية كبيرة ؛ وذلك لأنها توثق زيادة معرفة الإصابة بالأمراض القلبية الوعائية وخطر الإصابة بها إذ يؤدي الإلتهاب دوراً مهماً في قيادة مقاومة الأنسولين والأبيض في الجسم (Solomon et al., 2003).

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليه الباحث Chaplin و آخرون (2015) إذ توصل إلى أن التعدد الشكلي الجين STAT4 يؤدي دوراً مهماً في تطور الإصابة بداء السكري لمرضى التهاب المفاصل الرثياني .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به الباحث Brauchli وآخرون (2008) إذ بينت نتائج الدراسة ارتفاع خطر الإصابة بداء السكر في مرضى التهاب المفاصل الرثياني وهذا ما بينته النتائج الحالية للدراسة .

أشارت دراسة الباحث Dubreuil وآخرون (2013) إلى أن الإصابة بداء السكري وارتباطه بمرض التهاب المفاصل الرثياني يمكن أن تعود الى نمط الحياة ويمكن أن ترتبط الإصابة بداء السكري في مرضى التهاب المفاصل الرثياني بعامل السمنة .

في حين أوضحت دراسة أخرى إلى أن إصابة مرضى التهاب المفاصل الرثياني بداء السكري تعود إلى تناول المريض الأدوية الستيرويدية على المدى الطويل (Mancuso et al., 2007).

وأشارت دراسة الباحث Zervou وآخرون (2008) إلى ارتباط النمط GT بالإصابة بمرض داء السكري في مرضى التهاب المفاصل الرثياني وهذا ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية .

2-4 الدراسة المناعية:- immunological study

**قياس مستوى السايوتوكينات المناعية في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني
measure the level of serum cytokines in serum rheumatoid :-
arthritis patients**

تم تحديد مستوى تركيز ثلاثة من السايوتوكينات المناعية تضمنت (IL-4, , IL-1beta) IFN- γ , بإستعمال تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) Enzyme Linked Assay Immuno-sorbent في مصل الأشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني ومقارنتها مع مستوياتها في مصل مجموعة (السيطرة) حيث وشمل القياس ل44 عينة من المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني و22 التي تمثلت بمجموعة السيطرة .

IL-4 السايوتوكين المناعي IL-4 :- cytokine immune interleukin 4

أشارت النتائج المبينة في الجدول (4-10) إلى إرتفاع مستوى تركيز السايوتوكين المناعي **IL-4** إرتفاعاً معنوياً عند مستوى إحتمالية ($P \leq 0.05$) لدى الافراد المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني RA إذ بلغ مستوى تركيزه (**78.12**) بيكوغرام / مل مقارنة مع مجموعة السيطرة الذي بلغ مستوى تركيزه لدى افرادها (**24.18**) بيكوغرام / مل .

جدول (4-9) مقارنة النتائج لتراكيز السايوتوكين المناعي **IL-4** مقاسة بيكوغرام/مل في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة

السايوتوكين	السيطرة Mean \pm SE	مرضى Mean \pm SE	P.value
IL-4	24.18 \pm 0.66	78.12 \pm 3.16	0.00

تطابقت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-9) مع ما توصل إليه (Pavlovic et al., 2014) إذ أشار إلى إرتفاع مستويات تركيز **IL-4** لدى المرضى

المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني وذلك بسبب إرتفاع مستوى الساييتوكينات التي تعمل على تثبيط الحالة الإلتهابية والوصول إلى حالة التوازن بين الساييتوكينات الإلتهابية والساييتوكينات المثبطة للإلتهاب .

إنّ الخلايا المساعدة تقسم الى Th1 ، Th2 وذلك بحسب الساييتوكينات التي تفرزها إن الخلايا المساعدة هي المحور الأساسي في سبب حدوث مرض التهاب المفاصل الرثياني (Boissier et al ., 2008 :He et al ., 2017) .

وبينت الدراسات (Henderik & Lipsky , 2004 : Stocchi et al., 2017) إلى ان خلايا Th1 تنشط عندما تحدث اصابة داخلية وتفرز الوسائط الالتهابية الأولية -pro-inflammatory والتي تتضمن الساييتوكينات (IL-2 , TNF- α , IFN γ) تقوم هذه الوسائط الالتهابية بتنشيط الخلايا البلعمية الملتزمة وتزيد من قابليتها في ابتلاع المستضد وإفراز الجذور الاوكسجينية الحرة (OR) وذلك لتدمير الخلايا المصابة ،أما الخلايا المساعدة Th2 فتعمل على إفراز الساييتوكينات المضادة للإلتهابات والتي تتمثل ب (IL-4 , IL-5 , IL-10 , IL-13) حيث تدخل هذه الساييتوكينات في الإستجابة المناعية الخلطية (humoral response) وتعمل على خفض نشاط الخلايا البلعمية (Macrophage) ، ففي حالة الإصابات الإعتيادية تكون هناك حالة من التوازن بين الساييتوكينات المحفزة والمثبطة للإلتهابات .

إنّ ل IL-4 العديد من الوظائف في الجهاز المناعي يساهم في تمايز الخلايا البائية B-cell وتحفيزها، وهو أيضا موثق وسيط للخلايا المساعدة الثانية Th2 و IL-4 يظهر كمضاداً للإلتهابات حيث يعمل على تثبيط تكاثر الساييتوكينات الالتهابية التي تتمثل ب IL-1 وعامل النخر الورمي TNF وله القابلية على منع تمايز الخلايا الزليابية (Yang et al ., 2017: Dechanet et al ., 1993) .

4-2-2- الساييتوكين المناعي IL-1beta -: cytokine immune interleukin IL-1beta

أشارت النتائج المبينة في الجدول أدناه (4-10) إلى ارتفاع مستوى تركيز الساييتوكين المناعي IL-1beta إرتفاعاً معنوياً عند مستوى إحتتمالية ($P \leq 0.05$) لدى الافراد المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني RA إذ بلغ مستوى تركيزه (34.88) بيكوغرام / مل مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغ مستوى تركيزه لدى افرادها (4.08) بيكوغرام / مل .

جدول (4 - 10) مقارنة النتائج لتراكيز الساييتوكين المناعي IL-1beta مقاسة بيكوغرام/مل في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة

P.value	Mean \pm SE مرضى	Mean \pm SE السيطرة	السايتوكين
0.00	34.88 \pm 1.4	4.08 \pm 0.17	IL-1beta

تطابقت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الجدول (4-10) والتي بينت وجود إرتفاع معنوي في مستوى تركيز (IL-1 β) لدى مرضى التهاب المفاصل الرثياني إذ بلغ مستوى تركيزه (32.88) بيكوغرام / مل بالمقارنة مع مستوى تركيزه عند مجموعة السيطرة (4.08) بيكوغرام / مل مع ماتوصل اليه (Thiyagarajan et al., 2015; Adkar et al., 2014) إذ أشار إلى إرتفاع مستويات تركيز IL-1beta لدى المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني .

كما بينت دراسة الباحث (السلطان, 2018) عن طريق التحليلات المناعية لخرع الارانب إن تركيز IL-1 β يقل في مصل الدم لدى المرضى منها و الذين استخدمت عليهم العلاجات المحورة وربما ينتج ذلك من التأثير المباشر على الجين المسؤول عن إنتاج الساييتوكين المذكور آنفاً.

إن انترلوكين-1بيتا (IL-1 β) هو واحد من إحد عشر بروتيناً في عائلة الانترلوكين-1 (الوزن الجزيئي 31 k D) ، ويتم إنتاجه بعد تحفيز عدد من خلايا الجهاز المناعي منها الخلايا البلعمية الملتزمة الكبيرة والخلايا الطلائية و الخلايا اللمفاوية T و B (Tassi *et al.*, 2010)، إن هذا السيتوكين هو وسيط مهم من الإستجابة الإلتهابية (Takeuchi, *et al.*,2010)، ويشارك في مجموعة عديده من الأنشطة الخلوية بما فيها تكاثر الخلايا Proliferation cell ، التمايز Differentiation ، وموت الخلايا المبرمج (Apoptosis) (Gloria & Divid , 2011) ، وقد أظهرت الدراسات التي أجريت على الحيوانات الدور المهم للـ IL- 1 β في إصابة المفاصل بمرض التهاب المفاصل الرثياني حيث أدى حقن الـ IL- 1 β في مفصل الركبتين عند الأرانب إلى تآكل الغضروف، وتدميره في حين أدى حقن الأجسام المضادة الموجهة ضد هذا السيتوكين بعد استحداث هذا المرض لديها أدى إلى تحسين وضعها والتقليل من الأضرار اللاحقة بالغضروف مما يشير إلى أن الخلايا البلعمية الكبيرة في الأنسجة الزلالية لدى مرضى الـ RA تمثل عنصراً مهماً ومصدراً لإنتاج IL-1 β (Lopez-Castejon and Brough, 2011; Ernest *et al.*,2001).

3-2-4- السيتوكين المناعي IFN- γ : cytokine interferon gama immune

أشارت النتائج المبينة في الجدول (4-11) إلى ارتفاع مستوى تركيز السيتوكين المناعي IFN- γ ارتفاعاً معنوياً عند مستوى إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى الأفراد المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني RA إذ بلغ مستوى تركيزه (12.91) بيكوغرام / مل مقارنة مع مجموعة السيطرة الذي بلغ مستوى تركيزه لدى أفرادها (6.08) بيكوغرام / مل .

جدول (4-11) يمثل مقارنة النتائج لتراكيز السيتوكين المناعي IFN- γ مقاسة بيكوغرام/مل في مصلى مرضى التهاب المفاصل الرثياني ومجموعة السيطرة

P.value	Mean \pm SE مرضى	Mean \pm SE السيطرة	السيتوكين
0.00	12.91 \pm 0.24	6.08 \pm 0.15	IFN- γ

تطابقت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الجدول (4-11) التي بينت وجود ارتفاع معنوي في مستوى تركيز ($IFN-\gamma$) لدى مرضى التهاب المفاصل الرثياني إذ بلغ مستوى تركيزه (12.91) بيكوغرام / مل بالمقارنة مع مستوى تركيزه عند مجموعة السيطرة (6.08) بيكوغرام / مل مع ما توصل إليه (Pavlovic et al ., 2014) إذ أشار إلى ارتفاع مستويات تركيز ($IFN-\gamma$) لدى المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني .

كما لم تتفق النتائج الحالية مع ما جاء به الباحث Talaat وآخرون (2015) وكذلك الباحث (جاسم, 2017) الذي أشار إلى انخفاض مستوى الساييتوكين في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني ويمكن تفسير هذا الانخفاض الى استخدام المرضى للعلاجات المخفضة للالتهابات او فحص المرضى في درجات متفاوتة من المرض .

يفرز هذا الساييتوكين بشكل أساسي من خلايا (Th-1) ويمتلك مستقبلات خاصة به في جميع خلايا الجسم إذ يقوم بتنشيط الخلايا الملتزمة البلعمية على إفراز اوكسيد النتريك وكذلك يقوم بتنشيط الخلايا البطانية ويحفزها على التعبير عن جزيئات الالتصاق (Schulze-Koops and Kalden, 2001) ويعمل كذلك على تحفيز الخلايا البلعمية (Macrophage) على إنتاج (IL-12,IL-18) (Watanabe et al., 1991). لهذا السبب يعد من الساييتوكينات الالتهابية الأولية Pro- Inflammatory Cytokine السائدة في الاستجابة المناعة الفطرية والمكتسبة .

3-4- العلاقة بين الطرز الجينية للجين STAT4 وبعض المعايير المناعية :-

The relationship between STAT4 gene and some immunological parameters

توصلت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود فروقات معنوية في مستوى IL-1beta بين الأصحاء للطرز الجينية (GT,TT,GG) حيث يلاحظ ارتفاع المؤشرات المناعية لدى حملة الطراز (GT) كما مبين في الجدول (4-12) بالمقارنة مع الطراز GG، كما لوحظ وجود فروقات دالة إحصائية في مستوى ظهور IL-1beta بين مرضى التهاب المفاصل الرثياني للطراز الجيني GT حيث ارتفعت مستوياته عند المرضى من هذا الطراز، ولم يلاحظ وجود فروقات دالة إحصائية للطرازين GG,TT، ولوحظ وجود فروقات دالة إحصائية بين المرضى والأصحاء لجميع الطرز الجينية الثلاثة.

جدول (4-12) العلاقة بين الطرز الجينية والسايوتوكين المناعي IL-1beta

العينة	الطرز الجيني	Mean ± sd	N
اصحاء	GG	3.71±0.51	15
	GT	4.87±0.66	7
	TT	000	0
	p.value	0.00	
مرضى	GG	25.29±9.90 A	10
	GT	39.32±5.74 B	30
	TT	24.88±3.57 A	3
	LSD	8.98	
مرضى و اصحاء	الطرز الجيني	p.value	العدد
	GG	0.00	25
	GT		37
	TT		3

كما لوحظ وجود فروقات دالة معنوية في مستوى IL-4 تبعاً لعينات المرضى والأصحاء وكذلك تبعاً للطرز الجينية الثلاث (GT,TT,GG) إذ يلاحظ في الجدول (4-13) ارتفاع المؤشر المناعي لمستوى IL-4 للأصحاء من حملة الطراز GT وإنخفاضه في الطراز GG أما بالنسبة لفئة المرضى فقد لوحظ وجود فروقات دالة معنوية في مستوى IL-4 فقد سجلت هذه

الفروقات بين كل من الطراز GT من جهة والطرازين GG,TT من جهة أخرى حيث لم تسجل فروقات دالة احصائية في مستوى ظهور السايبتوكين المناعي في الطرازين GG, TT على عكس الطراز GT ، ولوحظ وجود فروقات دالة إحصائية في مستوى السايبتوكين المناعي IL-4 بين المرضى والأصحاء ولجميع الطرز الجينية الثلاث GG,GT,TT

جدول (13-4) العلاقة بين الطرز الجينية والسايبتوكين المناعي IL-4

العينة	الطرز الجيني	Mean ± sd	N
اصحاء	GG	22.44±1.95	15
	GT	27.93±0.84	7
	TT	000	0
	p.value	0.00	
مرضى	GG	58.27±10.72 A	10
	GT	87.48±18.14 B	30
	TT	56.80±0.61 A	3
	LSD	20.14	
مرضى و اصحاء	الطرز الجيني	p.value	
	GG	0.00	25
	GT		37
	TT		3

وقد تم قياس الفروقات في مستوى IFN-Y تبعاً للعينة (مرضى ، أصحاء) وتبعاً للطرز الجينية (GG,TT,GT) يلاحظ من خلال الجدول (14-4) وجود فروقات دالة معنوية في مستوى IFN-Y بين الأصحاء إذ يرتفع المؤشر المناعي للطراز GT مقارنة مع الطراز GG ، كما لوحظ وجود فروقات دالة معنوية في مستوى السايبتوكين المناعي IFN-y بين عينات المرضى وللطراز الجيني GT مقارنة مع الطراز GG و TT الذي لوحظ إنخفاضه. ولوحظ وجود فروقات دالة معنوية لظهور السايبتوكين المناعي في عينات المرضى والأصحاء ولجميع الطرز الجينية الثلاث.

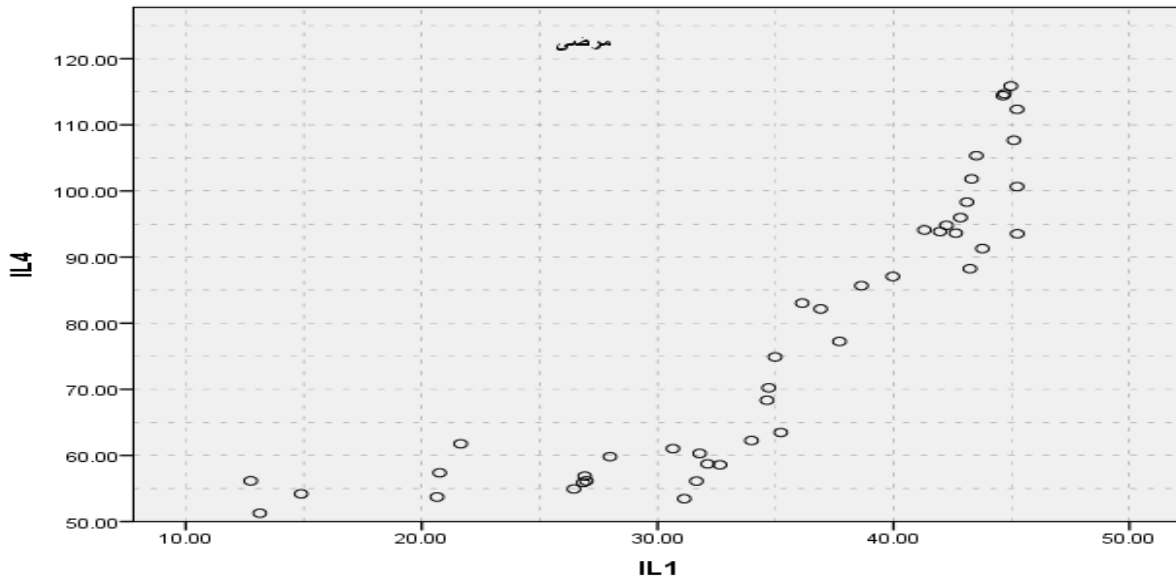
جدول (14-4) العلاقة بين الطرز الجينية والساييتوكين المناعي IFN-Y

الانحراف المعياري	الوسط الحسابي	الطرز الجيني	العينة
15	5.84±0.66	GG	اصحاء
7	6.61±0.40	GT	
0	000	TT	
	0.01	p.value	
10	11.05±1.57 A	GG	مرضى
30	13.72±0.91 B	GT	
3	11.02±0.78 A	TT	
	1.52	LSD	
العدد	p.value	الطرز الجيني	مرضى و اصحاء
25	0.00	GG	
37		GT	
3		TT	

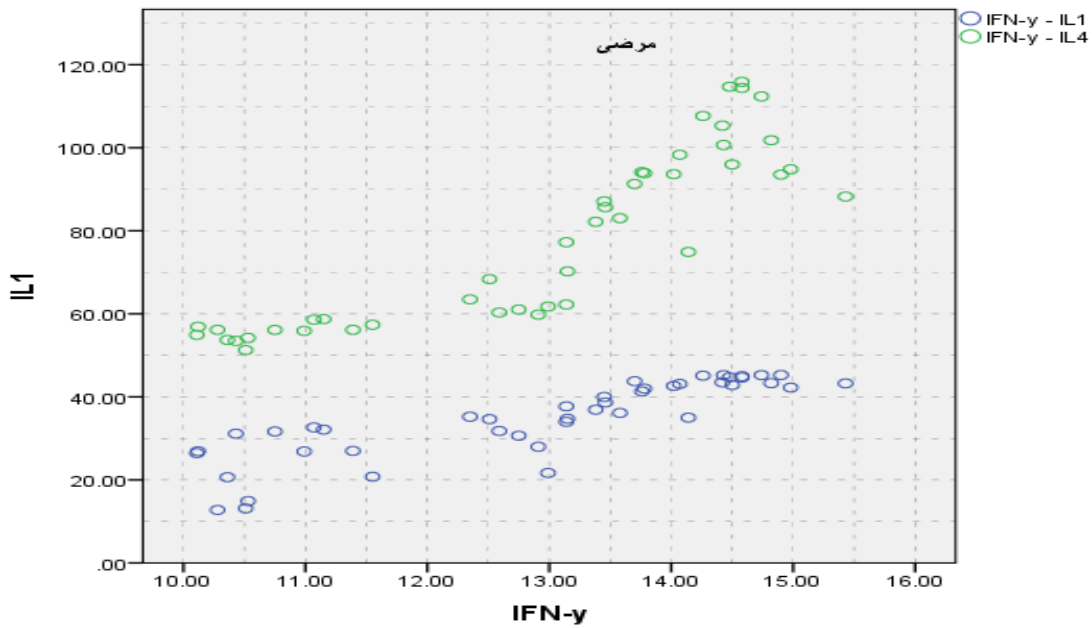
كما توصلت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود علاقة ارتباطية بين ارتفاع مستوى المؤشرات المناعية مع بعضها فقد لوحظ من خلال الجدول (4-15) إنه يتزامن ارتفاع وإنخفاض مستوى الساييتوكينات الإلتهابية مع بعضها وكذلك الساييتوكينات المثبطة للإلتهاب وكذلك لوحظ من الجدول ارتفاع مستوى IL-4 و IFN-y بالتزامن مع ارتفاع IL-1beta في عينات المرضى ، كما يلاحظ وجود ارتفاع غير طبيعي في مستوى الساييتوكينات الإلتهابية والساييتوكين المثبط للإلتهاب في عينات المرضى بالمقارنة مع مجموعة الأفراد الأصحاء .

جدول(15-4)العلاقات الارتباطية بين المؤشرات المناعية لدى المرضى والاصحاء

IFN-y	IL4	اصحاء
.561**	.870**	IL-1beta
.662**		IL4
IFN-y	IL4	مرضى
.854**	.913**	IL-1beta
.875**		IL4



شكل (1-4) العلاقة الارتباطية بين السيتوكين IL-4 و IL-1beta لدى مرضى RA



شكل (2-4) العلاقة الارتباطية بين السيتوكين IFN-gamma و IL-1beta لدى مرضى RA

أشارت دراسة الباحث Sydorochuk وآخرون (2017) بأن الاستجابة المناعية لمرضى التهاب المفاصل الرثياني تتميز بوجود علاقة ارتباطية بين تحفيز الخلية المساعدة الأولى Th1 وانخفاض فعالية الخلية المساعدة الثانية Th2 يصاحبها زيادة مفرطة في إنتاج الساييتوكينات الالتهابية الأولية Proinflammatory IL-1 و إنترفيرون كما INF- γ والساييتوكينات (IL-6, IL-18, IL-12) لدى حملة الطراز الجيني cc للجين eNOS مقابل مستوى منخفض للساييتوكين ضد الالتهابي للأنترلوكين IL-10 لدى حملة الطراز C وهذا ما يؤكد وجود عمليات التهابية حادة وفعالية مرتفعة للمناعة غير النوعية ضد الإصابة بالمرض ، وهذا ما يتفق مع الدراسة الحالية إذا ارتفعت مستويات الساييتوكينات IL-1 β وإنترفيرون كما INF- γ لدى حملة الطراز TT,GT. ولم تتفق نفس الدراسة السابقة مع الدراسة الحالية فيما يخص الساييتوكين IL-4 وذلك لأن الساييتوكينات IL-4، IL-10 مسؤولة عن تطور الاستجابة الخلطية من خلال تحفيز الخلية البائية B-lymphocyte وتحفيز الخلية البدنية Mast cell بتنشيط الاستجابة المناعية الخلوية من خلال خفض في فعالية الخلية البلعمية وتقليل من تمايز الخلية التائية T-lymphocyte وإنتاج الساييتوكينات (Radbruch and Lipsky, 2006).

ويمكن تفسير ما وجدته الدراسات بأنخفاض مستوى IL-4 وذلك نتيجة التحفيز التضادي الذي يحدث للأنترلوكين IL-4 بواسطة IL18, IL-12 والمسيطر عليه بالجين STAT4.

الفصل الخامس

الإستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

5- 1 الإستنتاجات:-

- 1- وجود علاقة بين الطراز الجيني GT للجين STAT4 والاصابة بمرض التهاب المفاصل الرثياني
- 2- إرتفاع المعايير المناعية إنترلوكين 1-بيتا وانترلوكين 4 وانترفيرون كما لدى النساء المصابات بالتهاب المفاصل الرثياني .
- 3- وجود علاقة بين الطرز الجينية وبعض عوامل الخطورة منها التدخين وداء السكري والعمر والوزن .

2-5 التوصيات :-

- 1- إستخدام تقنية الـ Real time (PCR) لدراسة التعبير الجيني لجين STAT4 وعلاقته بظهور مرض إلتهاب المفاصل الرثياني .
- 2- دراسة بعض الجينات ذات العلاقة ببعض المعايير المناعية المهمة التي لها علاقة بظهور المرض مثل *PTPN22, IL23R, TRAF1, CTLA4* .
- 3- إعتقاد الفحص الجزيئي في المستشفيات لغرض إعطاء تنبؤاً مستقبلياً لحدوث المرض .

المصادر العربية

السلمان ، قيصر عبد السجاد محمد حسين (2018). دراسة مناعية لبعض المركبات النانوية في الجرذان المصابة بالتهاب المفاصل وتحديد دورها المضاد للبكتريا. جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة. اطروحة دكتوراة

جاسم ، طيبة فارس هادي (2017). دراسة بكتريولوجية ومناعية وأنويمية لمرضى روماتزم المفاصل الروماتويدي. جامعة بغداد _ كلية تربية ابن الهيثم. رسالة ماجستير

حسن ، علاء جواد ؛ نعمة، أحمد سعد ؛ البياتي ، لبنى عبد العظيم (2012). تقدير تركيز الكلوبيولينات المناعية في مرضى التهاب المفاصل الرثوي، مجلة جامعة بابل، 3 (20) الصفحات 967-972.

الياسري ،إسراء ؛ المحنة ،علي ؛ الموسوي ،جعفر (2013). تقييم العوامل الوراثية في مرضى التهاب المفاصل الرثوي في العراق، المجله العراقيه ، العدد 2 ،

References

- AARDA, D. (2002). A Major Women's Health Issue. American Autoimmune Related Diseases Association Inc. USA. Internet Address:
- Alamanos, Y. and Drosos, A. (2005) . Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* ; 4 : 130 – 136.
- Albani, S.; Ravelli, A.; Massa, M.; De Benedetti, F.; Andree, G.; Roundier, J.; Martini, A. and Carson, D. A. (1994). Immune responses to the Escherichia coli dnaJ heat shock protein in Juvenile RA and their correlation with disease activity. *J. Pediatr.*, 124: 561.
- Aletaha, D. ; Neogi, T. ; Silman, A. J. ; Funovits, J.; Felson, D. T. ; Bingham III, C. O. and Hawker, G. (2010). rheumatoid arthritis classification criteria. *Arthritis and Rheumatism*; 62(9), 2569-2581.
- Aletaha, D.; Neogi, T.; Silman, A. J.; Funovits, J.; Felson, D. T.; Bingham, C. O. and Hawker, G. (2010). rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(9), 1580–1588.
- Allanore, Y.; Dieude ,P. and Boileau, C. (2010).Updating the genetics of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* Nov;22(6):665-70.
- Al-Herz, A., Al-Awadhi, A., Saleh, K., Al-Kandari, W., Hasan, E., Ghanem, A., ... Alsaber, A. (2016). A Comparison of Rheumatoid Arthritis Patients in Kuwait with Other Populations: Results from the KRRD Registry. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 14, 1–11.

- Adkar, P. P. ; Dongare,A.; Ambavade S. D, & Bhaskar, V. H. (2014). Effect of *Trapa bispinosa* on HDAC Level in Animal Tissues for its Anti-arthritic Activity. *Res. J. of Pha., Bio. and Chem.Sci.* ; 5 (4) : 1409 - 1412.
- Arnett, F. C.; Edworthy, S.M. and Bloch, D.A. (1988). The American Rheumatism Associatio, Revised criteria for the classification of Rheumatoid arthritis, *Arthritis and Rheumatism.*, 31: 315.
- Arnson, Y.; Shoenfeld, Y.; and Amital, H.(2010). Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun.*;34:J258–65.
- Avina-Zubieta, J.A.; Thomas ,J.; Sadatsafavi, M.; Lehman, A.J.and Lacaille, D.(2012) Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a metaanalysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*;71(9):1524–9.
- Barrera, P. ; Boerbooms, A. M. ; Demacker, P. N. ; Van de Putte, L. B. ; Gallati, H. and Van der Meer, J. W. (1994) . Circulating concentrations and production of cytokines and soluble receptors in rheumatoid arthritis patients:: effects of a single dose methotrexate. *Br.J.Rheumatol.*;33:1017-24.
- Beech, J.T.; Andreakos, E.; Ciesielski, C.J.; Green, P.; Foxwell, B.M. and Brennan, F.M. (2006) .T-cell contact-dependent regulation of CC and CXC chemokine production in monocytes through differential involvement of NFkappaB: implications for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*; 8:168-169.
- Bhole, V.M.; Choi, H.K.; Burns, L.C.; Vera Kellet, C.; Lacaille, D.V.and Gladman, D.D.(2012). Differences in body mass index among individuals with PsA, psoriasis, RA and the general population. *Rheumatology*. 51:552–6.

- Boers, M.; Dijkmans, B. and Gabriel S.(2012). Making an impact on mortality in rheumatoid arthritis: targeting cardiovascular comorbidity. *Arthritis & Rheumatism*;50: 1734-1739.
- Boissier , M . C . ; Assier, E. ; Falgarone, G. and Bessis, N. (2008). Shifting the imbalance from Th1 / Th2 to Th 17 / treg : the changing rheumatoid arthritis paradigm. *Joint, bone, spine . revue du rhumatisme* ; 75 : 373 - 375 .
- Borghet, A. V.; Raus J. G. and Stinissen, P. (2001). The Autoimmune Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Role of Auto reactive T Cells and New Immunotherapies. *Semin Arthritis Rheum.*,31: 160-175.
- Bossini-Castillo, L.; de Kovel, C.; Kallberg, H.; van't Slot, R.; Italiaander, A. and Coenen M, (2015). A genome-wide association study of rheumatoid arthritis without antibodies against citrullinated peptides. *Ann Rheum Dis.* 74:e15
- Brauchli, Y.B; Jick S.S. and Meier, C.R.(2008). Psoriasis and the risk of incident diabetes mellitus: a populationbased study. *The British Journal of Dermatology* .159:1331–1337.
- Brennan , P. ; and Silman, A. (1994). Breast-feeding and the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum.*; 37, 808 – 813.
- Buch, M. and Emery, P. (2002).The aetiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Hosp Pharmacist* ; 9: 5 – 9.
- Burchard E.G, Ziv E, Coyle N, Gomez SL, Tang H, Karter AJ, Mountain JL, Perez-Stable EJ, Sheppard D, Risch N.(2003) .The importance of race and ethnic background in biomedical research and clinical practice. *N Engl J Med.*;348:1170–1175. doi: 10.1056/NEJMs025007. [PubMed] [CrossRef]

- Cascão, R.; Rosário, H.S.; Souto-Carneiro, M.M. and Fonseca, J.E. (2010). Neutrophils in rheumatoid arthritis: more than simple final effectors. *Autoimmun Rev* .,9:531-5.
- Chakrabarti, S.K.; Wen, Y. and Dobrian, A.D. (2011). Evidence for activation of inflammatory lipoxygenase pathways in visceral adipose tissue of obese Zucker rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*;300:E175–E187.
- Chaolin, L.; Lujie, Z.; Wei, W.; Huafeng, L.; Xiaomei, M. and Shulin C. (2015). STAT4 rs7574865 polymorphism contributes to the risk of type 1 diabetes: a meta analysis *1Department of Endocrinology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University* 8(2):2471-2475.
- Chen, J., Li, J., Gao, H., Wang, C., Luo, J., Lv, Z., & Li, X. (2012). Comprehensive Evaluation of Different T-Helper Cell Subsets Differentiation and Function in Rheumatoid Arthritis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.
- Chervovsky, A. (2010). Influence of microbial environment on autoimmunity . *Nature Immun.*, 11:28-35.
- Choy, E. and Panayi, G. (2001). Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl. J. Med.*; 344 (12):907 – 916.
- Cofer, F. (2004). *Rhumatologie, connaissances et pratique*. Ed. Mason. .: 43-47.
- Copeman, W.S.C. (1964). *A Short History of Gout*. Berkeley and Los Angeles: University of California Press.
- Dechanet, J.; Briolay, J.; Rissoan, M.C.; Chomarat, P.; Galizzi, J.P. and Banchereau, J. (1993). IL-4 inhibits growth factor-stimulated rheumatoid synoviocyte proliferation by blocking the early phases of the cell cycle. *J Immunol* .151:4908–17.

- Deng, G. and Lenardo, M. (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discov Today Dis Mech.* 3: 163-167.
- Deane, K. D., Demoruelle, M. K., Kelmenson, L. B., Kuhn, K. A., Norris, J. M., & Holers, V. M. (2017). Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*, 31(1), 3–18.
- Dobkin, P. L. ; Filipiski, M. ; Looper, K. ; Schieir, O. and Baron, M. (2008). Identifying target areas of treatment for depressed early inflammatory arthritis patients. *Psychother. and psychosomat.*, 77, 298 – 305.
- Dubreuil, M.; Rho, Y.H.; Man, A.; Zhu, Y.; Zhang, Y. (2013). Diabetes incidence in psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a UK population-based cohort study. *Rheumatology* 53: 346–352.
- El-Saadany, A.; Khalil ; Rasha, A.; Gaber ,Samah, A. and Elshweikh.(2016). Association of STAT4 polymorphism with susceptibility and severity of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Egyptian patients ,Elsevier,38 : 21-27.
- Ernest, H. ; Choy, M. D. ; Gabriel, S. and Panayi , M. D.(2001). Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*; 344(12), 907 - 916.
- Firestein, G., & McInnes, I. B. (2017). Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, 46(2), 183–196.
- Eyre, S.; Bowes, J.; Diogo, D.; Lee, A.; Barton, A. and Martin, P. (2012). High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2012;44:1336–40.

- Frisell, T., Saevarsdottir, S., & Askling, J. (2016). Family history of rheumatoid arthritis: An old concept with new developments (Vol. 12).
- Fujii H, Shao L, Colmegna I, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomerase insufficiency in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:4360–4365.
- Gabriel, S. E. (2001). The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.*, 27: 269-81.
- Gloria , L. & David , B. (2011) . Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Elsev. . 22* : 189-195.
- Glosson-Byers, N. L., Sehra, S., & Kaplan, M. H. (2014). STAT4 is required for IL-23 responsiveness in Th17 memory cells and NKT cells. *JAK-STAT*, 3(3).
- Gonzalez-Gay, M.A.; Gonzalez-Juanatey, C.; Vazquez-Rodriguez, T.R.; Martin, J. and Llorca, J.(2008). Endothelial dysfunction, carotid intima-media thickness, and accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum . 38*:67-70.
- Goswami, R., & Kaplan, M. H. (2017). Chapter Four - STAT Transcription Factors in T Cell Control of Health and Disease. In L. Galluzzi (Ed.), *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 331, pp. 123–180). Academic Press.
- Gonzalez-Gay, M.A. ;Gonzalez-Juanatey, C.; Lopez-Diaz, M.J.; Piñeiro, A.; GarciaPorrua, C.; Miranda-Filloo, J.A.; Ollier, W.E.; Martin, J. and Llorca, J.(2007). HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum . 57*:125-132.
- Good, S.R.; Thieu, V.T.; Mathur, A.N.; et al. (2009). Temporal induction pattern of STAT4 target genes defines potential for Th1 lineage-specific programming. *J Immunol*;183:3839–3847.

- Gorman, C. L., and Cope, A. P. (2008). Immune-mediated pathways in chronic inflammatory arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, 22: 221-238.
- Harpsoe, M.C; Basit, S.; Andersson, M.; Nielsen, N.M.; Frisch, M.; Wohlfahrt, J.; Nohr, E.A.; Linneberg ,A. and Jess, T. (2014).Body mass index and risk of autoimmune diseases: a study within the Danish National Birth Cohort. *Int J Epidemiol.* 43:843–55
- Hashizume, M. and Mihara, M. (2011). The Roles of Interleukin-6 in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Hindawi Publishing Corporation Arthritis; Volume 2011, Article ID 765624: 1.
- He, S., Feng, P., Su, H., Yan, Z., & Zhu, X. (2017). Disrupted Th1/Th2 balance in patients with rheumatoid arthritis (RA) *Int J Clin Exp Pathol*;10(2):1233-1242.
- Hemminki, K.; Lorenzo Bermejo, J.; Forsti, A.(2006). The balance between heritable and environmental aetiology of human disease. *Nat Rev Genet* 7:958–65.
- Hemminki,L.; Xinjun, L.; Jan, S.; and Kristina, S.(2009).Familial Associations of Rheumatoid Arthritis With Autoimmune Diseases and Related Conditions . *American College of Rheumatology* Vol. 60, No. 3, : 661–668.
- Hendrik , S.K. and Lipsky, P.E. (2004). T Cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis *Int. J. Radiat. Biol.*; 76 (8) : 1143 – 1153.
- Hidalgo, E.(2010). T cells in Rheumatoid Arthritis. Ph. University of Birmingham.,1-169.
- Hueber ,W.; Dana,L. and Sandy,D.(2003). Autoantibodies in early arthritis :Advances in diagnosis and prognostication .*Clin Exp Rheumatol.*,21:59.
- Hyde, R. M. (2000). Autoimmune diseases. In: *Immunology* 4th edition. Lippincot William and Wilkins: 129.

- Iannaccone, C.K.; Lee, Y.C.; Cui, J.; Frits, M.L.; Glass, R.J.; Plenge R.M.; Solomon, D.H.; Weinblatt, M.E. and Shadick, N.A.(2011). Using genetic and clinical data to understand response to disease-modifying anti-rheumatic drug therapy: data from the Brigham and Women's Hospital Rheumatoid Arthritis Sequential Study. *Rheumatology Oxford*. 50(1):40–6.
- J.H.U (2004). Diagnostic and Therapeutic Guidelines. Johns Hopkins University on Behalf of Its Division of Rheumatology.
- Jassim, N.A. (2015). Validity of the Ratio of Serum Concentration of Interleukin 6 to Transforming Growth Factor-Beta1 in a Sample of Patients With Rheumatoid Arthritis. *Postgrad Med J.*, 14(2):269-301.
- Khan, M.A.; Mathieu, A.; Sorrentino, R.; Akkoc, N.(2007).The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes. *Autoimmun* 6(3):183-9.
- Kinne, R. W.; Stuhlmuller, B. and Burmester, G. R. (2007). Cells of the synovium in rheumatoid arthritis Macrophages. *Arthritis Res There.*, 9: 1-16.
- Kiyohara, C., Washio, M., Horiuchi, T., Tada, Y., Asami, T., Ide, S., ... Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group. (2009). Cigarette smoking, STAT4 and TNFRSF1B polymorphisms, and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *The Journal of Rheumatology*, 36(10), 2195–2203.
- Klareskog , L.; Stolt, P. ; Lundberg, K. ; Kallberg, H. Bengtsson, C. and Grunewald, J.(2006). A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR(shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arth. and Rheuma.*;54(1):38-46.

- Korman, B.D.; Kastner, D.L.; Gregersen, P.K.; Remmers, E.F.(2008). STAT4: Genetics, mechanisms, and implications for autoimmunity. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 8, 398–403. .
- Laria, A., Lurati, A., Marrazza, M., Mazzocchi, D., Re, K. A., & Scarpellini, M. (2016). The macrophages in rheumatic diseases. *Journal of Inflammation Research*, 9, 1–11.
- Lee, HS.; Remmers, EF.; Le, JM.. Kastner, DL.; Bae, SC. and Gregersen, PK.(2007). Association of STAT4 with rheumatoid arthritis in the Korean population. 13:455–60.
- Lee, P. W., Smith, A. J., Yang, Y., Selhorst, A. J., Liu, Y., Racke, M. K., & Lovett-Racke, A. E. (2017). IL-23R-activated STAT3/STAT4 is essential for Th1/Th17-mediated CNS autoimmunity. *JCI Insight*, 2(17).
- Liao, K.P.; Alfredsson, L. and Karlson, E.W. (2009). Environmental infection on risk for rheumatoid arthritis *Curr Opin Rheumatol.*, 21(3): 279-283.
- Ljung, L., & Rantapää-Dahlqvist, S. (2016). Abdominal obesity, gender and the risk of rheumatoid arthritis – a nested case–control study. *Arthritis Research & Therapy*, 18(1), 277.
- Lopez-Castejon, G., & Brough, D. (2011). Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 22(4), 189–195.
- Lu, B.; Hiraki, L.T.; Sparks, J.A.; Malspeis, S.; Chen, C.Y.; Awosogba, J.A.; Arkema, E.V.; Costenbader, K.H. and Karlson, E.W.(2014). Being overweight or obese and risk of developing rheumatoid arthritis among women: a prospective cohort study.*Ann Rheum Dis.* 73:1914–22.
- Lundy, S. K. ; Sarkar, S. ; Tesmer, L. A. and Fox, D. A. (2007). Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. T lymphocytes. *Arthritis Res Ther*; 9: 202 -210.

- MacGregor, A. J.; Snieder, H.; Rigby, A. S.; Koskenvuo, M.; Kaprio, J.; Aho, K.; et al. (2000). Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum.*, 43: 30-37.
- Majithia, V. and Geraci, S.A. (2007). "Rheumatoid arthritis: diagnosis and management". *Am. J. Med.* **120** (11): 936.
- Malaviyx, A.; Kapoor, S. Singh, R.; Kumar, A and Pande, L.(1993). Rheumatoid arthritis survey in the India. *Rheumatoid int.*, 13:131-134.
- Manavathongchai, S.; Bian, A.; Rho, Y.H.; Oeser, A.; Solus, J.F.; Gebretsadik, T. ; Shintani, A. and Stein, C.M.(2013). Inflammation and hypertension in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.*;40(11):1806–11
- Mancuso, C.A.; Rincon, M.; Sayles, W. and Paget, S.A. (2007). Comparison of energy expenditure from lifestyle physical activities between patients with rheumatoid arthritis and healthy controls. *Arthritis Rheum* 57: 672–678.
- Martínez,A.; Varadé, J. ; Márquez,A. ; Cénit, M. C.; Espino, L.; Perdignes, N.; Santiago, J. L.; Fernández-Arquero, M. ; de la Calle, H; Arroyo,. R.; Mendoza, J. L.; Fernández-Gutiérrez, B.; de la Concha E. G., and Urcelay,E.(2008).Urcelay1 Association of the *STAT4* Gene With Increased Susceptibility for Some Immune-Mediated Diseases *American College of Rheumatology* Vol. 58, No. 9, September, : 2598–2602.
- Mathur, A.N.; Chang, H.C.; Zisoulis, D.G.; Stritesky, G.L.; Yu, Q.; O'Malley, J.T.; Kapur, R.; Levy, D.E.; Kansas, G.S.and Kaplan, M.H. (2007). Stat3 and Stat4 direct development of IL-17-secreting Th cells. *J. Immunol.*, 178, 4901–4907.

- Mellwain, H. and Bruce, M.D.(2007) A Diet for a Pain-Free Life, Marlowe.
- Mease, P.J. ; Revicki, D.A.; Szechinski, J. ; Greenwald, M. ; Kivitz, A. & Barile-Fabris, L. (2008). Improved health-related quality of life for patients with active rheumatoid arthritis receiving rituximab:results of the Dose-Ranging Assessment: International Clinical Evaluation of Rituximab in rheumatoid arthritis(DANCER) trial. *J Rheumatol* ; 35 : 20 - 30.
- Meron, M.K.; Amital, H.; Shepshelovich, D.; Barzilai. O.; Ram, M.and Anaya, J.M. (2009). Infectious aspects and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol* Jul 4 [Epub ahead of print].
- Mohsen, I. H. and AL Dujaily, A. N.(2011). Effect of arithritis on som blood biochemical criteria in women in Najaf governorate. *Magazine of Al-Kufa University for Biology* ; 3 (2) : 200-212.
- Moura R.A.; Weinmann P.; Pereira P.A.; Caetano-Lopes J.; Canhão H.; Sousa E.; Mourão A.F.; Rodrigues A.M.; Queiroz M.V.; Souto-Carneiro M.M.; Graça L. and Fonseca J.E. (2010). Alterations on peripheral blood B-cell subpopulations in very early arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)*;49:1082-1092.
- Muhammed, N. Z.; Hassan, J .H. and Mubder, A. M.S. (2014). The Clinical Significance of Interleukin-15 and Interleukin -17 in Patients with Rheumatoid Arthritis . *Postgrad Med J .*, 13(4).
- Nielen, M.M.; van Schaardenburg, D. and Reesink, H.W. (2004). Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum*;50:380_6.
- Nielen, M. M. J. and Nispen, G. R. (2009). Preclinical Rheumatoid Arthritis. Printed by Ponsen and Looijen, Wageningen, the Netherlands.Chapter one. Printed by Ponsen and Looijen, Wageningen, the Netherlands. ISBN.,97-890-6592-814.

- Okada, Y.; Wu, D.; Trynka, G.; Raj, T.; Terao, C.; Ikari, K., et al (2014). Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*;506:376–81
- Orman, M.A.; Nguyen, T.T.; Ierapetritou, M.G.; Berthiaume, F. and Androulakis, L.P.(2011). Comparison of the Cytokine and Chemokine Dynamics of the Early Inflammatory Response in Models of Burn Injury and Infection. *J. Cyto.*, 55(3): 362–371.
- Padyukov, L.; Silva, C.; Stolt, P.; Alfredsson, L. and Klareskog, L. A. (2004). gene–environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*;50:3085–92.
- Panayi, G. S. (2005). B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis?. *Rheumatology.*, 44(2): 3–7
- Pavlovic, V.; Dimic, A.; Milenkovic, S. and Krtinic, D.(2014). Serum levels of IL-17, IL-4, and INF in Serbian patients with early rheumatoid arthritis. *J Res Med Sci*;19:18-22.
- Pillinger, M. H.; Burg, N. D. and Abramson, S. B. (2004). Neutrophils and Small Molecule Mediators. Pp. 161-173. In: William E. C., David, P. S., Barton, H. F. *Rheumatoid Arthritis*. Ed Front of Book.
- Prahalad, S.; Shear, E.S.; Thompson, S.D.; Giannini, E.H. and Glass, D.N.(2002). Increased prevalence of familial autoimmunity in simplex and multiplex families with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*;46:1851–6.
- Prince, F. H. (2012). Sustained rheumatoid arthritis remission is uncommon in clinical practice. *Arthritis Research & Therapy* 14(2) :68-70.
- Puent, X. S.; Sanchez, L. M.; Overall, C. M. and Lopez - Otin, C. (2003). Human and mouse proteases: A comparative genomic approach. *Nat. Rev. Genet.*; 4 (7), 544 – 558.

- Qin, B., Yang, M., Fu, H., Ma, N., Wei, T., Tang, Q. and Zhong, R. (2015). Body mass index and the risk of rheumatoid arthritis: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Arthritis research & therapy*, 17(1), 86.
- Radbruch, A., and Lipsky, P.E. (Eds).(2006). *Current Concept in Autoimmunity and Chronic inflammation*. Springer,: 282.
- Radstake, T.R.; Gorlova, O.; Rueda, B.; Martin, J.E.; Alizadeh, B.Z.; Palomino-Morales, R.; Coenen, M.J.; Vonk, M.C.; Voskuyl, A.E.; Schuerwegh, A.J.; Broen, J.C.; van Riel, P.L.; van 't Slot, R.; Italiaander, A.; Ophoff, R.A.; Riemekasten, G.,; Arnett FC and Martin J (2010). Mayes MD. Genome-wide association study of systemicsclerosis identifies CD247 as a new susceptibility locus. *Nat Genet*. 2010 May;42(5):426-9. doi:10.1038/ng.565.
- Raymondje, M. (2007). Les mécanismes d'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires* ., 21-28.
- Remmers, E.F.; Plenge, R.M.; Lee, A.T.; Graham, R.R., Hom, G.; Behrens, T.W. et al.(2007) STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*;357:977.
- Remmers,R. Robert M. Plenge, Annette T. Lee., Robert R. Graham., Geoffrey Hom.,, Timothy W.Behrens., et al. .(2009). Gregersen STAT4 and the Risk of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus. *Public Access Policies*,.357(10). 977-986.

- Robert, S. ; Gicquel, T. ; Bodin, A. ; Lagente, V. and Boichot, E. (2016). Characterization of the MMP/TIMP Imbalance and Collagen Production Induced by IL-1 β or TNF- α Release from Human Hepatic Stellate Cells. *PLoS ONE* ; 11(4):1-14.
- Rodriguez, L.A.; Tolosa, L.B.; Ruigomez, A.; Johansson, S. and Wallander, M.A.(2009) Rheumatoid arthritis in UK primary care: incidence and prior morbidity. *Scand J Rheumatol*;38:173–7.
- Rothschild, B.M.; Rothschild, C. and Helbling, M.(2003):" Unified theory of the origin of erosive arthritis: conditioning as a protective\ directing mechanism?". *J. Rheumatol*.30(10):2095-2102.
- Salt, E. and Peden, A. (2011). The complexity of the treatment: The decision-making process among women with rheumatoid arthritis. *Qualitative Health Research*, 21(2), 214-222.
- Sambrook,J. ; Fritsch,E.F.; and Maniatis,T. (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual* . 2nd edition, Cold spring harbor laboratory press,cold spring Harbor, New York.
- Sanmartí and Esquide (2012)., Tobacco and Other Environmental Risk Factors in Rheumatoid Arthritis_ *Reumatol Clin.*;8(6);:342–350.
- Saghafi M, Nohesara N, Rafatpanah H, Shariati J, Shakeri MT(2014)., HLA-DRB1 frequency in patients with familial and sporadic rheumatoid arthritis in north east of Iran. *Clin Rheumatol.*;33(10):1397-402.
- Schulze-koops, H. and Kalden, J.R. (2001). The balance T1/T2 cell in rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, 15: 677- 691.
- Scott, D. L. ; Smith, C. and Kingsley, G. (2005). What are the consequences of early rheumatoid arthritis for the individual?. *Best practice & research*;19(1):117-36.

- Settin, A., Salama, A., & Elshazli, R. (2014). Signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) G>T gene polymorphism in Egyptian cases with rheumatoid arthritis. *Human Immunology*, 75(8), 863–866
- Shen ,L.; Liu, R.; Zhang, H.; Huang ,Y.; Sun ,R. and Tang, P. (2013). Replication study of STAT4 rs7574865G/T polymorphism and risk of rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Gene* 526(2):259– 264.
- Shahmarvand, N., Nagy, A., Shahryari, J., & Ohgami, R. S. (2018). Mutations in the signal transducer and activator of transcription family of genes in cancer. *Cancer Science*, 109(4), 926–933.
- Silman, A. J and Pearson, J. E. (2002). Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.*, 4 (3): S2-65.
- Silman, A.J. and Pearson, J.E. (2002). Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 4 (3) 265-272
- Skapenko, A.; Leipe, J.; Lipsky, P.E. and Schulze-Koops, H. (2005). The role of the T cell in autoimmune inflammation ., 7: 4-14.
- Smolen, J.S.; Landewe; Bijlsma, R. & Bijlsma,J.(2017). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis.*;0:1–18.
- Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *Lancet* (London, England), 388(10055), 2023–2038.
- Solomon, D.H.; Karlson ,E.W.; Rimm, E.B. et al.(2003). Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation*;107:1303–1307.
- Soon, Lee,;Elaine, F.; Remmers; Julie, M. Le.; Daniel, L.; Kastner, ;Sang-Cheol Bae, and Peter, K.(2007). Gregersen, Association of STAT4 with Rheumatoid Arthritis in the Korean Population ,Manhasset, New York,.

- Steinman, L. A. (2007). Brief history of TH17, the first major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* ; 13: 139-145.
- Storey, G. D. ; (2009). Alfred Baring Garrod (1819-1907). *Rheumatology (Oxford)*; 40:1189-1191.
- Stocchi, V., Wang, T., Randelli, E., Mazzini, M., Gerdol, M., Pallavicini, A., ... Buonocore, F. (2017). Evolution of Th2 responses: characterization of IL-4/13 in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and studies of expression and biological activity. *Scientific Reports*, 7.
- Svenungsson, E., Gustafsson, J., Leonard, D., Sandling, J., Gunnarsson, I., Nordmark, G., ... Rönnblom, L. (2010). A STAT4 risk allele is associated with ischaemic cerebrovascular events and anti-phospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(5), 834–840.
- Swardfager, W; Lanctôt, K; Rothenburg, L; Wong, A; Cappell, J; and Herrmann, N. (2010). A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.*, 68(10): 930–941.
- Sydorchuk, L., Bukach, O., Fediv, O., Andrii, S., Anatoliivna Petrynych, O., Vasilyvna Kazantceva, T., ... Vasilevich Boyko, V. (2017). Cytokines cascade changes in patients with rheumatoid arthritis depending on endothelial NO - synthase (T -786 C) genes polymorphism. *Archives of the Balkan Medical Union*, 52, 32–38.
- Symmons, D. and Harrison, B. (2000). Early inflammatory polyarthritis: results from the norfolk arthritis register with a review of the literature. I. Risk factors for the development of inflammatory polyarthritis and rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 39(8): 835.
- Takeuchi, O. and Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*; 140(6):805 -820.

- Talaat, R.M.; Mohamed, S.F.; Bassyouni, I.H. and Raouf, A.A. (2015). Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: correlation with disease activity. *Cytokine.*, 72(2): 146-153.
- Tassi, S. ; Carta, S. ; Delfino, L. ; Caorsi, R. ; Martini, A. and Gattorno, M. (2010). Altered redox state of monocytes from cryopyrin-associated periodic syndromes causes accelerated IL-1beta secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 107(21): 9789-94
- Tehlirian, C.V. and Bathon, J.M . (2008). Rheumatoid Arthritis: Clinical and Laboratory Manifestations. In: Stone J, Crofford LJ , White PH (eds.). *Primer on the Rheumatic Diseases*. 13th ed. USA, springer science:114-21.
- Thiyagarajan, V.; P. Muthusamy, N.;Jayshree, R. & Vijaya, B.(2015). Evaluation of Anti-arthritic potential of Adansonia digitata seed extract. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*; 2(4): 548-554.
- Tobón, G. J. T.; Pierre, Y. and Alain, S. (2009). The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.*, 9(5):1-5.
- Toubi, E.; Kessel, A.; Slobodin, G.; Boulman, N.; Pavlotzky, E.; Zisman, D.; Rozenbaum, M. and Rosner, I. (2007). Changes in macrophage function after rituximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*;66:818-20.
- Treharne, G.J.; Lyons, A.C.; Booth, D.A. and Kitas, G.D. (2007). Psychological well-being across 1 year with rheumatoid arthritis: Coping resources as buffers of perceived stress. *British Journal of Health Psychology*, 12(3),

- Uhlig, T.; Hagen, K.B. and Kvien ,T.K.(1999). Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.*;26:47–54.
- Visconti, R.; Gadina, M.; Chiariello, M.; Chen, E.H.; Stancato ,L.F.; Gutkind J.S. and O’Shea, J.J.(2000). Importance of the MKK6/p38 pathways for interleukin-12-induced STAT4 serine phosphorylation and transcriptional activity. *Blood*;96:1844.
- Watanabe, Y, and Jacob, C.O. (1991). Regulation of MHC class II antigen expression. Opposing effects of tumor necrosis factor-alpha on IFN-gamma-induced HLA-DR and Ia expression depends on the maturation and differentiation stage of the cell. *J. Immunol .*, 146: 899-905.
- Wesley, A.; Bengtsson, C.; Elkan, A.C.; Klareskog, L.; Alfredsson, L.;Wedren S. et al(2013). Association between body mass index and anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis: results from a population-based case-control study. *Arthritis Care Res.*;65:107–12.
- Wordsworth, P. and Bell, J.(1991). Polygenic susceptibility in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*;50:343–6.
- Worthington, J.(2005) Investigating the genetic basis of susceptibility to rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*;25:16–20.
- Yang, W.-C., Hwang, Y.-S., Chen, Y.-Y., Liu, C.-L., Shen, C.-N., Hong, W.-H., ... Shen, C.-R. (2017). Interleukin-4 Supports the Suppressive Immune Responses Elicited by Regulatory T Cells. *Frontiers in Immunology*, 8.
- Yüksel, B., Ataman, Ş., Evcik, D., Ay, S., Mumcuoğlu, M., & Erdoğan, B. (2014). Is There An Association Between Two-STAT4 Gene Polymorphisms and Rheumatoid Arthritis in Turkish Population? *Archives of Rheumatology*, 29(1), 020–027.

- Yin, J., He, D., Jiang, L., Cheng, F., Guo, Q., Huang, S., ... Xu, H. (2017). Influence of Cigarette Smoking on Rheumatoid Arthritis Risk in the Han Chinese Population. *Frontiers in Medicine*, 4.
- Zervou, M.I.; Mamoulakis, D.; Panierakis, C.; Boumpas, D.T. ;Goulielmos G.N.(2008). STAT4: a risk factor for type 1 diabetes? *Hum Immunol*;69(10):647–50.
- Zegkos, T., Kitas, G., & Dimitroulas, T. (2016). Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: assessment, management and next steps. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 8(3), 86–101.
- Zhou, T.B.; Jiang, Z.P. ;Qin, Y.H. and Zhou, J.F.(2014). Retracted Association of STAT4 gene polymorphism with systemic lupus erythematosus/ lupus nephritis risk. *Nephrology (Carlton)* .

الملاحق Appendixes

ملحق (1) استمارة معلومات السيرة المرضية لعينات الدراسة

<input type="checkbox"/>	ادرار	<input type="checkbox"/>	نوع العينة : دم
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	تسلسل المريض
			التأريخ: / / 2017
			أسم المريض:
			العمر: ()
<input type="checkbox"/>	أنثى	<input type="checkbox"/>	الجنس: ذكر
<input type="checkbox"/>	لا يوجد	<input type="checkbox"/>	التاريخ العائلي: يوجد
			الوزن:
<input type="checkbox"/>	مدن	<input type="checkbox"/>	مكان السكن : ريف
<input type="checkbox"/>	لا	<input type="checkbox"/>	الاصابة بالضغط : نعم
<input type="checkbox"/>	لا	<input type="checkbox"/>	الاصابة بالسكري : نعم

جمهورية العراق

Holy Karbala governarate
Karbala Health Directorate

محافظة كربلاء المقدسة
دائرة صحة كربلاء المقدسة
مكتب المدير العام
مركز التدريب والتنمية البشرية
وحدة البحوث

العدد: ٢١٩٩
التاريخ: ٢٠١٧/١١/٢٦

الى/ جامعة كربلاء /كلية التربية للعلوم الصرفة

الموضوع/تسهيل مهمة

السلام عليكم...

كتابكم ذي العدد ٢٧٣٤ في ٢٠١٧/١١/١٣.

لامانع لدينا من تسهيل مهمة طالبة الماجستير (هدى صباح شهاب الدين) لانجاز بحثها الموسوم :

(دراسة جزئية ومناعية لمرضى التهاب المفاصل الرثوي في محافظة كربلاء)

في مؤسساتنا الصحية/مدينة الامام الحسين(ع) الطبية باشراف الدكتور(محمد صالح مهدي)
للاشراف العملي على البحث اعلاه ٠٠ على ان لا تتحمل دائرتنا أي نفقات مادية ٠٠ مع
الاحترام

الطبيب الاختصاص
معتصم غازي حسون المحنا
معاون المدير العام

٢٠١٧/١١/٢٦

نسخة منه الى:

- مدينة الامام الحسين(ع) الطبية/ كتابكم ذي العدد ٧٢٢١ في ٢٠١٧/١١/١٦ لاجراء اللازم مع الاحترام.
- مركز التدريب والتنمية البشرية - مع الاوليات.

اسراء/طالب

Republic of Iraq
Ministry Of Higher Education and
Scientific Research
College of Science – University of Kerbala
Division of Postgraduate studies



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء - كلية العلوم
شعبة الدراسات العليا



Issue No :

Date :

العدد: 98
التاريخ: 2017/11/26

إلى / قسم علوم الحياة
م / تسهيل مهمة

نهديكم أطيب التحيات ...

نرفق لكم طياً كتاب جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة / شعبة الدراسات العليا ، ذي العدد د.ع/ 14 / 2934 في 2017/11/26 ، للتفضل بالإطلاع .

... مع التقدير ...

أ.م.د. ابتسام عباس ناصر
معاون العميد للشؤون العلمية والدراسات العليا
2017/11/26

نسخة منه إلى :

- مكتب السيد معاون العميد للشؤون العلمية .. مع التقدير ..
- الدراسات العليا .

طباعة : هدى حميد 2017/11/26

م.م. سعد ياسر
مسؤول شعبة الدراسات العليا
E-mail : science@uokerbala.edu.iq

العنوان : العراق - محافظة كربلاء المقدسة - المدينة الجامعية - كلية العلوم ص.ب. 1125

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Karbala
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology



Molecular and Immunological study of women with rheumatoid arthritis in karbala province

By

Huda Sabah Shehab Aldeen Ahmed

B. Sc. /2009

A Thesis submitted to the College of Education Pure Science
of Karbala University as a partial fulfillment of the
requirements for master of Philosophy in Biology-Zoology

Supervised By

Assist professor Dr.yasmine khudair kalaf

1440 A.H

february 2019.A.D

Summary

The current study included the collection of (44) an a blood samples from patients with rheumatoid arthritis and non-treated from female and 22 blood samples of healthy people from Karbala governorate and the patients of the Imam Hussein Medical Hospital in the consulting clinic for the patients of the joints of females with ages ranging from (20-60) years and from January 2018 to May 2018, where patients were diagnosed by the consultant doctors at Imam Hussein Medical Hospital.

The study included two aspects that included the first aspect of the molecular study by the technique of the interact PCR (Polymerase Chain Reaction) that we has release the percentage of gene in patients samples was 98% and the healthy samples 100%, The molecular description which by using the PCR technique for the gene that include in study and its name is (Single transducer and activator of transcription4) STAT4 in patients with rheumatoid arthritis , and also user another technique for the molecular description and its also depend on technique of (PCR) that name is RFLP(Restriction fragment length polymorphism) to know the polymorphism for the gene STAT4. Three genotypes were identified GG and GT genotype and the TT genotype in patients with rheumatoid arthritis and the healthy group. The percentage of GT genotype it's the upper most in patients and the next type GG and the TT was the lowest genotype the in rheumatoid arthritis patients, The study also revealed that age and weight gain were associated with an increase in the incidence of the disease, as well as a higher incidence of the disease in patients with a previous family history of infection and increased incidence of the disease in smokers and increased the incidence of disease in patients with diabetes The study reported a high incidence of high blood pressure in patients

with rheumatoid arthritis. The immunological study included measuring the level of three cytokines, interleukin-1 beta, interleukin 4 and interferon gamma.

The Immunological study Apparently The results of the immunological tests is being high in focus standard the immunoglobulin cytokine IL-4 high morally ($P \leq 0.05$) to the people who was casualty with RA compare with healthy group.

The immunological tests is being release a high concentricity standard the intraleukin-1 beta and IFN- γ high morally ($P \leq 0.05$) for the people who was sick with RA compare with healthy group.

The study also found that there is a correlation between genotype of the STAT4 and some immunological parameters, noting that the level of the interleukin 4-type cytokine in the group GT high compared to the TT and GG. The high level of 1-beta and IFN- γ cytokine was observed in the GT-group compared with the rest of the genotype.