جـــــــامعــــــة كـــــربـــــــلاء

كليــة العلــوم

قســم علـوم الحيـاة

اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 (590 C/T-) وعلاقتة بالفشل الكلوي وعدوى المسالك البولية البكتيرية

رسالة

مقدمة الى مجلس كلية العلوم/جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

ضرغام والي غالي الهلالي

بإشــــــــــــــراف

ا.د وفاء صادق محسن الوزني ا.م.د محمد عبد الوهاب العسكري

2022 م 1444 هـ

﴿ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ
وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۚ
وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ۞ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة الآية (١١)

إقرار المشرف

إقرار المشرفين على الرسالة

نشهد أنّ إعداد هذه الرسالة الموسومة: (إرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 (-590 C/T) وعلاقتة بالفشل الكلوي وعدوى المسالك البولية البكتيرية) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة كربلاء ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

التوقيـع:

الاســم: : د. وفاء صادق محسن الوزني

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريــخ : 15 / 8 / 2022

التوقيـع:

الاســم: د. محمد عبد الوهاب العسكري

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريــخ : 16 / 8 / 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على توصيات المشرفين ، أرشح هذه الرسالة للمناقشة .

التوقيــع :

الاســم : د . خالد علي حسين

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنــوان : رئيس قسم علوم الحياة

التاريــخ : 18 / 8 / 2022

(إقرار لجنة المناقشة)

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه ، نشهد بأننا قد أطلعنا على الرسالة الموسومة (**ارتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 (C/T 590-) وعلاقتة بالفشل الكلوي وعدوى المسالك البولية البكتيرية**) المقدمة من قبل الطالب (**ضرغام والي غالي الهلالي**) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة وبعد إجراء المناقشة العلمية وجد أنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقديـــر (**أمتيـــاز**).

رئيس لجنة المناقشة
التوقيع :
الأسـم : د. ايفاد كريم عبد
المرتبة العلمية : أستـاذ
العنوان : جامعة بابل / كلية الطب
التاريخ : / / 2022

عضو اللجنة
التوقيع :
الأسـم : د. علي عطية عبد
المرتبة العلمية : أستـاذ مساعد
العنوان : جامعة كربلاء /كلية العلوم
التاريخ : 2022 / ١٠/٢٤

عضو اللجنة
التوقيع :
الأسـم : د. سوسن محمد كريم
المرتبة العلمية : أستـاذ مساعد
العنوان: الجامعة المستنصرية/ كلية العلوم
التاريخ : ٢٠٢٢ / ١٠ / ٢٥

عضواً ومشرفاً
التوقيع :
الأسـم : د. وفاء صادق محسن
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم
التاريخ : 2022 / ١٠ / ٢٦

عضواً ومشرفاً
التوقيع:
الأسم : محمد عبد الوهاب عاتي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان: جامعة القادسية/كلية التقانات الاحيائية
التاريخ ٢٠٢٢ / ١٠ /٢٧

مصادقة عمادة كلية للعلوم / جامعة كربلاء
أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه :
التوقيع :
الاســم : د. جاسم حنون هاشم العوادي
المرتبة العلمية : أستـاذ مساعد
العنوان : عميد كلية العلوم
التاريخ : 2022 / ١١ / ١٣

الإهـــــــــداء

إلى أول من يستحق الإهداء ، الى من افتخر بها رمز السمو والعطاء ،

مشرفتي الفاضلة الدكتورة وفاء صادق محسن الوزني .

إلى صاحب القلب الكبير، والعلم الوفير، **أستاذي ومشرفي الفاضل**

الدكتور محمد عبد الوهاب العسكري .

إلى من كللهُ الله بالهيبة والوقار، ومن أحمل اسمه بكل افتخار ،

والدي العزيز .

إلى من تحت قدمها تكمن الجنة ، إلى معنى الحب و معنى الحنان والتفاني ،

أمي الحبيبة .

إلى من رافقوني في السرّاء والضرّاء ، وبهم استمدُّ القوة والعزيمة ،

أخوتي و أ خواتي .

إلى من جعل ربي بيني وبينها مودة ورحمة ، إلى أسمى رموز الإخلاص والوفاء ،
زوجتي الحبيبة .

إلى زينتي في الحياة الدنيا ، و قرة عيني ، ومن أرى التفاؤل بعينه والسعادة في ضحكته ،

ابني (ذو الفقار) .

إلى كل من علمني حرفًا، فملكني عبدًا، أساتيذتي الأفاضل في قسم علوم الحياة .

إلى الشهداء الأبرار ، والجرحى الميامين ، والابطال الصامدين على سواتر الشرف.

إلى كل الأصدقاء والزملاء ، وكل من لم يدخر جهدًا في مساعدتي .

أهدي جهدي هذا

الباحث ضرغام

التشكرات

الحمد لله أقصى مبلغ الحمد ، والشكر لله من قَبل ومِن بَعد.

أماّ بعد فالحمد لله تعالى على ما وفقنا له ، وأهدى لنا كوكبة من أصحاب العقول النيرة والنفوس الطيبة الذين بذلوا جهدًا كبيرًا في مساعدتنا ودعمنا علميًا ومعنويًا.

أتقدم أولاً بوافر الشكر والتقدير الى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتهم لي الفرصة بأكمال دراستي .

أتقدم بوافرالشكر والتقديرالى أستاذتي ومشرفتي الفاضلة الأستاذ الدكتورة **(وفاء صادق محسن الوزني)** المحترمة لتفضلها بالإشراف على هذه الرسالة واقتراحها موضوع البحث ومتابعتها المستمرة وتقديمها الأفكار والنصائح العلمية طيلة مدة البحث التي كان لها أكبر الأثر في إتمام هذا البحث وإخراجه بهذه الصورة ، فجزاها الله عني خير الجزاء ومتعها بوافر الصحة والعافية.

ولا يسعني إلا أن أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان الجميل وفائق الاحترام والامتنان إلى أستاذي الفاضل ومشرفي الثاني الأستاذ المساعد الدكتور **(محمد عبد الوهاب العسكري)** المحترم لتفضله قبول الإشراف على الرسالة وعلى توجيهاته العلمية الرصينة وملحوظاتة الدقيقة وعنايته ورعايته المستمرة لاتمام البحث أسأل الله أن يمده بالصحة والعافية إنه سميع مجيب.

ولابد أن أشير بالشكر والعرفان الجميل إلى الطبيب الاستشاري في مدينة الامام الحسين(ع) الطبية التعليمية في محافظة كربلاء المقدسة والمشرف العلمي للبحث الطبيب الاستشاري اختصاص دقيق أمراض وزرع الكلى الدكتور **(محمد مقدر مكي وادي الكريطي)** كما الشكر موصول للطبيب الاستشاري اختصاص دقيق امراض وزراعة الكلى والامراض الباطنية في مستشفى الديوانية التعليمي الدكتور**(مظفر محمد السعدي)** ، كما أتقدم بالشكر الجزيل للمرضى والاصحاء لتعاونهم معي في جمع العينات متمنياً لهم دوام الصحة والعافية والى كل العاملين في شعبة المختبرات/ وحدة الأحياء المجهرية ووحدة الكلى الصناعية لمساعدتهم في جمع العينات السريرية .

امتناني وشكري لعائلتي لتشجيعهم لي ودعمهم وصبرهم طوال مدة الدراسة.

كما أتوجه بخالص الشكر لكل أصدقائي وزملائي ، وإلى كل من فاتني أن أذكر اسمه ، وأرجو قبول العذر منهم فلهم مني جزيل الامتنان والتقدير والشكر الجزيل وجزاكم الله عني خيرًا.

الباحث

الخُـلاصـــة

تضمنت هذه الدراسة جمع (180) عينة سريرية من الدم والادرار من ثلاث مجاميع من المرضى ، فضلاً عن مجموعة السيطرة ، تم تشخيصهم سريرأ من قبل الاطباء الاختصاص ، فقد ضمت المجموعة الأولى المرضى المصابين بالفشل الكلوي الذين تراوحت أعمارهم بين 17-85 سنة ، في حين ضمت المجموعة الثانية المرضى المصابين بِالتهاب المسالك البولية ممّن تراوحت اعمارهم بين 18-82 سنة ، أما المجموعة الثالثة فقد تكونت من المرضى المصابين بالِتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي معأ ، والذين تراوحت اعمارهم بين 17-85 سنة ، أما المجموعة الرابعة فقد ضمت مجموعة من الأشخاص الأصحاء والذين تراوحت اعمارهم بين 17-85 سنة، وبواقع 45 عينة للمجموعة الواحدة ، ومن كلا الجنسين من المراجعين إلى مستشفى مدينة الامام الحسين (ع) الطبية في محافظة كربلاء المقدسة ومستشفى الديوانية التعليمي في محافظة الديوانية خلال الفترة من شهر اذار الى تموز من العام 2021 .

وقد جُمعت عينات الدم والادرار من كل شخص ، إذ تم تقسيم عينة الدم إلى قسمين نقل القسم الأول إلى انابيب حاوية مادة مانعة للتخثر (EDTA) لاستخلاص الحمض النووي والذي استعمل للكشف عن تعدد الاشكال ، في جين (IL-4-590 C>T (rs2243250 باستخدام تقنية Allele-Specific PCR (AS-PCR) في حين نقل القسم الثاني إلى انابيب حاوية جل (Gel tube) أستعمل للحصول على المصل لغرض تحديد مستوى الانترلوكين 4 (IL-4) في المجاميع المدروسة كما تم استخدام عينة الأدرار في فحص الأدرار العام ، والزرع المختبري البكتيري ، لعزل وتشخيص البكتريا في المجاميع المدروسة.

اظهرت نتائج التحليل الديموغرافي عدم وجود اي فروقات معنوية بين مجاميع الدراسة في متوسط العمر(P =0.912) ، والجنس (P=0.145) مقارنة بمجموعة السيطرة. كما اظهرت فروقات غير معنوية (P= 0.516) في معدل الاصابة لمجاميع الدراسة ومكان الاقامة (ريف او مدينة) فضلاً عن عدم وجود اِرتباط بين اصابات المسالك البولية والفشل الكلوي مع التدخين (P= 0.546) ، في حين وجدت فروقات معنوية كبيرة بين أصابات المسالك البولية والفشل الكلوي مع تكرارالاصابة (P= 0.001) ، والتاريخ العائلي للمريض (P=0.001) ووجود الحصوات الكلوية (P= 0.001).

وبينت نتائج الزرع البكتيري أنه من مجموع 135 عينةً من الأدرار المزروع تم الحصول على 90 عزلةً بكتيرية توزعت بين 45 عزلةً بكتيرية من المرضى المصابين بِالتهاب

المسالك البولية إذ كانت بواقع 33 (73.3%) من البكتريا السالبة لصبغة غرام حيث أحتلت بكتريا *Escherichia coli* 24 (53.3%) النسبة الاعلى للعزل تلتها كل من جنس *Acinetobacter baumannii* (8.9%) 4 ،*Proteus mirabilis* 3 (6.7%) و*Pseudomonas aeruginosa* 2 (4.4 %) وأما البكتريا الموجبة لصبغة غرام فقد وصلت الى 12 (26.7%) والمتمثلة بكل من *Enterococcus faecalis* 4 (8.9%) ، *Streptococcus* spp. 3 (6.7%) ، *Staphylococcus* spp. 3 (6.7%) ، *Staphylococcus aureus* 2 (4.4%) .

أماّ مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي فقد كانت عدد العزلات البكتيرية المعزولة 45 توزعت بين 35 (77.8%) عزلة من البكتيريا السالبة لصبغة غرام { *E. coli* 27 (60.0%) ، *Acinetobacter baumannii* 2 (4.4%) ، *Proteus mirabilis* 4 (8.9%) ، *Pseudomonas aeruginosa* 1 (2.2%) ، *Klebsiella pneumonia* 1 (2.2%)} و {10 (22.2%) عزلةً من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام والمتمثلة ببكتريا *Staphylococcus aureus* 3 (6.7%) ، *Staphylococcus* spp. 1 (2.2%) ، *Streptococcus* spp. 4 (8.9%) ، *Enterococcus faecalis* 2 (4.4 %) }.

واظهرت نتائج فحص الاليزا وجود فرق معنوي كبير ($P\leq 0.001$) في معدل مستوى الانترلوكين 4 في مصل مجاميع الدراسة ، إذ سجل أعلى معدلاته في مجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي فقط وبلغ المعدل (59.73±295.81) وحدة دولية/مل مقارنة بمجموعة السيطرة (36.06± 64.97) وحدة دولية/مل.

إنّ نتائج تحليل التغاير الوراثي في موروث الانترلوكين 4 في الموقع (rs2243250) بواسطة تقنية (A-S PCR) أوضحت توافق توزيع الطرز الوراثية في مجاميع الدراسة بحسب معادلة Hardy Weinberg ، اذ بلغ تردد الطرز الوراثية **CC** و **TT** و **C/T** في مرضى المصابين بالفشل الكلوي (4 ، 26 ، 15) على التوالي ، في حين كانت (16 ، 27 ، 2) في المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية بينما وصلت الى (4 ، 34 ، 7) في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي معأ مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت (34 ، 10 ، 1) للطرز الوراثية المدروسة على التوالي.

أظهرت الدراسة فارقًا معنويًا في توزيع الطرز الوراثية (P <0.001) والاليلات (P <0.001) للانترلوكين 4 بين مجاميع الدراسة مقارنة بمجموعة السيطرة، إذ كان الطراز الواثي C/T هو المتسيد في مجاميع الدراسة الثلاث مقارنة بمجموعة السيطرة التي كان فيها الطراز الواثي CC (75.6%) هو الأكثر اِنتشارًا والاليل C (86.7%) هو المتسيد مقارنة بالاليل T (13.3%) أما الاليل T فقد كان متسيد في مجموعة مرضى الفشل الكلوي (62.2%) ومرضى الفشل الكلوي والمسالك البولية معأ (53.3%) في حين كان الاليل C هو الاكثر أنتشارا في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية فقط والبالغ (65.6%).

وعند دراسة اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع عوامل الخطورة المختلفة لم تظهر النتائج اِرتباطًا معنويًا (P > 0.05) بين تعدد الأشكال الجيني للانترلوكين 4 مع كل العوامل المدروسة في مجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي فقط ، ومجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي واِلتهاب المسالك البولية معًا والتي أظهرت تغايرًا معنويًا ($P \leq 0.01$) مع تعدد الاشكال الجينية في عامل التدخين فقط (P=0.001). مقارنةً بمجموعة السيطرة ، في حين أظهرت مجموعة المرضى المصابين باِلتهاب المسالك البولية فقط تغايرًا عالي المعنوية ($P\leq$ 0.01) في تعدد الاشكال الجيني مع كل من التدخين (P=0.004) والتاريخ العائلي (P=0.001) في حين كان التغاير معنويًا سلبياً مع كل من الاصابات المتكررة (P=0.020) ووجود حصى الكلى (P=0.029). كما تبين النتائج بوضوح إلى عدم وجود فروقات معنوية في متوسط المصل مع الانماط الجينية المختلفة للانترلوكين 4 على مستوى احتمال (P > 0.05). لذا فأن أرتباط تلك العوامل كان أرتباطاً سلبياً.

خَلَصت هذه الدراسة إلى إنّ الاجناس البكتيرية سالبة الجرام ضمن مجموعات الدراسة كانت الأكثر شيوعًا من الأجناس البكتيرية الموجبة لصبغة غرام في مجاميع الدراسة ، كما تبين اِرتباط الأنماط الجينية CT و TT والأليل T مع الفشل الكلوي فقط والفشل الكلوي المرافق للالتهاب بالمسالك البولية ، في حين اِرتبط النمط الجيني CT فقط والاليل T بزيادة خطر الإِصابة باِلتهاب المسالك البولية. ولم تكن هنالك علاقة بين مستوى المصل للانترلوكين 4 بين الطرز الجينية المختلفة في المجموعات المختلفة للدراسة.

قائمة المحتويات

التسلسل	المحتويات	رقم الصفحة
	Summery الخلاصة	II-IV
	List of contents قائمة المحتويات	V-VIII
	List of Tables قائمة الجداول	IX
	List of Figures قائمة الاشكال	X
	List of Abbreviations قائمة الاختصارات	XI-XII
1	**الفصل الأول / المقدمة وإستعراض المراجع**	
1-1	**Introduction المقدمة**	1-3
2-1	**Literatures Review إستعراض المراجع**	4
1-2-1	Urinary System الجهاز البولي	4
2-2-1	Renal Disease and Classification أمراض الكلى وتصنيفها	8
3-2-1	عوامل الخطورة لأمراض الكلى Risk Factors of Renal Disease	14
4-2-1	علاقة إلتهاب المسالك البولية مع أمراض الكلى Association of Urinary Tract Infection with Renal disease	18
5-2-1	العوامل المسببة لإلتهاب المسالك البولية Causative Agents of Urinary Tract Infection	22
6-2-1	امراضية أصابات المسالك البولية Pathogenesis of Urinary Tract Infection	23
7-2-1	الإستجابة المناعية في الجهاز البولي Immune Response in Urinary System	24
8-2-1	دور الجهاز المناعي في أمراض الكلى Role of Immune System In Renal Kidney Disease	27
9-2-1	الانترلوكين 4 وأمراض الكلى Interlokin-4 and Renal Disease	29
1-9-2-1	الجانب المناعي Immunological Aspect	29
2-9-2-1	الجانب الجيني IL-4 Genetic Aspects	32
2	**الفصل الثاني /المواد وطرائق العمل Materials and methods**	
1-2	**Materials المواد**	38
1-1-2	Equipment & Instruments المعدات والأدوات	38

40	المواد ذات الاستعمال لمرة واحدة Disposable Materials	**2-1-2**
41	المواد البايولوجية والكيميائية Chemical and Biological materials	**3-1-2**
42	الأوساط الزرعية Culture Media	**4-1-2**
43	الكواشف والمحاليل Reagents and Solutions	**5-1-2**
44	العدد الجاهزة Prepared Kits	**6-1-2**
44	البادئات Primers	**7-1-2**
45	**طرائق العمل Methods**	**2-2**
45	المرضى Patients	**1-2-2**
45	جمع العينات السريرية Collection of Clinical Samples	**2-2-2**
46	جمع عينات الادرار Collection of Urine Samples	**1-2-2-2**
46	مجموعة السيطرة Control groups	**2-2-2-2**
46	جمع عينات الدم Collection of Blood Samples	**3-2-2-2**
47	الموافقة الاخلاقية Ethical Approval	**3-2-2**
47	معايير الاشتمال Inclusion Criteria	**4-2-2**
47	معايير الاستبعاد Exclusion Criteria	**5-2-2**
48	تصميم الدراسة Design Of The Study	**6-2-2**
49	تحضير الأوساط الزرعية Preparation of Culture Media	**7-2-2**
49	وسط غراء الدم (Blood Agar Medium)	**1-7-2-2**
49	وسط غراء اليوريا (Urea Agar Medium)	**2-7-2-2**
49	تشخيص البكتريا المعزولة Identification of Bacterial Isolates	**8-2-2**
49	التشخيص المظهري والمجهري Morphologic and Microscopic Identification	**1-8-2-2**
50	الفحوصات البايوكيميائية Biochemical Tests	**2-8-2-2**
50	محلول صبغة غرام Gram Stain Solutions	**1-2-8-2-2**
50	اِختبار الكاتلايز Catalase Test	**2-2-8-2-2**
50	اِختبار الاوكسيديز Oxidase Test	**3-2-8-2-2**
51	اِختبار الأندول Indole Test	**4-2-8-2-2**
51	اِختبار انزيم التجلط Coagulase test	**5-2-8-2-2**
51	اِختبار Voges-Proskauer Test (VP)	**6-2-8-2-2**
51	اِختبار الميثيل الأحمر Methyl Red Test	**7-2-8-2-2**
52	اِختبار سيمون ستريت Simmons Citrate Test	**8-2-8-2-2**

52	اِختبار انتاج اليوريا Urease Test	**9-2-8-2-2**
52	إنتاج السموم الحالة للدم Hemolysis Production	**10-2-8-2-2**
52	تشخيص البكتريا المعزولة باستعمال جهاز الفايتك Vitek-2 Bacterial Identification Using Vitek-2 Compact System	**3-8-2-2**
53	حفظ العزلات البكتيرية Preservation of Bacterial Isolate	**9-2-2**
53	قياس مستوى IL-4 في مصل مجاميع الدراسة	**10-2-2**
53	مبدأ الاختبار Test Principle	**1-10-2-2**
54	محتويات العدة ELISA Kit Contents	**2-10-2-2**
55	تحضير المحاليل Reagents Preparation	**3-10-2-2**
56	خطوات العمل Assay Procedure	**4-10-2-2**
57	حساب النتائج Calculation of Result	**5-10-2-2**
58	التشخيص الجزيئي Molecular Diagnosis	**11-2-2**
58	اِستخلاص الحمض النووي الجيني Extraction DNA Genomic	**1-11-2-2**
58	مكونات العدة Kit Components	**-a**
58	خطوات الاستخلاص Extraction Steps	**-b**
60	تقدير الحمض النووي الجيني Genomic DNA Estimation	**-c**
60	تفاعل البلمرة المتسلسل لتضخيم الحمض النووي PCR Amplification DNA	**2-11-2-2**
60	طريقة تفاعل متعدد النيوكليتيدات المتسلسل الخاص بالأليل (AS - PCR) Method	**3-11-2-2**
61	تحضير مزيج (AS - PCR)الرئيسي (AS- PCR) master mix preparation	**1-3-11-2-2**
62	شروط جهاز التدوير الحراري (AS- PCR) (AS- PCR) Thermocycler Conditions	**2-3-11-2-2**
62	تحليل منتج(AS- PCR) product analysis(AS - PCR)	**4-11-2-2**
63	التحليل الاحصائي Statistical analysis	**12-2-2**
	الفصل الثالث /النتائج والمناقشة	**3**
65	الخصائص الديموغرافية للمرضى Demographic Characteristics of Patients	**1-3**
65	التوزيع حسب العمر Distribution According to Age	**1-1-3**
66	التوزيع حسب الجنس Distribution according to Sex	**2-1-3**
68	التوزيع حسب محل الإقامة Distribution according to place of residence	**3 -1-3**
69	تواتر مجاميع الدراسة حسب عوامل الخطر frequency of study	**2-3**

	groups according to risk factors	
72	الجانب البكتريولوجي Bacteriological Aspect	**3-3**
72	التشخيص المظهري و البايوكيميائي للعزلات البكتيرية Morphological and Biochemical Identification	**1-3-3**
73	تشخيص البكتريا باستخدام نظام الفايتك-2 Bacterial Identification Using Vitek-2 Compact System	**2-3-3**
74	الانواع البكتيرية المعزولة في مجاميع الدراسة Bacterial Types Isolated From Study Groups	**3-3-3**
75	مستوى الانترلوكين IL-4 في مصل مجاميع الدراسة IL-4 Level in Serum of Study groups	**4-3**
77	استخلاص DNA الجينومي Genomic DNA Extraction	**5-3**
77	دراسة التركيب الجيني لتعدد الأشكال الجيني للأنترلوكين 4 Genotype study of IL-4 gene polymorphism	**6 -3**
79	توزيع الانماط الجينية والاليلات في مجاميع الدراسة Distribution of IL-4 gene Polymorphism in study groups	**7-3**
81	اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع عوامل الخطورة في مجاميع الدراسة Associations of IL-4 gene polymorphism with risk factors in study groups	**8-3**
85	اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع متوسط المصل بين مجاميع الدراسة Associations of IL-4 gene polymorphism with IL-4 level in serum of study groups	**9-3**
	الفصل الرابع / الإستنتاجات والتوصيات Conclusions & Recommendations	**4**
87	**الإستنتاجات Conclusions**	1-4
88	**التوصيات Recommendations**	2-4
89	**المصادر References**	
113	**الملاحق Appendices**	

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
(1-2)	الادوات و الأجهزة المختبرية المستعملة	38
(2-2)	المواد ذات الاستعمال لمرة واحدة	40
(3-2)	المواد البايولوجية والكيميائية	41
(4-2)	الاوساط الزرعية المستعملة في الدراسة	42
(5-2)	الكواشف والمحاليل وطرائق تحضيرها والغرض من استعمالها	43
(6-2)	العدد المستعملة في الدراسة	44
(7-2)	بادئات (AS- PCR) بتسلسلها وحجم ناتج PCR	44
(8-2)	مكونات العدة التشخيصية الخاصة IL-4	54
(9-2)	المحاليل القياسية للانترلوكين IL-4	55
(10-2)	التخفيف التسلسلي للمحلول القياسي	56
(11-3)	مكونات عدة استخلاص الحمض النووي الجيني	58
(12-2)	شروط جهاز التدوير الحراري (AS- PCR)	62
(1-3)	توزيع مجاميع الدراسة حسب العمر	65
(2-3)	توزيع مجاميع الدراسة حسب الجنس	66
(3-3)	توزيع مجاميع الدراسة حسب محل الإقامة	68
(4-3)	توزيع مجاميع الدراسة حسب عوامل الخطر المختلفة	70
(5-3)	الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا السالبة لصبغة غرام	72
(6-3)	الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا الموجبة لصبغة غرام	73
(7-3)	أنواع وتردد الأجناس البكتيرية المعزولة	75
(8-3)	مستوى الانترلوكين IL-4 في مصل مجاميع الدراسة	76
(9-3)	التوزيع التكراري للأنماط الجينية حسب المجموعات القائمة على توزيع Hardy Weinberg	78
(10-3)	مقارنة تواتر الانماط الجينية والأليلات IL-4 بين مجموعة السيطرة ومجاميع الدراسة	80
(11-3)	علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة السيطرة	82
(12-3)	علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة الفشل الكلوي	82
(13-3)	علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة التهاب المسالك البولية سويتاً	83
(14-3)	علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة الفشل الكلوي ومجموعة التهابات المسالك البولية	84
(15-3)	مقارنة متوسط المصل IL-4 بين الأنماط الجينية المختلفة في مجموعات الدراسة	85

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
(1-1)	تشريح الجهاز البولي	4
(2-1)	تشريح الكلى ومسار تصريف البول	6
(3-1)	الوظيفة الفسيولوجية للكلية وعملية تكوين البول	7
(4-1)	آليات المناعة الفطرية في المسالك البولية	27
(5-1)	يوضع Single Nucleotide Polymorphism (SNP)	33
(1-2)	تصميم الدراسة	48
(2-2)	التخفيف التسلسلي للمحلول القياسي	56
(3-2)	المنحى القياسي ل IL-4	57
(1-3)	الترحيل الكهربائي لعينات الحمض النووي بأستخدام الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز بتركيز 0.7 ٪ عند 72 فولت لمدة 45 قيقة باستعمال صبغة بروميد الايثيديوم.	77
(2-3)	صور ترحيل الاكاروز والتي تظهر نتائج فحص (AS- PCR) الخاص بتحديد المتغير الجيني لجين IL-4 -590C>T (rs2243250).	78

قائمة المختصرات

الاختصار	المعنى
AKI	Acute Kidney Injury
ACR	Albumin-to-Creatinine Ratio
AS – PCR	Allele Specific PCR
α	alpha hemolysis
AMPs	Antimicrobial Peptides
ABU	Asymptomatic Bacteriuria
Bp	base pair
β	beta hemolysis
B Cell	Bursa-Dependent Cell
CVDs	Cardio Vascular Diseases
C	Chi-Square Test
CKD	Chronic kidney disease
CI	Confidence Interval
CNVs	Copy Number Variations
℃	Degree of Celsius
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diabetic Nephropathy
DW	Distilled Water
ESKD	End-Stage Kidney Disease
ESRF	End-Stage Renal Failure
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
E. coli	*Escherichia coli*
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
GFR	Glomerular Filtration Rate
GN	Glomerulonephritis
GN–ID	Gram negative identifier
GP–ID	Gram Positive identifier
HS	Highly Significant
HT	Hypertension
IgA	Immunoglobulin A
IL	Interleukin

Interleukin-4	IL-4
Kilo-base pair	Kbp
Klebsiella pneumoniae	*K. pneumonia*
Methy red	MR
Microliter	µl
Milligram	Mg
Milliliter	Ml
Natural Killer	NK
Non-Significant	NS
Number of Cases	*N*
Odds Ratio	OR
one way ANOVA	**O**
Optical Density	O.D
Picogram	Pg
Polymerase Chain Reaction	PCR
Potassium Hydroxide	KOH
Power of hydrogen(H+)	Ph
Probability	*P*
Red Blood Cells	RBCs
Respiratory syncytial virus	RSV
Significant	S
Single Nucleotide Polymorphisms	SNPs
species plural	Spp
Standard Deviation	SD
Statistical Package for Social Science	SPSS
(Tris – Borate – EDTA) Buffer	TBE
T helper 1	Th 1
T-helper Type 2 lymphocytes	Th 2
Thymus Cell	T Cell
Toll like Receptor 4	TLR4
Toll-Like Receptors	TLRs
Ultra Violet	UV
Urinary Tract Infections	UTI
Variable Number of Tandem Repeats	VNTR

الفصل الأول

المقدمة

و

استعراض المراجع

Introduction

&

Literatures Review

الفصل الأول

المقدمة واِستعراض المراجع

Introduction and Literatures Review

1-1 المقدمة Introduction

الكلى من الاعضاء المهمة والمعقدة في جسم الإنسان تتكون من العديد من الأجزاء المتخصصة وظيفيًا وتشريحيًا والتي تلعب دورًا مهمًا في تنظيم مكونات الدم وحجمه فضلاً عن تنظيم ضغط الدم وتنقيته من مخلفات التمثيل الغذائي (Mohsen *et al.*, 2020) إلى جانب قدرته على تنظيم الدالة الهيدروجينية في الجسم عن طريق تنظيم السوائل والايونات ، من خلال ما تمتلكه من أوعية دموية فريدة تلعب دورًا مهمًا في تنظيم ضغط الدم والحفاظ على التوازن الكهربائي للجسم (Barry *et al.*, 2019). لهذا فإنّ الخلل والامراض الحاصلة فيها وبوظائفها يؤثر تاثيرًا كبيرًاعلى صحة الفرد حيث تقسم أصابات الكلى الى أصابات الكلى الحادة Acute Kidney Injury (AKI) (التي ترتبط بشكل متكرر بالعدوى البكتيرية) وأمراض الكلى المزمنة Chronic Kidney Disease (CKD) (التي تنتج عادة كمضاعفات لبعض الامراض مثل داء السكري ، ارتفاع ضغط الدم وأمراض المناعة الذاتية الاخرى (Kovesdy, 2022).

وتتعرض المسالك البولية إلى العديد من الكائنات المجهرية التي تبدأ بالتكاثر وإحداث المرض لاسيما في المرضى الذين يمتلكون تغايرات وظيفية وتركيبية تلعب دورًا مهيئاً لسرعة اِكتساب الاصابة الموضعية في المسالك البولية السفلية وتحول الإصابة الاولية إلى إصابه معقدة تهدد حياة المريض عند وصولها إلى أجزاء الجهاز البولي العلوية المتمثلة بالكلى (Wu & Fenton, 2021).

تلعب الاصابات البكتيرية في المسالك البولية دورًا أساسًا في تطور التهابات الكلى وقدرتها في اداء وظائفها ، إذ إنَّ الإصابات أو الالتهابات الجرثومية في المسالك البولية من الإصابات الشائعة التي قد تسبب تدهورًا حادًاً ومفاجئا في وظائف الكلى نتيجة لوجود زيادة ملحوظة في الاستجابة الالتهابية من خلال التفاعل بين الخلايا المناعية والخلايا الجسمية ، إذ

تعكس المرحلة الأولية الخلل الوظيفي الأيضي ، والزيادة في إطلاق الوسائط المسببة للالتهابات كالسايتوكينات وتجنيد خلايا الدم البيض (Brennan *et al.*, 2021) كما إنَّ اِستمرار تطور

اِلتهاب المسالك البولية العليا والسفلى وعدم التعامل معه بشكل صحيح قد يؤدي إلى تطور حالة النخر والخراج الكلوي (Mohammed *et al.*, 2021).

إنَّ الانترلوكين 4 هو واحد من السيتوكينات المهمة متعددة الوظائف التي قد تشارك في كل من المناعة الذاتية والمكتسبة بوصفها عامل نمو الخلايا الليمفاوية ، إذ تتمكن من تحفيز تكاثر الخلايا البائية والخلايا التائية النشطة وتمايز الخلايا البائية الى خلايا البلازما ، بوصفها سيتوكينًا مضادًا للالتهابات ، يمكنه كبح تخليق السيتوكينات المؤيدة للالتهابات (X. L. Liu *et al.*, 2016). وتنتجه مجموعة واسعة من أنواع الخلايا المختلفة ، ويكون مسؤول عن مجموعة واسعة من الوظائف المضادة للجراثيم ، ومن الناحية الفسيولوجية تتوسط دفاع المضيف ضد الجراثيم المختلفة لكنهّ قد يؤدي إلى تفاقم الإصابة بالمرض إذا كانت أنشطته غير منظمة (May & Fung, 2015). ويلعب IL-4 دورًا مهمًا في استقطاب البلاعم (Macrophages) والخلايا التغصنية (Dendritic Cells) وهو أمر مهم للشفاء من إصابه الكلى الحادة ، وبالتالي فأن IL-4 مطلوب لاستقطاب الخلايا البلعمية (Macrophages) والمتغصنة (Dendritic Cells) بشكل فعّال إلى النمط الظاهري ولتعزيز التعافي من أصابه الكلى الحادة (Zhang *et al.*, 2016).

ترتبط إصابات الكلى والمسالك البولية بالعديد من عوامل الخطورة التي تلعب دورًآ مهمًآ في تطورالاصابات الموضعية والحادة منها ، ومن تلك العوامل العمر إذ آشارت العديد من الدراسات إلى اِرتباط فقدان النيفرون مع الشيخوخة يؤدي الى اِنخفاض معدل الترشيح وارتفاع ضغط الدم مع تقدم العمر (Denic *et al.*, 2017). فضلاً عن ذلك يلعب كل من الجنس والعرق والتاريخ العائلي للإصابة وتعاطي المخدرات والتدخين دورًآ أساسًا بوصفه من العوامل المهيئة لزيادة خطر الاصابات الكلوية (Centers for Disease Control and Prevention, 2021) .

ويعاني مرضى الكلى المزمن من العديد من المسارات الفسيولوجية المتأثرة بالمتغيرات الجينية التي تنظم تلك المسارات وتساعد على حدوث مرض الكلى المزمن وتطوره ، لهذا فقد حددت دراسات حديثة الارتباط على مستوى تعدد أشكال النيوكليتيدات المفردة

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) بالمخاطر الجينية الجديدة المرتبطة بأمراض الكلى المزمنة مثل اِرتفاع ضغط الدم ، ومرض الشريان التاجي (Corredor *et al*., 2020). فقد توصلت إحدى الدراسات إلى إنّ تعدد الاشكال في جين IL-4 قد يكون عاملاً خطرًا

للإصابة بالالتهاب في مرضى الداء الكلوي بمراحله الأخيرة ، إذ يشارك IL-4 في عملية الالتهاب من خلال تعزيز تكاثر الخلايا التائية المساعدة T helper 2 (Th2) ، وتقليل الاستجابة المناعية التي تتم بواسطة T helper 1 (Th1) ، لهذا يُعد التغاير في جين إنَّ IL-4 يُعد عاملاً خطرًا لتطور تلك الاصابات (Ksiazek *et al*., 2019).

من هنا فقد هدفت الدراسة هذه إلى بيان علاقة تعدد الأشكال الجيني للانترلوكين 4 بتردد إصابات المسالك البولية بوصفها واحدة من العوامل المهمة المساعدة في تطور أصابات الكلى المزمنة والحادة وربط تلك التغايرات بالعديد من عوامل الخطورة الاخرى التي يعاني منها المرضى وبيان علاقة تلك العوامل المختلفة في تطور أصابات الكلى المزمنة والحادة وذلك من خلال المحاور الأتية :

1- عزل البكتريا الهوائية المسؤولة عن إصابات المسالك البولية من عينات الادرار المجموعة من مجاميع المرضى قيد الدراسة وتشخيصها .

2- تحديد مستوى الانترلوكين 4 في مصل دم المجاميع قيد الدراسة.

3- تحليل تعدد الاشكال للنيوكليوتيدات المفردة للانترلوكين 4 في موقع IL-4(-590 C>T) gene polymorphism (rs2243250) بواسطة تقنية (AS- PCR).

4- تحديد اِرتباط تعدد الأشكال الجيني للانترلوكين 4 مع مستوى الانترلوكين 4 في مصل مجاميع الدراسة وعلاقتة بمعدل الاصابات البكتيرية.

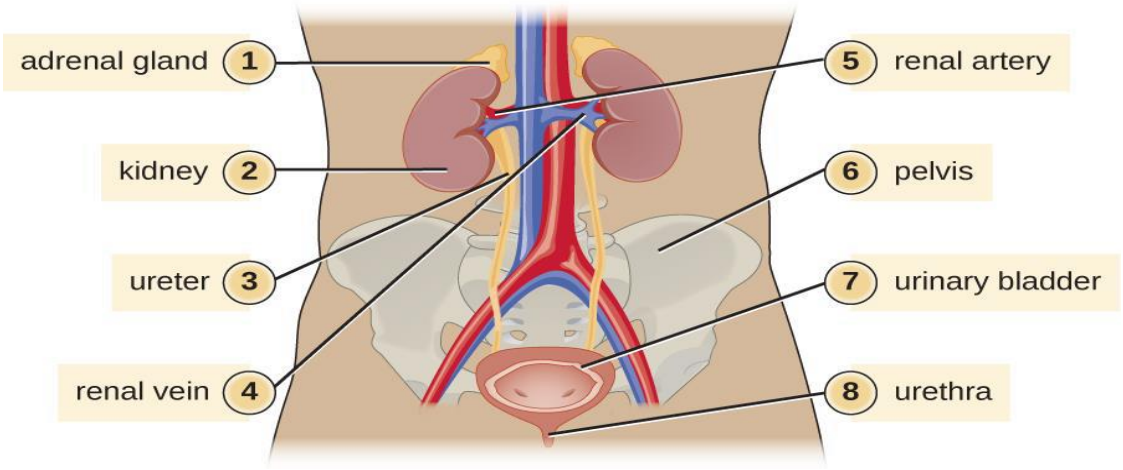
5- تحديد اِرتباط تعدد الاشكال الجيني مع مجموعة من عوامل الخطورة في مجاميع الدراسة مثل: (التدخين والتاريخ العائلي ووجود الحصى).

2-1 إستعراض المراجع Literatures Review

1-2-1 الجهاز البولي Urinary System

يتكون الجهاز البولي من الكليتين والحالب والمثانة والإحليل ، إذ يشمل الجزء السفلي من المسالك البولية المثانة والإحليل بينما يشمل الجزء العلوي كلاً من الكلى والحالب. وتعد الكلى العضو الأساس في الجسم والمسؤول عن تصفية الدم وإزالة الفضلات منه وإفرازها بشكل البول ، بينما يعمل كل من الحالبان والمثانة والإحليل المسالك البولية على تصريف البول من الكلى وتخزينه في المثانة ثم إطلاقه أثناء عملية التبول عبر الاحليل. ويعد الجهاز البولي المسؤول الأول عن تصفية وإزالة الفضلات من الجسم والعمل على حفظ توازن الماء والأيونات ودرجة الحموضة وضغط الدم والكالسيوم أيضًا (John *et al.*, 2016).

تقع الكلى على جانبي العمود الفقري أسفل الأضلاع مباشرة وتكون بشكل حبة الفاصولياء وبحجم قبضة اليد تقريبًا وتزن كل واحدة منها ما بين 130 - 150 غرام ، كما يبلغ طولها حوالي 10 - 12 سم وعرضها 5 - 7 سم وسمكها 3 - 4 سم ، والكلى مغطاة بكبسولة ليفية عضلية رقيقة لامعة محاطة بطبقة واقية من الدهون وطبقة أخرى من النسيج الضام تسمى اللفافة الكلوية التي تغلف كل من الطبقة الدهنية المحيطة بالكلية والغدة الكظرية ، لهذا فاءنّ للكلى سطحان (أمامي وخلفي) وقطبان (علوي وسفلي) وحافتان (جانبية وسطحية) (Moinuddin & Dhanda, 2015).



الشكل (1-1) تشريح الجهاز البولي (John Hopkin’s Medicine, 2020)

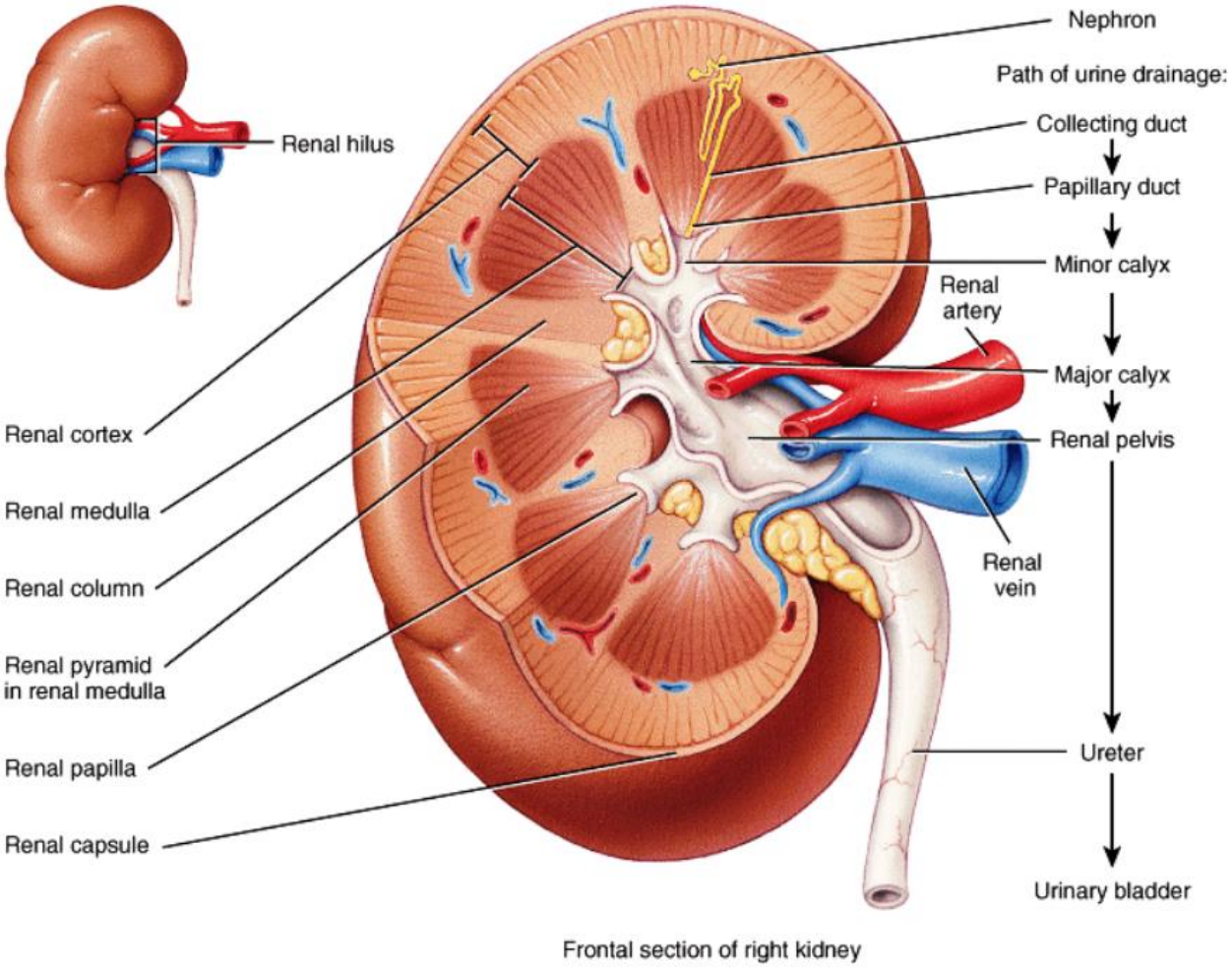
تعد الكلى اهم مكونات الجهاز البولي ، إذ تتمثل وظيفتها في تنظيم مكونات الدم وحجمه من خلال التخلص من المخلفات الأيضية وإفراز مخلفات التمثيل الغذائي النهائية والحفاظ على الدالة الهيدروجينية في الجسم عن طريق تنظيم السوائل والأيونات وتنظيم ضغط الدم (Mohsen *et al*., 2020).

والكلى عضو شديد التعقيد ، ولها وظائف مختلفة ، فهي تتكون من أجزاء عدة منفصلة وظيفيًا وتشريحًا كالكبيبات ، والنبيبات الكلوية التي تعد المكونات المهمة في النيفرون ، إذ إنّ التعقيد الوظيفي للكلية مرتبط بأنواع مختلفة من الخلايا جنبًا إلى جنب مع الخلايا البطانية الكبيبة، كما تصنع الخلايا القرنية الغشاء القاعدي الكبيبي ، وهو حاجز الترشيح النهائي ويمثل حاجزًا مهمًا يمنع فقدان البروتينات في البول (Liao *et al*., 2020). لذا فإنّ الوحدة الوظيفية للكلية هي النيفرون الذي يتكون من الكبيبة والنبيب والتي تقوم أساسًا بتصفية الدم والاحتفاظ بالخلايا والبروتينات الكبيرة وطرح الراشح بعملية الافراز (Gai *et al*., 2020).

يعد تخصص الخلايا البطانية (Endothelial Cell) في كل عضو أمرًا ضروريًا لتنفيذ الوظائف الخاصة بالأنسجة فالكلى لديها الأوعية الدموية الفريدة لتنظيم ضغط الدم (Blood Pressure) والحفاظ على التوازن الكهربائي للجسم ودرجة الحموضة والتحكم في إنتاج خلايا الدم الحمراء والمسارات الجزيئية التي تحدد تقسيم الاوعية الدموية في الأجنة إلى مرحلة البلوغ التي تحدد الخصائص الهيكلية والوظيفية لكل نوع من أنواع الأوعية الدموية في الكلى بالإضافة إلى الإشارات الداخلية والخارجية التي تمكن الأوعية الدموية من التكيف مع هذه المهام (Barry *et al*., 2019).

تؤدي الكلى وظائف أساسية ، مثل الترشيح وإخراج الفضلات الأيضية من مجرى الدم ، وتنظيم الإلكتروليتات الضرورية وتحفيز إنتاج خلايا الدم الحمراء. كما أنها تعمل على تنظيم ضغط الدم عن طريق استخدام نظام الرنين - أنجيوتنسين – الألدوستيرون (A renin-Angiotensin-Aldosterone System) الذي يتحكم في إعادة امتصاص الماء ، ويحافظ على مستوى الأس الهيدروجيني الصحيح وكذلك التوازن الكيميائي وحالة السوائل داخل الأوعية الدموية في الجسم. تعيد الكلى أيضًا امتصاص الجلوكوز والأحماض الأمينية التي ربما تكون قد شاركت في تنظيم الوظائف الهرمونية عن طريق تنشيط الإريثروبويتين (Erythropoietin) والكولسترول (Calcitriol) وفيتامين د (Morya *et al*., 2018).

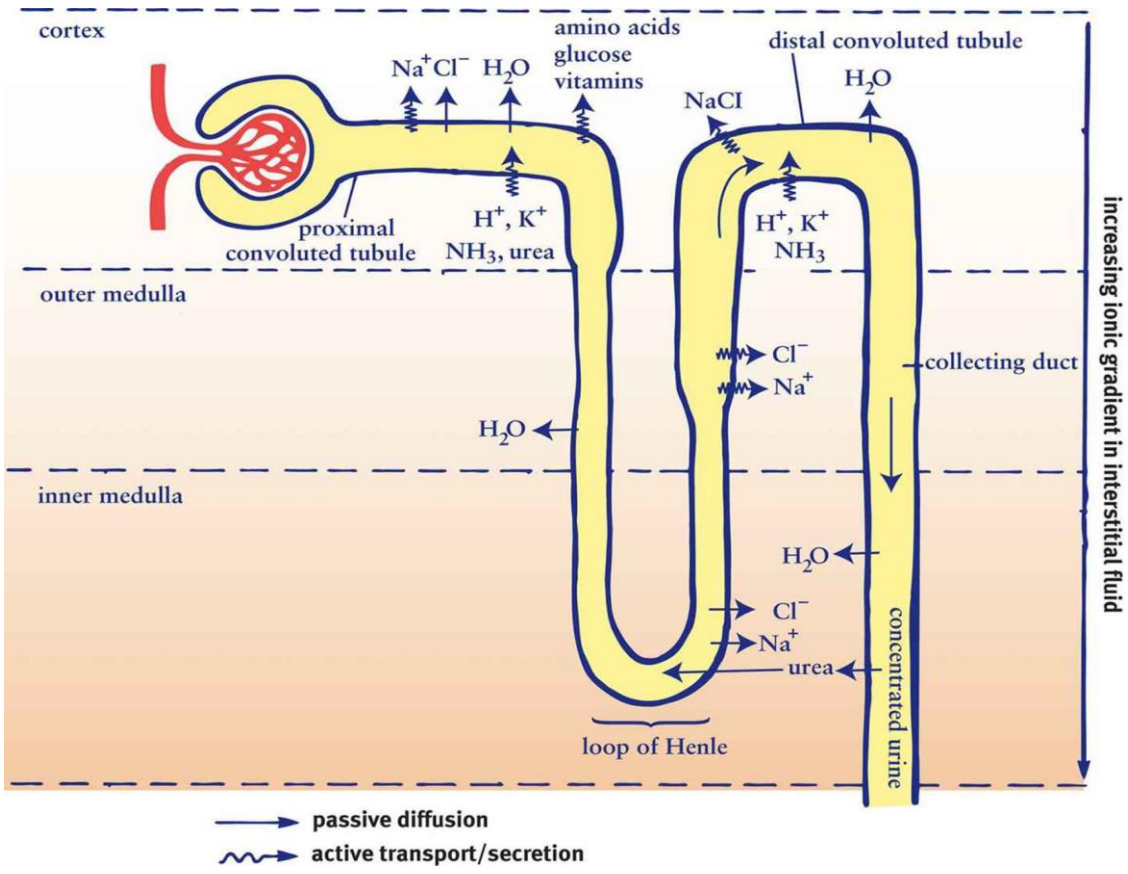
يتدفق الدم إلى الكلى عبر الشريان الكلوي ، وتتفرع هذه الأوعية الدموية الكبيرة إلى أوعية دموية أصغر وأصغر حتى يصل الدم إلى النيفرون ، وفي النيفرون يتم ترشيح الدم عن طريق الأوعية الدموية الدقيقة في الكبيبات ثم يخرج من الكلية عبر الوريد الكلوي وينقل الحالب البول من الكلية الى المثانة ، ويدور الدم عبر الكلية مرات عدة ، وخلال اليوم الواحد تقوم الكليتان بتصفية حوالي 150 لترًا من الدم ، يتم إرجاع معظم الماء والمواد الأخرى التي ترشح من خلال الكبيبات إلى الدم عن طريق الأنابيب ، وترشح الكلى البول من 1 إلى 2 ليتر يوميا (Kidneys, 2020 ; McMahon, 2016).



الشكل (1-2) تشريح الكلى ومسار تصريف البول (Morya *et al*., 2018).

يوجد داخل الكلية الواحدة اكثر من مليون وحدة صغيرة تسمى النيفرون ، ويتكون كل نيفرون من مرشح صغير جدا يسمى الكبيبة ، وهو متصل بنبيب ، إذ فصل المياء والفضلات من الدم بواسطة المرشحات ثم تتدفق إلى الانابيب ، ويتم امتصاص الكثير من المياه بواسطة الأنابيب وتتركز الفضلات في البول ، ليتم جمع البول من الأنابيب في الحوض الكلوي الشبيه بالقمع ثم يتدفق عبر أنابيب تسمى الحالب إلى المثانة ، ويخرج البول من الجسم عبر أنبوب يسمى الإحليل . ترشح الكلى معًا من لتر إلى لترين من البول يوميًا اِعتمادًا على الكمية التي تشربها (Kidneys, 2020).

ولهذا تؤدي الكلى وظائف مهمة مثل التخلص من الماء الزائد ، والاحتفاظ به عند الحاجة، وتعديل مستويات المعادن ، وإزالة الفضلات مثل اليوريا والكرياتينين ، وإنتاج مواد كيميائية مهمة تسمى الهرمونات (التي تنظم ضغط الدم وإنتاج خلايا الدم الحمراء وتوازن الكالسيوم) (Sharma & Virmani, 2017).



الشكل (1-3) الوظيفة الفسيولوجية للكلية وعملية تكوين البول (Morya *et al.*, 2018).

2-2-1 أمراض الكلى وتصنيفها Renal Diseases and Classification

أمراض الكلى (Kidney Diseases) وتسمى ايضًا (Renal Diseases) إذ إنّ كلمة (Renal) مصطلح طبي تعني كلية (Kidney). تتسب أمراض الكلى في اتلاف مرشحات الكلى مما يؤدي إلى تراكم الفضلات السامة والسوائل الزائدة في الجسم ، وارتفاع ضغط الدم ، وأمراض القلب والسكتة الدماغية ، والموت المبكر، وإنّ ما يقرب من 90٪ من المصابين بأمراض الكلى لا يعرفون أنهم مصابون بها وإنّ 2 من كل 5 من البالغين مصابين بمرض كلوي حاد لا يعرفون أنهم مصابون به. كما يُعد مرض الكلى أكثر شيوعًا عند النساء (14٪) منه عند الرجال (12٪). إلا إنهّ كل امرأتين مصابتان بمرض الكلى في المرحلة الأخيرة End-Stage Kidney Disease (ESKD) يقابلهم ثلاثة رجال مصابين بالفشل الكلوي ، وإنّ حوالي 1 من كل 2 من الأشخاص الذين يعانون من ضعف شديد في وظائف الكلى (لا يخضعون لغسيل الكلى) لا يعرفون أنهم مصابون بأمراض الكلى (United States Renal Data System, 2021).

تصنف أمراض الكلى عادة على أنها حادة أو مزمنة ، إذ إنّ إصابة الكلى الحادة Acute Kidney Injury (AKI) ترتبط بشكل شائع بالعدوى البكتيرية أو تعفن الدم . أماّ مرض الكلى المزمن Chronic Kidney Disease (CKD) فينتج عادةً من مضاعفات مرض السكري ، أرتفاع ضغط الدم ، السمنة وأمراض المناعة الذاتية. كما يمكن أن تكون الأحداث والمسببات الأولية التي تؤدي إلى الاصابة بأمراض الكلى الحادة الكثيرة والمتنوعة مسؤولة عن تحول القصور الكلوي الحاد إلى قصور كلوي مزمن (Kovesdy, 2022) ، إذ أنّ إصابة الكلى الحادة هي نوبة مفاجئة من الفشل الكلوي أو تلف الكلى الذي يحدث في غضون أيام قليلة ، إذ يعد اِضطراب قابل للانعكاس يمكن أن يحدث في المرضى الذين يعانون من وظائف الكلى الطبيعية وكذلك في المرضى الذين يعانون من أمراض الكلى المزمن (Meersch *et al*., 2017). يتزايد معدل حدوث إصابات الكلى الحادة بسرعة مما يؤدي إلى زيادة عدد الذين يحتاجون إلى رعاية طبية مستمرة ، كما إن القصور الكلوي الحاد يعد عامًلا خطرًا للإصابة بأمراض الكلى المزمنة وأمراض القلب والأوعية الدموية والوفاة (Siew *et al*., 2020).

كما تعد إصابة الكلى الحادة (AKI) من المضاعفات الشائعة للمرضى المقيمين في المستشفى على المدى القصير والطويل (K. D. Liu *et al*., 2019). فضلاً عن إن إصابات

الكلى الحادة من المضاعفات الشائعة في المرضى الذين يعانون من التهاب الحويضة والكلية الحاد. يعد ضعف وظيفة الكلى من عوامل الخطر القوية لتطور إصابة الكلى الحادة في مرضى التهاب الحويضة والكلية (Graversen *et al*., 2021) ، إذ تعد الزيادة الحاصلة في معدل الكرياتنين في الدم بمقدار أكثر من او يساوي (≥26.5 µmol/L) في غضون 48 ساعة إلى جانب انخفاض حجم البول إلى أقل من (<0.5 ml/kg/h) لست ساعات من المؤشرات الأساسية لتطور الاصابات الكلوية وتدهور حالة المريض بالشكل الذي يجعل من القصور الكلوي الحاد عامل خطر مستقل للوفاة (Kam *et al*., 2013) ، إذ أوضحت بعض الدراسات إلى إن إصابات الكلى الحادة تشكل حوالي 5% الى 10% من جميع حالات دخول المستشفى والتي من الممكن أن تنتهي بموت المريض ، مما يؤدي إلى زيادة معدل الوفيات (Albert & Cedex, 2019).

كما بينّت دراسات أخرى أنْ من الممكن أنْ يكون المصاب بأمراض الكلى الحادة ولدية مسببات مرضية متعددة أخرى ومن تلك الاسباب هي تعفن الدم ، فشل القلب ، وعدم استقرار الدورة الدموية ، ونقص حجم الدم والتعرض للمواد السامة للكلية (Hoste *et al*., 2015).

يصيب مرض الكلى المزمن ما بين 10- 15 % من السكان في جميع أنحاء العالم ويُعترف به الآن على أنه المساهم الأسرع تزايدًا في العبء العالمي للمرض (Xu *et al*., 2018) ، وقد يتعايش كبار السن المصابون بمرض الكلى المزمن أيضًا مع أمراض مصاحبة اخرى وفي دراسة في المملكة المتحدة أفادت أن 40 % من الاشخاص المصابين بالمرحلة الثالثة من مرض الكلى المزمن يعيشون مع اكثر من مرضين مزمنين تنطوي علي مخاطر أكبر لغسيل الكلى وزيادة معدل الوفيات مقارنة مع الأشخاص الذين لا يعانون من أمراض مزمنة (Hirst *et al*., 2021).

يمكن أن يتطور ضعف الكلى على المدى الطويل ، إذ لا تستطيع الكلى الحفاظ على الوظيفة الطبيعية لها ، أو ما يسمى بمرض الكلى في المرحلة النهائية (ESKD) (Wu & Fenton, 2021). إذ يتأثر أكثر من 16٪ من سكان العالم بأمراض الكلى المزمنة ، وهؤلاء الأشخاص هم الأكثر عرضة للإصابة بالفشل الكلوي في نهاية المرحلة (ESRF) End-Stage Renal Failure (Dahnan *et al*., 2019). ويعد مرض الكلى في مراحله الأخيرة (الداء الكلوي بمراحله الأخيرة) مشكلة صحية كبيرة في جميع أنحاء العالم ، مع معدل حدوث سنوي

يصل إلى 8٪ في مصر هناك دليل على إنَّ الداء الكلوي بمراحله الأخيرة آخذ في الازدياد. وتشمل الأسباب الرئيسة لمرض الداء الكلوي بمراحله الأخيرة في المرضى المصريين داء السكري Diabetes Mellitus(DM) ، وارتفاع ضغط الدم Hypertension(HP) ، والتهاب كبيبات الكلى المزمن Chronic Glomerulonephritis (GN) ، والتهاب الحويضة والكلية المزمن (Chronic Pyelonephritis) ، واعتلال المسالك البولية الانسدادي البلهارسيا(Schistosomal Obstructive Uropathy) واعتلال الكلية البلهارسيا (Schistosomal Nephropathy) (Abdelsalam *et al.*, 2021).

يُعرَّف مرض الكلى المزمن بأنه وجود تلف في الكلى أو اِنخفاض في معدل الترشيح الكبيبي Glomerular Filtration Rate (GFR) أقل من (60 mL/min/1.73 m^2) لثلاثة أشهر على الأقل (Mai *et al.*, 2020). ويعتمد التقييم الحالي لوظائف الكلى بشكل أساس على قياس معدل الترشيح الكبيبي المحسوب من كرياتينين البلازما و / أو معدل إفراز الألبومين البولي (Wu & Fenton, 2021) ، ويعد معدل الترشيح الكبيبي أفضل قياس عام لوظائف الكلى ، ويرتبط بشكل جيد مع اِضطراب وظائف الكلى ، إذ إنَّ ارتفاع الكرياتينين في الدم يعد كمؤشر موثوق لتلك الاصابة وهو حاليًا أكثر المؤشرات الحيوية شيوعًا لوظيفة الكلى ، فمعدل الترشيح الكبيبي الطبيعي هو(130 mL/min/1.73m^2) على الأقل في الذكور و (120 mL/min/1.73 m^2) في الإناث (Thomas, 2018).

ويمكن أن تصنف وظائف الكلى إلى خمس مراحل اعتمادًا على قيمة معدل الترشيح الكبيبي (GFR) فالمرحلة الأولى (90-100%) تلف الكلى مع وظائف الكلى الطبيعية ، والمرحلة الثانية (60-89 %) تلف الكلى مع فقدان بسيط لوظائف الكلى ، والمرحلة الثالثةA (45-59%) فقدان خفيف إلى متوسط لوظائف الكلى ، والمرحلة الثالثة B (30-44 %) فقدان متوسط إلى شديد لوظائف الكلى ، والمرحلة الرابعة (15-29%) فقدان شديد لوظائف الكلى ، والمرحلة الخامسة أقل من (15%) فشل كلوي (Jankowski *et al.*, 2021). كما يعد تركيز Cystatin في الدم بديلاً عن كرياتينين المصل ، لأن هذه العلامة التي هي أيضًا داخلية ، لا تتأثر بكتلة العضلات وتشير إلى خلل وظيفي في الكلى قبل ذلك بقليل ، بينما يبدأ الكرياتينين في الزيادة فقط عندما ينخفض معدل الترشيح الكبيبي بنسبة تزيد عن 50٪ ويمكن أيضًا استعمال تحليل السيستاتين(Cystatin C) لحساب معدل الترشيح الكبيبي ويفضل الجمع بينهما (Robert Cronin Yung Peng, Rose Khavari, 2017).

كما إنَّ الخلل في هيكل الكلى ووظيفتها لأكثر من ثلاثة اشهر بالشكل الذي سيؤثر على الوظائف الاساسية لها يعرف بمرض الكلى المزمن (Biljak *et al.*, 2017) ، إذ تتمثل تلك الوظائف بالانخفاض في معدل الترشيح الكبيبي إلى أقل من ($60\ mL/min/1.73\ m^2$) وحصول حالة البول الزلالي (أي زلال البول 30mg لكل 24 ساعة أو نسبة الألبومين إلى الكرياتينين في البول Albumin-to-Creatinine Ratio (ACR) ≥30 mg/g فضلاً عن شذوذ في رواسب البول أو الأنسجة أو التصوير الذي يشير إلى تلف الكلى واضطرابات الانابيب الكلوية (Daniel E Shumer, 2017). يُعرَّف مرض الكلى المزمن على أنه فقدان تدريجي لوظيفة الكلى والذي يقاس بانخفاض معدل الترشيح الكبيبي ($60\ mL/min/1.73\ m^2$) والذي يرتبط عادةً بتغيرات مرضية لا رجعة فيها داخل الكلى ، وهذا المرض له علاقة معقدة مع أمراض أخرى كمرض السكري (DM) ، وارتفاع ضغط الدم (HT) اللذان يعدان عوامل الخطر الرئيسة لمرض الكلى المزمن ، ويرتبط مرض الكلى المزمن أيضًا بأمراض القلب والأوعية (Corredor *et al.*, 2020).

إنَّ مرض الكلى المزمن هو متلازمة سريرية لها العديد من الآثار السلبية ، وهذا المرض يتم تقسيمه إلى طبقات بحسب معدل الترشيح الكبيبي ، ويشمل كل أسباب ضعف الكلى مما يؤدي إلى انخفاض معدل الترشيح الكبيبي مع أو بدون تشوهات هيكلية أو وظيفية أخرى موجودة لثلاثة أشهر على الأقل (Owens *et al.*, 2019).

كما يعتمد تصنيف مرض الكلى المزمن على ارتباطات انخفاض معدل الترشيح الكبيبي أو زيادة نسبة الألبومين إلى الكرياتينين وارتباط مرض الكلى وأمراض القلب والأوعية الدموية والموت (Kühn *et al.*, 2021) ، إذ إنَّ أسباب هذا الارتباط ليست مفهومة تمامًا ، ولكنها قد تتضمن مشاركة عوامل الخطر التي تؤدي إلى أمراض الكلى والقلب معا ، فإنَّ التشوهات الأيضية الناجمة عن أمراض الكلى قد تغير بشكل كبير في نظام القلب والأوعية الدموية (مثل فقر الدم أو التشوهات في تنظيم الكالسيوم والفوسفور) (K. D. Liu *et al.*, 2015). فقد بينت العديد من الدراسات العالمية والمحلية نسبة تأثير أمراض الكلى المزمن على السكان ، والتي تراوحت من 10 إلى 16٪ من السكان البالغين في آسيا وأستراليا وأوروبا وأمريكا الشمالية ، ويزيد من مخاطر حدوث أمراض القلب والأوعية الدموية والفشل الكلوي لديهم (Matsushita *et al.*, 2013). في حين أثرعلى 16٪ من عامة سكان الولايات المتحدة ومن المتوقع أن تؤثر على ما يقرب من 60 ٪ من سكان الولايات المتحدة خلال حياتهم (Warady *et al.*, 2015).

أماً في المملكة العربية السعودية فقد أظهرت دراسة نتائج مقلقة في زيادة المعدلات السنوية في اِنتشار مرض الداء الكلوي بمراحله الاخيرة إذ كان الذكور أكثر اِنتشارًا من الإناث لكل من المرضى الصغار ومتوسطي العمر ، وأماّ بالنسبة إلى كتلة الجسم فقد أظهر صغارالسن أعلى نسبة أنتشار لحجم الجسم الطبيعي وأدنى معدل للسمنة بينما كانت السمنة الأعلى بين فئة كبار السن ، كما أظهرت وجود عوامل خطر أخرى بين المصابين بالداء الكلوي بمراحله الأخيرة إذ كانت الفئات العمرية الشابة أكثر عرضة للإصابة بالأمراض مثل الداء السكري وارتفاع ضغط الدم (Alkhlaif *et al.*, 2020). أما في دراسة إيرانية وجد ان 0.2 ٪ من الأفراد يصاب بمرض الكلى المزمن كل عام فقد كانت معدلات الاصابة (285.3 و132.6 لكل 10000) شخص في السنة بين النساء والرجال على التوالي ، كما اِرتبط الجنس بارتفاع مخاطر الإصابة بمرض الكلى المزمن بين النساء مقارنة بالذكور فضلاً الشيخوخة وارتفاع ضغط الدم (Tohidi *et al.*, 2012).

وفي دراسة أجريت في مستشفى الرمادي التعليمي في محافظة الانبار/العراق كان معدل الانتشار التقديري للفشل الكلوي 141 مريضًا لكل مليون نسمة، وكان نسبة داء السكري (33%) وارتفاع ضغط الدم (22.6%) من أكثر أسباب الفشل الكلوي المزمن شيوعًا ، يليه بالترتيب اعتلال المسالك البولية الانسدادي في (17.3%) ، والأسباب غير المحددة في (14%) والالتهاب الحويضة والكلية (4.7%) ، والاتهاب كبيبات الكلى في (4.3%)، ومرض الكلى المتعدد الكيسات (3.9%) إذ أشارت هذه الدراسة إلى إنَّ عددًا كبيرًا من المرضى الذين يعانون من مرض الكلى في نهاية المرحلة (الداء الكلوي بمراحله الاخيرة) يعانون من مرض السكري ، واِرتفاع ضغط الدم ، ومع ذلك لا يزال هؤلاء المرضى الذين يعانون من سبب غير محدد يشكلون جزءًا كبيرًا من مسببات الداء الكلوي بمراحله الاخيرة (Awad, 2011).

ويعاني حوالي شخص واحد من كل عشرة بالغين في كل أنحاء العالم من مرض الكلى المزمن ، إذ يعاني حوالي 850 مليون شخص حاليًا من أنواع مختلفة من اضطرابات الكلى والذي لا يمكن علاجه دائمًا ومن المتوقع أن يصبح مرض الكلى المزمن السبب الخامس الأكثر شيوعًا للموت على مستوى العالم بحلول عام 2040 ، إذا ظل مرض الكلى المزمن خارج نطاق السيطرة وإذا نجا الشخص المصاب من أضرار القلب والأوعية الدموية ومضاعفات المرض الأخرى إذ لا يمكن أن تستمر الحياة دون علاج غسيل الكلى أو زرع الكلى (Li, P .K .T *et al.*, 2020) . فقد كان مرض الكلى المزمن السبب السادس عشر للوفاة في

كل أنحاء العالم في عام 2016 ، ومن المتوقع أن يكون السبب الرئيس للوفاة بحلول عام 2040 (Shajahan *et al*., 2021).

ومرض الكلى في المرحلة النهائية هو التدهور غير القابل للاسترداد في وظائف الكلى الناتج عن عوامل مختلفة بما في ذلك ارتفاع ضغط الدم ، وأمراض المناعة الذاتية ، وداء السكري والاضطرابات الوراثية والتشوهات الخلقية ، مع مسببات غير متجانسة سواء أكانت وراثية أو بيئية. والالتهاب هو عامل مهم في الفسيولوجيا المرضية في مرض الكلى الأولي ويؤدي إلى تطور الداء الكلوي بمراحله الأخيرة (Elghoroury *et al*., 2018) ، كما إنَّ الداء الكلوي بمراحله الأخيرة هو شكل متقدم من الفشل الكلوي المزمن إذ تنخفض فيه وظائف الكلى إلى 10٪ من المعدل الطبيعي قبل بدء غسيل الكلى أو الزرع (Kovesdy, 2022).

يعد مرض الكلى المزمن (CKD) من المشكلات الرئيسة التي لو تركت بدون علاج ستتطور إلى مرحلة الفشل الكلوي الذي يكون علاجه بإجراء جلسات الغسل الكلوي (Collins & Altman, 2012) التي تكون مرتبطة بقوة بزيادة حالات الوفيات وأمراض القلب والأوعية الدموية المختلفة (Alkhlaif *et al*., 2020) ، إذ أكدت العديد من الدراسات على أهمية إجراء الفحص الروتيني لقياس معدل الترشيح الكبيبي الذي يعُد مفتاح متابعة وظائف الكلى مع تتبع معدل الكرياتنين في المصل (الذي ينتج بصورة ملحوظة من انخفاض معدل الترشيح الكبيبي) إذ أنَّ ارتفاع معدل الكرياتنين يتأثر بالعمر والجنس وكتلة العضلات ونسبة التعرق فضًلا عن أمراض الكلى (O'Callaghan *et al*., 2011) ، كما أنَّ تطور أمراض الكلى المزمن يرتبط بالعديد من المضاعفات المهمة سريريًا مثل فقر الدم وأمراض العظام والقلب والأوعية الدموية الشي الذي يزيد من معدل خطورته (Marks *et al*., 2014).

3-2-1 عوامل الخطورة لأمراض الكلى Risk Factors of Renal Disease

تعد الأمراض المزمنة غير المعدية مصدر قلق رئيسي للصحة العامة ، إذ تمثل سببًا من أسباب الموت الرئيسة في كل أنحاء العالم فقد تزايد اِنتشار مرض الكلى المزمن (CKD) بشكل كبير في الآونة الاخيرة ، ويعزى هذا الارتفاع إلى حد كبير إلى زيادة انتشار السمنة والسكري وارتفاع ضغط الدم في البلدان المتقدمة ، والعديد من الدول النامية ، إذ يعد مرض السكري وارتفاع ضغط الدم أول سببين رئيسين لمرض الكلى المزمن في العالم كما يعد مرض السكري هو السبب الرئيس بينما في العديد من البلدان غير المتطورة يكون السبب وراء أمراض الكلى هو

ارتفاع ضغط الدم (Aguemon *et al.*, 2017) ، ويرتبط كل من ارتفاع ضغط الدم والسكري بشكل تقليدي أوغير تقليدي بتطور أمراض الكلى المزمنة ، تشمل عوامل الخطر الأخرى أمراض القلب ، والسمنة ، والتاريخ العائلي للإصابة بمرض الكلى المزمن ، واضطرابات الكلى الموروثة ، والأضرار التي لحقت بالكلى في الماضي ، العمر ، العرق ، التدخين وتعاطي المخدرات (Centers for Disease Control and Prevention, 2021).

يرتبط مرض الكلى المزمن بانحدار وظائف الكلى المرتبط بالعمر والذي يتسارع في ارتفاع ضغط الدم والسكري والسمنة وأمراض القلب والأوعية الدموية واضطرابات الكلى الأولية لأكثر من ثلاثة أشهر(Akduman & Gunes, 2021).

كما تعد عوامل الخطر الغير التقليدية مثل السموم الكلوية على سبيل المثال ، والأدوية الموصوفة والعلاجات البديلة ، حصى الكلى ، والالتهابات الكلوية ، والتعرض البيئي وإصابة الكلى الحادة تهديدات رئيسة لصحة الكلى عند المرضى (Luyckx *et al.*, 2017).

يعد فقر الدم واحًدا من المضاعفات المتكررة لأمراض الكلى المزمنة والسبب الاساسي له نقص أنتاج هرمون إرثروبويتين (Erythropoietin) الذي تفرزه الكلى والذي يزيد من معدل إنتاج خلايا الدم الحمراء استجابة لانخفاض مستويات الأوكسجين في الأنسجة ، لهذا فإن فقر الدم يزيد من خطر الإصابة بأمراض القلب والاوعية الدموية Cardio Vascular Diseases (CVDs) والوفيات في مرضى غسيل الكلى (Santos *et al.*, 2020) ، إنّ أمراض القلب والأوعية الدموية تتمثل بقصور القلب ، واحتشاء عضلة القلب ، والسكتة القلبية المفاجئة والسكتة الدماغية (Shajahan *et al.*, 2021) ، لهذا إنّ معدل الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية في المرضى الذين يعانون من مرض الكلى المزمن (CKD) أعلى بكثير من المرضى غير المصابين بذلك المرض والذي بدورة كان السبب الرئيس للوفاة في المرضى الذين يعانون من مرض الكلى المزمن على الرغم من إنّ الآليات الدقيقة التي توضح هذا الارتباط لا تزال غير واضحة ، و زيادة الالتهاب والإجهاد التأكسدي في مرض الكلى المزمن تعد الآليات الأساسية التي تؤدي إلى زيادة خطر الإصابة بأحداث القلب والأوعية الدموية (CVD) (Gu *et al.*, 2020). كما أن المرضى الذين لديهم انخفاض طفيف في وظائف الكلى يؤدي إلى زيادة كبيرة في خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية والوفاة المبكرة (Sun *et al.*, 2016) ، كما إنّ من الواضح على المستوى السريري إنّ التغيرات الفيزيولوجية المرضية التي تحدث في مرض الكلى المزمن تؤدي إلى زيادة خطر الإصابة بأمراض القلب التاجية الشيً الذي أثبت

من خلال ملاحظة أن مستويات وظائف الكلى مرتبطة بقوة بمخاطر القلب والاوعية الدموية ، فقد أظهرت دراسة دقيقة للأشخاص الذين لديهم ارتفاع في مستوى معدل الترشيح الكبيبي المقدر estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) هو عامل خطر مستقل للأمراض القلبية الوعائية (Heart *et al.*, 2021).

لقد أشارت العديد من الدراسات إلى اِرتباط فقدان النيفرون مع الشيخوخة ، ويمكن اكتشاف ذلك إلى حد ما من خلال الانخفاض المرتبط بالعمر في معدل الترشيح الكبيبي ، إذ إنَّ ان عدد النيفرون يرتبط بالقدرة الوظيفية للكلية فضلاً عن ذلك قد يؤدي اِنخفاض مقدار النيفرون عند الولادة إلى ارتفاع ضغط الدم ومرض الكلى المزمن (CKD) في حياة البالغين (Denic *et al.*, 2017). ونظرًا لأن الكلى تشارك في تنظيم العديد من العمليات الجهازية فإن المرضى الذين يعانون من مرض الكلى المزمن معرضون لخطر كبير لتطوير مضاعفات جهازية متعددة بما في ذلك الاضطرابات الانسيابية والتمثيل الغذائي والمناعة وغيرها، الأهم من ذلك إنَّ العديد من هذه المضاعفات تظهر أوجه تشابه مع عملية الشيخوخة مثل أمراض القلب والأوعية الدموية (CVD) وأمراض العظام ، فضلاً عن الضعف والضعف الإدراكي ونقص المناعة وأخيرًا زيادة نسبة الوفيات ، وبالتالي يبدو أن المرضى الذين يعانون من مرض الكلى المزمن لديهم عملية شيخوخة متسارعة للغاية مقارنة بالأشخاص الأصحاء أو المرضى غير المصابين بمرض الكلى المزمن (Ebert *et al.*, 2020).

تعد حصوات الكلى التي تأخذ شكل بلورات صلبة مركبة من المعادن الذائبة في البول التي تكونت كنتيجة لبعض المشاكل البيئية ومشاكل في التمثيل الغذائي ، إذ تشكل أحجار أكسالات الكالسيوم و / أو الفوسفات أكثر من 70٪ من كل حصوات الكلى التي لوحظت في البلدان المتقدمة اقتصاديًا ، كما اكتشف الباحثون إنَّ صانعي الحصى لديهم خطر أكبر بنسبة 60% للإصابة بأمراض الكلى المزمنة و40 ٪ في خطر الإصابة بالداء الكلوي بمراحله الأخيرة والذي يعد أشد أشكال مرض الكلى المزمن (Sofia *et al.*, 2016) ، ويرتبط ارتفاع مستويات اليوريا في الدم بزيادة مخاطر ظهور مرض الكلى المزمن وتطوره وأمراض الكلى في المرحلة النهائية فقد أظهرت الدراسات القائمة على ملاحظة وجود علاقة خطية بين مستويات اليورات في الدم وظهور البول الزلالي لمرض الكلى المزمن والتقدم إلى مرض الكلى في المرحلة النهائية فضلاً عن وجود علاقة متمثلة بزيادة مستوى اليورات في الدم خطيًا مع انخفاض معدل الترشيح الكبيبي نتيجة لقلة الإخراج ، وبالتالي ليس من الواضح ما إذا كانت مستويات اليورات المرتفعة

في الدم تلعب دورًا مسببًا في تطور مرض الكلى أو إنهاّ علامة غير مباشرة على انخفاض وظائف الكلى أو كليهما (Badve *et al*., 2020).

وحددت بعض الدراسات الجينية العديد من المتغيرات الجينية التي تؤثر على تطور مرض الكلى المزمن لدى الانسان اِعتمادًا على الأصل والعرق ، إذ يصاب الأمريكيون من أصل أفريقي بمرض كلوي غير المرافق للإصابة بمرض السكر في المرحلة النهائية بمعدلات أعلى بأربع مرات تقريبًا من الأمريكيين من أصل أوروبي ، فقد حددت دراسات المزيج الجيني المصممة للاستفادة من الأصول الأفريقية والأوروبية المختلطة في الأمريكيين من الاصول الأفريقية موقعًا على الكروموسوم 22 يرتبط ارتباطًا وثيقًا بمراض الكلى (Friedman & Mbbch, 2019) ، كما لوحظ أن هنالك العديد من الأسباب وعوامل الخطورة الجينية الفردية أو المتعددة ذات العلاقة بأمراض الكلى المزمن والتي يكون منها خلقيا كتشوهات الكلى والمسالك البولية الخلقي أو تلك التي تظهر لاحقاً أثناء الحياة (Webster *et al*., 2017).

إلى جانب ذلك وجد بعض الباحثين أن الإصابات الفايروسية تعد من العوامل المهمة لتطور أصابات وأمراض الكلى فقد تطور مرض الكلى في الأشخاص المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية بطرائق عدة ، بما في ذلك تطور أصابه الكلى الحادة (AKI) ، وأمراض الكلى المزمنة المرضية (CKD) والسمية الكلوية المرتبطة بالعلاج حيث لا يزال عبء مرض الكلى المزمن (الداء الكلوي بمراحله الأخيرة) مرتفعًا في السكان المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية (Gheith *et al*., 2016).

ومما تقدم فقد صنفت العديد من الدراسات العوامل التقليدية التي لها تأثير على تطور مرض الكلى المزمن بشكل أساس إلى ثلاثة أجزاء: الخصائص الديموغرافية كالجنس و العمر، والسمنة ، والتأثيرات الاجتماعية والاقتصادية ، والأمراض المشتركة كالتهابات الكبد الفايروسية ، وفرط حمض يوريك الدم ، وفقر الدم وفرط شحميات الدم فضلاً عن عادات وأنماط الحياة غير الصحية كحالة التدخين ، وتناول الكحول و قلة ممارسة الرياضة (Su *et al*., 2015). وقد ثبت أيضًا إنَّ زيادة الوزن من عوامل الخطر المستقلة التي تؤدي إلى اِنخفاض وظائف الكلى وتلف الكبيبات ، بغض النظر عن وجود ارتفاع ضغط الدم ومرض السكري وذلك عن طريق آليات مختلفة ، إذ يمكن أن يكون موقع الأنسجة الدهنية فارقًا مهمًا في الارتباط بمرض الكلى المزمن ، على سبيل المثال ، يمكن أن ينتج عن زيادة إفراز الهرمونات والسيتوكينات المشاركة في تطورأمراض الكلى زيادة في مستوى الأنسجة الدهنية في البطن (Moreira *et al*., 2021)،

إلى جانب ذلك فإنَّ الاصابات البكتيرية الصاعدة في المسالك البولية والتي تسبب العديد من التغيرات الحادة والمزمنة في نسيج كلى ،لهذا فإن مرض الكلى المزمن هو المسار المشترك النهائي للعديد من أنواع العدوى الجرثومية وعامل خطر مستقل للوفاة مما يؤدي إلى النمو القلق بشأن الزيادات العالمية التي تتراوح بين 8 ٪ الى 16٪ من حالات تطور الفشل الكلوي الناجم عن إصابات الكلى المزمنة (George *et al.*, 2019) ، كما إنَّ الالتهاب المزمن منخفض الدرجة يمكن أن يعرف كآلية ممرضة رئيسة تكمن وراء الارتباط بين مرض الكلى المزمن والسمنة وضعف تحمل الجلوكوز ومقاومة الأنسولين ومرض السكري ، من خلال التفاعل بين الخلايا المناعية والخلايا الجسمية الاخرى. وبالتالي يوجد اهتمام كبير بالطرق التي تستهدف الالتهاب كاستراتيجية لإدارة مرض الكلى المزمن وتعكس المرحلة الأولية من الاستجابة الالتهابية للإصابة أو الخلل الوظيفي الأيضي وإطلاق الوسائط المسببة للالتهابات بما في ذلك مجموعة مختلفة من الببتيدات ، والدهون والسيتوكينات فضلاً عن تجنيد خلايا الدم البيض (Brennan *et al.*, 2021) ، إذ يلعب الالتهاب المزمن دورًا بارزًا في الإصابة بمرض الكلى المزمن حيث توجد حالة التهابية مزمنة في معظم مجموعات مرض الكلى المزمن CKD ويصاحبها انخفاض في وظائف الكلى مع زيادة الاستجابة الالتهابية (Gupta *et al.*, 2012).

4-2-1 علاقة اِلتهاب المسالك البولية مع أمراض الكلى

Association of Urinary Tract Infection with Renal disease

يصاب الجهاز البولي بالعديد من الإصابات الجرثومية المختلفة وفي مناطق مختلفة منهُ فإماّ أنْ تكون الإصابة في الجزء العلوي (الكلى والحالبين) ، أو الجزء السفلي (المثانة والإحليل) والتي تتطور إلى اِلتهاب حاد (Tan & Chlebicki, 2016) ، وقد وصفت اِلتهابات المسالك البولية بأنها عدوى تصاعدية تبدأ بشكل عام بغزو المسببات الجرثومية للإحليل والمثانة أولاً والتي تعمل الخلايا الظهارة البولية فيها كوسيط لتوليد استجابات مناعية محددة ، وإطلاق العوامل الالتهابية التي تحدد شدتها ضراوة العامل الممرض ، ونوعية اِلاستجابة المناعية ومفرزاتها (Huang *et al.*, 2020).

و تعد عدوى المسالك البولية من الإصابات الشائعة ، وتحدث عادةً عندما تصل الجراثيم الممرضة إلى المسالك البولية ، وتبدأ التكاثر في المثانة مسببة التهاب المسالك البولية الذي إماّ إنْ يكون بدون أعراض ، أو مع وجود أعراض ، كما تتميز تلك الاصابات بمجموعة واسعة من

الأعراض تتراوح من إفراغ مهيج خفيف إلى تجرثم أو تعفن الدم وصولاً إلى الصدمة أو حتى الموت ، فقد يسبب اِلتهاب المسالك البولية الحاد تدهورًا مفاجئًا في وظائف الكلى خاصةً انسداد المسالك البولية ، إن المرضى الذين يعانون من أمراض القصور الكلوي الحاد معرضين لخطر متزايد للإصابة بأمراض الكلى في المرحلة النهائية وحتى الموت بعد الخروج من المستشفى (Wu & Fenton, 2021).

وقد صنفت إصابات المسالك البولية الى إصابات معقدة (Complicated UTI) وغير معقدة (Uncomplicated UTI) ، فعند حدوث الإصابات غير المعقدة في الأشخاص الاصحاء الذين لا يعانون من تغايرات وظيفية أو تركيبية تعد كعوامل مهمة لاكتساب الإصابات الجرثومية وتطورها ، في حين يرتبط تطور الإصابات المعقدة بما يعانيه الأفراد من عوامل مهمة تساعد في زيادة استعداد المريض للاكتساب الإصابة مثل الطبيعيين في الجهاز المناعي ومرضى الخاضعين لعمليات نقل الأعضاء والقسطرة لأوقات طويلة (Flores-mireles *et al*., 2015)، كما صنفت إصابات المسالك البولية الى أصابات المثانة أو التهاب المثانة الذي يعُبر عنه باِلتهاب الطبقة الظهارية للمثانة هو الموقع الأكثر شيوعًا لعدوى المسالك البولية (UTI) والذي يتطور عادةً نتيجة للبكتيريا من البراز أو البكتيريا المهبلية التي تستعمر الغشاء المخاطي حول الإحليل وتصعد إلى المثانة البولية ، فعندما تدخل البكتيريا في المسالك البولية من خلال مجرى البول تنتقل إلى المثانة مسببة عدوى واِلتهاب فيها ففي حالة عدم وجود إفرازات مهبلية وانزعاج مهبلي فإن عسر التبول والتردد ينبئان بشكل كبير بالتهاب المثانة ويمكن تقسيمها الى فئتين غير المعقدة والمعقدة (Birder, 2019). وبصورة عامة فإنّ الأعراض المميزة لعدوى المسالك البولية هذه تتمثل بالحمى العالية التي تزيد عن 38 درجة مئوية مع بيلة قيحية وعزل ما يقارب (10^5/ml) خلية بكتيرية في عينة البول مع تطور حالة عسر البول أو الالحاح البولي مصحوبا ببيلة دموية وسلس البول وألآم الخاصرة (Shi *et al*., 2019). إلى جانب أن تشخيص حالة وجود البكتريا في البول يعتمد أساسا على وجود ما لا يقل عن (10^5/ml) بكتيريا في البول الطازج المجموع من مسلك البول الوسطي للمريض فضلا عن وجود الأعراض الالتهابية والصديد في البول كما يجب تعريف البيلة الجرثومية عديمة الأعراض على أنها وجود (10^5/ml) بكتيريا على الأقل في البول (Ness & Olsburgh, 2020). أن البيلة الجرثومية عديمة الاعراض (ABU) Asymptomatic Bacteriuriaهي عزل البكتيريا من عينة البول من الافراد الذين ليس لديهم اي اعراض لعدوى المسالك البولية وفي دراسة اجريت في باكستان شملت مرضى يعانون من

مرض الكلى المزمن مع عدم وجود علامات واعراض للإصابة بالمسالك البولية واظهار نمو كائن حي في مزرعة البول فقد كان (71%) من الاناث و (55%) منهم مصابون بداء السكري و(22%) كان لديهم تاريخ عائلي من مرض الكلى المزمن حيث كانت *E. coli* و *Enterococcus* و *Klebsiella* و *Pseudomonas* و *Enterobacter* و *Streptococcal species* هي الميكروبات الاكثر عزلة (Asghar *et al.*, 2021).

كما إنَّ اِستمرار اِلتهاب المسالك البولية السفلي وتطوره والذي لم يتعامل معه بشكل صحيح قد يؤدي إلى حصول اِلتهاب الجزء العلوي الذي يرافقه العديد من المشكلات الضارة مثل النخر الحليمي الكلوي ، والخراج الكلوي ، وحتى تجرثم الدم لذلك من المهم السيطرة على عدوى المسالك البولية المتكررة من خلال الفحص الدقيق والعلاج وتجنب المشاكل المرتبطة في المستقبل (Mohammed *et al*., 2021).

وعدوى المسالك البولية هي عدوى بكتيرية تؤثر بشكل رئيس على المسالك البولية السفلية ولكن البكتيريا تصعد أحيانًا وتسبب التهاب المسالك البولية العلوية مثل التهاب الحويضة والكلية. يتراوح معدل حدوث التهاب الحويضة والكلية في المستشفى من 1 إلى 2 لكل 10,000 شخص - سنة عند الرجال إلى 3-4 لكل 10,000 شخص - سنة عند النساء ، كما تم العثور على أعلى معدل بين الرضع والشابات وكبار السن وتعد أصابة الكلى الحادة من المضاعفات الخطيرة المحتملة لالتهاب الحويضة والكلية الحاد (Graversen *et al.*, 2021). يلعب الجنس والهرمون الجنسي دورًا في احداث أمراض المسالك البولية والاستجابة المناعية من الناحية الوبائية ، إذ يكون التهاب الحويضة والكلية أكثر شيوعًا عند النساء ولكنه يكون أكثر شدة عندما يحدث عند الرجال ، وتشير التجارب الحديثة إلى إنّ زيادة انتاج هرمون التستوستيرون بعد الولادة التي تحدث عند الرضع الذكور قد تمثل عاملا إضافيا يؤدي الى ارتفاع معدل الاصابة بالتهاب المسالك البولية لدى الذكور الذين تقل أعمارهم عن ستة أشهر كما يعد الارتجاع المثاني الحالبي عالي الدرجة بين الأطفال عاملاً خطر أساسيًا للإصابة بالتهاب المسالك البولية في كلا الجنسين (Albracht *et al.*, 2021).

تعد عدوى المسالك البولية (UTI) من أكثر الأمراض شيوعًا في المجتمعات البشرية والتي تصيب النساء أكثر من الرجال في كل الفئات العمرية ، ويعتمد تشخيص التهاب المسالك البولية بصورة أساسية على تشخيص وجود البكتيريا أكثر من (10^5/ml) في البول. وتسبب تلك البكتيريا التهاب المسالك البولية الاولي وإذا لم يتم علاجها فسوف تنتشر العدوى وتشمل المسالك

البولية العليا (Hammad *et al*., 2019) ، التي يكون طريق العدوى فيها بشكل رئيس من خلال العدوى الصاعدة المتمثلة بالبكتيريا من مجرى البول السفلي المستعمر بواسطة مسببات الإصابة الرئيسة المتمثلة بالبكتريا السالبة لصبغة غرام ولاسيما أنواع الأشريكية القولونية التي تمثل 65 ~ 75 ٪ من كل التهابات المسالك البولية والباقي سببها البكتيريا موجبة غرام أو الفطريات (Chen *et al*., 2020) ، وقد تكون عوامل خطر التهابات المسالك البولية (UTIs) سلوكية أو تشريحية أو وراثية بطبيعتها ، وقد تزيد الحالات العابرة مثل الحمل للإصابة بالتهاب المسالك البولية أو تزيد من خطر حدوث مضاعفات خطيرة من العدوى ، ويمكن التحكم في عوامل الخطر القابلة للتعديل بينما في حالة عوامل الخطر غير القابلة للتعديل قد يكون من المستحسن استعمال العلاجات الوقائية (Storme *et al*., 2019) ، فضلاً عن ذلك هنالك بعض عوامل الخطورة المرتبطة بالتهاب المسالك البولية المتمثلة بالشيخوخة ، والنظام الغذائي غير المناسب ، والاستجابة المناعية المتفاقمة ، وداء السكري ، والتدخين ، والوزن الثقيل ، والعدوى المتزامنة في مكان يصعب الوصول إليه ، ونقص تنظيم مشاكل مخاطر الاصابات الأولية المتمثلة بكل من عدوى الجهاز البولي التناسلي السابقة أو المستمرة ، وإجراء جراحي يتعلق الأمعاء ، وتصريف صناعي دائم للبول ، وانسداد المسالك البولية والحصوات في المسالك البولية فضلاً عن النشاط الجنسي ونضوب هرمون الاستروجين (Sahu *et al*., 2019) ، كما يرتبط داء السكري بالعدوى بشكل متكرر، ومرضى السكري لديهم مخاطر متزايدة للإصابة بعدوى المسالك البولية لأن المستويات العالية من الجلوكوز في الحمة الكلوية تعزز نمو البكتيريا وتكاثرها والتي يمكن أن تكون واحدة من الأسباب التهاب الحويضة والكلية ، ومضاعفات الكلى مثل انتفاخ الدم التهاب الحويضة والكلية ، إذ يوفر الجلوكوز الكربون للبكتيريا لتوليد الطاقة (Zaha *et al*., 2020). علاوة على ذلك فإن ارتفاع مستويات الجلوكوز في البول قد يعزز نمو البكتيريا التي تزيد من شدة العدوى ، كما إنّ مرضى الأطفال المصابين بداء السكري يعانون من بعض اِضطرابات الجهاز المناعي التي ، عند ارتباطها بارتفاع نسبة السكر في الدم ، تزيد من خطر الإصابة بالعدوى وشدتها (Calliari *et al*., 2020). لذا فقد بينت العديد من الدراسات ارتباطًا منطقيًا بين تناول السوائل وحدوث التهاب المسالك البولية ، حيث يؤدي الاستهلاك المفرط للسوائل إلى زيادة حجم البول. مما يزيد من عملية التبول والتي بدورها تؤدي إلى القضاء على البكتيريا عن طريق منع نمو البكتيريا في المسالك البولية من خلال تدفق البول والمخاط مما يتداخل مع التصاق البكتيريا (Fasugba *et al*., 2019;Lean *et al*., 2019).

إنّ المسالك البولية عبارة عن سلسلة من الأعضاء المجوفة المتصلة ، والتي يتمثل دورها الرئيس في جمع البول ونقله وتخزينه وإفرازه على أساس منتظم ومنسق جيدًا ، وأي تشوهات تشريحية أو وظيفية في المسالك البولية تعيق تدفق البول يمكن أن تجعل المضيف أكثر عرضة للإصابة بالتهاب المسالك البولية وعملية تدفق البول المستمر في المسالك البولية العلوية والتخلص المتقطع من المسالك البولية السفلية يلعب دورًا مهمًا للغاية في تطهير المسالك البولية السبيل وتخليصه من الميكروبات التي ربما تكون قد تمكنت بالفعل من الوصول الى أجزائها العليا (Kostakopoulos *et al*., 2021).

1-2-5 العوامل المسببة لِالتهاب المسالك البولية

Causative Agents of Urinary Tract Infection

يعد البول بشكل عام معقمًا ويُعتقد أنه خالي من الكائنات الحية الدقيقة ، ولكن بسبب قرب مجرى البول من القناة الهضمية فإن استعمار الأشريكية القولونية الممرضة للمسالك البولية أمر شائع ، ولاسيما في مرضى القسطرة كما يمكن أن تؤدي الحركة الصعودية لتلك الجراثيم عبر الحالب إلى تلف الكلى وانتشار الدم عن طريق التسبب في الالتهاب ، وإطلاق البروتياز فقد كانت الإشريكية القولونية مسؤولة عن أكثرمن 80٪ من حالات اِلتهاب المسالك البولية البكتيرية (Flores-mireles *et al*., 2015) ، وأكثر أنواع البكتيريا شيوعًا في أحداث التهاب الكلية الحاد بسبب قدرتها على الالتصاق ، واِستعمار المسالك البولية والكلى بسبب ما تملكه من عوامل التصاق والتي هي عبارة عن جزيئات لزجة موجودة على سطح البكتريا تعرف (fimbriae) ترتبط بالمستقبلات الموجودة على سطح الخلايا الظهارة البولية كما يمكن أن تؤدي عدوى الإشريكية القولونية في الكلى إلى استجابة التهابية أولية وتندب في النسيج الكلوي بآلية غير معروفة حتى الأن ويمكن تفسيرها بأن ارتباط البكتيريا بالخلايا الكلوية يعطل الحواجز الواقية ، مما يتسبب في حدوث الندبات مما يؤدي ذلك إلى عدوى موضعية ونقص الأكسجة ونقص التروية والتخثر في محاولة للسيطرة على العدوى ، فضلاً عن ذلك تسبب السيتوكينات الالتهابية والسموم البكتيرية والعمليات التفاعلية الأخرى التهاب الحويضة والكلية الكامل وفي كثير من الحالات تتطور الحالة الى المؤشرات الجهازية للإنتان والصدمة (Morello *et al*., 2016).

تعد التهابات المسالك البولية الجرثومية أهم المسببات الاساسة لتطور إصابات الكلى إذ تعد بكتريا *E.coli* هي المسبب الأكثر شيوعًا لعدوى المسالك البولية (Ghalavand *et al*.,

2020) ، وهذا ما توصلت إليه دراسة محلية في محافظة البصرة من قبل (Hadi *et al.*, 2014) والتي أوضحت إنّ أعلى نسبة أصابه كانت بين الإناث (60%) مقارنة بالذكور(40%) فضلاً عن إنّ بكتريا *E.coli* كانت هي السائدة في إحداث أصابات المسالك البولية بنسبة (60%) ، ثم كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* (17.7%) , *Klebsiella* Spp. (12.22%) ثم تليها بكتريا *Pseudomonas* Spp. (5.5%) و *Proteus* Spp. (3.33 %) و *Streptococcus* Spp. (1%) وهذا ما أكدته دراسة محلية أخرى في شمال العراق ، إذ كانت فيها نسبة الإصابة مرتفعة عند الإناث (68.04%) مقارنة بالذكور (31.96%) كما بينت الدراسة نفسها أن أهم خمس إصابات بكتيرية تم عزلها هي *E.coli* (43.2 %) و *Klebsiella pneumonia* (19.90%) و *Proteus mirabilis*(11.65%) ، *Pseudomonas aeruginosa* (8.73%) ، *S. aureus* (6.31 %) (Jameel & Elyas, 2019). أماّ نتائج الدراسة التي أجريت في الاردن فقد كانت *E.coli* (80.8 %) تليها *Klebsiella* spp. (11.7%) ، *proteus* spp. (4.1%) ، *Psedomonas* spp (2.6%) ، بينما كانت *Staphylococcus aureus* (0.08 %) (Sohail *et al.*, 2015).

6-2-1 امراضية أصابات المسالك البولية

Pathogenesis of Urinary Tract Infection

تدخل البكتريا وتنتشر عبر المسالك البولية من خلال مسارين رئيسين هما المسار الصاعد والدم (Ranganathan Vasudevan, 2014) ، إذ يمكن تعريف المسار الصاعد بانة النمط الأكثر شيوعًا لأحداث عدوى المسالك البولية ، والذي يحدث في سلسلة من الخطوات أولها استعمار الفلورا البرازية المسالك البولية عن طريق التصاقها بالخلايا الظهارية المخاطية المبطنة للمسالك البولية ومنها تنتقل إلى المثانة كما يحدث المسار الصاعد للعدوى من خلال أجهزة القسطرة البولية (Morello *et al.*, 2016).

وبعد أن تلتصق الجراثيم الممرضة بالمسالك البولية من خلال سطح الغشاء المخاطي المبطن لها يحفز المضيف استجابة التهابية موجة غالبًا ضد متعددالسكاريدالدهني (lipopolysaccharide) في الجراثيم بعد اِرتباطه بمستقبلات الشبيهة بالتول Toll like Receptor 4 (TLR4) الموجودة في الخلايا الظهارية للمثانة الشي الذي يعزز التعبير عن السيتوكينات الالتهابية والجاذبات الكيماوية للعدلات. وفي غضون ساعات من الإصابة عندما يتم

التخلص من خلايا الظهارة البولية المصابة من خلال تقشرها خلال هذه العملية (Mirzaei *et al*., 2020).

وتعد عيوب الجهاز البولي المسببة لإنسداد تدفق البول من العوامل المساعدة في تطور عدوى المسالك البولية التي تساعد بدورها في حدوث خلل وظيفي في المثانة ناتج عن أسباب ميكانيكية (إسترخاء البروستاتا وقاع الحوض) ، أو لأسباب عصبية (Ranganathan Delcaru et al., 2017; Vasudevan, 2014).

1-2-7 الاستجابة المناعية في الجهاز البولي Immune Response in Urinary System

تتعرض المسالك البولية بإستمرار للعديد من الكائنات الحية الدقيقة التي تستعمر الجهاز الهضمي ، وعادة ما تكون المسالك البولية على استعداد جيد لمقاومة الالتهابات التي تسببها هذه الكائنات الدقيقة ، وتتحقق هذه المقاومة للعدوى بشكل أساسي من خلال تعدد مكونات الجهاز المناعي في المسالك البولية من خلال الاستجابات المناعية الذاتية والمكتسبة والمتمثلة بالاستجابة الالتهابية (Ortega Martell, 2020) ، إذ يمكن التعبير عن الالتهاب بانه استجابة بيولوجية للجهاز المناعي يمكن أن تسببها مجموعة متنوعة من العوامل بما في ذلك المسببات الجرثومية والخلايا الجسمية التالفة والمركبات السامة ، وهذه العوامل مجتمعة قد تحفز الاستجابات الالتهابية الحادة أو المزمنة في الكلى وأغلب الاعضاء الحيوية في الجسم مما قد يؤدي إلى تلف الأنسجة أو الممرض (Chen *et al*., 2018).

إنّ الاستجابة المناعية في جسم الإنسان تعتمد أساسًا على نظامين مترابطين وهما : المناعة الذاتية والمكتسبة ، إذ تعملان بطريقة معقدة للغاية ومتكاملة للدفاع عن الجسم واصلاح الأنسجة المصابة لهذا من المهم إنّ تنظم تلك الاستجابة المناعية بدقة عالية لتجنب تلف الأنسجة. إذ كان يعتقد لسنوات عديدة بأنّ التعرف على المستضد المشتق من الجراثيم ضروريًا لتطور الاستجابة المناعية ، اي إنّ جهاز المناعة يميز بين الذات وغير الذات مما يؤكد أن تطور الاستجابة المناعية حصلت تحت ضغط انتقائي تسببه الجراثيم إلا إنّ هذه الفكرة فشلت في تفسير عدد من النتائج مثل سبب إرتباط أمراض القلب والاوعية الدموية ومثل ارتفاع ضغط الدم بالالتهاب وتنشيط جهاز المناعة أو التغاير الجيني للعوامل المناعية ، حتى في حالة عدم وجود

عدوى جرثومية واضحة فقد فسرّ ذلك ان الجهاز المناعي يهتم أكثر بالأشياء التي تسبب الضرر اكثر من اهتمامه بالتميز بين الذات وغير الذات (Bomfim *et al*., 2017).

إنّ الاستجابة المناعية الوظيفية والمتوازنة تعد الأساس لمقاومة معظم الالتهابات الجرثومية ، وقد تم اكتشاف قوى مفيدة للمناعة الذاتية في المسالك البولية والآليات التي تؤثر من خلالها على شدة التهابات المسالك البولية (عدوى المسالك البولية) من خلال تعديل جوانب معينة من الاستجابة المناعية الفطرية لمرض التهاب المسالك البولية كما هو الحال في البيلة الجرثومية عديمة الأعراض (ABU) (Ragnarsdóttir *et al*., 2011).

ويمكن أن تصبح الاستجابات المناعية مدمرة أيضًا ، ولهذا يُعُدّ التنشيط المناعي الذاتي المفرط سببًا رئيسًا للأمراض المرتبطة بالعدوى ، والتي تتمثل في التهابات المسالك البولية التي تنتج جزئيًا عن ذلك السبب ، كما تعد اِلتهابات الكلى الحادة واحدة من النتائج الالتهابية المسببة للوفاة ، ويمكن أن تصبح التهابات المثانة البولية المؤلمة أيضاً كنتيجة للتفاعلات المناعية الموجة ضد الإصابات الجرثومية ، اي بعبارة أخرى تعد الجزيئات البكتيرية مسؤولة عن إعادة برمجة جهاز المناعة الذاتي لدى المرضى ، مما يؤدي إلى تسريع عمليات المرض أو تثبيطها حيث توفر هذه الملاحظة الأساس المنطقي لتعديل المناعة كأداة علاجية جديدة لتعديل قابلية المضيف والتحكم في الاستجابة للمضيف وتجنب المرض الشديد (Ambite & Butler, 2021).

وتُظهر الاستجابات المناعية مستوى عالٍ من التباين داخل الأنواع المختلفة لتعويض القدرة التخصصية لمسببات الأمراض ، إذ يمثل التباين الجيني 20-40٪ من التباين المناعي وتتشكل النسبة المتبقية 60-80٪ من خلال عوامل داخلية مثل العمر الذي يكون هو العامل المهيمن بالإضافة إلى التأثيرات البيئية (Liston *et al*., 2016).

تختلف الاستجابة المناعية لدى الرجال والنساء في جوانب عدة ، وعلى وجه الخصوص عند البلوغ إذ تكون الإناث عموما أكثر عرضة لإصابات المناعة الذاتية بينما معدلات الاصابة بالعدوى الجرثومية والأمراض المزمنة أقل فمن المحتمل أن يكون التغاير في الهرمونات الجنسية والجينات المشفرة على الكروموسومات الجنسية والسلوكيات الخاصة بالجنس عاملاً مهمًا في هذه الاختلافات كما وترتبط الشيخوخة بالتغيرات التكوينية والوظيفة للجهاز المناعي وقد تحدث هذه التغيرات بمعدل متسارع عند الرجال مقارنة بالنساء (Gubbels Bupp, 2015) ، فقد أشار بعض الباحثين إلى إنّ الجنس متغير بايلوجي يجب مراعاته في الدراسات

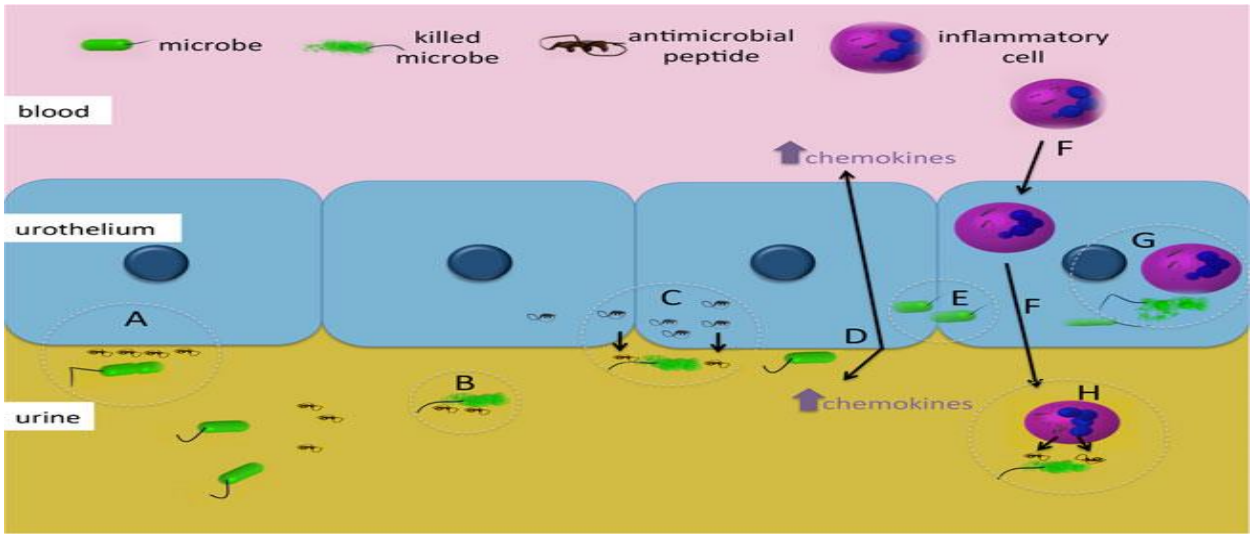
المناعية ،إذ يختلف الذكورعن الإناث في استجابتهم المناعية ويظهرون اختلافات في الاستجابات المناعية الذاتية والمكتسبة وهناك فروق مناعية بين الجنسين طوال الحياة في حين يظهر بعضها بعد سن البلوغ وقبل الشيخوخة الانجابية مما يشير إلى وجود ارتباط وثيق بين الجينات والهرمونات حيث تساهم هذه الفروق المناعية القائمة على الجنس في حدوث اختلافات المناعة الذاتية والتعرض للأمراض المعدية بين الذكور والاناث (Klein & Flanagan, 2016).

كما إنّ الألية المعقدة التي يتم من خلالها تبادل الرسائل البيولوجية مثل السيتوكينات ذات الوظائف متعددة الاتجاهات بين أنواع الخلايا البعيدة والمتحركة في بعض الأحيان هي سمة مركزية لجهاز المناعة لا تزال غير مفهومة تمامًا، علاوة على ذلك تختلف وظائف الرسائل المرسلة اِعتمادًا على المرسل الخلوي والمستقبل والحالة الفيزيولوجية المرضية ، مما يجعل تفسير الاستجابات المناعية أمرًا صعبًا بطبيعته (Rieckmann *et al.*, 2017).

وفي السنوات الأخيرة حدد الباحثون عددًا من العوامل الوراثية التي تزيد من خطر الإصابة بالتهاب الحويضة والكلية (Pyelonephritis) ومعظمها يتعلق بوسائط الدفاع الفطري في المسالك البولية مثل مستقبلات التول المستقبل (TLR4) الذي يتعرف على عديدات السكاريد الشحمية البكتيرية (Bacterial lipopolysaccharide) والذي يشارك في الاستجابة لمسببات الامراض ، إذ تحفز إشارات (TLR4) الخلايا الظهارية البولية (Uroepithelial cells) في الكلى والمثانة على أفراز السايتوكينات والببتيدات المضادة للمايكروبات وإنّ تعدد الأشكال أحادي النيوكليدات (SNPs) تسبب متغيرات تركيبية في مستقبلات التول قد تزيد من خطر الاصابة بالتهاب المسالك البولية وقد يلعب إفراز عائلة (TLR) الإضافي دورًا في الدفاع الفطري من التهاب المسالك البولية ، على وجه التحديد فقد تم إثبات ان التغير في مستقبلات التول رقم 5 و 6 تغيرمن خطر تكرار الاصابة بالتهاب المسالك البولية والتهاب الحويضة والكلية (Albracht *et al.*, 2021).

كشفت الأبحاث الحديثة إنّ المستقبل الشبيه بـالتول (TLR4) على الخلايا الظهارية السطحية للمثانة يؤدي إلى استجابة مناعية ذاتية متنوعة تهدف إلى القضاء على الأحياء المجهرية السالبة لصبغة جرام فضلاً عن دورها في التهيئة للمناعة المكتسبة للدفاع بنجاح ضد مسببات الأمراض الجرثومية وكذلك إفراز Immunoglobulin A (IgA) الذي تنتجه الخلايا الليمفاوية البائية المتخصصة (Ortega Martell, 2020). تكتشف مستقبلات الجهاز المناعي الذاتي المحددات الميكروبية والفيروسية الشي الذي يؤدي الى تنشيط هذه المستقبلات وبدأ

استجابة مناعية فعالة ، ففي الآونة الأخيرة أصبح الرأي القائل بأن أحداث الإشارات المناعية الذاتية تعتمد على بنية تحتية خلوية معقدة تعمل ضمنها ، وأصبحت بمثابة إطارًا مهمًا لفهم تنظيم المناعة الذاتية إذ يوفر التقسيم داخل هذه البنية التحتية للخلية القدرة على تخصيص المعلومات المكانية لاكتشاف الميكروبات وتنظيم الاستجابات المناعية وبالتالي يمكن للإشارات الذاتية أن تشغل العمليات الخلوية كشكل من أشكال الدفاع أو لتعزيز الذاكرة المناعية (Brubaker *et al.*, 2015). كما في الشكل (1-4).



الشكل (1-4) آليات المناعة الفطرية في المسالك البولية. تدخل الميكروبات المسالك البولية وتواجه الببتيدات المضادة للميكروبات التي يمكن أن تمنع الالتصاق بالتهاب المسالك البولية (A) أو تسبب التحلل البكتيري (B). من البكتيريا الملتصقة (C). عندما ترتبط البكتيريا وتغزو البولية ، فإنها يمكن أن تثير إنتاج الكيموكينات (D / E) التي تجذب الخلايا الالتهابية عبر الغشاء البولي (F). تتحكم هذه الخلايا في العدوى عن طريق البلعمة (G) وإفراز الببتيدات المضادة للميكروبات (AMPs) داخل الخلايا (H) (Spencer *et al.*, 2014).

1-2-8 دور الجهاز المناعي في أمراض الكلى

Role of Immune System In Renal Kidney Diseases

يتكون جهازالمناعة من مجموعة معقدة من التفاعلات بين العوامل القابلة للذوبان والخلايا المصممة للحماية من الأمراض المختلفة من خلال اكتشاف وتدمير الميكروبات الغازية والخلايا السرطانية وتحديد الأنسجة التالفة وإزالتها والمساعدة في إصلاحها (Pahl & Vaziri,

2020). بغض النظرعن المسببات المرضية فإن الالتهاب والتليف من المظاهر الشائعة لمرض الكلى المزمن ، ويتميز الالتهاب بالاستجابات المناعية الذاتية والمكتسبة المفرطة وإطلاق السيتوكينات ، كما يتميز التليف بزيادة وجود بروتينات خارج خلوية التي تحل محل بنية الأنسجة الطبيعية تدريجيًا وتمنع الأداء الطبيعي لخلايا الكلى المتخصصة مثل الخلايا الظهارية الأنبوبية (Tubular Epithelial Cells) والخلايا البادوسية (Podocytes Cells) والخلايا ميسانجيل (Mesangial Cells) في الكبيبات والخلايا البطانية الوعائية (Vascular Endothelial Cells) عادةً ما يكون الالتهاب استجابة وقائية للأسباب الداخلية أو الخارجية للإصابة التي قد تكون ضارة بهدف القضاء على التهديدات الخلوية ، وتعزيز إصلاح الأنسجة من خلال التليف. ومع ذلك فإن الالتهاب الذي طال أمده ضار ويمكن أن يؤدي تكوين التليف المصاحب له إلى فشل العضو إذا لم يتم تصحيحه (Owens *et al*., 2019).

يرتبط جهاز المناعة والكلى إرتباطًا وثيقًا إذ يكون للجهاز المناعي غير المنتظم تأثيرات كلوية مباشرة أو غير مباشرة وعادة ما تكون أمراض الكلى المناعية المباشرة نتيجة للأضداد الذاتية الموجهة ضد مستضد كلوي مكون مثل الكولاجين في مرض الغشاء القاعدي المضاد للكبيبات. غالبًا ما يتبع مرض الكلى غير المباشر المناعي المناعة الذاتية الجهازية مع تكوين معقد مناعي ولكن يمكن أيضًا أن يكون بسبب التنشيط غير المنضبط للمسارات التكميلية ، وعلى الرغم من أن نطاق آليات خلل التنظيم المناعي الذي يؤدي إلى الإصابة بأمراض الكلى واسع فإن المسارات المؤدية إلى الإصابة متشابهة ، إذ يؤدي فقدان التوازن المناعي في أمراض الكلى إلى تجنيد الخلايا المناعية بشكل دائم وتفاقم تلف الكلى (Tecklenborg *et al*., 2018).

وكثيرًا ما يتم إستهداف الكلى من خلال الاستجابات المناعية المسببة للأمراض ضد المستضدات الذاتية الكلوية أو من خلال المظاهر الموضعية للمناعة الذاتية الجهازية فقد كشفت الدراسات الحديثة عن العديد من الأليات الأساس التي يمكن استعمالها لشرح أليات أمراض المناعة وعلاقتها في أمراض الكلى والتي تتضمن هذه الآليات الأنماط الجزيئية المرتبطة بالضرر الخاص بالكلى والتي تسبب التهابًا شديدًا ذوعلاقة بمسببات الأمراض الجرثومية وبالتالي يؤثر الفشل الكلوي على المناعة العامة ، مما يسبب خللًا في الحاجز المعوي ، والتهابًا جهازيًا ونقصًا للمناعة مما يساهم في الإصابة بالأمراض والوفيات لدى مرضى الكلى (Kurts *et al*., 2013) ، فضلاً عن إنّ الخلايا المناعية تلعب دورًا مهمًا في حدوث الالتهاب وتلف الأنسجة إذ توفر الاختلافات الأيضية بين الخلايا المناعية والكلى فرصة للاستهداف المناعي في الكلى على

وجه التحديد (Basso *et al.*, 2021) ، وتلعب الكلى دورًا حيويًا في صحة الكائن الحي ولكن يمكن أن تتأثر بعدد من الأوضاع المهددة للحياة والتي يكون التعرف عليها والاستجابة لها واشارات الخطر بالغ الأهمية ، إذ يتم التوسط في هذه الاستجابة من خلال شبكة من الخلايا المناعية ، وتشمل الخلايا المناعية المقيمة في الكلى الخلايا المتغصنة التقليدية والخلايا البائية والخلايا الضامة والخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer (NK) cells والخلايا التائية والخلايا البائية (Stewart *et al.*, 2019). بشكل عام تقاوم المسالك البولية عدوى الإصابة بالكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في الجهاز الهظمي ، إذ تعزى هذه المقاومة للعدوى بشكل أساس إلى تعدد استعمالات الدفاعات المناعية الذاتية للمسالك البولية ، و تكون الاستجابات المناعية التكيفية محدودة ولاسيما عند إصابة الجزء السفلي من المسالك البولية (Abraham & Miao, 2015). كما يرتبط مرض الكلى المزمن (CKD) وفي الوقت نفسهُ بتنشيط المناعة الذي يتميز بالالتهاب الجهازي ونقص المناعة ، ويساهم الالتهاب الجهازي في العديد من الأمراض المصاحبة بما في ذلك تطور تصلب الشرايين وأمراض القلب والأوعية الدموية ، وفقر الدم وضعف الجسم بسبب المرض المزمن ، بينما يؤدي نقص المناعة إلى زيادة حدوث العدوى الجرثومية وشدتها ، وبالتالي فإن الالتهاب المرتبط بمرض الكلى المزمن ناتج عن تنشيط الجهاز المناعي الذاتي الذي تنظمه الخلايا الوحيدة والضامة والخلايا المحببة والمكونات الخلوية للأعضاء والأنسجة الأخرى (Pahl & Vaziri, 2020).

1-2-9 الانترلوكين 4 وأمراض الكلى Interlokin-4 and Renal Disease

1-2-9-1 الجانب المناعي Immunological Aspect

السيتوكينات هي جزيئات من البروتين السكري (Glycoprotein) منخفضة الوزن الجزيئي تنتجها الخلايا المناعية ، وتعد رسلًا بين هذه الخلايا وتؤثر على الاستجابات المناعية الذاتية والمكتسبة التي تعمل بشكل تآزري أو متضاد ، ويمكن أن تعمل بطريقة الأوتوكرين (Autocrine) أوالباراكرين (Paracrine) أوالغدد الصماء (Endocrine). من خلال الارتباط بمستقبلاتها المشابه لها في خلايا جسمية معينة (Al-Naseri *et al.*, 2019). كما إنّ هذه السيتوكينات تعمل كبروتينات تتوسط الاتصال بين الخلايا وهي ضرورية للاستجابة المناعية وهذه العوامل القابلة للذوبان هي واحدة من أكثر العناصر المرتبطة بالمناعة الذاتية وتنقسم إلى

فئات مختلفة وفقًا لمناطق الترميز الجيني والمستقبلات المستهدفة والإشارات المرتبطة بها (Riera Romo *et al*., 2016).

تنظم السايتوكينات عددًا من الوظائف الفسيولوجية والمرضية بما في ذلك المناعة الذاتية والمناعة المكتسبة وعددًا كبيرًا من الاستجابات الالتهابية (Cao & Zheng, 2018). بالإضافة إلى تنظيم الاستجابة المناعية لمسببات الأمراض الجرثومية. كما تنظم التئام الجروح وتكوين الأوعية وإعادة تنظيم الأنسجة الفسيولوجية والمرضية (Leoni *et al*., 2015). وتكون السيتوكينات إما مؤيدة للالتهابات (Pro-inflammatory) مثل كل من (IL-6، IFN-g، TNF-a، IL-1b) أو مضادة للالتهابات (Anti-inflammatory) مثل (IL-10، IL-1RA ، IL-4، IL-13) وقد تسمى كيموكينات (Chemokines) مثل (IL-8، CCL2، CCL5، CXCL1، CXCL10) ، إذ تساعد السيتوكينات المؤيدة للالتهابات على تفاقم المرض أما المضادة للالتهابات فتكون مسكنة للمرض وتعزز الشفاء وتقليل الالتهاب (Duncan *et al*., 2017). أماّ الكيموكينات فهي عائلة من السيتوكينات الكيميائية تنظم عملية الانجذاب الكيميائي والهجرة وكذلك تكاثر الخلايا وتمايز أنواع الخلايا المناعية المتنوعة بما في ذلك الخلايا الوحيدة والخلايا الضامة والعدلات والخلايا المتغصنة والخلايا التائية . لهذا، فهي ضرورية لوظيفة كل من الجهاز المناعي الذاتي والمكتسب وتعمل كمعدلات لتسبب المرض في مجموعة واسعة من أصابات (Zimmerman *et al*., 2020).

وسواء أكان مرض الكلى حادًا إم مزمنًا وبغض النظر عن الاستجابة المناعية المرضية الكامنة (ذاتية أو مكتسبة) فمن الواضح إن السيتوكينات الالتهابية لها دور حاسم ليس فقط كوسيط للاستجابة المناعية ومبادر للإصابة الكلوية ولكن أيضًا كمنظم مناعي يمكنه إلغاء تطور مرض الكلى ،ومن هذه السيتوكينات ذات العلاقة بأمراض الكلى هو الانترلوكين الرابع -Interleukin 4 (IL4) (Elghoroury *et al*., 2018).الذي تنتجه خلايا الدم البيض ، وأهمهّا الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة الأولى والثانية (T helper 1&2) كما كشفت الدراسات الحديثة إنهّ يمكن إنتاجه بواسطة الخلايا القاعدية للخلايا التائية القاتلة الطبيعية (Natural Killer Cells) والخلايا البدينة (Mast cells) و الحمضات (Eosinophils) (Edwin Ighodaro, 2017).

IL-4 هو سايتوكين مضاد للالتهابات يبلغ طولة (0.9 kb) موجود على الذراع الطويل للكرموسوم الخامس (5q31) يحتوي على أربعة اوكسونات يشارك في تنظيم جهاز المناعة على مستويات مختلفة. على سبيل المثال ، يحفز IL-4 تكاثر الخلايا T و B المنشط وينظم تمايز

الخلايا B ويعزز النوع الثاني T المساعد (Th2) ويمنع تمايز الخلايا من النوع الأول T المساعد (Th1). بالإضافة إلى الخلايا اللمفاوية فإن IL-4 قادر على تعديل التمايز والتكاثر وموت الخلايا الذي يحدث كجزء طبيعي ومسيطر عليه من نمو الكائن الحي أو تطوره لمجموعات الخلايا المكونة للدم وغير المكونة للدم (Završnik *et al*., 2018).

ويلعب IL-4 دورًا رئيسيًا في الاستجابة المناعية عن طريق تحفيز تخليق الكلوبينات المناعية من الخلايا الليمفاوية B وتوجيه الخلايا اللمفاوية التائية الثانية (Berkoz *et al*., 2021). فضلاً عن ذلك ، يتم تحفيز تطور الخلايا التائية المساعدة الثانية (Th2) بواسطة IL-4 الذي يعمل أيضًا كعامل نمو لهذه الخلايا. في الوقت نفسه ، يمنع الإنترلوكين 4 تطور الخلية التائية المساعدة الأولى (Th1) ، أي يعزز الاستجابة المناعية الخلطية من خلال إنتاج الأجسام المضادة ويثبط المناعة الخلوية. علاوة على ذلك يمنع IL-4 إنتاج السيتوكينات المسببة للالتهابات مثل عامل نخر الورم A(TNF) وInterleukin-6 و Interleukin-1a والإنزيمات المدمرة بواسطة الخلايا الأحادية من هنا يبرز تأثيره الفعال المضاد للالتهابات (Elghoroury *et al*., 2018).

تم اكتشاف IL-4 في الأصل بوصفه بولي ببتيد منخفض الوزن الجزيئي مشتق من الخلايا التائية من 129 حمضًا أمينيًا والذي تم ترميزه بواسطة جين IL-4 على الكروموسوم (5q23.31). ينظم إنترلوكين 4 التكاثر والموت المبرمج للخلايا والتعبير الجيني والتمايز في العديد من الخلايا المكونة للدم (Alsaid *et al*., 2013).

ويزيد IL-4 من إنتاج الغلوبولين المناعي E (IgE) ويعمل كمنظم مهم لتبديل IgG وهو مسؤول بشكل رئيس عن إحداث الالتهاب في أمراض المناعة الذاتية وأيضًا تحفيز تفاعلات الخلايا البدينة التي تتوسطها الحمضات وغالبًا ما يرتبط التفاقم الالتهابي بمستويات عالية من السيتوكينات الالتهابية باعتبارها السيتوكينات الحرجة المؤيدة للالتهابات (Giri *et al*., 2021).

كما إنّ الانترلوكين الرابع هو سايتوكين متعدد الوظائف ومنظم مهم للاتهاب يشارك في تنظيم التكاثر الخلوي (Cellular Proliferation) وموت الخلايا المبرمج (Apoptosis) والتعبيرالجيني لأنواع خلايا متميزة مثل الخلايا الليمفاوية (Lymphocyte) والبلاعم (Macrophage) والخلايا الليفية (Fibroblast) والخلايا الظهارية (Epithelial) والبطانية (Endothelial) (Quinnell *et al*., 2020).

إذ يلعب دورًا مهمًا في تكوين جزيئات التصاق الخلايا البطانية ، والتركيز الكيميائي للخلايا المناعية ومضادات الالتهاب (Ksiazek *et al*., 2019). وأشارت دراسات قليلة إلى إنّ مستوى IL-4 في الدم كانت مرتبطة بزيادة خطر الاصابة بأحداث القلب والاوعية الدموية في المرضى الذين يعانون من مرض الكلى المزمن نظرا للدور المهم للانترلوكين 4 في تنظيم الالتهاب من خلال قدرته على تثبيط أنتاج السايتوكينات المنشطة للالتهابات (Gu *et al*., 2020).

وقد تم ربط IL-4 ومسارات الإشارات ذات الصلة بتطور أمراض المناعة الذاتية وأمراض الحساسية. على سبيل المثال ، تم إثبات ارتباط الربو التحسسي بـ IL-4 سريريًا من خلال زيادة ملحوظة في فرط استجابة مجرى الهواء لدى مرضى الربو الخفيف بعد إعطاء IL-4 باستعمال البخاخات (Završnik *et al*., 2018).

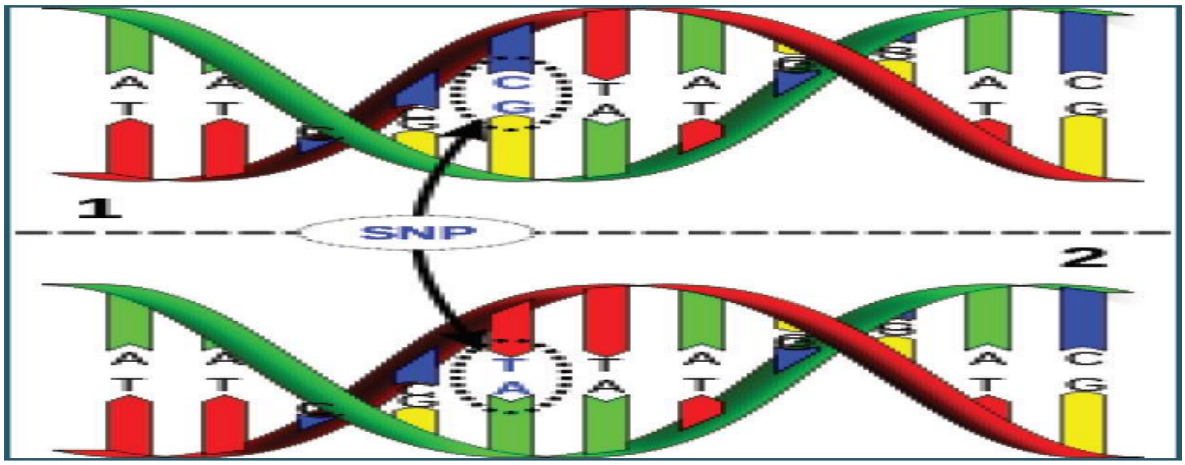
يعمل IL-4 كعامل نمو للخلايا الليمفاوية البائية ويحفز إطلاق الغلوبولينا المناعية ، كما يتم التوسط في التأثيرات البيولوجية لـ IL-4 بواسطة مستقبلات سطح الخلية (IL4R) التي يتم التعبير عنها في معظم أنواع الخلايا بما في ذلك الخلايا البطانية (Endothelial cells) والخلايا الجذعية المكونة للدم (Hematopoietic stem cells) والعضلية (Muscular) والخلايا العصبية (Neuronal cells) (Emam *et al*., 2019). كما يشارك IL-4 في التماثل التسلسلي لمستقبلات سطح الخلية فضلاً عن إنهّ يشتهر بتعريف ما يسمى النمط الظاهري للخلايا اللمفاوية (Th2) ، وتنظيم تكاثر الخلايا وموت الخلايا المبرمج والتعبير عن العديد من الجينات في أنواع مختلفة من الخلايا بما في ذلك الخلايا الليمفاوية والضامة والخلايا الليفية وكذلك الخلايا الظهارية والبطانية (Luzina *et al*., 2012).

1-2-9-2 الجانب الجيني IL-4 Genetic Aspects

والاختلافات الجينية هي الاختلافات الموجودة بين الافراد من النوع نفسه ، هذه الاختلافات تكيفية ، اي إنهاّ تضمن المرونة وبقاء السكان في البيئة المتغيرة بمرور الوقت ، ومع ظهور تقنيات تسلسل الحامض النووي المتقدمة أصبح الآن بالأمكان إيجاد وتمييز معظم الاختلافات الطبيعية مثل تعدد الأشكال المفردة (SNPs) والاختلافات الهيكلية مثل الادراج (Insertion)والحذف (Deletion) والانعكاس (Inversion) والانتقالات(Translocations) وتعدد الاشكال المفردة الترادفي (Tandem Repeat Polymorphism) وإعاده ترتيب

الكروموسومات المعقدة (Complex Chromosomal Rearrangements) وما إلى ذلك المرتبطة مع التطور البشري وقابلية الإصابة بالأمراض (Suthar *et al*., 2017). تختلف SNPs عن متغيرات الاستبدال ، التي تحل محل لبنة بناء DNA (نوكليوتيد) بأخرى. عادة ما تسبب متغيرات الاستبدال المرض ولا توجد بشكل عام في 1 في المائة من أي مجموعة سكانية. فضلاً عن ذلك ، تختلف SNPs عن متغيرات رقم النسخ (CNVs) Copy Number Variations ، والتي تحدث عندما يتم تكرار أو حذف جين كامل (أو جزء كبير آخر من الحمض النووي). الأكثر شيوعًا ، توجد SNPs في الحمض النووي بين الجينات. يمكن أن تعمل كوسمات بيولوجية تساعد العلماء على تحديد الجينات المرتبطة بالمرض. عندما تحدث SNPs داخل جين أو في منطقة تنظيمية بالقرب من الجين ، فقد تلعب دورًا مباشرًا أكثر في المرض من خلال التأثير على وظيفة الجين (MedlinePlus Genetics, 2020).

تعد الأشكال المتعددة الأشكال للنيوكليوتيدات المفردة والتي يطلق عليها غالبًا (SNP or snip) ، أكثر أنواع الاختلاف الجيني شيوعًا بين الناس ، ويمثل كل SNP اختلافًا في لبنة بناء DNA واحدة ، تسمى نوكليوتيد. على سبيل المثال قد يحل SNP محل النيوكليوتيدات السيتوزين (C) بالنيوكليوتيدات الثايمين (T) في امتداد معين من الحمض النووي ، تحدث النيوكلوتايد بشكل طبيعي في كل أنحاء الحمض النووي للشخص مرة واحدة تقريبًا من كل 1000 نيوكليوتيد في المتوسط ، مما يعني إنّ هناك ما يقرب من 4 إلى 5 ملايين SNPs في جينوم الشخص ، وتحدث هذه الاختلافات في العديد من الأفراد. لتصنيفها على أنها SNP ، أذ يوجد متغير في 1 في المائة على الأقل من السكان. لقد وجد العلماء أكثر من 600 مليون تعدد الأشكال في جميع أنحاء العالم (Ghagane, 2016).



الشكل (1-5) يوضح Single Nucleotide Polymorphism (SNP) (Sukhumsirichart, 2018).

تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNP) هوأبسط أشكال تعدد الأشكال الجيني الموجود على نطاق واسع في جينوم الكائنات الحية. يشير عادةً إلى الاختلاف بين متواليات النوكليوتيدات المفردة في الحمض النووي الجينومي الفردي ، والتي يمكن أن توجد في نوع معين من السكان أو الأفراد العاديين (Jiang & Yan, 2021).

يحدث الاختلاف الجيني داخل وبين السكان ، مما يؤدي إلى تعدد الأشكال. تعد الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات المفردة (SNPs) أكثر أنواع التنوعات الجينية شيوعًا. إن SNP هو نوع مختلف من نيوكليوتيد واحد في موضع معين في الجينوم ، وقد يساهم بعضها في تغييرات في الجين ، إما في مناطق الترميز (Exons) أوغير المشفرة (Introns) ، أو المناطق بين الجينات (Ahmad *et al.*, 2018).

وقد تعمل الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات المفردة (SNPs) كوسمات بيولوجية ، إذ يمكن أن ترتبط بالجينات المرتبطة بأمراض معقدة مختلفة ، وتوجد هذه النيوكلوتايد في الغالب داخل الجين أو في منطقة تنظيمية بالقرب من الجين ويمكن أن تؤثر على وظيفة الجين لتلعب دورًا مباشرًا أكثر في المرض ، ومن ثم تسمح النيوكلوتايد للعلماء بتطوير علاج دوائي مرشح من خلال تقييم التركيب الجيني للفرد لتطوير مرض معين (Kaur *et al.*, 2019).

يعد تعدد الأشكال أحادي النوكليوتيدات (SNPs) واحدًا من الاختلافات في الشفرة الوراثية الفردية التي تعد واحدة من أكثر الأشكال شيوعًا لتعديلات النيوكليوتيدات ، ويمكن أن توجد مثل هذه النيوكلوتايد في الجينات المرتبطة بالاستجابة المناعية ، وبالتالي قد يكون لها آثار مباشرة على النمط الظاهري لقابلية الإصابة بالعدوى (Vallejos-Vidal *et al.*, 2020).

تعد النيوكلوتايد (SNPs) أكثر المؤشرات الحيوية فائدة لتشخيص المرض بسبب تواترها المشترك وسهولة التحليل وانخفاض تكاليف التنميط الجيني وإمكانية إجراء دراسات الارتباط بناءً على الأدوات الإحصائية والمعلوماتية الحيوية. وهكذا اكتسبت النيوكلوتايد أهمية كمحركات رئيسة في دراسات ارتباط الأمراض في العصر الحديث ، وشهد العقد الماضي تقدمًا هائلاً في تحديد مئات الآلاف من النيوكلوتايد (SNPs) لتحديد الارتباطات مع الحالات السريرية المعقدة والسمات المظهرية المرتبطة بمئات من الأمراض الشائعة (Wijmenga & Zhernakova, 2018).

علاوة على ذلك ، قد يكون لـ (SNPs) أيضًا تأثير كبير على الاستجابة المناعية تجاه التحديات المسببة للأمراض ونتائج الأمراض ، مما يساهم في مجموعة من القابلية للإصابة بالعدوى بين الأفراد ، وبالتالي ، قد يكون لـ (SNP) دور وقائي ، وقد يؤثر على معدل تطور الأمراض أو حتى نوع الاستجابة المناعية الخلوية التي تثيرها مسببات الأمراض (Skevaki *et al.*, 2015).

وقد يلعب تعدد الأشكال المحفز للجينات IL-4-590 C/T دورًا مهمًا في تطور التهاب الأنف التحسسي ويؤثر على الأعراض السريرية لدى مرضى التهاب الأنف التحسسي ، إذ يمكن أن تؤثر تعدد الأشكال للمواضع الجينية على الكروموسوم (5q) على الاستجابة المناعية التي تتوسطها السيتوكينات وتعزز تطور الحساسية وذلك لان انترلوكين 4 (IL-4) يتوسط الاستجابة التحسسية (Korzycka-zaborowska & Zielińska-bliźniews, 2015) ، وقد أظهرت دراسة أن النمط الجيني TT و CC للجين IL-4 -590C / T SNP قد يشمل عوامل الاستعداد للربو في المرضى العراقيين (Mahmood & Abdulla, 2021).

إنّ تعدد الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات الفردية هي الأشكال الشائعة الموجودة في الجينوم البشري ، وتعدّ سببًا لاضطرابات مختلفة ، إذ يساهم التباين الجيني الموجود في عدد جينات الإنترلوكين التي تؤثر على الداء الكلوي بمراحله الأخيرة بطريقة متغيرة ، فقد لوحظ عدد من الأشكال المتعددة في جينات الإنترلوكين ، وأظهرت العديد من الدراسات أن الأشكال الجينية تلعب دورًا في تطوير الداء الكلوي بمراحله الأخيرة (Vasudevan *et al.*, 2011).

تم توثيق دور العوامل الوراثية في الاستعداد للإصابة بمرض الكلى المزمن ، إذ كشفت دراسات سابقة المساهمة الكبيرة من العوامل الوراثية المضافة في التباين العام في وظائف الكلى فقد كشفت دراسات الارتباط الحديثة على مستوى الجينوم عن أكثر من 100 تعدد من أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) المرتبطة بسمات تعريف مرض الكلى المزمن في عموم السكان (Debiec *et al.*, 2013) ، كما حددت دراسات الارتباط على مستوى الجينوم باستعمال أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) أكثر من 50 موقعًا مرتبطًا بمعدل الترشيح الكبيبي المقدر (eGFR) ، وهو مقياس لوظيفة الكلى (Li *et al.*, 2017).

تم ربط الأشكال المتعددة في جين إنترلوكين 4 (IL-4) بمجموعة متنوعة من الأمراض البشرية ، كما توجد ثلاثة أشكال رئيسة في جين IL4 عند −590 (rs2243250، C /) +33,

T ، منطقة غير مترجمة 5′ وعدد متغير من التكرارات الترادفية (VNTR) Variable Number of Tandem Repeats من 70 نقطة أساس الموجودة في Intron 3 لها من بينها ، تعدد الأشكال الوظيفي C / T 590- ، الموجود في منطقة المروج الجيني IL-4 وقد ثبت أنه يزيد من نشاط النسخ والتعبير عن IL-4 (Emam *et al*., 2019).

وقد أظهرت العديد من الدراسات إنّ تعدد الأشكال في المنطقة المحفزة لـ IL4 -590 C / T (rs2243250) قد يترافق مع القابلية الوراثية لالتهاب الجلد التأتبي والتصلب المتعدد والتهاب المفاصل الروماتويدي والربو التأتبي ، ولم يلاحظ وجود اِرتباط بين تعدد الأشكال IL4 -590C/T (rs2243250) وإعتلال الكلية السكري Diabetic Nephropathy (DN) (Završnik *et al*., 2018). كما أظهرت دراسة صينية الى أرتباط IL-4 بالتسبب في عدوى فايروس الجهاز التنفسي المخلوي Respiratory Syncytial Virus (RSV) والاختلافات الفردية في التعبير الجيني IL-4 قد تلعب دورًا مهمًا في عدوى الجهاز التنفسي المخلوي (RSV) ،إذ إنّ تعدد الأشكال الأكثر شيوعًا للمروج (promoter) في IL-4, −590C/T(rs2243250) حاسمة في التوسط في تأثير عدوى RSV على فرط اِستجابة مجرى الهواء ، وبينت الدراسة قد يكون عرق وهان الصيني قد ساهم بهذا الارتباط بشدة (Zhang *et al*., 2016).

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials
&
Methodology

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

2.المواد وطرائق العمل Materials and Methods

2-1 المواد Materials

2-1-1 المعدات والأدوات Equipment & Instruments

جدول (2-1): الادوات و الأجهزة المختبرية المستعملة

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة/المنشأ
1	أجهزة الطرد المركزي الباردة عالية السرعة High Speed Cold centrifuge	Eppendorf- Germany
2	اسطوانات Cylinders 250,500 ml	HBG - Germany
3	ثلاجة (Refrigerator)	LG- Korea
4	جهاز الأشعة فوق البنفسجية (UV - Transilluminator)	ATTA- Korea
5	جهاز البلمرة الحراري PCR (PCR Thermo cycler apparatus)	Bio Rad -USA
6	جهاز الطرد المركزي (Centrifuge)	Hettich- Germany
7	جهاز الطرد المركزي الصغير (Micro centrifuge)	Germany-Hettich
8	جهاز الطرد المركزي المازج (vortex centrifuge)	Bioneer- Korea
9	جهاز الفايتك 2 (Vitek-2 Compact System)	BioMérieux- France
10	جهاز النانودروب (Nano drop spectrophotometer)	Thermo-USA
11	جهاز تقطير الماء (Water distiller)	GFL- Germany
12	حاضنة (Incubator)	Memmert- Germany
13	حاضنة هزازة (Shaker incubator)	Labtech- Korea
14	حاملات انابيب (Racks)	China
15	حلقة قياسية (Standard loop)	Himedia- India
16	حمام مائي (Water Bath)	Tafesa – Germany
17	دورق زجاجي (Glass Beaker)	Iwaki glass-japan
18	دورق مخروطي (Conical flasks)	BBL- USA

Witeg- Germany	صفيحة تسخين (Hot plate)	19
J.L.CHILDRESS-USA	عبوات ثلج قابلة لإعادة الاستخدام (Reusable Ice Packs)	20
Labconco-USA	غطاء السلامة البيولوجية (Biological Safety Hood)	21
Argose- Germany	فرن الميكروويف (Microwave Oven)	22
PARAMEDICAL-Italy	قارئ الاليزا ELISA Reader	23
Samsung- China	كاميرا رقمية (Digital camera)	24
CYAN- China	مازج (Vortex mixer)	25
Shcheer- Germany	ماصات دقيقة (Micropipettes)	26
Kirsh- Germany	مجمدة (Freezer -20° C)	27
Motic – Germany	المجهر الضوئي (Light microscope)	28
Amal- Germany	مصباح بنزن (Benson burner)	29
Hirayama- Japan	مؤصدة (Autoclave)	30
Sartorius- Germany	ميزان الكتروني حساس (Sensitive electron balance)	31
Biometral- Germany	وحدة الترحيل الكهربائي (Gel electrophoresis)	32

2-1-2 المواد ذات الاستعمال لمرة واحدة Disposable Materials

الجدول (2-2): المواد ذات الاستعمال لمرة واحدة

ت	أسم المادة	الشركة المصنعة/المنشأ
1	EDTA Tube(anticoagulant tube) 5ml	Ab Medical- Korea
2	Gel tubes	Ab Medical- Korea
3	اطباق بلاستيكية (Petri dishes 9cm)	Afco-Dipo – Jordan
4	أطراف الماصة الدقيقة(احجام مختلفة) Micropipette tips(different sizes)	Slamed- Germany
5	أنابيب ابندروف (Eppendorf tubes)	Sartorius – Germany
6	أنابيب الطرد المركزي الدقيقة (Micro Centrifuge tubes)	Biobasic- Canada
7	أنابيب مختبرية (Tubes) حجم 10 ml	Afco-Dispo– Jordan
8	شرائح المجهر (Microscope Slides)	Sail Brand-China
9	شرائط كاشف تحليل البول (Urinalysis reagent strips)	ACON- USA
10	غطاء شريحة زجاجية (Cover slide)	Sail Brand-China
11	قطن طبي (Cotton)	HDA- China
12	قفازات مطاطية (Latex Gloves)	Broche – Malaysia
13	قناني جمع الادرار (Urine Cups)	Firatmer- Turkey
14	ماسحات مع وسط معقم (Sterile Transport Medium Swabs)	Amies- China
15	محاقن معقمة (Sterilized needles)	Afco-Dipo – Jordan
16	مسحات قطنية معقمة (Sterilized cotton swabs)	Afco-Dipo – Jordan
17	أورق ترشيح (Filter papers)	Sartorius – Germany

3-1-2 المواد البايولوجية والكيميائية

Chemical and Biological materials

جدول (2-3): المواد البايولوجية والكيميائية

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة/ المنشأ
1	α- Naphthol (C10H8O)	BDH-USA
2	Tetramethyl p-phenyl diamine-dihydrochloride	BDH-USA
3	الاكاروز (Agarose)	BioBasic-Canada
4	الإيثانول المطلق (Absolute Ethanol)	Scharlau-Spain
5	بيروكسيد الهيدروجين(H_2O_2) Hydrogen peroxide	Himedia-India
6	سلم الدنا (DNA Marker Ladder 100bp)	INtRON - Korea
7	صبغة بروميد الايثيديوم 10mgLml(Ethidium Bromide stain)	Promega – USA
8	كاشف الاوكسيديز(Oxidase reagent)	Himedia-India
9	كاشف أوكسيديز(Oxidase reagent)	Himedia - India
10	كاشف باريت(Barritt's reagent)	Himedia -India
11	كاشف كوفاتش التجاري(Commercial Kovac’s reagent)	Himedia - India
12	كليسيرول Glycerol ($C_3H_8O_3$)	BDH-England
13	ماء منزوع الايونات (Nuclease Free Water)	Bioneer-Korea
14	المحلول الملحي الفسلجي (Normal saline)	Pioneer – Iraq
15	محلول منظم Tri-Borate EDTA Buffer (TBE Buffer) 10X	BioBasic-Canada
16	الميثيل الأحمر(Methyl red)	Siga - England
17	هيدروكسيد البوتاسبوم Potassium Hydroxide (KOH)	England -GCC

4-1-2 الأوساط الزرعية Culture Media

جدول (2-4): الاوساط الزرعية المستعملة في الدراسة وفقا لما جا بة (McFadden, 2000).

ت	اسم الوسط	الشركة المصنعة/ المنشأ	الغرض من الاستعمال
1	وسط (Methyl Red-Voges Proskauer) MR-VP Medium	Oxoid- UK	استعمال للكشف عن التحلل المائي الجزئي والكامل للجلوكوز(Glucose).
2	الوسط المغذي السائل Nutrient Broth	Hi-media – India	استعمال هذا الوسط لغرض لزراعة وتنشيط البكتريا.
3	الوسط المغذي الصلب Nutrient Agar	Hi-media – India	استعمال لزراعة البكتريا التي لا تتطلب ظروف خاصة للنمو.
4	وسط الملح وسكر المانتول Manitol Salt Agar	Hi-media – India	استعمال هذا الوسط لعزل وتشخيص البكتريا من حيث قابليتها على تحمل ملوحة الوسط فضلا عن قابليتها على تخمر سكر المانيتول وتحويل لون الوسط الى الاصفر.
5	وسط خلاصة القلب والدماغ السائل – Brain Heart Infusion Broth	Hi-media – India	استعمال هذا الوسط لغرض تنشيط البكتريا وحفظ العزلات البكتيرية لفترة طويلة بعد اضافة 15%من الكليسرين الى 85 % من الوسط ثم تخزينها في درجة حرارة -20 درجة مئوية لمدة من 8-6 شهر.
6	وسط سيمون سترات Simmons Citrate Agar	Hi-Media/India	استعمال لتحديد قدرة البكتيريا على استخدام السترات كمصدر وحيد للكربون.
7	وسط غراء الدم Blood Agar Media	Hi-media – India	استعمال هذا الوسط كوسط اثراء لزراعة العزلات البكتيرية واختبار قدرة البكتريا المعزولة على تحليل الدم وتحديد نوع التحليل.
8	وسط غراء اليوريا الاساسي Urea Agar Base	Hi-media – India	تم استعمال لاختبار قدرة البكتيريا على انتاج انزيم اليوريز.
9	وسط ماكونكي MacConkey Agar Media	Hi-media – India	استعمال هذا الوسط للعزل الاولي لمعظم البكتريا السالبة لصبغة غرام لاحتوائه على صبغة Crystal Violet وتشخيصها من حيث قابليتها على تخمر سكر اللاكتوز.
10	وسط مياة الببتون Peptone Water Medium	Oxoid- UK	استعمال هذا الوسيط لاختبار قدرة البكتيريا على تصنيع حلقة إندول من التربتوفان(Tryptophanase).

5-1-2 الكواشف والمحاليل Reagents and Solutions

الجدول (2-5): الكواشف والمحاليل وطرائق تحضيرها والغرض من استعمالها وفقاً لما ذكر في (Macfaddin, 2000 ; Vo- *et al*., 2008 ; Forbes *et al*., 2007 ; Becker *et al*., 2014)

ت	اسم الكاشف	الغرض من الاستعمال	طريقة التحضير
1	كاشف الكاتليز(Catalase Reagent)	للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج انزيم الكاتليز.	حضر هذا الكاشف بأذابة 3 ml من مادة بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide (H_2O_2) مع 100ml في الماء المقطر للحصول على تركيز 3 %.
2	كاشف الاوكسيديز (Oxidase Reagent)	اسعمال هذا الكاشف في التحري عن قابلية البكتريا على انتاج انزيم الاوكسيديز.	حضر الكاشف بإذابة1 غم من مادة رباعي مثيل بارافنيلين ثنائي امين ثنائي هيدروكلورايد(Tetramethyl P-phenylen diamine dihydrochloride) في 100 مل من الماء المقطر في قنينة معتمة.
3	كاشف Voges-Proskauer(VP) indicator	استعمال هذا الكاشف للتحقق من قدرة البكتيريا على تحلل السكريات جزئيًا.	يتكون هذا الكاشف من محلولين: 1- Alpha- naphthol (5%) يتم تحضيره عن طريق إذابة 5 غم من α –naphthol في 100 مل من الكحول المطلق. 2- KOH (%40) محضر بإذابة 40 غم من KOH في 100 مل ماء مقطر.
4	كاشف كوفاتش(Kovac's reagent)	تم استعمال هذا الكاشف للكشف عن إنتاج الإندول	حضر بإذابة 5 غم من (p-dimethyl aminebenz aldehyde) في 75 مل من كحول amyle ثم يضاف 25 ml من (HCL) المركز.
5	كاشف الميثيل الأحمر Methyl Red Reagent	تم استعمال هذا الكاشف لاكتشاف قدرة البكتيريا على إنتاج الحمض كمنتج نهائي للتحلل الكامل للسكريات.	تم تحضيره بإذابة0.1 غرام من الميثيل الأحمر في 300 مل من (96٪) إيثانول وتم إكمال الحجم إلى 500 مل في الماء المقطر.

6-1-2 العدد الجاهزة Prepared Kits

الجدول (2-6) العدد المستعملة في الدراسة

ت	العدد	العدد	الغرض من الأستعمال	الشركة المصنعة
1	عدة صبغة غرام (Gram Stain Kit)	2	تشخيص البكتريا	Hi-media-India
2	VITEK-2 GN card	68	لتشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام	BioMérieux-France
3	VITEK-2 GP card	22	لتشخيص البكتريا الموجبة لصبغة غرام	BioMérieux-France
4	Human Interleukin 4 ELISA Kit	2	التحديد الكمي IL-4	BT-LAB- China
5	عدة استخلاص DNA الجينومي Genomic Extraction kit	2	عدة استخلاص D NA	Geneaid- Taiwan
6	GoTaq® G2 Green Master Mix kit	4	فحص AS-PCR	Promega- Korea
	Taq DNA polymerase			
	dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, (dTTP			
	Tris.HCl pH 9.0			
	KCl			
	MgCl2			
	Loading dye			

7-1-2 البادئات Primers

تم تصميم البادئات (AS- PCR) الخاصة بتحديد النمط الوراثي الجيني لل IL-4-590 C>T gene polymorphism (rs2243250) وفقاً الى (Alsaid *et al.*, 2013). تم توفير هذا البادئات من قبل شركة (Macrogen-South Korea) كما مبين في الجداول الأتية:

الجدول (2-7) : بادئات (AS- PCR) بتسلسلها وحجم ناتج PCR

Primer	Sequence (5'-3')	Product size
T allele forward primer	ACACTAAACTTGGGAGAACATTGTT	224bp
C allele forward primer	ACACTAAACTTGGGAGAACATTGTC	
Common Reverse Primer	GAATTTGTTAGTAATGCAGTCCTCC	

***bp= base pair**

2-2 طرائق العمل Methods

2-2-1 المرضى Patients

تضمنت الدراسة مجموعة من المرضى المراجعين إلى مستشفى الإمام الحسين(ع) التعليمي في محافظة كربلاء المقدسة ، ومستشفى الديوانية التعليمي في محافظة القادسية. واِعتمادًا على التشخيص الطبي من قبل الاطباء الاختصاص لأمراض الكلى ، وأطباء أمراض الجهاز البولي تم اختيار المرضى لغرض إتمام الدراسة (التي كانت من نوع مقارنة مجموعة المرضى بمجموعة السيطرة). إذ تم جمع عينات الدم والإدرار من 135 مريضًا خلال المدة الممتدة من شهر إذار إلى شهر تموز 2021 تراوحت أعمارهم بين (16-85) سنة. وقسم المرضى إلى ثلاثة مجاميع متساوية إذ شملت المجموعة الأولى 45 مريضًا من المرضى المصابين بالفشل الكلوي ، في حين ضمت المجموعة الثانية 45 مريضًا من المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية ، وأماّ المجموعة الثالثة فشملت 45 مريضًا من المرضى المصابين بالتهاب المسالك والفشل الكلوي معأ . كما جمعت المعلومات الخاصة لكل مريضٍ وبحسب المعلومات المثبتة في ورقة الاستبيان في الملحق رقم(1).

2-2-2 جمع العينات السريرية Collection of Clinical Samples

2-2-2-1 جمع عينات الإدرار Collection of Urine Samples

اِستعملت عبوات معقمة سعة 10 مل لغرض جمع عينات الإدرار الوسطية ، أو القسطرة عبر الإحليل من المرضى قيد الدراسة ، ومن مجموعة السيطرة تم تقسيم كل عينة إدرار إلى قسمين ، وتم إجراء فحص الإدرار العام (General Urine Examination) للقسم الاول من العينة بعد إدخالها بجهاز الطرد المركزي بسرعة دوران (1500 دورة / دقيقة) لخمس دقائق لحساب خلايا القيح (Pus cells) ، وكريات الدم الحمراء (Red Blood Cells (RBCs ، وعدد الخلايا الظهارية (Epithelial cell count) ، والبلورات (Crystals) وذلك للتأكد من الاصابة بالتهابات المسالك البولية لدى المرضى قيد الدراسة.

أماّ القسم الثاني فقد تم زرعهُ على الأوساط الزرعية العامة والأنتقائية مثل وسط غراء الدم (Blood agar) ووسط غراء الماكونكي (MacConkey agar) لغرض عزل الاحياء المجهرية المسببة لالتهابات المسالك البولية ، إذ حضنت الأطباق هوائيا عند 37 درجةً مئويةً لمدة 18-24 ساعةُ في الحاضنة ، وبعد اِنتهاء مدة الحضن تم تشخيص العزلات البكتيرية النامية باستعمال الفحوصات المظهرية (Morphology Tests) والمجهرية(Microscopic Tests) فضلا عن الفحوصات البايوكيميائية (Biochemical Tests). كما تم تأكيد تشخيص البكتريا المعزولة باستعمال نظام الفايتكس (Vitek-2 Compact System) واستعمال بطاقات موجبة غرام (Gram-Positive cards) ، وبطاقات سالبة غرام (Gram-Negative cards) لتحديد أنواع العزلات البكتيرية وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة (Karagöz *et al*., 2015).

2-2-2-2 مجموعة السيطرة Control groups

وجمعت عينات الدم والإدرار من 45 فردًا صحيحًا خالي من الإصابات المزمنة والحادة والأمراض المناعية بموجب الفحص الطبي العياني والسريري كمجموعة سيطرة.

3-2-2-2 جمع عينات الدم Collection of Blood Samples

جمع 5 مل من الدم الوريدي بعد وضع سداد الأوردة (Tourniquet) مباشرة على الجلد حول الذراع وتعقيم الجلد فوق الوريد بكحول الاثيل بنسبة 70% لكل فرد من المرضى والاصحاء قبل جمع عينات الدم . ثم قسمت عينات الدم المجموعة الى قسمين حيث تم نقل الجزءالاول(1مل) من الدم الى الانابيب الحاوية على مانع التخثر Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid (EDTA) وخزن عند 20- درجة مئوية لاستعماله في استخلاص الحمض النووي DNA ، في حين وضع (4 مل) من الدم في أنبوب حاوية على الجل (Gel tube) وترك حوالي 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة يتخثر ثم طرد باستعمال جهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق عند 1000 دورة/دقيقة لغرض فصل المصل ، بعدها جمع المصل في أنابيب إيبندورف (Eppendorf tubes) معقم وحفظ بالتجميد عند درجة 20- درجة مئوية لغرض استخدامه في أجراء الفحوصات المناعية لاحقا.

3-2-2 الموافقة الاخلاقية Ethical Approval

جمعت العينات من الأشخاص البالغين بعد موافقتهم في استعمال العينات لغرض البحث العلمي في هذه الدراسة ، وتم اجراء هذا البحث حسب التعليمات الرسمية الخاصة بموافقة لجنة أخلاقيات البحث في دائرة صحة الديوانية حسب الكتاب المرقم 438 في 2021/2/14 ودائرة صحة كربلاء المقدسة حسب الكتاب المرقم 419 في 2021/3/9 .

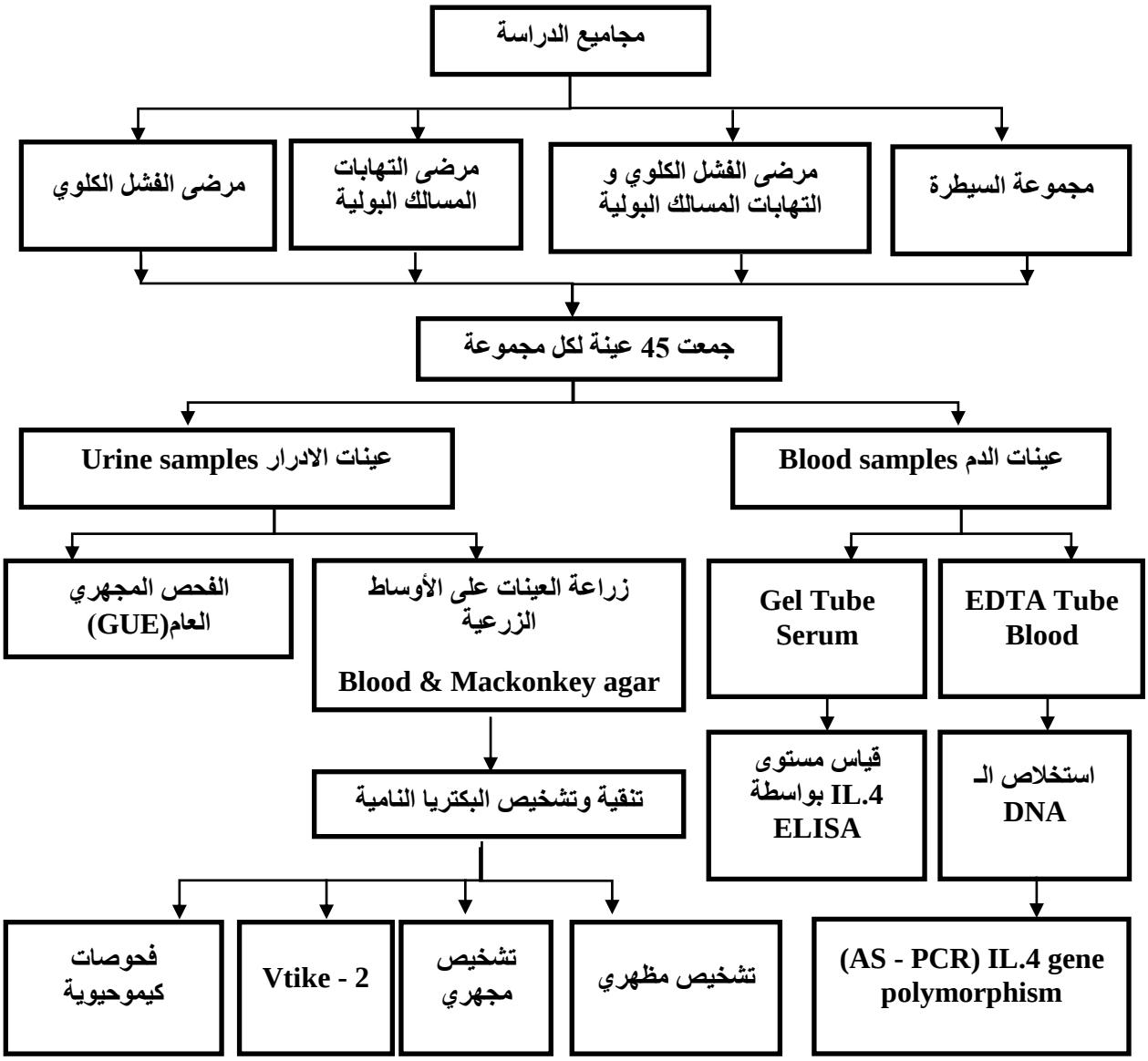
4-2-2 معايير الاشتمال Inclusion Criteria

تم انتقاء المرضى المشمولين بالدراسة (المصابين بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي سويةً أو بصورة منفردة) اعتمادا على التشخيص السريري من قبل الاطباء الاختصاص ونتائج الفحوصات المختبرية.

5-2-2 معايير الاستبعاد Exclusion Criteria

تم استبعاد المرضى كافة المصابين بواحد من الامراض المزمنة (كضغط الدم وداء السكري) وأمراض المناعة الذاتية (Autoimmune Diseases) والمرضى المصابين بمختلف الاصابات البكتيرية والفايروسية في مواقع الجسم الاخرى.

6-2-2 تصميم الدراسة Design Of The Study



شكل (2-1) تصميم الدراسة

2-2-7 تحضير الأوساط الزرعية Preparation of Culture Media

تم تحضير الأوساط الزرعية كافة المثبتة في جدول رقم (2-4) والمعتمدة في الدراسة الحالية على وفق التعليمات المثبتة من قبل الشركات المصنعة ، وتم استعمال فرن الميكروويف (Microwave Oven) لإذابة جميع المكونات تمامًا للأوساط كافة ثم تعقيمها باستعمال المؤصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة تحت ضغط بخار يساوي { 1.1 kg/cm^2 =15(lbs/in2) } ، ثم بردت الأوساط ووزعت في أنابيب معقمة أو أطباق بتري ثم تحضن الأوساط عند 37 درجة مئوية ل 24 ساعةً للتاكد من النقاوة والتعقيم (MacFaddin, 2000).

2-2-7-1 وسط غراء الدم Blood Agar Medium

تم تحضير وسط غراء الدم حسب تعليمات الشركة المصنعة ، وبعد إكمال عملية التعقيم بالمؤصدة تم تبريد الوسط إلى (40-45) درجة مئوية ثم أضيف 5٪ من دم الإنسان الطازج ،ويستعمل هذا الوسط لغرض تحديد قدرة البكتريا المعزولة على تحليل الدم وتحديد نوع التحلل (Collee *et al*., 2006).

2-2-7-2 وسط غراء اليوريا Urea Agar Medium

حضر هذا الوسط بإذابة 24 غم من قاعدة الوسط (Urea agar basce) في لتر واحد من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة (autoclave) وبعد التبريد الى درجة (45) درجة مئوية تم أضافة 50 مل من محلول اليوريا بتركيز(40%) المعقم بالترشيح باستخدام أوراق ترشيح بحجم 0.2 Mm وبعد المزج. تم استخدامه لاختبار قدرة البكتريا على انتاج انزيم اليوريز(Urease) (MacFaddin, 2000).

2-2-8 تشخيص البكتريا المعزولة Identification of Bacterial Isolates

2-2-8-1 التشخيص المظهري والمجهري Morphologic and Microscopic Identification

تم الحصول على مزروع نقي للأجناس البكتيرية النامية في المزروع الأولي لعينات الإدرار من خلال أخذ مستعمرة منفردة وإعاده زرعها على مجموعة من الأوساط الزرعية الانتقائية (Blood Agar, MacConckey Agar, Mannitol Salt Agar) ، وإجراء

التشخيص المبدئي لها بالاعتماد على الصفات المظهرية و المزرعية (تحلل الدم- تخمر اللأكتوز - المانيتول – شكل المستعمرة- حجمها- لونها وقوامها) ، كما تم التعرف على شكل الخلايا البكتيرية باستعمال صبغة غرام ، وذلك من خلال حمل مسحة بكتيرية وتثبيتها على السلايد زجاجي وتصبيغة بصبغة غرام لغرض تحديد شكل الخلايا الجرثومية وتفاعلها مع الصبغة تحت المجهر الضوئي وتستعمل للتميز بين البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة غرام (Collee *et al*., 2006).

2-2-8-2 الفحوصات البايوكيميائية Biochemical Tests

أجريت الاختبارات البايوكيميائية وفقًا للطرق المذكورة في (MacFaddin, 2000) (Collee *et al*., 2006).

2-2-8-2-1 محلول صبغة غرام Gram Stain Solutions

جهزت محاليل صبغة غرام (Crystal Violate, Iodine, Alcohol,Safranin) بحسب تعليمات الشركة المصنعة (Hi-media-India) وتم استعمالة للتمييز بين البكتيريا موجبة الجرام والبكتيريا سالبة الجرام ودراسة الخصائص المظهرية للبكتريا المعزولة (Collee *et al*., 2006).

2-2-8-2-2 إختبار الكاتلايز Catalase Test

نقلت مستعمرة بعمر (18-24) ساعة باستخدام أعواد خشبية الى سطح سلايد زجاجي نظيف ثم نضع فوقها قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide بتركيز 3 % ان تكون فقاعات هوائية دليل على إيجابية الفحص ، وتم استعمال الكاشف لاختبار قدرة البكتيريا على إنتاج إنزيم الكاتاليز (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-3 إختبار الاوكسيديز Oxidase Test

شبعت ورقة ترشيح بمحلول الاوكسيديز تماما ثم نقلت مستعمرة بكتيرية بعمر(18-24) ساعة عليها باستخدام أعواد خشبية أن تحول لون المستعمرة الى اللون البنفسجي خلال 10 ثواني دلالة على إيجابية الفحص ، وتم استعمال هذا الاختبار للتعرف على وجود إنزيم أوكسيديز في البكتيريا (Tille, 2014).

2-2-8-2-4 اِختبار الأندول Indole Test

أضيفت من قطرة الى قطرتين من كاشف كوفاكس (Kovacs reagent) إلى وسط ماء البيتون المزروع بالعزلة البكتيرية المراد فحص قابليتها على إنتاج الاندول ل 24 ساعة في درجة 37 درجة مئوية فإنّ تكون الحلقة الحمراء في الوسط دلالة على إيجابية الفحص ، بينما تكون الحلقة الصفراء دلالة على سلبية الفحص (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-5 اِختبار انزيم التجلط Coagulase Test

تم اختبار العينات باستخدام بلازما الانسان إذ تم وضع 0.2 مل من البلازما مخففة مع 1.8 مل مع محلول ملحي عادي وتم اضافة 0.1 مل من المعلق البكتيري الى 0.4 مل من البلازما المخففة ، ثم حضنت عند 37 درجة مئوية لمدة 4 ساعات من اجل التميز بين المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* التي تنتج انزيم Coagulase عن بكتريا *S. saprophyticus* غير المنتجة للأنزيم. إنّ حصول التجلط خلال فترة الحضن دلالة على ايجابية الفحص (Becker *et al*., 2014).

2-2-8-2-6 اِختبار (VP) Voges-Proskauer Test

1- تم تلقيح عزلة بكتيرية صغيرة في مرق Methyl Red-Voges Proskauer وحضنت لمدة(18-24) عند 37 درجة مئوية.

2- أضيف بضع قطرات من الكاشف (Voges-Proskauer) إلى أنبوب الاختبار.

إنّ ظهور صبغة وردية في غضون 20 دقيقةً دلالة على إيجابية الفحص ، إذ يشير اللون الأحمر الكرزي إلى نتيجة إيجابية ، بينما يشير اللون الأصفر البني إلى نتيجة سلبية (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-7 اِختبار الميثيل الأحمر Methyl Red Test

1- لقح مرق Methyl red-Voges Proskauer بالعزلة الجرثومية المراد فحصها وحضنت لمدة(18-24)عند 37 درجة مئوية.

2- أضيفت بضع قطرات من كاشف الميثيل الاحمر إلى أنبوب الاختبار.

يشير ظهور اللون الأحمر او البرتقالي إلى النتيجة الإيجابية والتي تدل على قدرة البكتيريا على انتاج الأحماض المختلفة من تخمر الجلوكوز(Glucose).

- يستعمل هذا الاختبار للتميز بين *E.coli* ومجموعة Enterobacter groups مثل *Klebsiella pneumonia* (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-8 اِختبار سيمون ستريت Simmons Citrate Test

لقحت أنابيب الوسط المائلة بالبكتريا المراد تحديد قابليتها الى استهلاك السترات كمصدر وحيد للكاربون ثم حضنت عند درجة 37 م ل 24-48 ساعة ويعُدّ تغير لون الوسط من الاخضر الى الازرق دلالة على ايجابية الفحص (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-9 اِختبار انتاج اليوريا Urease Test

زرعت البكتيريا المراد فحص قابليتها على إنتاج أنزيم Urease في وسط اليوريا، وحضنت ل 24-48 ساعة عند درجة حرارة 37 م إنّ تغير لون الوسط الى اللون الوردي دلالة على أيجابية الفحص والاشارة الى تحطيم اليوريا وتحرر الامونيا (MacFaddin, 2000).

2-2-8-2-10 اِنتاج السموم الحالة للدم Hemolysis Production

حددت قابلية البكتريا المعزولة على تحليل خلايا الدم الحمر وبيان نوع التحلل حول المستعمرات النامية بعد زرع العزلات البكتيرية على وسط غراء الدم الصلب وحضنها ل 24ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية (Collee *et al*.,2006).

2-2-8-3تشخيص البكتريالمعزولة باستعمال جهاز الفايتك Vitek-2 Compact

Bacterial Identification Using Vitek-2 Compact System

تم تشخيص العزلات البكتيرية بايوكيميائيًا على وفق تقرير نتائج نظام Vitek 2 الالي، وبحسب تعليمات الشركة المصنعة (BioMerieux Company: France) تم تحضير المعلق البكتيري وذلك بنقل كمية من المستعمرات البكتيرية المراد تشخيصها من مزرعة نقية تم تنقيتها مسبقًا بعمر(18-24) ساعة إلى3 مل من محلول ملحي معقم (Sterile Saline) {محلول كلوريد الصوديوم بتركيز(0.45%)} ، وتم ضبط العكورة باستعمال جهاز ضبط العكورة

(Densi –Chek) الى 0.5 ماكفرلاند (McFarland) للبكتريا السالبة لصبغة كرام و 0.63 ماكفرلاند (McFarland) للبكتريا الموجبة لصبغة كرام ، إذ يتم تشخيص البكتريا السالبة لصبغة كرام بالكاسيت Gram Negative identifier (GN-ID) والبكتريا الموجبة لصبغة كرام بالكاسيت Gram Positive identifier (GP-ID) وهي نظام مغلق تمامًا لا يلزم اضافة أي كواشف ألية. تم وضع البطاقة على الكاسيت المصمم للاستعمال مع نظام Vitek - 2 ، ووضعه في الجهاز ، وملؤه تلقائيًا في غرفة مفرغة ، ومحكمة الإغلاق ، وحضانته عند 35.5 درجة مئوية ، ويخضع تلقائيًا للقياس اللوني (بقراءة جديد) كل 15 دقيقة لمدة حضانة أقصاها 8 ساعات. تم تحليل البيانات باستعمال قاعدة بيانات Vitek - 2 ، والتي تسمح بتحديد الكائن الحي بشكل نشط ابتداءً من 180 دقيقة بعد بدء الحضانة (Karagöz *et al.*, 2015).

9-2-2 حفظ العزلات البكتيرية Preservation of Bacterial Isolate

حفظت العزلات البكتيرية لفترة قصيرة الأمد في الثلاجة 4 درجة مئوية ، وذلك بعد زراعتها في أنابيب اختبار مائلة (Slants) حاوية على الوسط المغذي الصلب(Nutrient agar) ، وحضانتها ل 18 ساعة في درجة حرارة 37 درجة مئوية ، إذ يتم تجديد هذه المزارع كل شهر ، كما تم حفظ العزلات البكتيرية لفترات طويلة الأمد (4 - 6) أشهر باستخدام الوسط المغذي السائل Brain – Heart infusion broth المدعم ب 15 % من الكليسيرول بدرجة 20- درجة مئوية (Collee *et al.*, 2006).

10-2-2 قياس مستوى IL-4 في مصل مجاميع الدراسة

Measurement of the level of IL-4 in the serum of the study groups

1-10-2-2 مبدأ الاختبار Test Principle

يعتمد هذا الاختبار أساسًا على طلاء الجدار الداخلي للحفر الصغيرة في صفيحة الفحص بالأجسام المضادة المتخصصة للانترلوكين الرابع (IL-4) ، فعند إضافة العينة الايجابية الحاوية على IL-4 سيحصل ارتباط متخصص ، ثم يضاف بعدها الأجسام المضادة المتخصصة للانترلوكين 4 والمعاملة حيويا والمرتبطة بالانزيم حاصلاً بذلك اِرتباط متخصص بينهما وبين

الانترلوكين 4 في العينة الايجابية. ثم يضاف Streptavidin-HRP ، ويرتبط بالجسم المضاد المعامل الحيوي (Biotinylated) ل IL-4 . بعد مدة الحضانة ، يتم غسل Streptavidin-HRP غير المربوطة أثناء خطوة الغسيل ، ثم يضاف محلول الركيزة ويتطور اللون بما يتناسب مع كمية IL-4 البشرية. ينتهي التفاعل بإضافة محلول التوقف الحمضي ويقاس الامتصاص عند (450 nm). وتم استعمال Human Interleukin 4 (IL-4) ELISA في هذه الدراسة من أجل التحديد الكمي لـ IL-4 من عينات مصل التحكم للمرضى والأصحاء وتم إجراؤها على وفق تعليمات الشركة (BT-LAB- China) على النحو الأتي :

2-10-2-2 محتويات العدة ELISA Kit Contents

تحتوي العدة التشخيصية الخاصة IL-4 على مجموعة مكونات مبينة في الجدول رقم (2-8)

Components	Quantity
Standard Solution (1280ng/L)	0.5ml x1
Pre-coated ELISA Plate	12 * 8 well strips x1
Standard Diluent	3ml x1
Streptavidin-HRP	6ml x1
Stop Solution	6ml x1
Substrate Solution A	6ml x1
Substrate Solution B	6ml x1
Wash Buffer Concentrate (25x)	20ml x1
Biotinylated human IL-4 Antibody	1ml x1
User Instruction	1
Plate Sealer	2 pics
Zipper bag	1 pics

3-10-2-2 تحضير المحاليل Reagents Preparation

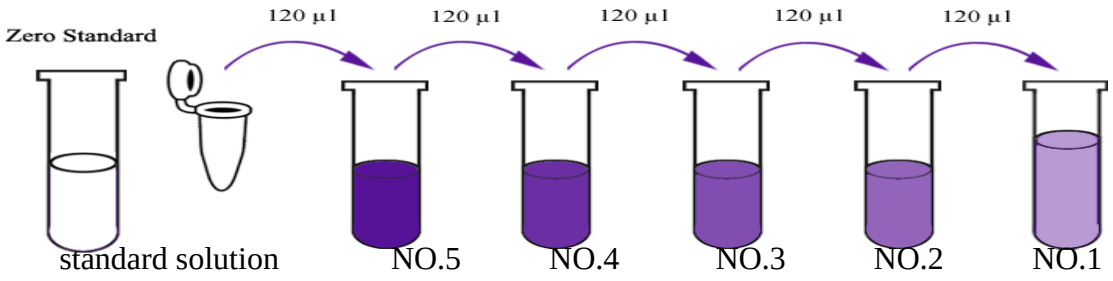
حضرت الكواشف في العُدد وفقًا لتعليمات الشركة المجهزة وكما يلي :

1- حضرت جميع الكواشف والمحاليل القياسية وتهيئتها في درجة حرارة الغرفة قبل الاستعمال.

2- حضر120µl من المحلول القياسي بـ 120µlمن المادة المخففة القياسية لتوليد محلول مخزون قياسي 640ng/L. ترك المحلول القياسي لمدة 15 دقيقة مع التحريك اللطيف قبل إجراء التخفيفات. حيث حضرت التخافيف 320ng/L ، 160 ng/L، 80 ng/L، 40ng/L. بإستعمال مادة مخففة قياسية تمثل المعيار الصفري(0 ng/L) كما مبين في الجدول (2-9).

الجدول (2-9): المحاليل القياسية للانترلوكين IL-4

Standard Numbers	Concentration	Solutions
Standard No. 5	640 ng/L	120µl Original Standard + 120µl Standard Diluent
Standard No. 4	320 ng/L	120µl Standard No.5 + 120µl Standard Diluent
Standard No. 3	160 ng/L	120µl Standard No.4 + 120µl Standard Diluent
Standard No. 2	80 ng/L	120µl Standard No.3 + 120µl Standard Diluent
Standard No. 1	40 ng/L	120µl Standard No.2 + 120µl Standard Diluent



الشكل (2-2): التخفيف التسلسلي للمحلول القياسي

الجدول (2-10): التخفيف التسلسلي للمحلول القياسي

Standard Concentration	Standard No.5	Standard No.4	Standard No.3	Standard No.2	Standard No.1
1280 ng/L	640 ng/L	320 ng/L	160 ng/L	80 ng/L	40 ng/L

3- خفف محلول الغسيل المركز 25X الى تركيز1x في الماء المقطر للحصول على 500 مل من محلول الغسل Wash Buffer.

4-10-2-2 خطوات العمل Assay Procedure

1- وضعت كل الكواشف والمحاليل في درجة حرارة الغرفة قبل الاستعمال إذ تم إجراء الفحص في درجة حرارة الغرفة.

2- أضيف 50 مايكرولتر من التخفيف التسلسلي القياسي إلى الحفرة (well) القياسية غير الحاوية على جسم مضاد لأن المحلول القياسي يحتوي على جسم مضاد حيوي.

3- تمت إضافة 40µl من العينة لكل حفرة ثم أضيف 10µl من الأجسام المضادة لـ IL-4 لأخذ عينات من الحفرة ثم تمت إضافة 50µl من Streptavidin-HRP إلى عينات الحفرة والحفرة القياسية.

4- مزجت المكونات جيدًا وغطيت اللوحة باستخدام مادة مانعة للتسرب ، ثم حضنت ل 60 دقيقة عند 37 درجة مئوية.

5- أزيلت المادة المانعة للتسرب وغسل اللوحة 5 مرات باستعمال محلول غسيل مؤقت وبواقع 30 ثانية إلى دقيقة واحدة لكل غسلة.

6- أضيف 50µl من محلول الركيزة A إلى كل حفرة ثم أضيف 50µl من محلول الركيزة B إلى كل حفرة .

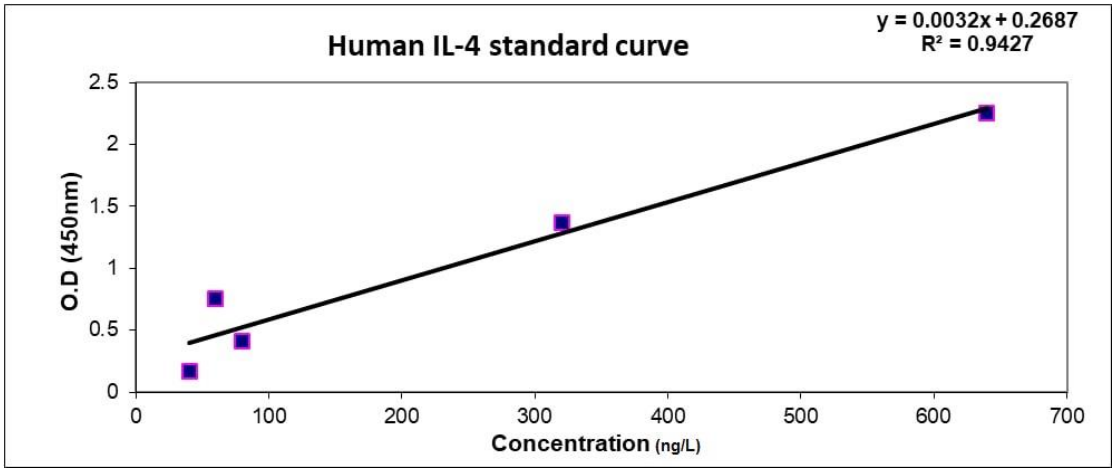
7- غطيت اللوحة بمادة مانعة للتسرب جديدة وحضنت ل 10 دقائق عند 37 درجة مئوية في الظلام.

8- أضيف 50µl من محلول التوقف لكل حفرة ، وملاحظة تحول اللون الأزرق إلى اللون الأصفر على الفور.

9- تم تحديد قيمة الكثافة الضوئية (OD) باستعمال قارئ صفيحة ميكروسكوبية مضبوطة على 450 نانومتر في غضون 10 دقائق بعد إضافة محلول الإيقاف.

5-10-2-2 حساب النتائج Calculation of Result

تم حساب تركيز العينات بالاعتماد على المنحني القياسي الذي يمثل العلاقة بين التراكيز القياسية للانترلوكين IL-4 على المحور السيني التركيز(Concentration) وعلى الصادي الامتصاصية(Optical Density) والتي تكون بشكل خط مستقيم كما موضح بالشكل (2-3).



الشكل (2-3): المنحى القياسي ل IL-4

11-2-2 التشخيص الجزيئي Molecular Diagnosis

1-11-2-2 إستخلاص الحمض النووي الجيني Extraction Genomic DNA

a- مكونات العدة Kit Components

الجدول (2-11): مكونات عدة استخلاص الحمض النووي الجيني

Kit	Company	Country
gSYAN DNA Extraction Kit	**Geneaid**	**Taiwan**
GST buffer		
GSB buffer		
W1 buffer		
Wash buffer		
Elution buffer		
GD column		
Collection tube 2ml		
Proteinase K 10mg/ml		

b- خطوات الاستخلاص Extraction Steps

تم استخلاص الحمض النووي الجيني من عينات الدم(دم مجمد) باستعمال عدة استخلاص DNA على وفق تعليمات الشركة المصنعة Geneaid. Taiwan وعلى النحو التالي :

1. نقل 200µl من الدم المجمد إلى أنبوب معقم صغير بحجم 2 ml ثم أضيف لها 30µl من Proteinase K وخلطت بواسطة جهاز المازج (Vortex). وحضنت عند 60 درجة مئوية ل 5 دقائق .

2. أضيف 200µl من محلول التحلل GSB إلى كل أنبوب وخلط بواسطة المازج الكهربائي (Vortex) بعدها حضنت الأنابيب جميعها عند 70 درجة مئوية ل 10 دقائق ، وتم تحريكها كل 3 دقائق خلال أوقات الحضانة.

3. أضيف 200µl من الإيثانول المطلق إلى كل انبوب وخلطها على الفور بالرج المستمر.

4. وضع عمود مرشح DNA في أنبوب تجميع سعة 2 ml ونقل كل الخليط (بما في ذلك الراسب) إلى عمود الترشيح ، ثم طرد مركزيا عند 10000 دورة في الدقيقة ل 5 دقائق ، بعدها أهمل أنبوب التجميع الذي يحتوي على الراشح ووضع عمود الترشيح في أنبوب تجميع جديد سعة 2 ml.

5. أضيف 400µl من محلول W1 إلى العمود المرشح الحاوي على الحمض النووي وطرد مركزيًا عند 10000 دورة في الدقيقة ل 30 ثانية. عندها تم التخلص من الراشح في أنبوب الجمع ووضع العمود مرة أخرى في إنبوب الجمع سعة 2 ml.

6. أضيف 600µl من محلول الغسيل (الإيثانول) إلى كل عمود. ثم طرد مركزياً عند 10000 دورة في الدقيقة لمدة 30 ثانية. وتم التخلص من الراشح ووضع العمود مرة أخرى في أنبوب جمع سعة 2 ml.

7. طردت الأنابيب جميعها بجهاز الطرد المركزي مرة أخرى لمدة 3 دقائق عند 10000 دورة في الدقيقة لتجفيف عمود الترشيح.

8. نقل عمود مرشح DNA المجفف إلى أنبوب طرد مركزي نظيف سعة 1.5 ml وأضيف 50 µl من محلول الأذابة المسخن مسبقًا في جهاز الحمام المائي(Water Bath).

9. تركت الأنابيب ل 5 دقائق على الأقل لضمان امتصاص محلول الشطف بواسطة عمود الترشيح ، ثم طرد مركزيًا عند 10000 دورة في الدقيقة لمدة 30 ثانية لاستخراج الحمض النووي المنقى في أنبوب الجمع.

c- تقدير الحمض النووي الجيني Genomic DNA Estimation

تم فحص الحمض النووي الجيني للدم المستخرج باستعمال مقياس الطيف الضوئي النانوي (Nano drop Spectrophotometer) ، والذي يقيس تركيز الحمض النووي (ng/µL) والتحقق من نقاء الحمض النووي من خلال قراءة الامتصاصية عند (280/ 260 nm) على النحو التالي:

1- شغل جهاز (Nano drop spectrophotometer) واختير التطبيق المناسب (Nucleic acid, DNA).

2- أخذ ماسحة جافة لتنظيف قواعد القياس عدة مرات ، ثم اضيف 2µl من ماء منزوع الأيونات (Nuclease Free Water) بعناية على سطح قواعد القياس السفلية لتنظيف وتفريغ النظام.

3- حددت نقاوة عينات (DNA) المستخلص بقراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طولين موجيين (260 و 280) نانومتر ، إذ إنّ الحامض النووي المستخلص يعد نقي عندما تكون نسبة الامتصاصية (1.8- 1.9) (Viljoen *et al*., 2006).

2-2-11-2 تفاعل البلمرة المتسلسل لتضخيم الحمض النووي

PCR Amplification DNA

حضر عالق البوادى **Preparing the Primers Syspension**

حضرت المحاليل الاساسية للبادئات Stock Solution اعتمادا على تعليمات الشركة المصنعة (Macrogen-South Korea) ، وذلك من خلال إذابة كل بادى من البادئات في محلول TE ذي دالة هيدروجينية 8 وبحسب الحجم الموصى بة من قبل الشركة المصنعة. حيث خلط 10 µl من المحلول الاساسي للبادى مع 90 µl مع محلول TE.

2-2-11-3 طريقة تفاعل متعدد النيوكليتيدات المتسلسل الخاص بالأليل (AS-PCR) Method

تم إجراء اختبار(AS-PCR) للكشف عن التنميط الجيني IL-4-590 C>T gene polymorphism (rs2243250) في مجاميع الدراسة وحسب طريقة (Alsaid *et al.*, 2013) وكما يلي :

2-2-11-3-1 تحضير مزيج (AS - PCR) الرئيس

(AS- PCR) master mix preparation

حضر مزيج (AS - PCR) الرئيس باستعمال (مجموعة GoTaq® G2 Green Master Mix) وأجرى لهذا المزيج الرئيس تفاعلين لكل عينة على وفق تعليمات الشركة (Promega-Korea) حيث تضمن مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل للنوع البري من الأليل C المكونات الأتية :

(AS- PCR) Master mix	Volume
DNA template	5µl
Wild type C Forward primers (10pmol)	2µl
Common Reverse Primer (10pmol)	2µl
G2 Green Master Mix	12.5µl
PCR water	3.5µl
Total volume	25µl

أما مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل للأليل T المتحول فقد تضمن مايلي :

(AS - PCR) Master mix	Volume
DNA template	5µl
Mutant type T Forward primers (10pmol)	2µl
Common Reverse Primer (10pmol)	2µl
G2 Green Master Mix	12.5µl
PCR water	3.5µl
Total volume	25µl

بعد ذلك ، تم نقل مكون مزيج PCR الرئيس المذكور في الجدولين المشار إلية أنفاً إلى جهاز طرد مركزي Exispin vortex عند 3000 دورة في الدقيقة ل 3 دقائق. ثم توضع في جهاز ((PCR Thermocycler(Bio Rad-USA).

2-3-11-2-2 شروط جهاز التدويرالحراري Thermo cycler Conditions (AS - PCR)

تم إجراء أوضاع التدوير الحراري PCR لكل جين مستقل على النحو الأتي :

الجدول(2-12): شروط جهاز التدوير الحراري (AS- PCR)

PCR step	Temp.	Time	Repeat
Initial denaturation	95°C	5min.	1
Denaturation	95°C	30 sec.	40cycle
Annealing	58°C	30 sec.	
Extension	72°C	30 sec.	
Final extension	72°C	5min	1
Hold	4°C	Forever	-

4-11-2-2 تحليل منتج (AS - PCR) (AS- PCR) product analysis

تم تحليل منتجات (AS- PCR) بواسطة الترحيل الكهربائي لهلام الاغاروز باتباع الخطوات :

1- حضر هلام الأكاروز بتركيز 1.5٪عن طريق إذابة 1.5غم من مسحوق الأكاروز في 10مل من دارئ TBE (10x) و ثم يكمل إلى 100 مل من الماء المقطر.

2- سخن الخليط في فرن المايكروويف (Microwave Oven) بدرجة 80 درجة مئوية حتى يذاب كل مسحوق الأكاروز، ونخرج المحلول من الميكروويف قبل وصوله إلى مرحلة الغليان.

3- ترك الهلام ليبرد إلى 65 درجة مئوية.

4- أضيف 3 مايكروليتر من صبغة بروميد الأثيديوم (10) ملغم /مل بعد أن يبرد الخليط يخلط بلطف.

5- تم إعداد لوح التحميل باستعمال لوح زجاجي ، إذ تحاط حافات اللوح بشريط لاصق قوي ويثبت عليه المشط الخاص لتكوين الحفر عند احد أطراف الهلام.

6- سكب الهلام ببطء في حوض الهلام، وتجنب تكون أية فقاعات في الهلام ، لهذا يجب إزالتها وتركه لمدة تصل من 20 إلى 30 دقيقة.

7- رفع المشط والشريط اللاصق بهدوء من الأكاروز المتصلب وثبتت الصفيحة على مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي الأفقية المتمثلة بالحوض المستعمل للترحيل الكهربائي وملء الحوض بدارئ TBE بحيث يغطي سطح الهلام.

8- تم إضافة 5 مايكروليتر من الدليل الحجمي Ladder DNA في أول حفرة ، واستعمل هذا لمعرفة حجم قطع DNA المفصولة.

9- أضيف 10 ميكرو لتر من منتج PCR إلى كل حفرة و 3 ميكرو لتر من (100 نقطة أساس في سلم) في الحفرة الاولى.

10- توصيل التيار الكهربائي عند 100 فولت ولمدة ساعة واحدة.

11- فحص الهلام بإستعمال مصدر للأشعة فوق البنفسجية Transilluminator UV عند طول موجي (240 ،366 نانوميتر) صور بعدها الهلام.

12-2-2 التحليل الاحصائي Statistical analysis

جمعت البيانات وتم تلخيصها وتحليلها وتقديمها باستعمال الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package for Social Science (SPSS) الإصدار16 و Microsoft Office Excel 2007 تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ، وتم التعبير عن المتغيرات النوعية (الفئوية) كعدد ونسبة مئوية ، في حين تم أولاً تقييم المتغيرات الكمية (الرقمية) للتوزيع الطبيعي باستعمال اختبار Kolmogorov-Smirnov ، ومن ثم تم التعبير عن المتغيرات الرقمية الموزعة بشكل طبيعي على أنها متوسط (مؤشر للاتجاه المركزي) و الانحراف المعياري أو مؤشر التشتت(**Standard deviation**) بالإضافة إلى النطاق.

تم استعمال الاختبارات الإحصائية الاتية:

1- اختبار Chi-square لتقييم الارتباط بين أي متغيرين فئويين بشرط أن يكون عدد الخلايا أقل من 20٪ من المتوقع أن يكون أقل من 5.

2- طريقة واحدة لتحليل التباين (ANOVA) لتقييم الاختلاف في متوسط المتغيرات الرقمية بين أكثر من مجموعتين ، بشرط أن يتم توزيع هذه المتغيرات الرقمية بشكل طبيعي ، وطريقة واحدة تم اتباع ANOVA عن طريق اختبار LSD المخصص لتقييم الفروق الفردية في القيم المتوسطة بين أي مجموعتين بين المجموعات التي تم اختبارها بشكل أساس باستعمال ANOVA بطريقة واحدة.

3- قيمت المخاطر باستعمال نسبة الأرجحية وفاصل الثقة 95٪.

4- توازن هاردي واينبرغ **Hardy Weinberg equilibrium** لمقارنة تردد النمط الجيني المرصود مع تردد النمط الجيني المتوقع.

تم تحديد الأهمية عند قيمة ***P*** تساوي أو تقل عن 0.05. تم النظر في مستوى الأهمية العالية عند قيمة ***P*** تساوي أو تقل عن 0.01.

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

الفصل الثالث
النتائج والمناقشة

3. النتائج و المناقشة Results and discussion

3-1 الخصائص الديموغرافية للمرضى
Demographic Characteristics of Patients

3-1-1 التوزيع بحسب العمر Distribution According to Age

أشارت نتائج الدراسة الحالية بعد تحليلها أحصائيًا بواسطة one way ANOVA إلى عدم وجود فروقات معنوية بين مجاميع الدراسة في متوسط العمر(P =0.912) ، والذي بلغ (19.82± 53.62) سنة في مرضى الفشل الكلوي في حين كان متوسط عمر المرضى الذين يعانون من التهاب المسالك البولية (19.86± 50.56) سنة و متوسط عمر المرضى الذين يعانون من الفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية(21.14±51.84) سنة مقارنة بمتوسط عمرمجموعةالسيطرة (19.40± 51.98) سنة ، إذ ظهر بوضوح وجود توزيعًا متساويًا تقريبًا بين الأعمار المختلفة بدءًا من أقل من 20 سنة حتى (80-85) سنة في مجاميع الدراسة كافة. الموضحة بالجدول (3-1).

الجدول (3-1): توزيع مجاميع الدراسة حسب العمر

Characteristic	Control n = 45	Renal failure n = 45	UTI n = 45	RF and UTI n = 45	P-value
Age (years)					
Mean ±SD	51.98 ±19.40	53.62 ±19.82	50.56 ±19.86	51.84 ±21.14	0.912 O NS
Range	17 -85	17 -85	18 -82	17 -85	
< 20, *n* (%)	4 (8.9 %)	5 (11.1 %)	3 (6.7 %)	5 (11.1 %)	
20-29, *n* (%)	4 (8.9 %)	2 (4.4 %)	6 (13.3 %)	5 (11.1 %)	
30-39, *n* (%)	4 (8.9 %)	4 (8.9 %)	6 (13.3 %)	5 (11.1 %)	
40-49, *n* (%)	6 (13.3 %)	7 (15.6 %)	7 (15.6 %)	5 (11.1 %)	
50-59, *n* (%)	8 (17.8 %)	9 (20.0 %)	6 (13.3 %)	7 (15.6 %)	
60-69, *n* (%)	10 (22.2 %)	9 (20.0 %)	8 (17.8 %)	7 (15.6 %)	
70-69, *n* (%)	5 (11.1 %)	5 (11.1 %)	6 (13.3 %)	6 (13.3 %)	
80-85, *n* (%)	4 (8.9 %)	4 (8.9 %)	3 (6.7 %)	5 (11.1 %)	

n: number of cases; **SD**: standard deviation; **O**: one way ANOVA; **NS**: not significant at $P > 0.05$

وجاءت هذه النتيجة غير متوافقة مع نتائج دراسة أخرى توصلت إلى إنّ معدل العمر لدى مرضى الفشل الكلوي 67.1 سنة (Raman *et al.*, 2018) ، في حين توافقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصلت إليه دراسة عراقية إلى إنّ متوسط عمر المرضى المصابين بالفشل الكلوي كان 48 سنة (Awad, 2011). وهذا ما أشارت إليه دراسة عراقية أخرى أجريت في محافظة ديالى إلى إنّ متوسط الأعمار لـ 284 حالة مصابة بالفشل الكلوي كان (52.9±15.9) سنة (Fathalla Askar *et al.*, 2019).

إنّ عدم وجود فروقات معنوية بين الفئات العمرية المختلفة في معدل الإصابة قد يعزى بشكل أساس إلى زيادة اِنتشار عوامل الخطر التقليدية لمرض الكلى المزمن بغض النظر عن الأعمار وعلاقة ذلك ببعض العوامل البيئية والسلوكية التي تختلف من مجتمع إلى آخر من بلد إلى آخر فكان انتشار مرض الكلى المزمن في السكان البالغين في الولايات المتحدة بنسبة 11% وكان معدل الانتشار بين كبار السن أعلى بكثير من الأعمار الاخرى فقد لوحظ إنّ حوالي 39.4% من الأشخاص الذين تزيد أعمارهم عن 60 سنة يعانون من مرض الكلى المزمن مقابل 12.6 و 8.5 ٪ من الأشخاص الذين تتراوح أعمارهم بين 40–59 سنة و 20–39 سنة على التوالي (Mallappallil *et al.*, 2014).

2-1-3 التوزيع بحسب الجنس Distribution according to Sex

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى عدم وجود فروقات معنوية بين مجاميع الدراسة بحسب الجنس (P=0.145) حيث كان نسبة متوسط المرضى المصابين بالفشل الكلوي من الذكور (48.9%) 22 و(51.1%) 23 من الأناث، بينما نسبة توزع المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية من الذكور(48.9%) 22 و (51.1%) 23 من الإناث في حين بلغت نسبة توزيع الذكور (62.2%)28 و(37.8%) 17من الاناث في مجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي والاتهاب المسالك البولية مقارنة بمجموعة السيطرة وكما موضح بالجدول (3-2).

الجدول (3-2): توزيع مجاميع الدراسة حسب الجنس

Sex	Control *n* = 45	Renal failure *n* = 45	UTI *n* = 45	RF and UTI *n* = 45	*p*-value
Male, *n* (%)	17 (37.8 %)	22 (48.9 %)	22 (48.9 %)	28 (62.2 %)	0.145 C NS
Female, *n* (%)	28 (62.2 %)	23 (51.1 %)	23 (51.1 %)	17 (37.8 %)	

n: number of cases; **C**: Chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$

كما لوحظ وجود عدد إناث أعلى في مجموعة التهاب المسالك البولية على الرغم من أن هذا الاختلاف لم يصل إلى دلالة إحصائية ، وقد جاءت هذه النتائج متقاربة مع العديد من البحوث الأخرى التي اكدت إنّ التهاب المسالك البولية أكثر شيوعًا عند النساء منه عند الرجال في العديد من البلدان (Medina & Castillo-Pino, 2019;Mody & Juthani-Mehta, 2014 ;Czajkowski *et al*., 2021)

تعد التهابات المسالك البولية (UTIs) عند النساء من أكثر أنواع العدوى انتشارًا التي تحدث في مراحل مختلفة من الحياة كما إنّ النساء أكثر عرضة للإصابة بعدوى المسالك البولية من الرجال ويرجع ذلك أساسًا إلى تشريح الجهاز البولي السفلي للإناث وقربه من الأعضاء التناسلية فضلاً عن الإحليل الأنثوي القصير نسبيًا مما يسهل من دخول البكتيريا ، كما إنّ لِانتشار التهاب الفرج والتهاب المهبل غالبا ما يعود إلى النشاط الجنسي ، وكذلك الاستعمال المفرط لمنتجات النظافة الشخصية التي تتداخل مع الفلورا الطبيعية في المهبل (Vaginal microbiome) ، والحمل ووقت الولادة هي نقاط زمنية مميزة أخرى تتميز بالتهابات المسالك البولية المتكررة فضلاً عن إنّ العدد المتزايد للولادات القيصرية والقسطرة المحيطة بالجراحة عامل خطر آخر (Czajkowski *et al.*, 2021). وإنّ وقت ما بعد انقطاع الطمث يسبب هبوط مستويات هرمون الاستروجين (Oestrogen) مع ظهارة المهبل مما يساهم في ضمورها التدريجي في حين أن نقص الكليكوجين (Glycogen) يقلل من تعداد بكتيريا حمض اللاكتيك ، ونتيجة لذلك يتم استعمار المهبل بعد انقطاع الطمث بواسطة بكتيريا أخرى مثل البكتيريا القولونية *Escherichia coli* والتي قد تنتشر وتصيب المسالك البولية ، كما يساهم تدلي أعضاء الحوض وسلس البول في حدوث التهابات المسالك البولية المتكررة ، و يُعتقد إنّ هذا يؤثر على النساء ما بين 30% و 50% ممن فوق سن الخمسين ، وباختصار يزداد خطر الإصابة بالعدوى مع تقدم العمر (Czajkowski *et al*., 2021). كما خالفت نتائج الدراسة الحالية نتائج دراسة في أجريت في اليمن ، فقد كانت احتمالات الفشل الكلوي أعلى بين الرجال من النساء (Dahnan *et al.*, 2019).

3-1- 3 التوزيع بحسب محل الإقامة

Distribution according to place of residence

وجدت تغايرات غير معنوية (P= 0.516) بين معدل الاصابة بالفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية ومكان السكن في الريف أو المدينة ، إذ بلغت نسبة عدد المصابين بالفشل الكلوي (44.4%) 20 من المناطق الحضرية و (55.6 %) 25 من المناطق الريفية ، في حين بلغت نسبة عدد المصابين بالاتهاب المسالك البولية (42.2 %) 19 من المناطق الحضرية و 26 (57.8%) من المناطق الريفية أما نسبة المرضى المصابين بالفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية (31.1%) 14 من المناطق الحضرية و (68.9%) 31 من المناطق الريفية مقارنة بمجموعة السيطرة حيث كانت (44.4%) 20 من المناطق الحضرية و (55.6 %) 25 من المناطق الريفية وكما موضح في الجدول رقم (3-3).

الجدول(3-3): توزيع مجاميع الدراسة حسب محل الإقامة

Residence	Control n = 45	Renal failure n = 45	UTI n = 45	RF and UTI n = 45	p-value
Urban, n (%)	20 (44.4 %)	20 (44.4 %)	19 (42.2 %)	14 (31.1 %)	0.516 C NS
Rural, n (%)	25 (55.6 %)	25 (55.6 %)	26 (57.8 %)	31 (68.9 %)	

n: number of cases; **C**: Chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$

فقد بين (de Lusignan *et al*., 2018) عدم وجود فرق كبير في حدوث التهاب المسالك البولية بين الإقامة الريفية والحضرية ، وهذا يتوافق مع نتائج الدراسة الحالية ، الأمر الذي يكشف عدم وجود تباين في عامل الخطر للإصابة بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي بين سكان المناطق الحضرية والريفية.

وبالمثل فقد وجد باحثين آخرين إنّ حالات الإصابة بأمراض الكلى المزمنة في المناطق الريفية والحضرية قابلة للمقارنة مع عدم وجود تباين كبير (Kaze *et al*., 2015).

2-3 تواتر مجاميع الدراسة بحسب عوامل الخطر

Frequency of study groups according to risk factors

دراست علاقة مجموعة من عوامل الخطورة مع تواتر نسبة الأصابة فقد أشارت نتائج الدراسة الحالية الى عدم وجود اِرتباط بين أمراض التهابات المسالك البولية والفشل الكلوي مع التدخين كعامل خطر أول (P= 0.546) ، والذي بلغت نسبة المدخنين في مرضى الفشل الكلوي (40.0%) 18 ، ونسبة غير المدخنين (60.0%) 27 ، في حين كانت نسبة المدخنين في مرضى التهاب المسالك البولية (26.7%) 12، وغير المدخنين (73.3%) 33 ، كما كانت نسبة المدخنين في المرضى الذين يعانون من الفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية (31.1%) 14 ، ونسبة غير المدخنين (68.9%) 31 مقارنة بمجموعة السيطرة حيث بلغت نسبة المدخنين 13 (28.9%) ونسبة غير المدخنين (71.1%) 32 . الموضحة في الجدول (3-4) كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود أرتباط معنوي سالب كبير بين تردد الإصابة بالتهابات المسالك البولية والفشل الكلوي وتكرار الإصابة (P= 0.001) إذ كانت نسبة تكرار الإصابة في مرضى الفشل الكلوي (0.0%)0 ، ونسبة تكرار الإصابة في المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية (57.8%) 26 في حين بلغت نسبة تكرار الاصابة في المرضى الذين يعانون من الفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية (46.7%) 21 مقارنة بمجموعة السيطرة اذا كانت (0.0%) 0 .

كما وجد فرق معنوي كبير (P=0.001) بين أمراض المسالك البولية والفشل الكلوي والتاريخ العائلي حيث كانت نسبة التاريخ العائلي الايجابي في المرضى الذين يعانون من الفشل الكلوي (53.3%) 24 ونسبة التاريخ العائلي الايجابي في مرضى التهاب المسالك البولية 8 (17.8%) في حين كانت نسبة التاريخ العائلي الايجابي في مرضى الفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية (26.7%) 12 مقارنة بمجموعة السيطرة اذا بلغت (0.0%) 0 . وأظهرت النتائج وجود فرق معنوي كبير (P= 0.001) بين التهابات المسالك البولية والفشل الكلوي على وفق حصوات الكلى ، فقد سجلت نسبة المرضى الذين لديهم حصى الكلى في مجموعة الفشل الكلوي (22.2%) 10 . أماّ في مجموعة مرضى التهاب المسالك البولية (40.0%) 18 ، في حين كانت النسبة في مجموعة مرضى الفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية (44.4%) 20 مقارنة بمجموعة السيطرة (0.0%) 0. وكما موضح بالجدول (3-4).

الجدول (3-4) توزيع مجاميع الدراسة حسب عوامل الخطر المختلفة

Risk factor	Control *n* = 45	Renal failure *n* = 45	UTI *n* = 45	RF and UTI *n* = 45	*P*-value
Smoking					
Positive, *n* (%)	13 (28.9 %)	18 (40.0 %)	12 (26.7 %)	14 (31.1 %)	0.546 C NS
Negative, *n* (%)	32 (71.1 %)	27 (60.0 %)	33 (73.3 %)	31 (68.9 %)	
Recurrent infection					
Positive, *n* (%)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	26 (57.8 %)	21 (46.7 %)	< 0.001 C **
Negative, *n* (%)	45 (100.0 %)	45 (100.0 %)	19 (42.2 %)	24 (53.3 %)	
Family history					
Positive, *n* (%)	0 (0.0 %)	24 (53.3 %)	8 (17.8 %)	12 (26.7 %)	< 0.001 C **
Negative, *n* (%)	45 (100.0 %)	21 (46.7 %)	37 (82.2 %)	33 (73.3 %)	
Renal stone					
Positive, *n* (%)	0 (0.0 %)	10 (22.2 %)	18 (40.0 %)	20 (44.4 %)	< 0.001 C **
Negative, *n* (%)	45 (100.0 %)	35 (77.8 %)	27 (60.0 %)	25 (55.6 %)	

n: number of cases; **C**: Chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$; **: significant at $P \leq 0.01$

إنّ نتيجة عدم الارتباط ($P= 0.546$) بين أمراض المسالك البولية والفشل الكلوي والتدخين جاءت متوافقة مع ما توصل إليه (Yongzhi *et al.*, 2018) والذي أكدّ على عدم وجود اِرتباط كبير بين التدخين وخطر الاصابة بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي ، في حين خالفت تلك النتائج ما توصل إليه (Xia *et al.*, 2017) الذي أشار الى أن التدخين عامل خطر مستقل لهذا المرض كما أشارت نتائج دراسة أخرى (Hippisley-Cox & Coupland, 2010) إلى انّ التدخين عامل خطر لحدوث أمراض الكلى المزمنة الشي الذي أكدته نتائج (Noborisaka, 2013) أيضاً .

وأظهرت النتائج أيضًا اِرتباط كبير بين أمراض المسالك البولية والفشل الكلوي مع تكرار الإصابة ($P= 0.001$) إذ كان المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية أعلى نسبة مقارنة ببقية المجاميع ، ويعزى ذلك إلى إنّ المرضى الذين يعانون من عدوى المسالك البولية

أغلبهم ممن لديهم اصابات مرضية متكررة تتمثل بالاستعمار الكامن للكلى من قبل البكتريا (Worku *et al*., 2021 ;Zaha *et al*., 2020) فضلاً عن إنّ الشيخوخة قد تقلل من ألية دفاع الكلى والمسالك البولية ضد الغزو الجرثومي مما يزيد من فرصة تكرار الإصابة وترددها في الإعمارفوق الخمسين سنة (Rodriguez-Mañas, 2020). كما كان للتاريخ العائلي اِرتباط كبير(P=0.001) مع أمراض المسالك البولية والفشل الكلوي ، فقد وافقت نتائج الدراسة الحالية النتائج التي توصلت لها العديد من الدراسات والتي كشفت عن علاقة واضحة بين الاصابة بالفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية والاستعداد الوراثي ، وقد يعزى هذا الاستعداد إلى تعدد الاشكال الجينية في السايتوكينات ومكونات الجهاز المناعي الاخرى في زيادة فرصة حصول الاصابة عند المرضى من نفس العائلة (Scholes *et al*., 2010 ; Dahnan *et al*., 2019).

كما اِرتبط وجود الحصى لدى المرضى ارتباطا كبيرا (P= 0.001) مع المرضى الذين يعانون من التهابات المسالك البولية والفشل الكلوي على وفق حصوات الكلى فقد جاءت نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع دراسة أخرى (Yongzhi *et al*., 2018) والتي توصلت إلى إنّ حصوات الكلى تتسبب في حدوث انسداد واحصاءات بولية مما يودي إلى زيادة فرصة استعمار المسالك البولية بالبكتريا ، كما تودي إلى نوبات متكررة بالعدوى الجرثومية لأنّ حصوات الكلى من عوامل الخطر المعروفة للإصابة بالتهاب المسالك البولية من خلال ما توفرة من فرصة لأستعمار الجراثيم وثباتها.كما بين (Alelign, 2018) إنّ الحصيات الكلوية قد تتسبب في تلف البنية المجهرية للكلية فضلاً عن الإصابة بالعدوى والتي تعد من العوامل المهمة والمساهمة في الفشل الكلوي لدى هؤلاء المرضى عند عدم السيطرة عليها. كما بينت دراسة في المملكة العربية السعودية التي تتمتع بمناخ شديد الحرارة في معظم أوقات السنة أن من بين 1031 مشاركًا كانت أعمارهم اكثر من 18 سنة ، إنّ خطر الإصابة بتحصي الكلية Renal stone (Nephrolithiasis) يرتبط بالتاريخ العائلي الايجابي من حصى الكلية إذ كانت نسبة 58% والتهابات المسالك البولية 23.7% ، وارتبطت الاصابة أيضاً بجنس الذكور أكثر من الإناث ، و كان معظم المرضى الذين يعانون من حصوات الكلى من الفئة العمرية 34-40 سنة ، وكان ألم الخاصرة والبيلة الدموية من الأعراض السريرية الرئيسة التي تكون مصاحبة لحصى الكلى في غالبية المرضى (Safdar *et al*., 2021).

3-3 الجانب البكتريولوجي Bacteriological Aspect

3-3-1 التشخيص المظهري و البايوكيميائي للعزلات البكتيرية

Morphological and Biochemical Identification of isolated bacteria

تم التشخيص المبدئي للأجناس البكتيرية المعزولة اِعتمادًا على بعض المعاير الاساسية المتضمنة شكل المستعمرات وخصائصها اللونية والمظهرية على الأوساط الزرعية العامة كوسط الغراء المغذي(Nutrient agar) ، ووسط غراء الدم (Blood agar) وبعض الأوساط التفريقية كوسط غراء الماكونكي (MacConkey agar Media) الذي يساعد في تنمية وعزل البكتريا السالبة لصبغة غرام فقط ، فضلاً عن استعمال العديد من الفحوصات البايوكيميائية لغرض التشخيص المبدئي للأنواع البكتيرية المعزولة على وفق الطرائق التي وصفها (Collee *et al.*, 2006) وكما مبين في الجدولين (3-5) و(3-6).

الجدول (3-5): الاختبارات الكيموحياتية للبكتيريا السالبة لصبغة غرام

البكتريا / الفحوصات	*E. coli*	*Proteus mirabilis*	*Acinetobacter baumannii*	*Pseudomonas aeruginosa*	*K. pneumoniae*
اختبارCatalase	+	+	+	+	+
اختبار Oxidase	-	-	-	+	-
اختبار MR	+	+	+	-	-
اختبار VP	-	-	-	-	+
اختبار Indole	+	-	-	-	-
اختبارCitrate	-	+	+	+	+
اختبار Urease	-	+	-	-	+
اختبار Lactose	+	-	-	-	+
اختبار تخمير Glucoseاللاهوائي	+	+	-	-	+
فحص الحركة(Motile)	+	+	-	+	-

الرمز: موجب(+) سالب(-)

الجدول (3-6): الاختبارات الكيموحياتية للبكتيريا الموجبة لصبغة غرام

Staphylococcus aureus	***Staphylococcus .spp***	***Streptococcus* spp.**	***Enterococcus faecalis***	***البكتريا*** / ***الفحوصات***
+	+	-	-	اختبار Catalase
-	+	-	-	اختبارOxidase
+	-	-	-	اختبارCoagulase
+	+	+	+	اختبار Lactose
+	+	-	+	اختبار تخمير Glucoseاللاهوائي
β	β	β	β & α	فحصHemolysis
-	-	-	-	فحص الحركة(Motile)

الرمز: موجب(+) سالب(-)

3-3-2 تشخيص البكتريا باستخدام نظام الفايتك-2

Bacterial Identification Using Vitek-2 Compact System

تم تشخيص العزلات البكتيرية بايوكيميائيًا على وفق تقرير نتائج نظام Vitek 2 الالي. وبحسب تعليمات الشركة المصنعة (BioMerieux Company: France)

فقد تم التشخيص النهائي للأنواع البكتيرية المعزولة باستعمال بطاقات (GP-ID وGN) التي تحتوي على 64 فحصًا متخصصًا لتشخيص البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام. والذي يتميز بسهولة العمل ودقة التشخيص وكما مبين في ملحق رقم(2) فقد كانت اِحتمالية التشخيص للعزلات المشخصة الموجبة والسالبة لصبغة غرام عالية تراوحت من (89%-96%).

3-3-3 الأنواع البكتيرية المعزولة في مجاميع الدراسة

Types of Isolated bacteria

أظهرت نتائج الزرع المختبري لعينات الإدرار الحصول على (90)عزلةً بكتيريةً والمتمثلة ب 45 عزلةً بكتيريةً من مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية والتي كانت بواقع 33 (73.3%) من البكتريا السالبة لصبغة غرام فقد احتلت بكتريا *E. coli* 24 (53.3%) النسبة الأعلى للعزل تلاها كل من جنس *Acinetobacter baumannii* (8.9%)4 ، *Proteus mirabilis* 3 (6.7%) و *Pseudomonas aeruginosa*

2 (4.4%) .أماّ البكتريا الموجبة لصبغة غرام فقد سجلت الى 12 (26.7%) والمتمثلة بكل من *Enterococcus faecalis* 4 (8.9%) ، *Streptococcus* spp. 3 (6.7%) ، *Staphylococcus* spp. 3 (6.7%) ، *Staphylococcus aureus* 2 (4.4%) .

وأماّ مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية والفشل الكلوي فقد كان عدد العزلات البكتيرية المعزولة 45 عزلة توزعت بين 35 (77.8 %) عزلةً من البكتيريا السالبة لصبغة غرام { *E. coli* 27 (60.0%) ، *Proteus mirabilis* 4 (8.9%)، *Acinetobacter baumannii* 2 (4.4%)، *Pseudomonas aeruginosa* 1 (2.2 %) ، *Klebsiella pneumonia* 1 (2.2%)} و 10 (22.2%) عزلة من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام والمتمثلة ببكتريا .*Streptococcus spp* 4 (8.9%) ، *Staphylococcus aureus* 3 (6.7%)، *Enterococcus faecalis* 2 (4.4%) و .*Staphylococcus* spp 1 (2.2%) وكما موضح في الجدول رقم (3-7).

وكانت بكتريا الاشريكية القولونية هي الأكثر أنتشارًا في مجموعتي الدراسة ، أذ جاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما توصلت إليه دراسة سابقة (Lee *et al.*, 2018) ، وقد يرجع سبب ذلك إلى قدرة تلك البكتريا على احداث إصابات المسالك البولية الصاعدة (Ascending Infection) نتيجة ما تمتلكه من عوامل اِلتصاق خاصة ، وتراكيب شكلية تعرف بالشعيرات أو الأسواط (Fimbriae) التي تلعب دورًا مهمًأ في استيطانها على السطوح المخاطية في المسالك البولية وتكوين مستعمرات جرثومية تجعلها مقاومة لقوة غسل تيار الإدرار لتلك السطوح ، كما إن الوجود الطبيعي لتلك البكتريا في براز الإنسان يعُد من الملوثات للمسالك البولية لاسيما عند النساء بسبب الهيأة التشريحية الخاصة بالإناث. وتعد عدوى المسالك البولية غير المعقدة (UTI) أكثر شيوعًا عند النساء الشابات ، والنشطات جنسيًا ، وغير الحوامل ، وفي وقت ما قبل انقطاع الطمث حيث يتم عزل البكتيريا سالبة الجرام من 75٪ إلى 95٪ من هذه العدوى وترتبط النسب المتبقية من عدوى المسالك البولية غير المعقدة بمجموعة متنوعة من الكائنات الحية بما في ذلك البكتريا الموجبة لصبغة غرام مثل *Staphylococcus saprophyticus* ، *Enterococcus faecalis* وغيرها من الكائنات الحية الاقل عزلاً. أما في النساء الحوامل وكبار السن فقد تم العثور على البكتريا موجبة غرام كعوامل مسببة لالتهاب المسالك البولية غير المصحوبة بمضاعفات خطرة مقارنة تلك التي تسببها البكتريا سالبة غرام (Kline & Lewis, 2016).

الجدول (3-7): أنواع وتردد الأجناس البكتيرية المعزولة

Bacteria	UTI		Renal UTI	
	n=45	%	*n*=45	%
Gram negative	**33**	**73.3**	**35**	**77.8**
E. coli	24	53.3	27	60
Acinetobacter baumannii	4	8.9	2	4.4
Proteus mirabilis	3	6.7	4	8.9
Pseudomonas aeruginosa	2	4.4	1	2.2
Klebsiella pneumonia	0	0	1	2.2
Gram positive	**12**	**26.7**	**10**	**22.2**
Enterococcus faecalis	4	8.9	2	4.4
Streptococcus spp.	3	6.7	4	8.9
Staphylococcus spp.	3	6.7	1	2.2
Staphylococcus aureus	2	4.4	3	6.7
Total	**45**	**100.0**	**45**	**100.0**

3-4 مستوى الانترلوكين IL-4 في مصل مجاميع الدراسة

IL-4 Level in Serum of Study groups

لوحظ من خلال النتائج المبينة في الجدول (**3-8**) الإرتباط الواضح لمعدل الانترلوكين 4 (IL-4) في المصل بين مجاميع الدراسة ($P \leq 0.001$). حيث كان معدل IL-4 في مصل المرضى المصابين بالفشل الكلوي (59.73± 295.81) ، يليهم المرضى المصابين الفشل الكلوي و التهاب المسالك البولية (66.07± 215.42) ، ثم المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية فقط (56.23± 132.51) مقارنة بمجموعة السيطرة (36.06± 64.97).

الجدول(3-8): مستوى الانترلوكين IL-4 في مصل مجاميع الدراسة

Characteristic	Control *n* = 45	Renal failure *n* = 45	UTI *n* = 45	RF and UTI *n* = 45	*P*-value
IL-4					
Mean ±SD	64.97 ±36.06 D	295.81 ±59.73 A	132.51 ±56.23 C	215.42 ±66.07 B	< 0.001 O **
Range	18.52 -169.34	193.49 -420.91	2.72 -215.84	68.89 -346.69	

n: number of cases; **O**: One way ANOVA; **: significant at $P \leq 0.01$

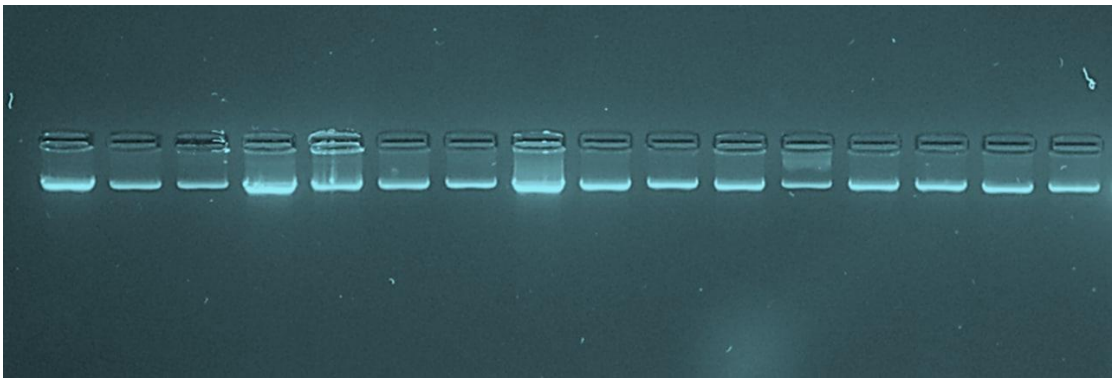
فعلى الرغم من الارتفاع المعنوي لمعدل الانترلوكين 4 في مصل المرضى مجاميع الدراسة مقارنة كافة بمجموعة السيطرة ، لكن ظهر جليًا اِرتباط المعدلات العالية للانترلوكين 4 في المرضى المصابين بالفشل الكلوي فقط مقارنة بالمرضى المصابين بإصابة مشتركة بالفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية ، في حين سجل المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية فقط أقل مستوى للارتفاع مقارنة ببقية مجاميع الدراسة.

وكان معدل الارتفاع بمعدل الانترلوكين 4 في مجاميع الدراسة الحالية أعلى مما سجلته دراسة سابقة ، إذ كان متوسط مستوى IL-4 في المصل هو 126.2 pg/mL فقط (Gu *et al.*, 2020) ويعتقد إنّ سبب ذلك قد يرجع إلى المستوى الالتهابي المرتفع للمرضى ضمن الدراسة الحالية وبما ان IL-4 عبارة عن سيتوكين التهابي لذلك كانت مستوياته مرتفعة ولاسيما في مرضى الفشل الكلوي إلى جانب ذلك فإنّ كمية الأنسجة المتضخمة في العملية الالتهابية أكثر بكثير من الأنسجة المشاركة في عدوى المسالك البولية وبالتالي فإنّ الاِستجابة المناعية ستكون أعلى وستكون كمية الانترلوكين 4 اكبر ، كما إن المرضى الذين يعانون من أمراض الكلى المزمنة معرضون للإصابة بمرض نقص تروية القلب والذي يعد بحد ذاته استجابة التهابية مزمنة ويمكن أن يكون سببًا لارتفاع معدلات السيتوكين الالتهابي IL-4 (Gu *et al.*, 2020) .

وأظهرت دراسة أخرى إنّ مستوى IL-4 في الإدرار كان مرتفعًا لدى المرضى الذين يعانون من التهاب المسالك البولية مقارنة بمجموعة السيطرة (Nickavar *et al.*, 2016) الشيء الذي يدعم نتائج الدراسة الحالية ، إذ إنّ معدل الانترلوكين IL-4 في الإدرار هو انعكاس للاِستجابة الالتهابية الشاملة ويجب أنْ يكون هناك ارتفاع مصاحب في مصل المرضى. ويُعزى المستوى المتوسط IL-4 في المرضى الذين يعانون من التهاب المسالك البولية والفشل الكلوي المشترك جزئيُاً إلى المراحل الدنيا من مرض الكلى ، فضلاً عن ضعف أنسجة القلب والأوعية الدموية في هؤلاء المرضى مقارنةً بالمرضى الذين يعانون من مرض أكثر تقدمًا في مجموعة الفشل الكلوي.

5-3 استخلاص DNA الجينومي Genomic DNA Extraction

تم استخلاص DNA وفحص الجودة باستعمال الترحيل الكهربائي مثلما موضح في الشكل (3-1) قبل البدء بخطوات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ، كما تم تحديد تركيز ونقاوة الحمض النووي بواسطة جهاز النانودروب .

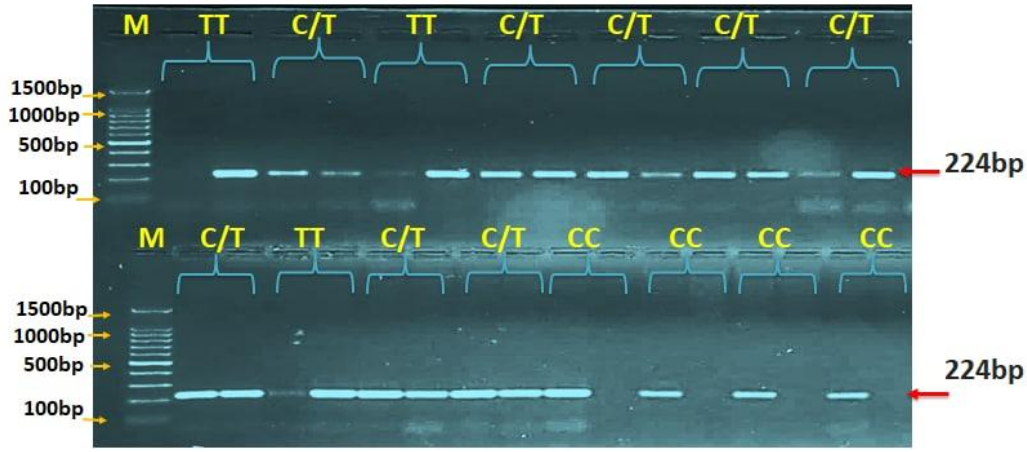


الشكل (3-1) الترحيل الكهربائي لعينات الحمض النووي بأستخدام الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز بتركيز 0.7 ٪ عند 72 فولت لمدة 45 دقيقة باستعمال صبغة بروميد الايثيديوم.

3- 6 دراسة التركيب الجيني لتعدد الأشكال الجيني للأنترلوكين 4

Genotype study of IL-4 gene polymorphism

أوضحت نتائج تحليل تعدد الاشكال للنيوكليتيدات المفردة للانترلوكين 4 IL-4 في موقع IL-4-590 C>T gene polymorphism (rs2243250) بواسطة تقنية (AS- PCR) الذي بيّن وجود ثلاثة انواع جينية **CC** و **T/C** و **T/T** في المرضى ومجموعة السيطرة ، وكما موضح في الشكل (3-2) . فقد كان التوزيع التكراري للأنماط الجينية على وفق المجموعات القائمة على توزيع Hardy Weinberg ، ولم يكن هناك فرق كبير في التوزيع التكراري للعدد المرصود والمتوقع للأنماط الجينية IL-4 في مجموعة السيطرة (P=0.796) والفشل الكلوي (P= 0.125) في حين كان هناك فرق كبير في التوزيع التكراري للعدد المرصود والمتوقع للأنماط الجينية IL-4 في مجموعة التهاب المسالك البولية ($P = 0.028$) على مستوى اِحتمال ($P \leq 0.01$) كما كان هناك فرق معنوي في التوزيع التكراري للعدد المرصود والمتوقع للأنماط الجينية IL-4 في مجموعة المسالك البولية والفشل الكلوي ($P = 0.001$). وكما موضح في جدول رقم (3-9).



الشكل (3-2) : صور ترحيل الاكاروز والتي تظهر نتائج فحص AS-PCR الخاص بتحديد المتغير الجيني لجين IL-4 -590C>T (rs2243250) . حيث تمثل (M: DNA marker ladder 1500-100bp) . تمثل الخطوط ذات النمط الجيني الطبيعي (CC) وجود الآيل C فقط ، وتمثل خطوط النمط الجيني الطافر (TT) وجود الآيل T فقط ، بينما وتمثل خطوط النمط الجيني المختلط (C/T) وجود الآيل C والآيل T معا. وكان حجم الآيل الطبيعي و الطافر224bp حجم ناتج تفاعل AS-PCR

الجدول (3-9): التوزيع التكراري للأنماط الجينية حسب المجموعات القائمة على توزيع (Hardy Weinberg)

Genotype	Control *n* = 45		Renal failure *n* = 45		UTI *n* = 45		RF and UTI *n* = 45	
	Observed	Expected	Observed	Expected	Observed	Expected	Observed	Expected
CC	34	33.8	4	6.4	16	19.3	4	9.8
C/T	10	10.4	26	21.2	27	20.3	34	22.4
TT	1	0.8	15	17.4	2	5.3	7	12.8
χ^2	0.067		2.360		4.859		12.068	
P-value	0.796 NS		0.125 NS		0.028 *		0.001**	

n: number of cases; ***:** significant at $P \leq 0.05$; **: significant at $P \leq 0.01$; **NS**: not significant

وبيّنت نتائج الدراسة الحالية دور التغاير الوراثي في جينات الانترلوكين 4 بأعتبارها واحدة من العوامل المسببة لتطور وتفاقم الإصابة بالتهاب المسالك البولية في كل من محافظة كربلاء المقدسة ومحافظة القادسية ، إذ يعتقد إنّ سبب ذلك قد يرجع إلى التغاير ببعض البروتينات التي تسيطر على اِستنساخ الجينات المسؤولة عن أنتاج السايتوكينات المختلفة والجينات المنظمة للتمايز والتكاثر ، وبقاء الخلايا وتنظيم مختلف الجوانب المتعلقة بالاستجابة المناعية الذاتية والمكتسبة ، وبالتالي التأثير على قابليه المرضى على اِكتساب الاصابات الجرثومية.

7-3 توزيع الانماط الجينية والاليلات في مجاميع الدراسة

Distribution of IL-4 gene Polymorphism in study groups

أظهرت النتائج إنّ النمط الجيني **C / T** أكثر شيوعًا في مجموعة الفشل الكلوي 26 (57.8٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 10 (22.2٪) (P <0.001) لهذا تم عدّه عاملاً خطرًا لتطور الإصابة بالفشل الكلوي بنسبة أرجحية تبلغ (**OR**= 22.10) .كما كان النمط الجيني TT أكثر تواترًا في مجموعة الفشل الكلوي 15 (33.3٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 1 (2.2٪) (P < 0.001) لذلك تم عدّه عاملاً خطرًا للإصابة بالفشل الكلوي بنسبة أرجحية تبلغ (**OR**= 127.50). الموضحة في الجدول(3-10).

وكان Allele T أكثر تكرارًا في مجموعة الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة 56 (62.2٪) مقارنة بالسيطرة 12 (13.3٪)(P < 0.001) وعدّ أيضاً عامل خطورة للإصابة بالفشل الكلوي بنسبة أرجحية (**OR**= 10.71) بينما كان الأليل C أقل تواترًا في مرضى الفشل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة 34 (37.8٪) مقارنة بالسيطرة 78 (86.7٪) (P< 0.001)، لذلك تم عدّه عاملاً وقائيًا بنسبة أرجحية قدرها (**OR**= 0.09) (10٪ حماية). من هنا فقد ظهر وبوضوح اِرتباط الأنماط الجينية CT و TT والأليل T بخطر الإصابة بالفشل الكلوي. أماّ الأليل C فقد كان مرتبطًا بزيادة خطر الإصابة بالتهاب المسالك البولية حيث كان النمط الجيني C / T أكثر شيوعًا في مجموعة التهاب المسالك البولية 27 (60.0٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 10 (22.2٪)(P < 0.001) لذلك تم اعتباره عامل خطر للإصابة بالتهاب المسالك البولية بنسبة أرجحية قدرها (**OR**=5.74) . وكان النمط الوراثي TT قابلاً للمقارنة في مجموعة التهابات المسالك البولية مقارنةً بمجموعة السيطرة (P =0.218).

في حين كان Allele T أكثر شيوعًا في مجموعة التهابات المسالك البولية 31 (34.4٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 12 (13.3٪)(P < 0.001) ولهذا تم عدّه عاملاً خطرًا للإصابة بالتهاب المسالك البولية بنسبة أرجحية تبلغ (**OR**=3.42) بينما كان الأليل C أقل تواترًا في مرضى التهابات المسالك البولية 59 (65.6٪) مقارنة بمجموعة السيطرة مقابل 78 (86.7٪) و تم فتمّ عدّه عاملاً وقائيًا بنسبة أرجحية (**OR**= 0.29) (71٪ حماية).

وكان النمط الجيني C / T أكثر شيوعًا في مجموعة الفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية 34 (75.6٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 10 (22.2٪) (P < 0.001) فتمّ عدّه تم اعتباره عاملَ خطر للفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية بنسبة رجحان (**OR**=28.90).

في حين كان النمط الوراثي TT أكثر تواترا في مجموعة الفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية 7 (15.5٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 1 (2.2٪) ($P < 0.001$) وعدّه عاملَ خطر للفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية بنسبة رجحان (**OR**= 59.50).

وكان Allele T أكثر تكرارًا في مجموعة الفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية 48 (53.3%) مقارنة بمجموعة السيطرة 12 (13.3٪)($P < 0.001$) فعُدّ عاملَ خطر للفشل الكلوي والتهاب المسالك البولية بنسبة رجحان (**OR**=7.43) ، بينما كان Allele C أقل تواترا عند مرضى الفشل الكلوي والمسالك البولية 78 (86.7٪) مقارنة بمجموعة السيطرة 42 (46.7٪) فكان عاملاً وقائيًا بنسبة رجحان قدرها (**OR**=0.13) (87٪ حماية).

من هنا يمكن الإستدلال على إنّ الأنماط الجينية CT و TT والأليل T كانت مرتبطة بخطر الإصابة بالفشل الكلوي المشترك والتهاب المسالك البولية.

الجدول (3-10): مقارنة تواتر الانماط الجينية والأليلات IL-4 بين مجموعة السيطرة ومجاميع الدراسة

Genotype	**Renal failure *n* = 45**	**Control *n* = 45**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**
CC	4 (8.9%)	34 (75.6%)	Reference	Reference	
C/T	26 (57.8%)	10 (22.2%)	< 0.001 **	22.10	6.22-78.46
TT	15 (33.3%)	1 (2.2%)	< 0.001 **	127.50	13.12-1239.08
Allele	**Renal failure *n* = 90**	**Control *n* = 90**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**
C	34 (37.8%)	78 (86.7%)	< 0.001 **	0.09	0.04 -0.20
T	56 (62.2%)	12 (13.3%)		10.71	5.10 -22.49
Genotype	**UTI *n* = 45**	**Control *n* = 45**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**
CC	16 (35.6%)	34 (75.6%)	Reference	Reference	
C/T	27 (60.0 %)	10 (22.2%)	< 0.001 **	5.74	2.25 -14.66
TT	2 (4.4%)	1 (2.2%)	0.218 NS	4.25	0.36 -50.39
Allele	**UTI *n* = 90**	**Control *n* = 90**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**
C	59 (65.6%)	78 (86.7%)	0.001 **	0.29	0.14 -0.62
T	31(34.4%)	12 (13.3%)		3.42	1.62 -7.21
Genotype	**RF and UTI *n* = 45**	**Control *n* = 45**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**

CC	4 (8.9%)	34 (75.6%)	Reference	Reference	
C/T	34 (75.6%)	10 (22.2%)	< 0.001 **	28.90	8.25-101.20
TT	7 (15.5%)	1 (2.2%)	< 0.001 **	59.50	5.75 -616.13
Allele	**RF and UTI *n* = 90**	**Control *n* = 90**	***P*-value**	**OR**	**95 % CI**
C	42 (46.7%)	78 (86.7%)	< 0.001 **	0.13	0.06 -0.28
T	48 (53.3%)	12 (13.3%)		7.43	3.56 -15.50

n: number of cases; **OR**: odds ratio; **CI**: confidence interval; **: Significant at $P \leq 0.01$

وجاءت نتائج الدراسة الحالية مخالفة لما توصل إليه Završnik *et al.*, (2018) إذ لم يجد أي ارتباط مهم بين تعدد الأشكال الجيني(gene polymorphism) IL-4 590 C/T (rs 2243250) وأمراض الكلى المزمنة. من ناحية أخرى Arababadi, (2010) أظهر فرقًا معنويًا في النمط الجيني وترددات أليل 590C/T SNP- بين مرضى الكلى المزمن ومجموعة السيطرة في سكان رفسنجان من جنوب شرق إيران. بصورة مماثلة (Neelofar *et al.*, 2017) وجد علاقة بين تعدد الأشكال (polymorphisms) IL4 -590C/T وأمراض الكلى المزمنة في مرضى شمال الهند ، فضلاً عن ذلك أشار Alsaid *et al.*, (2013) إلى أنه في مجموعتهم من مرضى السكري المصريين ، الأنماط الجينية متغايرة الزيجات (heterozygous genotypes) IL4 -590 (CT) يمكن عدّها عوامل خطر. بينما يتعارض مع نتائجنا Cilenšek *et al.*, (2011) الذي لم يظهر أي ارتباط بين IL4 -590C/T SNP وأمراض الكلى المزمنة.

8-3 اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع عوامل الخطورة في مجاميع الدراسة

Associations of IL-4 gene polymorphism with risk factors in study groups

أظهرت النتائج الحالية عدم وجود ارتباط معنوي بين تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع كل من التدخين ، والعدوى المتكررة ، والتاريخ العائلي وحصى الكلى ($P > 0.05$) في مجموعة السيطرة مقارنة بمجموعة الفشل الكلوي جدول(3-12) التي لم تظهر اي ارتباط معنوي وعلى مستوى احتمال ($P > 0.05$). كما موضح في الجدول(3-11).

الجدول(3-11): علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة السيطرة

Characteristic	CC *n* = 34		C/T *n* = 10		TT *n* = 1		Total *n* = 45		*P*-value
	N	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	
Smoking									
Negative, *n* (%)	26	76.5	6	60.0	0	0.0	32	71.1	0.171 NS
Positive, *n* (%)	8	23.5	4	40.0	1	100.0	13	28.9	
Recurrent infection									
Negative, *n* (%)	34	100.0	10	100.0	1	100.0	45	100.0	--
Positive, *n* (%)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
Family history									
Negative, *n* (%)	34	100.0	10	100.0	1	100.0	45	100.0	---
Positive, *n* (%)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
Stone									
Negative, *n* (%)	34	100.0	10	100.0	1	100.0	45	100.0	---
Positive, *n* (%)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	

n: number of cases; C: chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$

الجدول(3-12): علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة الفشل الكلوي

Characteristic	CC *n* = 4		C/T *n* = 26		TT *n* = 15		Total *n* = 45		*P*-value
	n	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	
Smoking									
Negative, *n* (%)	3	75.0	15	57.7	9	60.0	27	60.0	0.805 NS
Positive, *n* (%)	1	25.0	11	42.3	6	40.0	18	40.0	
Recurrent infection									
Negative, *n* (%)	4	100.0	26	100.0	15	100.0	45	100.0	--
Positive, *n* (%)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
Family history									

Negative, *n* (%)	3	75.0	12	46.2	6	40.0	21	46.7	0.458 NS
Positive, *n* (%)	1	25.0	14	53.8	9	60.0	24	53.3	
Stone									
Negative, *n* (%)	3	75.0	20	76.9	12	80.0	35	77.8	0.965 NS
Positive, *n* (%)	1	25.0	6	23.1	3	20.0	10	22.2	

n: number of cases; C: chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$

بين الجدول (3-13) ارتباط معنويًا للتدخين والتاريخ العائلي على مستوى احتمال ($P \leq 0.01$) في حين كان الارتباط معنويًا على مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) حيث كان الأرتباط سلبيًا لكل من الحصى ، وتكرار الإصابة مع تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 في مجموعة التهاب المسالك البولية.

في حين يوضح الجدول (3-14) ارتباطًا معنويًا كبيرًاعلى مستوى احتمال ($P \leq 0.01$) بين التدخين وتعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 في مجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي والتهابات المسالك البولية مقارنه ببقية عوامل الخطر التي لم تظهر ارتباطًا معنويًا على مستوى احتمال ($P > 0.05$).

الجدول(3-13):علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة التهاب المسالك البولية

Characteristic	CC *n* = 16		C/T *n* = 27		TT *n* = 2		Total *n* = 45		*P*-value
	N	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	
Smoking									
Negative, *n* (%)	7	43.8	24	88.9	2	100.0	33	73.3	0.004 C**
Positive, *n* (%)	9	56.2	3	11.1	0	0.0	12	26.7	
Recurrent infection									
Negative, *n* (%)	11	68.8	8	29.6	0	0.0	19	42.2	0.020 C *
Positive, *n* (%)	5	31.2	19	70.4	2	100.0	26	57.8	
Family history									

Negative, *n* (%)	16	100.0	21	77.8	0	0.0	37	82.2	0.001 C**
Positive, *n* (%)	0	0.0	6	22.2	2	100.0	8	17.8	
Stone									
Negative, *n* (%)	13	81.3	12	44.4	2	100.0	27	60.0	0.029 C *
Positive, *n* (%)	3	18.7	15	55.6	0	0.0	18	40.0	

n: number of cases; C: chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$; **: significant at $P \leq 0.01$; *: significant at $P \leq 0.05$

الجدول(3-14): علاقة تعدد الأشكال الجيني IL-4 بعوامل الخطر في مجموعة الفشل الكلوي ومجموعة التهابات المسالك البولية سويتًة

Characteristic	CC *n* = 4		C/T *n* = 34		TT *n* = 7		Total *n* = 45		*P*-value
	N	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	
Smoking									
Negative, *n* (%)	0	0.0	28	82.4	3	42.9	31	68.9	0.001 C**
Positive, *n* (%)	4	100.0	6	17.6	4	57.1	14	31.1	
Recurrent infection									
Negative, *n* (%)	2	50.0	17	50.0	5	71.4	24	54.3	0.580 C NS
Positive, *n* (%)	2	50.0	17	50.0	2	28.6	21	46.7	
Family history									
Negative, *n* (%)	4	100.0	24	70.6	5	71.4	33	73.3	0.450 C NS
Positive, *n* (%)	0	0.0	10	29.4	2	28.6	12	26.7	
Stone									
Negative, *n* (%)	2	50.0	18	52.9	5	71.4	25	55.6	0.651 C NS
Positive, *n* (%)	2	50.0	16	47.1	2	28.6	20	44.4	

n: number of cases; C: chi-square test; **NS**: not significant at $P > 0.05$; **: significant at $P \leq 0.01$

يتضح من نتائج الدراسة الحالية وجود ارتباط معنوي بين تعدد الاشكال الجيني لجين 590 C/T SNP الخاص بالانترلوكين 4 مع كل عوامل الخطورة المدروسة في هذه الدراسة في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية فقط ، في حين كان الارتباط غير معنوي في مجموعة المرضى المصابين بالفشل الكلوي فقط ومجموعة المرضى المصابين بالفشل

الكلوي والتهاب المسالك البولية سويةً إذ أثبتت النتائج إن تعدد الاشكال الجيني له علاقة بتطور الاصابات في المسالك البولية خالفت تلك النتائج مع ما توصل إليه كل من (Park *et al*., 2017 ; Qiu *et al*., 2015).

9-3 اِرتباط تعدد الاشكال الجيني للانترلوكين 4 مع متوسط المصل بين مجاميع الدراسة

Associations of IL-4 gene polymorphism with IL-4 level in serum of study groups

يوضح الجدول (3-15) مقارنة متوسط المصل IL-4 مع الأنماط الجينية المختلفة في مجاميع الدراسة حيث لم يكن هناك فرق معنوي في متوسط المصل IL-4 بين الطرز الجينية المختلفة في المجموعات المختلفة ($P > 0.05$).

الجدول(3-15): مقارنة متوسط المصل IL-4 بين الأنماط الجينية المختلفة في مجموعات الدراسة

Genotype	Control *n* = 45			Renal failure *n* = 45			UTI *n* = 45			RF and UTI *n* = 45		
	n	**Mean**	**SD**	***N***	**Mean**	**SD**	***n***	**Mean**	**SD**	***n***	**Mean**	**SD**
CC	34	64.65	34.71	4	298.90	108.94	16	120.55	53.47	4	244.76	69.13
C/T	10	85.23	37.68	26	279.81	47.14	27	132.77	63.54	34	211.54	56.22
TT	1	78.13	---	15	309.14	63.79	2	173.22	---	7	201.53	117.83
P-value	0.312 O NS			0.465 O NS			0.675 O NS			0.749 O NS		

n: number of cases; **SD**: standard deviation; **UTI**: urinary tract infection; **O**: one way ANOVA test; **NS**: not significant at $P > 0.05$

لهذا يبدو إنّ مستوى المصل من IL-4 لا يتأثر بشكل كبير بالاختلاف في النمط الجيني المحدد. وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع دراسة سابقة ، إذ لم يكن هناك فرق كبير في متوسط المصل IL-4 على أساس الأنماط الجينية IL-4 Malutan *et al*., (2016) ، في حين خالفت المفهوم القائم على إنّ تعدد الأشكال الجينية للسيتوكين يمكن أن تؤثر على مستويات المصل من

السيتوكينات من خلال التأثير على تنظيم النسخ ذلك المفهوم الذي توصل له Malutan *et al.*, (2016) . أما Park *et al.*, (2017) فقد أثبت أن النمط الجيني TT من تعدد الأشكال (590–) أظهر انخفاض معنوي في مستوى IL4 في مصل الدم للمرضى Park *et al.*, (2017) ، كما تبين دراسة أخرى أن CT و TT مرتبطان بمستوى أعلى من IL4 في الدم مقارنة بالنمط الجيني CC (Shang *et al.*, 2016).

من هنا يبدو إن تأثير تعدد الأشكال الجيني في المنطقة المحفزة لجين IL-4 قد أظهر نتائج مختلفة ومتضاربة بين الدراسات المختلفة ، لكن تم من خلال الدراسة الحالية التأكد على إنّ التغاير الجيني يعد واحدًا من العوامل المهمة والمشجعة لتطور الاصابات الجرثومية التي تعد بدورها واحدة من الفواصل الأولية لتطور الفشل الكلوي أكثر من الارتباط أو تأثير التغاير الجيني على مستوى مصل الدم من السايتوكين 4.

الفصل الرابع

الإستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الفصل الرابع

الإِستنتاجات والتوصيات

4. الإِستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation

1.4 الإِستنتاجات : Conclusions

1- كانت الأجناس البكتيرية السالبة لصبغة غرام المعزولة من عينات الإِدرار الأكثر شيوعًا مقارنة بالأجناس البكتيرية الموجبة لصبغة غرام ضمن مجاميع الدراسة.

2- ارتفاع مستوى الانترلوكين 4 في مصل المرضى مقارنة بالأصحاء ، في حين لم يجد فرق معنوي في متوسط المصل للانترلوكين 4 في الطرز الجينية المختلفة ضمن مجاميع الدراسة.

3- ارتباط الانماط الجينية CT و TT والاليل T بخطر الإصابة بالفشل الكلوي أ والفشل الكلوي المرافق لالتهاب بالمسالك البولية. في حين كان ارتبط النمط الجيني CT فقط والاليل T بزيادة خطر الإصابة بالتهاب المسالك البولية.

4- ظهر أرتباط معنوي واضح بين تعدد الأشكال الجيني لجين snp C/T 590 الخاص بأنترلوكين 4 مع عوامل الخطورة المدروسة (التدخين ، الأصابات المتكررة ، التاريخ العائلي ووجود الحصوات) في المرضى المصابين بالتهاب المجاري البولية فقط .

2.4 التوصيات Recommendation

1- عزل وتشخيص الفطريات والأجناس البكتيرية اللاهوائية وبيان علاقة ترددها بالتغايرات في الانماط الجينية لجين IL-4 وبعض الجينات الأخرى الخاصة بالعوامل المناعية ذات العلاقة بأصابات المسالك البولية وأمراض الكلى .

2- حساب متوسط المصل المستقبلات المناعية كمستقبلات التول (TL-R) وبيان ارتباط الأنماط الجينية لبعض الجينات الخاصة بها وتأثيرها في زيادة خطر الإصابة بالتهاب المسالك البولية البكتيرية وأمكانية تطور اصابات الكلى .

3- دراسة التعبير الجيني ل IL-4 في المجاميع المذكورة وبيان مدى تأثير التغاير الجيني في مستوى التعبير.

المصادر

References

References المصادر والمراجع

Abdelsalam, M., Motawea, M., Kyrillos, F., Abdel-Razik, A., Zaki, M. E. S., & Abdel-Wahab, A. (2021). Study of uromodulin gene polymorphism in egyptian patients with end-stage renal disease. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, 32(1), 157–162. https://doi.org/10.4103/1319-2442.318517

Abraham, S. N., & Miao, Y. (2015). The nature of immune responses to urinary tract infections. Nature Reviews Immunology, 15(10), 655–663. https://doi.org/10.1038/nri3887

Ahmad, T., Valentovic, M. A., & Rankin, G. O. (2018). Effects of cytochrome P450 single nucleotide polymorphisms on methadone metabolism and pharmacodynamics. Biochemical Pharmacology, 153, 196–204. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.02.020

Akduman, G., & Gunes, F. E. (2021). of Kidney Diseases and Transplantation Brief Communication Recipe Development for the Kidney Patient. 32(3), 786–793.

Albert, B., & Cedex, N. (2019). Version of Record: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032720326483. 5–10.

Albracht, C. D., Hreha, T. N., & Hunstad, D. A. (2021). Sex effects in pyelonephritis. Pediatric Nephrology, 36(3), 507–515. https://doi.org/10.1007/s00467-020-04492-9

Alelign, T., & Petros, B. (2018). Kidney Stone Disease: An Update on Current Concepts. *Advances in urology*, *2018*, 3068365. https://doi.org/10.1155/2018/3068365

Alkhlaif, A. A., Alsuraimi, A. K., & Bawazir, A. A. (2020). Epidemiological Profile of End-Stage Renal Diseases in Riyadh, Saudi Arabia. Asian Journal of Medicine and Health, 18(7), 16–27. https://doi.org/10.9734/ajmah/2020/v18i730220

Al-Naseri, M. A., Salman, E. D., & Ad'hiah, A. H. (2019). Association between interleukin-4 and interleukin-10 single nucleotide

polymorphisms and multiple sclerosis among Iraqi patients. Neurological Sciences, 40(11), 2383–2389. https://doi.org/10.1007/s10072-019-04000-4

Alsaid, A., El-Missiry, M., Hatata, E. S., Tarabay, M., & Settin, A. (2013). Association of IL -4-590 C > T and IL -13-1112 C > T gene polymorphisms with the susceptibility to type 2 diabetes mellitus. Disease Markers, 35(4), 243–247. https://doi.org/10.1155/2013/107470

Ambite, I., & Butler, D. (2021). Molecular determinants of disease severity in urinary tract infection. Nature Reviews Urology, 18(August). https://doi.org/10.1038/s41585-021-00477-x

Arababadi, M. K. (2010). Interleukin-4 gene polymorphisms in type 2 diabetic patients with nephropathy. Iranian Journal of Kidney Diseases, 4(4), 302–306.

Asghar, M. S., Ahsan, M. N., Akram, M., & Ahmed, I. (2021). of Kidney Diseases and Transplantation Renal Data from Asia – Africa Characteristics of Asymptomatic Bacteriuria in Patients with Chronic Kidney Disease : A Tertiary Care Hospital Experience from a Developing Country. 32(3), 821–837.

Awad, S. M. (2011). Renal Data from the Arab World Chronic Renal Failure in Al-Anbar of Iraq. 22(6), 1280–1284.

B , K. A., Hopp, K., & Mrug, M. (2020). Role of chemokines, innate and adaptive immunity. Cellular Signalling, 73(March), 109647. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109647

Badve, S. V., Pascoe, E. M., Tiku, A., Boudville, N., Brown, F. G., Cass, A., Clarke, P., Dalbeth, N., Day, R. O., de Zoysa, J. R., Douglas, B., Faull, R., Harris, D. C., Hawley, C. M., Jones, G. R. D., Kanellis, J., Palmer, S. C., Perkovic, V., Rangan, G. K., … Johnson, D. W. (2020). Effects of Allopurinol on the Progression of Chronic Kidney Disease. New England Journal of Medicine, 382(26), 2504–2513. https://doi.org/10.1056/nejmoa1915833

Barry, D. M., McMillan, E. A., Kunar, B., Lis, R., Zhang, T., Lu, T., Daniel, E., Yokoyama, M., Gomez-Salinero, J. M., Sureshbabu, A., Cleaver, O.,

Di Lorenzo, A., Choi, M. E., Xiang, J., Redmond, D., Rabbany, S. Y., Muthukumar, T., & Rafii, S. (2019). Molecular determinants of nephron vascular specialization in the kidney. Nature Communications, 10(1). https://doi.org/10.1038/s41467-019-12872-5

Basso, P. J., Andrade-Oliveira, V., & Câmara, N. O. S. (2021). Targeting immune cell metabolism in kidney diseases. Nature Reviews Nephrology, 17(7), 465–480. https://doi.org/10.1038/s41581-021-00413-7

Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. Clinical Microbiology Reviews, 27(4), 870–926. https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13

Berkoz, M., Cetin, Y., Duzenli, U., Bozan, N., & Ozkan, H. (2021). Association between IL-4 gene polymorphisms and IL-4 serum levels in patients with allergic rhinitis. Medicine Science | International Medical Journal, 10(2), 462. https://doi.org/10.5455/medscience.2020.10.223

Biljak, V. R., Honović, L., Matica, J., Krešić, B., & Vojak, S. Š. (2017). Disease : National Recommendations. 27(1), 153–176. http://doi.org/10.11613/BM.2017.019

Birder, L. A. (2019). Pathophysiology of interstitial cystitis. International Journal of Urology, 26(S1), 12–15. https://doi.org/10.1111/iju.13985

Aguemon, Bl, A., B., Vd, A., Vigan, J., As, B., Dossou, S., Ahoui, S., Cg, A., & Djrolo, F. (n.d.). Hypertensive and Diabetic History of Patients on Chronic Dialysis Prior to Chronic Kidney Disease Stage in Benin. 3(3), 1–4. https://doi.org/10.4172/2472-1220.1000150

Bomfim, G. F., Rodrigues, F. L., & Carneiro, F. S. (2017). Are the innate and adaptive immune systems setting hypertension on fire? Pharmacological Research, 117, 377–393. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.01.010

Brennan, E., Kantharidis, P., Cooper, M. E., & Godson, C. (2021). Pro-resolving lipid mediators: regulators of inflammation, metabolism and kidney function. Nature Reviews Nephrology, 17(11), 725–739. https://doi.org/10.1038/s41581-021-00454-y

Brubaker, S. W., Bonham, K. S., Zanoni, I., & Kagan, J. C. (2015). Innate immune pattern recognition: A cell biological perspective. In Annual Review of Immunology (Vol. 33). https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112240

Calliari, L. E., Almeida, F. J., & Noronha, R. M. (2020). Infections in children with diabetes. Jornal de Pediatria, 96(xx), 39–46. https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.09.004

Cao, W., & Zheng, H. (2018). Correction to: Peripheral immune system in aging and Alzheimer's disease. Molecular Neurodegeneration, 13(1), 1–17. https://doi.org/10.1186/s13024-018-0290-4

Centers for Disease Control and Prevention. (2021). Chronic Kidney Disease in the United States, 2021. Cdc, 1, 1–6. https://www.cdc.gov/kidneydisease/publications-resources/ckd-national-facts.html%0Ahttps://www.cdc.gov/kidneydisease/publications-resources/2019-national-facts.html

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Oncotarget 7204 www.impactjournals.com/oncotarget Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget, 9(6), 7204–7218. www.impactjournals.com/oncotarget/

Chen, Y. C., Chang, C. C., Chiu, T. H. T., Lin, M. N., & Lin, C. L. (2020). The risk of urinary tract infection in vegetarians and non-vegetarians: a prospective study. Scientific Reports, 10(1), 1–9. https://doi.org/10.1038/s41598-020-58006-6

Cilenšek, I., Hercegovac, A., Starčević, J. N., Vukojević, K., Babić, M. S., & Živin, A. M. (2011). Polymorphisms of interleukin-4, -10 and 12B genes and diabetic retinopathy. Central European Journal of Biology, 6(4), 558–564. https://doi.org/10.2478/s11535-011-0036-6

Collee, J. G., Fraser, A. G., Marmion, B. P., & Mackey, S. A. (2006). McCartney McCartney. Tests for the Identification of Bacteria.

Collins, G., & Altman, D. (2012). Predicting the risk of chronic kidney disease in the UK: An evaluation of QKidney® scores using a primary care

database. British Journal of General Practice, 62(597), 243–250. https://doi.org/10.3399/bjgp12X636065

Corredor, Z., Filho, M. I. da S., Rodríguez-Ribera, L., Velázquez, A., Hernández, A., Catalano, C., Hemminki, K., Coll, E., Silva, I., Diaz, J. M., Ballarin, J., Vallés Prats, M., Calabia Martínez, J., Försti, A., Marcos, R., & Pastor, S. (2020). Genetic Variants Associated with Chronic Kidney Disease in a Spanish Population. Scientific Reports, 10(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56695-2

Czajkowski, K., Broś-Konopielko, M., & Teliga-Czajkowska, J. (2021). Urinary tract infection in women. Przeglad Menopauzalny, 20(1), 40–47. https://doi.org/10.5114/pm.2021.105382

Dahnan, M., Assabri, A. M., & Khader, Y. S. (2019). Risk factors for end-stage renal failure among patients on hemodialysis in aljomhory hospital, Sa'adah Governorate, Yemen: Hospital-based case-control study. JMIR Public Health and Surveillance, 5(3), 1–6. https://doi.org/10.2196/14215

Daniel E Shumer, N. J. N. N. P. S. (2017). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. Physiology & Behavior, 176(12), 139–148. https://doi.org/10.1001/jama.2019.14745.Chronic

de Lusignan, S., McGee, C., Webb, R., Joy, M., Byford, R., Yonova, I., Hriskova, M., Ferreira, F. M., Elliot, A. J., Smith, G., & Rafi, I. (2018). Conurbation, urban, and rural living as determinants of allergies and infectious diseases: Royal college of general practitioners research and surveillance centre annual report 2016-2017. JMIR Public Health and Surveillance, 4(4). https://doi.org/10.2196/11354

Debiec, R., Christofidou, P., Denniff, M., Bloomer, L. D., Bogdanski, P., Wojnar, L., Musialik, K., Charchar, F. J., Thompson, J. R., Waterworth, D., Song, K., Vollenweider, P., Waeber, G., Zukowska-Szczechowska, E., Samani, N. J., Lambert, D., & Tomaszewski, M. (2013). Urotensin-II system in genetic control of blood pressure and renal function. PLoS ONE, 8(12), 6–13. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083137

Delcaru, C., Podgoreanu, P., Alexandru, I., Popescu, N., Măruţescu, L., Bleotu, C., Mogoşanu, G. D., Chifiriuc, M. C., Gluck, M., & Lazăr, V. (2017).

Antibiotic resistance and virulence phenotypes of recent bacterial strains isolated from urinary tract infections in elderly patients with prostatic disease. Pathogens, 6(2). https://doi.org/10.3390/pathogens6020022

Denic, A., Lieske, J. C., Chakkera, H. A., Poggio, E. D., Alexander, M. P., Singh, P., Kremers, W. K., Lerman, L. O., & Rule, A. D. (2017). The substantial loss of nephrons in healthy human kidneys with aging. Journal of the American Society of Nephrology, 28(1), 313–320. https://doi.org/10.1681/ASN.2016020154

Duncan, S. A., Baganizi, D. R., Sahu, R., Singh, S. R., & Dennis, V. A. (2017). SOCS proteins as regulators of inflammatory responses induced by bacterial infections: A review. Frontiers in Microbiology, 8(DEC), 1–15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02431

Ebert, T., Pawelzik, S. C., Witasp, A., Arefin, S., Hobson, S., Kublickiene, K., Shiels, P. G., Bäck, M., & Stenvinkel, P. (2020). Inflammation and premature ageing in chronic kidney disease. Toxins, 12(4). https://doi.org/10.3390/toxins12040227

Edwin Ighodaro, A. (2017). Interleukin 4 (IL-4) in Urinary Schistosomiasis as a Diagnostic Biomarker During Its Reinfection- A Review. International Journal of Clinical and Experimental Medical Sciences, 3(5), 57. https://doi.org/10.11648/j.ijcems.20170305.11

Elghoroury, E. A., Fadel, F. I., Farouk, H., Elshamaa, M. F., Kamel, S., Kandil, D., & Mahmoud, E. (2018). Association of variable number tandem repeats polymorphism in the IL-4 gene with end-stage renal disease in children. Egyptian Journal of Medical Human Genetics, 19(3), 191–195. https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2017.08.009

Emam, A. A., Shehab, M. M. M., Allah, M. A. N., Elkoumi, M. A., Abdelaal, N. E. M., Mosabah, A. A. A., Zakaria, M. T., Sherif, A. M., Soliman, M. M., El-Kaffas, R. M. H., Abouzeid, H., Abdou, M. A., Abdalmonem, N., Abdelbaset, H. R., Mohamed, S. A., Soliman, A. A., Elashkar, S. S. A., Hegab, M. S., Khalil, A. M., … Morsi, S. S. (2019). Interleukin-4 -590C/T gene polymorphism in Egyptian children with acute lower respiratory infection: A multicenter study. Pediatric Pulmonology, 54(3), 297–302. https://doi.org/10.1002/ppul.24235

Fasugba, O., Mitchell, B. G., Mcinnes, E., Koerner, J., & Allen, C. (2019). Increased fluid intake for the prevention of urinary tract infection in adults and children in all settings: A systematic review. Journal of Hospital Infection. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.08.016

Fathalla Askar, H., M Athab, A., A Shakir, S., & K Mohamad Ali, N. (2019). Renal Failure in Diyala Province. Diyala Journal of Medicine, 17(2), 33–40. https://doi.org/10.26505/djm.17024600409

Flores-mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections : epidemiology , mechanisms of infection and treatment options. 13(May). https://doi.org/10.1038/nrmicro3432

Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2007) Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Edition, Mosby Elsevier, China, 842-855.

Friedman, D., & Mbbch, V. A. L. (2019). Genetic and Developmental Factors in Chronic Kidney Disease Hotspots. 244–255. https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2019.02.002

Gai, Z., Gui, T., Kullak-Ublick, G. A., Li, Y., & Visentin, M. (2020). The Role of Mitochondria in Drug-Induced Kidney Injury. Frontiers in Physiology, 11. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01079

George, J. A., Brandenburg, J. T., Fabian, J., Crowther, N. J., Agongo, G., Alberts, M., Ali, S., Asiki, G., Boua, P. R., Gómez-Olivé, F. X., Mashinya, F., Micklesfield, L., Mohamed, S. F., Mukomana, F., Norris, S. A., Oduro, A. R., Soo, C., Sorgho, H., Wade, A., … Ramsay, M. (2019). Kidney damage and associated risk factors in rural and urban sub-Saharan Africa (AWI-Gen): a cross-sectional population study. The Lancet Global Health, 7(12), e1632–e1643. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30443-7

Ghagane, S. (2016). Single Nucleotide Polymorphisms: A New Paradigm in Predicting the Risk of Prostate Cancer. Cell & Developmental Biology, 05(01). https://doi.org/10.4172/2168-9296.1000168

Ghalavand, Z., Alebouyeh, M., Ghanati, K., Azimi, L., & Rashidan, M. (2020). Genetic relatedness of the Enterococcus faecalis isolates in stool and urine samples of patients with community-acquired urinary tract

infection. Gut Pathogens, 12(1), 1–11. https://doi.org/10.1186/s13099-020-00380-7

Gheith, O., Farouk, N., Nampoory, N., Halim, M. A., & Al-otaibi, T. (2016). Npj 1 2. 5(1), 49–56.

Giri, P. S., Shah, F., Gupta, B., Dhangar, A., Pathak, V. N., Desai, B., & Dwivedi, M. (2021). Genetic association of interleukin-4 VNTR polymorphism with susceptibility to rheumatoid arthritis in South Gujarat population. Gene Reports, 25(May), 101322. https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101322

Graversen, H. V., Nørgaard, M., Nitsch, D., & Christiansen, C. F. (2021). Preadmission kidney function and risk of acute kidney injury in patients hospitalized with acute pyelonephritis: A Danish population-based cohort study. PLoS ONE, 16(3 March), 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247687

Gu, L., Liu, H., Liu, X., Zeng, X., Lei, Z., & Wan, X. (2020). The relationship between interleukin-4 levels and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease. Risk Management and Healthcare Policy, 13, 2371–2377. https://doi.org/10.2147/RMHP.S270845

Gupta, J., Mitra, N., Kanetsky, P. A., Devaney, J., Wing, M. R., Reilly, M., Shah, V. O., Balakrishnan, V. S., Guzman, N. J., Girndt, M., Periera, B. G., Feldman, H. I., Kusek, J. W., Joffe, M. M., Raj, D. S., & CRIC Study Investigators. (2012). Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN, 7(12), 1938–1946. https://doi.org/10.2215/CJN.03500412

Hadi, A. M., Sheri, F. H., & Jaccob, A. A. (2014). Urinary Tract Infection Prevalence and Antibiotic Resistance A Retrospective Study in Basra Governorate , Iraq. Abstrac. 14.(2).

Hammad, M. A., Sulaiman, S. A. S., Aziz, N. A., & Noor, D. A. M. (2019). Prescribing statins among patients with type 2 diabetes: The clinical gap between the guidelines and practice. Journal of Research in Medical Sciences, 24(1), 1–5. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS

Heart, I. J. C., Coyle, M., Flaherty, G., & Jennings, C. (2021). A critical review of chronic kidney disease as a risk factor for coronary artery disease. IJC Heart & Vasculature, 35, 100822. https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2021.100822

Hippisley-Cox, J., & Coupland, C. (2010). Predicting the risk of chronic kidney disease in men and women in England and Wales: Prospective derivation and external validation of the QKidney ® Scores. BMC Family Practice, 11, 1–13. https://doi.org/10.1186/1471-2296-11-49

Hirst, J. A., Ordóñez Mena, J. M., O'Callaghan, C. A., Ogburn, E., Taylor, C. J., Yang, Y., & Richard Hobbs, F. D. (2021). Prevalence and factors associated with multimorbidity among primary care patients with decreased renal function. PLoS ONE, 16(1 January), 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245131

Hoste, E. A. J., Bagshaw, S. M., Bellomo, R., Cely, C. M., Colman, R., Cruz, D. N., Edipidis, K., Forni, L. G., Gomersall, C. D., Govil, D., Honoré, P. M., Joannes-Boyau, O., Joannidis, M., Korhonen, A. M., Lavrentieva, A., Mehta, R. L., Palevsky, P., Roessler, E., Ronco, C., … Kellum, J. A. (2015). Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. Intensive Care Medicine, 41(8), 1411–1423. https://doi.org/10.1007/s00134-015-3934-7

Huang, W. L., Xu, Y., & Wan, S. P. (2020). Association of Toll-like 4 receptor gene polymorphism (rs4986790, rs4986791) with the risk of urinary tract infection: A systematic review and meta-analysis. Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 36(3), 206–211. https://doi.org/10.1002/kjm2.12158

Jameel, A. Y., & Elyas, d. m. (2019). prevalence of urinary tract infections and their antimicrobial sensitivity among diabetic and non diabetic patients in zakho. 7(4), 125–131.

Jankowski, J., Floege, J., Fliser, D., Böhm, M., & Marx, N. (2021). Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease: Pathophysiological Insights and Therapeutic Options. Circulation, 1157–1172. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050686

Jiang, F., & Yan, A. (2021). IL-4 rs2243250 polymorphism associated with susceptibility to allergic rhinitis: A meta-analysis. Bioscience Reports, 41(4), 1–10. https://doi.org/10.1042/BSR20210522

John Hopkin's Medicine. (2020). Anatomy of the urinary system + physiology - nieuw.pdf. Stanford Children´s Health, May. https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=anatomyoftheurinarysystem-85-P04568

John, A. S., Mboto, C. I., & Agbo, B. (2016). A review on the prevalence and predisposing factors responsible for urinary tract infection among adults. 6(4), 7–11

Kam, P., Li, T., Burdmann, E. A., & Mehta, R. L. (2013). Jnt 1. Arab J of Nephrology and Transplantation, 6(2), 75–81.

Karagöz, A., Acar, S., & Körkoca, H. (2015). Characterization of Klebsiella isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and determination of antimicrobial resistance with VITEK 2 advanced expert system (AES). Turkish Journal of Medical Sciences, 45(6), 1335–1344. https://doi.org/10.3906/sag-1401-32

Kaur, S., Ali, A., Ahmad, U., Siahbalaei, Y., Pandey, A. K., & Singh, B. (2019). Role of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in common migraine. Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery, 55(1). https://doi.org/10.1186/s41983-019-0093-8

Kazancioğlu, R. (2013). Risk factors for chronic kidney disease: An update. Kidney International Supplements, 3(4), 368–371. https://doi.org/10.1038/kisup.2013.79

Kaze, F. F., Meto, D. T., Halle, M. P., Ngogang, J., & Kengne, A. P. (2015). Prevalence and determinants of chronic kidney disease in rural and urban Cameroonians: A cross-sectional study. BMC Nephrology, 16(1). https://doi.org/10.1186/s12882-015-0111-8

Kidneys, Y. (2020). Your Kidneys & How They Work Why are the kidneys important ? 1–4.

Kline, K. A., & Lewis, A. L. (2016). Gram-positive uropathogens, polymicrobial urinary tract infection, and the emerging microbiota of the urinary tract. Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management, 459–502. https://doi.org/10.1128/9781555817404.ch19

Korzycka-zaborowska, B., & Zielińska-bliźniews, H. (2015). Association of -590 C / T Il-4 Gene Promoter Polymorphism with Atopy in Polish Patients with Allergic Rhinitis. 10–12. https://doi.org/10.24966/ADT-749X/100004

Kostakopoulos, N. A., Karakousis, N. D., & Moschotzopoulos, D. (2021). Frailty associated urinary tract infections (FaUTIs). Journal of Frailty, Sarcopenia and Falls, 06(01), 9–13. https://doi.org/10.22540/jfsf-06-009

Kovesdy, C. P. (2022). Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. Kidney International Supplements, 12(1), 7–11. https://doi.org/10.1016/j.kisu.2021.11.003

Ksiazek, K., Blaszczak, J., & Buraczynska, M. (2019). IL4 gene VNTR polymorphism in chronic periodontitis in end-stage renal disease patients. Oral Diseases, 25(1), 258–264. https://doi.org/10.1111/odi.12974

Kühn, A., van der Giet, M., Kuhlmann, M. K., Martus, P., Mielke, N., Ebert, N., & Schaeffner, E. S. (2021). Kidney Function as Risk Factor and Predictor of Cardiovascular Outcomes and Mortality Among Older Adults. American Journal of Kidney Diseases, 77(3), 386-396.e1. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2020.09.015

Kurts, C., Panzer, U., Anders, H. J., & Rees, A. J. (2013). The immune system and kidney disease: Basic concepts and clinical implications. Nature Reviews Immunology, 13(10), 738–753. https://doi.org/10.1038/nri3523

Lean, K., Nawaz, R. F., Jawad, S., & Vincent, C. (2019). Reducing urinary tract infections in care homes by improving hydration. https://doi.org/10.1136/bmjoq-2018-000563

Lee, D. S., Lee, S. J., Choe, H. S., & Giacobbe, D. R. (2018). Community-Acquired Urinary Tract Infection by Escherichia coli in the Era of

Antibiotic Resistance. BioMed Research International, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/7656752

Leoni, G., Neumann, P. A., Sumagin, R., Denning, T. L., & Nusrat, A. (2015). Wound repair: Role of immune-epithelial interactions. Mucosal Immunology, 8(5), 959–968. https://doi.org/10.1038/mi.2015.63

Li, M., Carey, J., Cristiano, S., Susztak, K., Coresh, J., Boerwinkle, E., Kao, W. H.L., Beaty, T. H., Köttgen, A., & Scharpf, R. B. (2017). Genome-wide association of copy number polymorphisms and kidney function. PLoS ONE, 12(1), 1–13. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170815

Li, P. K. T., Garcia-Garcia, G., Lui, S. F., Andreoli, S., Fung, W. W. S., Hradsky, A., Kumaraswami, L., Lia-Kopoulos, V., Rakhimova, Z., Saadi, G., Strani, L., Ulasi, I., & Kalantar-Zadeh, K. (2020). Kidney Health For Everyone Everywhere -From Prevention To Detection And Equitable Access To Care. Brunei International Medical Journal, 2020(16), 60–72. https://doi.org/10.36485/1561-6274-2020-24-2-9-21

Liao, J., Yu, Z., Chen, Y., Bao, M., Zou, C., Zhang, H., Liu, D., Li, T., Zhang, Q., Li, J., Cheng, J., & Mo, Z. (2020). Single-cell RNA sequencing of human kidney. Scientific Data, 7(1), 1–9. https://doi.org/10.1038/s41597-019-0351-8

Liston, A., Carr, E. J., & Linterman, M. A. (2016). Shaping Variation in the Human Immune System. Trends in Immunology, 37(10), 637–646. https://doi.org/10.1016/j.it.2016.08.002

Liu, K. D., Yang, J., Tan, T. C., Glidden, D. V., Zheng, S., Pravoverov, L., Hsu, C. yuan, & Go, A. S. (2019). Risk Factors for Recurrent Acute Kidney Injury in a Large Population-Based Cohort. American Journal of Kidney Diseases, 73(2), 163–173. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2018.08.008

Liu, K. D., Yang, W., Go, A. S., Anderson, A. H., Feldman, H. I., Fischer, M. J., He, J., Kallem, R. R., Kusek, J. W., Master, S. R., Miller, E. R., Rosas, S. E., Steigerwalt, S., Tao, K., Weir, M. R., & Hsu, C. Y. (2015). Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and risk of cardiovascular disease and death in CKD: Results from the chronic renal insufficiency

cohort (CRIC) study. American Journal of Kidney Diseases, 65(2), 267–274. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.07.025

Liu, X. L., Ren, J. K., & Su, Y. L. (2016). Association between IL-4 gene polymorphisms, IL-4 serum levels, and ankylosing spondylitis. Genetics and Molecular Research, 15(4), 1–9. https://doi.org/10.4238/gmr15048898

Luyckx, V. A., Tuttle, K. R., Garcia-garcia, G., Massy, Z. A., Moe, O., Nelson, R. G., Sola, L., & Wheeler, D. C. (2017). Reducing major risk factors for chronic kidney disease. Kidney International Supplements, 7(2), 71–87. https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.07.003

Luzina, I. G., Keegan, A. D., Heller, N. M., & Rook, G. A. W. (2012). Regulation of inflammation by interleukin-4 : a review of " alternatives ." 92(October), 753–764. https://doi.org/10.1189/jlb.0412214

Macfaddin, J.F.(2000).biochemical tests for identification of medical bacteria.1 sted Williams and Wilkins Baltimore,USA . Manual of clinical Microbiology, ASM, Washington D.C , pp.222-237.

MACKIE, T., MCCARTENY, J., COLLEE, J., DUGUID, J., FRASER, A. & MARMION, B. 1996. Practical Medical Microbiology. vol. 2. Edinberg: Churchill and Livingstone, 131-48.

Mahmood, N. S., & Abdulla, A. A. (2021). Association of IL- 4 − 590 (C > T) Gene polymorphism with the Levels of Serum IL-4 and IgE on the Risk of Bronchial Asthma in Babylon Province / Iraq. 25(4), 391–400.

Mai, M., Jiang, Y., Wu, X., Liu, G., & Zhu, Y. (2020). Association of TGF- b 1 , IL-4 , and IL-10 Polymorphisms With Chronic Kidney Disease Susceptibility : 11(February), 1–11. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00079

Mallappallil, M., Friedman, E. A., Delano, B. G., Mcfarlane, S. I., & Salifu, M. O. (2014). Chronic kidney disease in the elderly: Evaluation and management. Clinical Practice, 11(5), 525–535. https://doi.org/10.2217/cpr.14.46

Malutan, A. M., Drugan, C., Drugan, T., Ciortea, R., & Mihu, D. (2016). The association between interleukin-4-590C/T genetic polymorphism, IL-4 serum level, and advanced endometriosis. Central European Journal of Immunology, 41(2), 176–181. https://doi.org/10.5114/ceji.2016.60992

Marks, A., Fluck, N., Prescott, G. J., Robertson, L. M., Simpson, W. G., Smith, W. C. S., & Black, C. (2014). Definitions of progression in chronic kidney disease - Predictors and relationship to renal replacement therapy in a population cohort with a 6 year follow-up. Nephrology Dialysis Transplantation, 29(2), 333–341. https://doi.org/10.1093/ndt/gft393

Matsushita, K., Ballew, S. H., Astor, B. C., de Jong, P. E., Gansevoort, R. T., Hemmelgarn, B. R., Levey, A. S., Levin, A., Wen, C. P., Woodward, M., & Coresh, J. (2013). Cohort profile: The Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. International Journal of Epidemiology, 42(6), 1660–1668. https://doi.org/10.1093/ije/dys173

May, R. D., & Fung, M. (2015). Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease. Cytokine, 75(1), 89–116. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.05.018

McMahon, A. P. (2016). Development of the Mammalian Kidney. In Current Topics in Developmental Biology (1st ed., Vol. 117). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.10.010

Medina, M., & Castillo-Pino, E. (2019). An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. Therapeutic Advances in Urology, 11, 3–7. https://doi.org/10.1177/1756287219832172

MedlinePlus Genetics. (2020). Genomic Research Center. https://medlineplus.gov/genetics/understanding/genomicresearch/snp/

Meersch, M., Volmering, S., & Zarbock, A. (2017). Prevention of acute kidney injury. Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology, 31(3), 361–370. https://doi.org/10.1016/j.bpa.2017.08.002

Mirzaei, R., Mohammadzadeh, R., Sholeh, M., Karampoor, S., Abdi, M., Dogan, E., Moghadam, M. S., Kazemi, S., Jalalifar, S., Dalir, A., Yousefimashouf, R., Mirzaei, E., Khodavirdipour, A., & Alikhani, M. Y. (2020). The importance of intracellular bacterial biofilm in infectious

diseases. Microbial Pathogenesis, 147(July), 104393. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104393

Mody, L., & Juthani-Mehta, M. (2014). Urinary tract infections in older women: A clinical review. JAMA - Journal of the American Medical Association, 311(8), 844–854. https://doi.org/10.1001/jama.2014.303

Mohammed, T., Taher, J., Turki, F., Sarray, R., & Shwekh, A. S. (2021). Bacterial Causes of Urinary Tract Infection among Diabetic and Non-Diabetic Patients in Al-Kut City , Iraq. 2, 52–58.

Mohsen, S. M., Farhan, A. A., & Saleh, M. A. D. (2020). Investigation of il-17f (Rs763780) gene polymorphisms in cases with Iraqi renal failure patients. Medico-Legal Update, 20(1), 477–482. https://doi.org/10.37506/v20/i1/2020/mlu/194368

Moinuddin, Z., & Dhanda, R. (2015). Anatomy of the kidney and ureter. Anaesthesia and Intensive Care Medicine, 16(6), 247–252. https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2015.04.001

Moreira, A. D., Velasquez-Melendez, G., Ladeira, R. M., da Silva Junior, G. B., Fonseca, M. de J., & Barreto, S. M. (2021). Association between Adiposity Indexes and Kidney Disease: Findings from the Longitudinal Study of Adult Health (Elsa-Brazil). Journal of the American College of Nutrition, 0(0), 1–7. https://doi.org/10.1080/07315724.2021.1878968

Morello, W., Scola, C. La, Alberici, I., & Montini, G. (2016). Acute pyelonephritis in children American Academy of Pediatrics. Pediatric Nephrology, 1253–1265. https://doi.org/10.1007/s00467-015-3168-5

Morya, R., Kumar, K., & Kumar, P. (2018). Anatomical and Physiological Similarities of Kidney in Different Experimental Animals Used for Basic Studies. Journal of Clinical & Experimental Nephrology, 03(02), 1–6. https://doi.org/10.21767/2472-5056.100060

Neelofar, K., Ahmad, J., Ahmad, A., & Alam, K. (2017). Study of IL4-590C/T and IL6-174G/C Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetic Patients With Chronic Kidney Disease in North Indian Population. Journal of Cellular Biochemistry, 118(7), 1803–1809. https://doi.org/10.1002/jcb.25853

Ness, D., & Olsburgh, J. (2020). UTI in kidney transplant. World Journal of Urology, 38(1), 81–88. https://doi.org/10.1007/s00345-019-02742-6

Nickavar, A., Safaeian, B., & Valavi, E. (2016). Evaluation and comparison of urinary cytokines for the diagnosis of acute pyelonephritis. Archives of Pediatric Infectious Diseases, 4(4). https://doi.org/10.5812/pedinfect.38877

Noborisaka, Y. (2013). Smoking and chronic kidney disease in a healthy populations. Nephro-Urology Monthly, 5(1), 655–667. https://doi.org/10.5812/numonthly.3527

O'Callaghan, C. A., Shine, B., & Lasserson, D. S. (2011). Chronic kidney disease: A large-scale population-based study of the effects of introducing the CKD-EPI formula for eGFR reporting. BMJ Open, 1(2), 1–10. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2011-000308

Ortega Martell, J. A. (2020). Immunology of urinary tract infections. GMS Infectious Diseases, 8, Doc21. https://doi.org/10.3205/id000065

Owens, E. P., Vesey, D. A., Kassianos, A. J., Healy, H., Hoy, W. E., & Gobe, G. C. (2019). Biomarkers and the role of mast cells as facilitators of inflammation and fibrosis in chronic kidney disease. Translational Andrology and Urology, 8(Mc), S175–S183. https://doi.org/10.21037/tau.2018.11.03

Pahl, M. V., & Vaziri, N. D. (2020). Immune Function in Chronic Kidney Disease. In Chronic Renal Disease. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815876-0.00032-2

Park, H. K., Kim, S. K., Kweon, H. Y., Lee, K. G., Arasu, M. V., & Kim, Y. O. (2017). Promoter polymorphism (−590, T/C) of interleukin 4 (IL4) gene is associated with rheumatoid arthritis: An updated meta-analysis. Saudi Journal of Biological Sciences, 24(2), 444–449. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.013

Qiu, L. J., Ni, J., Cen, H., Wen, P. F., Zhang, M., Liang, Y., Pan, H. F., Mao, C., & Ye, D. Q. (2015). Relationship between the IL-4 gene promoter -590C/T (rs2243250) polymorphism and susceptibility to autoimmune diseases: A meta-analysis. Journal of the European Academy of

Dermatology and Venereology, 29(1), 48–55. https://doi.org/10.1111/jdv.12435

Quinnell, S. P., Leifer, B. S., Nestor, S. T., Tan, K., Sheehy, D. F., Ceo, L., Doyle, S. K., Koehler, A. N., & Vegas, A. J. (2020). A Small-Molecule Inhibitor to the Cytokine Interleukin-4. ACS Chemical Biology, 15(10), 2649–2654. https://doi.org/10.1021/acschembio.0c00615

Ragnarsdóttir, B., Lutay, N., Grönberg-Hernandez, J., Köves, B., & Svanborg, C. (2011). Genetics of innate immunity and UTI susceptibility. Nature Reviews Urology, 8(8), 449–468. https://doi.org/10.1038/nrurol.2011.100

Raman, M., Green, D., Middleton, R. J., & Kalra, P. A. (2018). Comparing the impact of older age on outcome in chronic kidney disease of different etiologies: a prospective cohort study. Journal of Nephrology, 31(6), 931–939. https://doi.org/10.1007/s40620-018-0529-8

Rieckmann, J. C., Geiger, R., Hornburg, D., Wolf, T., Kveler, K., Jarrossay, D., Sallusto, F., Shen-orr, S. S., Lanzavecchia, A., Mann, M., & Meissner, F. (2017). Social network architecture of human immune cells unveiled by quantitative proteomics. 18(5). https://doi.org/10.1038/ni.3693

Riera Romo, M., Pérez-Martínez, D., & Castillo Ferrer, C. (2016). Innate immunity in vertebrates: An overview. Immunology, 148(2), 125–139. https://doi.org/10.1111/imm.12597

Robert Cronin Yung Peng, Rose Khavari, N. D. (2017). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. Physiology & Behavior, 176(3), 139–148. https://doi.org/10.1159/000444169.Carotid

Rodriguez-Mañas, L. (2020). Urinary tract infections in the elderly: A review of disease characteristics and current treatment options. Drugs in Context, 9, 1–8. https://doi.org/10.7573/DIC.2020-4-13

Safdar, O. Y., Alblowi, S. S., Aboulola, N. A., & Alharazy, D. T. (2021). Renal stones and risk factors in Jeddah and Riyadh. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, 32(1), 191–198. https://doi.org/10.4103/1319-2442.318523

Sahu, R., Sahoo, R. K., Prusty, S. K., & Sahu, P. K. (2019). Urinary tract infection and its management. Systematic Reviews in Pharmacy, 10(1), 42–48. https://doi.org/10.5530/srp.2019.1.7

Santos, E. J. F., Dias, R. S. C., Lima, J. F. de B., Filho, N. S., & Dos Santos, A. M. (2020). Erythropoietin resistance in patients with chronic kidney disease: Current perspectives. International Journal of Nephrology and Renovascular Disease, 13, 231–237. https://doi.org/10.2147/IJNRD.S239151

Scholes, D., Hawn, T. R., Roberts, P. L., Li, S. S., Stapleton, A. E., Zhao, L. P., Stamm, W. E., & Hooton, T. M. (2010). Family history and risk of recurrent cystitis and pyelonephritis in women. Journal of Urology, 184(2), 564–569. https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.03.139

Shajahan, S., Amin, J., Phillips, J. K., & Hildreth, C. M. (2021). Relationship between sex and cardiovascular mortality in chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. PLoS ONE, 16(7 July), 1–24. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254554

Shang, H., Cao, X. L., Wan, Y. J., Meng, J., & Guo, L. H. (2016). IL-4 Gene Polymorphism May Contribute to an Increased Risk of Atopic Dermatitis in Children. Disease Markers, 2016. https://doi.org/10.1155/2016/1021942

Sharma, K., & Virmani, J. (2017). A decision support system for classification of normal and medical renal disease using ultrasound images: A decision support system for medical renal diseases. International Journal of Ambient Computing and Intelligence, 8(2), 52–69. https://doi.org/10.4018/IJACI.2017040104

Shi, H., Kang, C., Cho, S. Y., Huh, K., Chung, D. R., & Peck, K. R. (2019). Follow-up blood cultures add little value in the management of bacteremic urinary tract infections.

Siew, E. D., Abdel-Kader, K., Perkins, A. M., Greevy, R. A., Parr, S. K., Horner, J., Vincz, A. J., Denton, J., Wilson, O. D., Hung, A. M., Robinson-Cohen, C., & Matheny, M. E. (2020). Timing of Recovery From Moderate to Severe AKI and the Risk for Future Loss of Kidney

Function. American Journal of Kidney Diseases, 75(2), 204–213. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.05.031

Skevaki, C., Pararas, M., Kostelidou, K., Tsakris, A., & Routsias, J. G. (2015). Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. Clinical and Experimental Immunology, 180(2), 165–177. https://doi.org/10.1111/cei.12578

Sofia, N. H., Walter, T. M., & Sanatorium, T. (2016). Commerce Medical Science PREVALENCE AND RISK FACTORS OF KIDNEY STONE Lecturer , Department of Maruthuvam (Medicine) National Institute of Ex- Director , National Institute of Siddha , Tambaram Sanatorium ,. Research Paper Medical Sciencemedical Science, 2014(March), 1–6.

Sohail, A., Alharahsheh, M., Almshagbeh, M., Alkhawaldeh, R., & ALkhawaldeh, W. (2015). Bacterial Pathogen In Urinary Tract Infection And Antibiotic Resistance Patteern In Zaraqa -Jordan. European Scientific Journal, 11(12), 1857–7881. https://eujournal.org/index.php/esj/article/viewFile/5473/5280

Spencer, J. D., Schwaderer, A. L., Becknell, B., Watson, J., & Hains, D. S. (2014). The innate immune response during urinary tract infection and pyelonephritis. Pediatric Nephrology, 29(7), 1139–1149. https://doi.org/10.1007/s00467-013-2513-9

Stewart, B. J., Ferdinand, J. R., Young, M. D., Mitchell, T. J., Loudon, K. W., Riding, A. M., Richoz, N., Frazer, G. L., Staniforth, J. U. L., Braga, F. A. V., Botting, R. A., Popescu, D. M., Vento-Tormo, R., Stephenson, E., Cagan, A., Farndon, S. J., Polanski, K., Efremova, M., Green, K., … Clatworthy, M. R. (2019). Spatiotemporal immune zonation of the human kidney. Science, 365(6460), 1461–1466. https://doi.org/10.1126/science.aat5031

Storme, O., Tirán Saucedo, J., Garcia-Mora, A., Dehesa-Dávila, M., & Naber, K. G. (2019). Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection. Therapeutic Advances in Urology, 11, 175628721881438. https://doi.org/10.1177/1756287218814382

Su, S. L., Lin, C., Kao, S. Y., Wu, C. C., Lu, K. C., Lai, C. H., Yang, H. Y., Chiu, Y. L., Chen, J. S., Sung, F. C., Ko, Y. C., Lee, C. Te, Yang, Y., Yang, C. W., Hwang, S. J., Wang, M. C., Hsu, Y. H., Wu, M. Y., Hsueh, Y. M., … Lin, Y. F. (2015). Risk factors and their interaction on chronic kidney disease: A multi-centre case control study in Taiwan. BMC Nephrology, 16(1), 1–10. https://doi.org/10.1186/s12882-015-0065-x

Sukhumsirichart, W. (2018). Polymorphisms Polymorphisms. 3–24. https://doi.org/10.5772/intechopen.76728

Sun, J., Axelsson, J., Machowska, A., Heimbürger, O., Bárány, P., Lindholm, B., Lindström, K., Stenvinkel, P., & Qureshi, A. R. (2016). Biomarkers of cardiovascular disease and mortality risk in patients with advanced CKD. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 11(7), 1163–1172. https://doi.org/10.2215/CJN.10441015

Suthar, P. C., Purkait, P., Ameta, R., & Sarkar, B. N. (2017). Magnitude of Human Genetic Variations: A Mini Review. International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences, 2(2), 15–23. https://doi.org/10.22259/ijrsmhs.0202004

Tan, C. W., & Chlebicki, M. P. (2016). Urinary tract infections in adults. Singapore Medical Journal, 57(9), 485–490. https://doi.org/10.11622/smedj.2016153

Tecklenborg, J., Clayton, D., Siebert, S., & Coley, S. M. (2018). The role of the immune system in kidney disease. Clinical and Experimental Immunology, 192(2), 142–150. https://doi.org/10.1111/cei.13119

Thomas, N. (2018). Classification of chronic kidney disease 10 years on: What have we learnt and what do we need to do now? Family Practice, 35(4), 349–351. https://doi.org/10.1093/fampra/cmy015

Tille , P.M.(2014). Bailey &Scott,s diagnostic microbiology.13th Mosby, Inc.,an affiliate of Elsevier Inc.

Tohidi, M., Hasheminia, M., Mohebi, R., Khalili, D., Hosseinpanah, F., Yazdani, B., Nasiri, A. A., Azizi, F., & Hadaegh, F. (2012). Incidence of Chronic Kidney Disease and Its Risk Factors, Results of Over 10 Year

Follow Up in an Iranian Cohort. PLoS ONE, 7(9), 1–9. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045304

United States Renal Data System. (2021). Kidney Disease: The Basics Fast Facts. 1–16. https://www.kidney.org/news/newsroom/fsindex

Vallejos-Vidal, E., Reyes-Cerpa, S., Rivas-Pardo, J. A., Maisey, K., Yáñez, J. M., Valenzuela, H., Cea, P. A., Castro-Fernandez, V., Tort, L., Sandino, A. M., Imarai, M., & Reyes-López, F. E. (2020). Single-Nucleotide Polymorphisms (SNP) Mining and Their Effect on the Tridimensional Protein Structure Prediction in a Set of Immunity-Related Expressed Sequence Tags (EST) in Atlantic Salmon (Salmo salar). Frontiers in Genetics, 10(February), 1–18. https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01406

Vasudevan, R., Norhasniza, M. N., & Patimah, I. (2011). Association of variable number of tandem repeats polymorphism in the IL-4 gene with end-stage renal disease in Malaysian patients. Genetics and Molecular Research : GMR, 10(2), 943–947. https://doi.org/10.4238/vol10-2gmr1066

Vasudevan, Ranganathan. (2014). Urinary tract infection : an overview of the infection and the associated risk factors. 1(2), 42–54. https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.0000

Viljoen, C. D., Dajee, B. K., & Botha, G. M. (2006). Detection of GMO in food products in South Africa: Implications of GMO labelling. African Journal of Biotechnology, 5(2), 73–82.Vo-, D. W. O., Proskauer, B., & Diseases, I. (2008). Voges – Proskauer test. 1, 3–4.

Warady, B. A., Abraham, A. G., Schwartz, G. J., Wong, C. S., Muñoz, A., Betoko, A., Mitsnefes, M., Kaskel, F., Greenbaum, L. A., Mak, R. H., Flynn, J., Moxey-Mims, M. M., & Furth, S. (2015). Predictors of rapid progression of glomerular and nonglomerular kidney disease in children and adolescents: The chronic kidney disease in children (CKiD) cohort. American Journal of Kidney Diseases, 65(6), 878–888. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.01.008

Webster, A. C., Nagler, E. V., Morton, R. L., & Masson, P. (2017). Chronic Kidney Disease. The Lancet, 389(10075), 1238–1252. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32064-5

Wijmenga, C., & Zhernakova, A. (2018). The importance of cohort studies in the post-GWAS era. Nature Genetics, 50(3), 322–328. https://doi.org/10.1038/s41588-018-0066-3

Worku, G. Y., Alamneh, Y. B., & Abegaz, W. E. (2021). Prevalence of bacterial urinary tract infection and antimicrobial susceptibility patterns among diabetes mellitus patients attending zewditu memorial hospital, Addis Ababa, Ethiopia. Infection and Drug Resistance, 14, 1441–1454. https://doi.org/10.2147/IDR.S298176

Wu, Q., & Fenton, R. A. (2021). Urinary proteomics for kidney dysfunction: insights and trends. Expert Review of Proteomics, 18(6), 437–452. https://doi.org/10.1080/14789450.2021.1950535

Xia, J., Wang, L., Ma, Z., Zhong, L., Wang, Y., Gao, Y., He, L., & Su, X. (2017). Cigarette smoking and chronic kidney disease in the general population: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. Nephrology Dialysis Transplantation, 32(3), 475–487. https://doi.org/10.1093/ndt/gfw452

Xu, X., Eales, J. M., Akbarov, A., Guo, H., Becker, L., Talavera, D., Ashraf, F., Nawaz, J., Pramanik, S., Bowes, J., Jiang, X., Dormer, J., Denniff, M., Antczak, A., Szulinska, M., Wise, I., Prestes, P. R., Glyda, M., Bogdanski, P., … Tomaszewski, M. (2018). Molecular insights into genome-wide association studies of chronic kidney disease-defining traits. Nature Communications, 9(1). https://doi.org/10.1038/s41467-018-07260-4

Yongzhi, L., Shi, Y., Jia, L., Yili, L., Xingwang, Z., & Xue, G. (2018). Risk factors for urinary tract infection in patients with urolithiasis - Primary report of a single center cohort. BMC Urology, 18(1), 1–6. https://doi.org/10.1186/s12894-018-0359-y

Zaha, D. C., Jurca, C. M., Daina, L. G., Vesa, C. M., Popa, A. R., Jurca, A. D., Muresan, M., & Micle, O. (2020). Prevalence of urinary tract infection

and antimicrobial susceptibility among diabetic patients. Farmacia, 68(2), 250–255. https://doi.org/10.31925/farmacia.2020.2.9

Završnik, M., Letonja, J., Makuc, J., Šeruga, M., Cilenšek, I., & Petrovič, D. (2018). Interleukin-4 (IL4)-590C/T (rs2243250) gene polymorphism is not associated with diabetic nephropathy (DN) in caucasians with type 2 diabetes mellitus (T2DM). Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 18(4), 347–351. https://doi.org/10.17305/bjbms.2018.2688

Zhang, M., Lu, Y., Zhang, X., Lu, A., Wang, L., & Chen, C. (2016). Interleukin-4 polymorphism is associated with severity of respiratory syncytial virus infection. Journal of Paediatrics and Child Health, 52(1), 25–29. https://doi.org/10.1111/jpc.12985

الملاحق

Appendices

Kerbala University

College of Science
Department of Biology

Questionnaire for the patients with UTIs & the control

1. Name: No. The date:
2. Gender: Male Female
3. Age:
4. Urine profile:

Microscopical examination	Culture (register types of bacteria and other pathogens)	Discharges associated with the infection (describe colour and texture)

5. Status of cigarette-smoking Yes No
6. Alcohol consuming Yes No
7. Recurrent UTI Yes No
   - ❖ Time duration between the recurrent UTIs
8. Relatives having recurrent UTI Father Mother

   Sister
9. Types of antibiotics have been taken as a medicine:

10. Does there are stones in the urethra & kidney: Yes No

11. Other infections around the body associated with renal disease :

12. Macro albuminuria

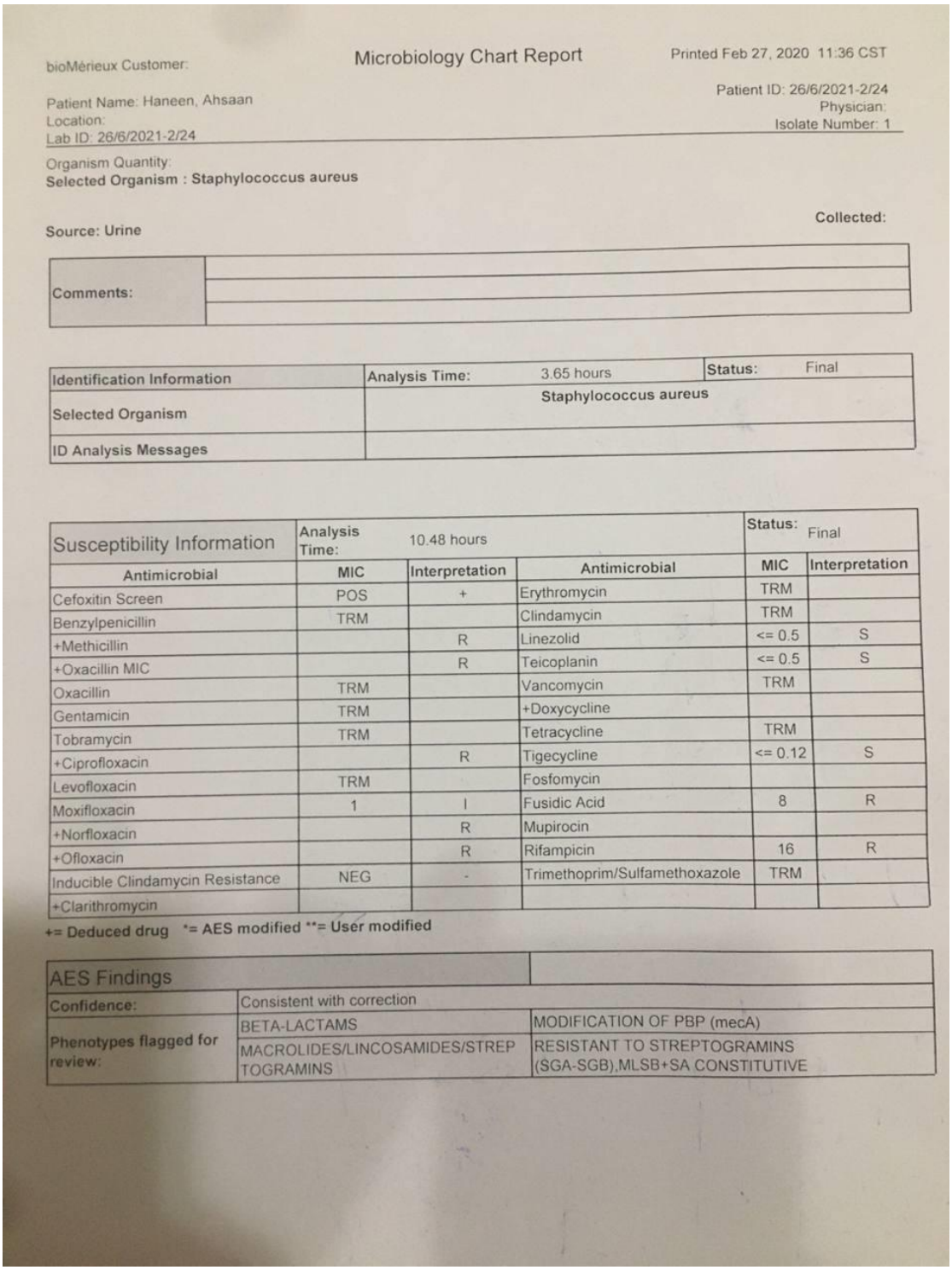
13.Hyperglycaemia

14. Blood pressure levels

15. Elevated serum lipids

16.Dietary protein

17.Glucose levels in diabetic patients.



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Feb 27, 2020 11:36 CST

Patient Name: Haneen, Ahsaan
Location:
Lab ID: 26/6/2021-2/24

Patient ID: 26/6/2021-2/24
Physician:
Isolate Number: 1

Organism Quantity:
Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	3.65 hours	**Status:** Final
Selected Organism	**Staphylococcus aureus**		
ID Analysis Messages			

Susceptibility Information	Analysis Time: 10.48 hours			Status: Final	
Antimicrobial	**MIC**	**Interpretation**	**Antimicrobial**	**MIC**	**Interpretation**
Cefoxitin Screen	POS	+	Erythromycin	TRM	
Benzylpenicillin	TRM		Clindamycin	TRM	
+Methicillin		R	Linezolid	<= 0.5	S
+Oxacillin MIC		R	Teicoplanin	<= 0.5	S
Oxacillin	TRM		Vancomycin	TRM	
Gentamicin	TRM		+Doxycycline		
Tobramycin	TRM		Tetracycline	TRM	
+Ciprofloxacin		R	Tigecycline	<= 0.12	S
Levofloxacin	TRM		Fosfomycin		
Moxifloxacin	1	I	Fusidic Acid	8	R
+Norfloxacin		R	Mupirocin		
+Ofloxacin		R	Rifampicin	16	R
Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	TRM	
+Clarithromycin					

+= Deduced drug *= AES modified **= User modified

AES Findings		
Confidence:	Consistent with correction	
Phenotypes flagged for review:	BETA-LACTAMS	MODIFICATION OF PBP (mecA)
	MACROLIDES/LINCOSAMIDES/STREPTOGRAMINS	RESISTANT TO STREPTOGRAMINS (SGA-SGB),MLSB+SA CONSTITUTIVE

Summery

The current study was included the collection of (180) clinical samples of blood and urine samples from three groups of patients, as well as a control group. who were diagnosed clinically by specialized doctors. The first group included patients with renal failure, whose ages ranged from 17-85 years, while the second group included patients with urinary tract infections, whose ages ranged from 18 to 82 years. The third group consisted of patients with urinary tract infection and renal failure at the same time, whose ages ranged between 17-85 years, and 45 patients per group, of both sexes, who attended Imam Hussein (Peace be upon him) Medical City Hospital in the Holy Karbala Governorate and Al-Diwaniyah Teaching Hospital in Diwaniyah Governorate during the period from March to July 2021.

The blood and urine samples were collected from each participant, where the blood sample was divided into two parts, the first part was collected in EDTA tubes to extract DNA, which was used to detect the polymorphism in the IL-4-590 C>T (rs2243250) gene using (Allele-specific PCR) technology. the second part of blood was collected in Gel tubes which used to obtain the serum for the purpose of conducting the ELISA test to determine the level of interleukin 4 (IL-4) in the studied groups. The urine sample was used in the general urine examination and bacterial laboratory culture to isolate and diagnose bacteria in the studied groups.

The results of the demographic analysis showed that there were no significant differences between the tested groups in the mean age repetitively ($p = 0.912$) and gender ($p= 0.145$) compared to the control group. It also showed non-significant variations ($p= 0.516$) in the

incidence rate of study groups and place of residence (rural or city), in addition to the lack of association between urinary tract infections and kidney failure with smoking (p = 0.546), while significant differences were found between both urinary tract infections and Renal failure in one herd and both the frequency of infection (p = 0.001), the family history of the patient (p = 0.001) and the presence of kidney stones (p = 0.001). in other had or UTI & renal failer.

The results of bacterial culture showed that out of a total of 135 cultured urine samples, 90 bacterial isolates were obtained, distributed among 45 bacterial isolates from patients with UTI , which were 33 (73.3%) of Gram-negative bacteria, where *E. coli* 24 occupied (53.3) the which was represented highest percentage of isolates was followed by *Acinetobacter baumannii* 4 (8.9%), *Proteus mirabilis* 3 (6.7%) and *Pseudomonas aeruginosa* 2 (4.4%), while Gram-positive bacteria reached 12 (26.7%), represented by *Enterococcus faecalis* 4(8.9%), *Streptococcus* spp. 3(6.7%), *Staphylococcus* spp. 3 (6.7%), *Staphylococcus aureus* 2(4.4%).

As for the group of patients with UTI and Renal failure, the number of bacterial isolates was 45, distributed among (77.8%) 35 Gram-negative bacteria isolates (*E. coli* 27 (60.0%), *Acinetobacter baumannii* 4.4%) (2), *Proteus mirabilis* 4 (8.9%) , *Pseudomonas aeruginosa* 1 (2.2%) , *Klebsiella pneumonia* 1 (2.2%) and 10 (22.2%) isolates from Gram-positive bacteria represented by *Staphylococcus aureus* 3 (6.7%), *Staphylococcus* spp. 1 (2.2%), *Streptococcus* spp. (8.9% 4) , *Enterococcus faecalis* 4.4% (2).

The results of the ELISA test showed that there were a significant differences ($p \leq 0.001$) in the average level of interleukin 4 in the serum

of the study groups. Where the highest rates were recorded in the group of patients with renal failure only, where the average was (295.81 ± 59.73) IU/ml compared to the control group (64.97 ± 36.06) IU/ml.

The results of genetic heterogeneity analysis in the interleukin-4 gene at a locus (rs2243250) by Allele-specific PCR technique showed the agreement of the distribution of the mutations in the study groups according to the (Hardy Weinberg equation). Where the frequency of genotypes CC, TT, and T/C in patients with renal failure was (4, 26, 15), respectively. In addition while was (16,27,2) in patients with UTI , while it reached (4, 34, 7) in the group of patients with UTI and renal failure together compared to the control group, which scored (34, 10, 1) for the studied genotypes, respectively.

The study showed a significant differences in the distribution of genotypes ($p < 0.001$) and alleles ($p < 0.001$) for interleukin 4 among study groups compared to the control group. the C/T phenotype was dominant in the all tested groups compared to the control group, in which the CC (75.6%) phenotype was the most prevalent and the C allele (86.7%) was dominant compared to the T allele (13.3%), while the T allele was dominant in the T allele group. In Renal failure patients (62.2%) and patients with renal failure and urinary tract together (53.3%), while whereas the C allele was the most prevalent in the group of patients with urinary tract infection only (65.6%).

When study the association of the interleukin 4 gene polymorphism with different risk factors was investigated, the results did not show a significant correlation ($p>0.05$) between the interleukin 4 gene polymorphism with all tested factors in the group of patients with renal failure only. on the other had the group of patients with renal failure and

urinary tract infection together, which showed significant heterogeneity ($p \leq 0.01$) with polymorphism in smoking factor only ($p = 0.001$) comparison with control groups.

further are the group of patients with UTI only showed significant heterogeneity ($p \leq 0.01$) in the genetic polymorphism with both smoking ($P= 0.004$) and family history ($P= 0.001$), while the heterogeneity was significant with each of the frequency infections ($P= 0.020$) and the presence of kidney stones ($P= 0.029$). The results also clearly show. that there are no significant differences in the mean serum with the different genotypes of interleukin 4 at the probability level ($p > 0.05$).

The current study concluded that the Gram-negative bacterial species in the study groups were the most common than from Gram-positive bacterial species in the study groups. The CT, TT, and T allele genotypes were also associated with renal failure only and only and renal failure associated with UTI. In addatin only the CT genotype and the T allele were associated with an increased risk of UTI. there was no relationship the serum level of IL-4 between the different genotypes in the different tested groups.

University of Kerbala

College of Science

Department of Biology

Association of the IL-4 gene polymorphisms(-590 C/T) and its relation with renal failuer and bacterial urinary tract infections

A Thesis

Submitted to the council of the

College of Science - University of Kerbala

In partial of fulfillment of requirements for degree of Master of Science in Biology

by

Dhurgham Wali Ghali Al-Hilali

Supervised by

Prof. Dr. Wafaa Sadiq Mohsin Alwazni

&

Assist. Prof .Dr. Mohamed Abdel-Wahhab Al-Askari

1444 A.H **2022 A.D**