

## Study of some immunological parameter to vitiligo disease in Al-Hussein hospital in karbalaa province

### دراسة لبعض المعايير المناعية لمرضى البهاق في مستشفى الحسين (ع) في محافظة كربلاء المقدسة

علياء عزيز جبير الموسوي د. هيام عبد الرضا كريم العواد د. علي حمود السعدي م.م. احسان خضير الطالقاني  
جامعة كربلاء

مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الأول

#### المستخلص

هدفت هذه الدراسة لتسليط الضوء على مرض البهاق واجراء دراسة مناعية وراثية ومعرفة التغير في مستويات بعض المتغيرات المناعية وبعض الهرمونات وبعض الجينات بطرق وراثية مختلفة لدى المصابين بمرض البهاق وكذلك معرفة العلاقة بين تلك المعايير ومدى تأثرها بتلك الجينات قيد الدراسة ، وقد تضمنت الدراسة الحالية 50 شخصا من مرضى البهاق ، فضلا عن 50 شخصا (أصحاء ظاهريا) بوصفهم مجموعة سيطرة للدراسة إذ تم جمع تلك العينات من مستشفى الحسيني التعليمي في محافظة كربلاء (وحدة الاستشارة الجلدية) خلال الفترة الزمنية من 1/5/2015 ولغاية 1/12/2015. تم فحص أمصال جميع المرضى لتقدير مستويات المعايير المناعية IL-2, TNF- $\alpha$  باستخدام تقنية اليزا (فحص للمقاييس المناعية المرتبطة بالانزيم) enzyme linked immunosorbent assays (ELISA) وقد بينت النتائج ان تأثير لنوع الجنس على المعايير المناعية قيد الدراسة وهنا تناولت التحاليل الاحصائية دراسة ذكور المرضى مع مقارنتها مع ذكور مجموعة السيطرة اذ ظهر أن TNF- $\alpha$  قد ارتفع بشكل معنوي لدى المرضى مقارنة مع مجموعة الاصحاء اما IL-2 الذي انخفض عند ذكور مرضى البهاق مقارنة مع السيطرة، كما اجرت الدراسة مقارنة بين اناث مرضى البهاق وبين اناث مجموعة السيطرة اذ اظهرت نتائج المقارنة ارتفاع معنوي في كافة المعايير المناعية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) لاناث مرضى البهاق عند مقارنة بين معدلات نفس المعايير لاناث مجموعة السيطرة .

كما تناول البحث دراسة تأثير التدخين ودوره السليبي على مرض البهاق فقد قسمت عينات المرضى بين مدخنين وغير المدخنين اذ ارتفعت قيمة TNF- $\alpha$  بشكل معنوي لدى المرضى المدخنين مقارنة مع مجموعة السيطرة بينما شهد معدل IL-2 انخفاضا معنويا في مستوياته مقارنة مع مجموعة السيطرة مقارنة بمجموعة الاصحاء. اوضحت النتائج اهمية التأريخ العائلي وذلك من خلال ظهور فروق معنوية بين المرضى الذين يمتلكون تأريخ عائلي للمرض والذين لا يمتلكون تأريخ عائلي فقد بينت النتائج ارتفاع مستويات المعايير المناعية قيد الدراسة في امصال الاشخاص المصابين بمرض البهاق والذين لديهم اصابات بنفس المرض بين افراد العائلة مقارنة بالمرضى الذين لا يمتلكون ظهور لهذا المرض .

كما بينت النتائج انخفاض في مستويات المعايير المناعية والهرمونات لدى المرضى الذين يمتلكون صلة قرابة بين والدين مقارنة بالمرضى الذين لا يمتلكون صلة قرابة بين والدين وقد كان هذا الانخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) ، كما تناولت تأثير للحالة الاجتماعية على مستويات المعايير المناعية والهرمونات في المصل اذ لوحظ ارتفاع متوسطات تلك المعايير لدى المتزوجين مقارنة بغير المتزوجين كما تم اجراء مقارنة بين مجموعة المرضى والسيطرة تبعا للحالة الاجتماعية فلو حظ وجود اختلافات بين تلك المعايير بين المتزوجين من المرضى وبين المتزوجين من السيطرة اذ ارتفعت معدلات المرضى بشكل ملحوظ ، كذلك هو الحال مع غير المتزوجين من المرضى مقارنة مع غير المتزوجين من مجموعة السيطرة. اما مدة الاصابة بالمرض بعد تقسيمها الى فئات اعتمادا على الاشهر اذ لوحظ ان TNF- $\alpha$  قد سجل اعلى نسبة لدى المجموعة (161-240) شهر واخيرا انخفض لدى الفئة من (1-80) شهر ، كما سجلت النتائج ارتفاعات في المتوسطات IL-2 لدى فئات الاصابة من (241-300) شهر .

#### Abstract

This study aimed to shed light on vitiligo and conducting genetic immunological examination and knowledge of the change in the levels of certain cytokines (IL-2 and TNF- $\alpha$ ) and certain hormones and certain genes different genetic ways in people with vitiligo, as well as knowledge of the relationship between those standards and the extent of vulnerability of those genes under study, and the current study included 50 people from vitiligo patients, as well as 50 people (apparently healthy) as the control group for the study, as were collected those samples from the Hussein Teaching Hospital in the city of Karbala (unit skin counseling) during the time period from 1/5/2015 until 1/12/2015. Were examined sera of all patients to estimate the

standard levels of immune IL-2, TNF- $\alpha$  using ELISA enzyme linked immunosorbent assays (ELISA), the results showed the following: There were influence of gender on the immune parameters under study here statistical analysis dealt with the study of male patients with compared with the male control group as it appeared that TNF- $\alpha$  may be significantly increased in patients compared with a healthy except IL-2, which fell when the male vitiligo patients compared with the control, also conducted a study a comparison between the female vitiligo patients and the female control group as the comparison showed a significant rise in all immunological criteria results at the level of probability ( $P < 0.05$ ) for females vitiligo patients when compared between the same standard rates of female control group. The research study showed the effect of smoking and passive role on the vitiligo patient samples were divided between smokers and non-smokers, as the value of SOD-1 rose and TNF- $\alpha$  are significant in smokers patients compared with the control group, while IL-2 rate saw a significant decrease in the levels compared with a group control. Emerged search results the importance of family history, through the emergence of significant differences between patients who have a family history of the disease and who do not have family history results showed high immunological criteria levels of hormones under study in the sera of people with vitiligo who have the same disease among family members of casualties compared to patients who do not have emergence of this disease. The results also show a decline in immune parameters levels in patients who have a kinship between the parents compared to patients who do not have kinship between parents has been the declining moral at the level of probability ( $P < 0.05$ ), also addressed the impact of social status on immunological parameters in serum as observed high averages of those standards among married than non-married couples has also been a comparison between the patient group and control depending on the social situation was observed that there were differences between those standards among married patients and between couples of control as patients rates rose significantly, as is the case with unmarried of patients compared with non-married couples of the control group. The duration of the disease after divided into categories depending on the months TNF- recorded the highest rate among the group of the month (240-161), and finally dropped the category of (80-1) a month , also recorded increases in results averages IL-2 with the injury categories (300-241) a month, while the rest fell aggregates.

## المقدمة Introduction

يعد الجلد هو الغطاء الخارجي للجسم والذي يعمل على حمايته من المحيط الخارجي بكافة مؤثراته ويتألف الجلد من العديد من الخلايا ومنها الخلايا الصبغية (Melanocytes) فبالإضافة الى الوظائف العديدة التي تقوم بها الخلايا الصبغية في الجسم فهي تعد الخلايا المسؤولة عن انتاج صبغة الميلانين melanin وهي الصبغة المسؤولة عن اضعاء اللون الخاص للجلد اذ ان صبغة الميلانين مهمة بالإضافة إلى بقية الصبغات الأخرى مثل الكاروتينات والهيموجلوبين فهي المساهم الرئيسي في اعطاء اللون للجلد خلال عملية التصبغ ، تصاب الخلايا الميلانية ببعض الامراض المناعية الذاتية مثل مرض البهاق وغيره (1).

يعد مرض البهاق من الامراض الهامة والشائعة في حياتنا اذ يتصف مرض البهاق بظهور بقع بيضاء مختلفة الأحجام والأشكال وفي اماكن مختلفة من الجسم ويمكن أن يظهر هذا المرض في كلا الجنسين وفي أي عمر ، اذ ينتشر مرض البهاق لدى 1-2% من سكان العالم إن الاسباب الحقيقية وراء حدوث مرض البهاق غير معروفة بشكل واضح فهي نتاج لمساهمة عدة عوامل مرضية لذلك وضعت عدة نظريات لتفسير اسباب تحطم الخلايا الميلانية وفقدان عملية التصبغ في الجلد والتي تنتهي بظهور مرض البهاق ومن هذه النظريات هي : النظرية المناعية والنظرية الوراثية (2) . ان تقرحات البهاق في الجلد تتميز بارتشاح الخلايا المناعية مثل الخلايا التائية والبلاعم هذا الارتشاح هو التفاعل المناعي الأبرز في المناطق المحيطة للجلد قبل ظهور الهيئة المظهرية الخرجية للبهاق بشكل واضح على الجلد ، اذ تظهر الخلايا للمفاوية في المناطق المتقرحة في مرحلة مبكرة من الاصابة وتكون هذه الخلايا فقط بشكل غير متخصص في البشرة والأدمة مما يشير إلى فعاليتها في تطور المرض وظهور البقع في الاماكن المتقرحة للبهاق (3) . اظهرت الدراسات المخبرية زيادة في إنتاج TNF- $\alpha$  و IL-2 مما يبرز دورها في مهاجمة وتحطيم الخلايا الميلانية ، ومما يزيد من دعم تلك الدراسات هو وجود زيادة في مستويات IL-2 في مصل الدم وفي التقرحات الجلدية للمناطق المصابة بالمرض والذي بدوره يزيد من ارتفاع مستويات الخلايا التائية T cells (4) .

## طرائق العمل Methods:

شملت عينات الدراسة (50) شخص مصاب بمرض البهاق جمعت من الاستشارية الجلدية في مستشفى الحسين التعليمي في محافظة كربلاء خلال المدة الزمنية 1/5/2015 ولغاية 1/12/2015، إذ شملت مجموعة المرضى (50) مريضاً مؤلفاً من الذكور (42) والإناث (8) إضافة إلى مجموعة السيطرة المؤلفة من (50) من الأشخاص الأصحاء ظاهرياً مع ملاحظة خلوص

من أية أعراض مرضية اعتماداً على التشخيص السريري وسيرة حياتهم الصحية مع الأخذ بالحسبان كونهم مماثلين لمرضى البهاق من حيث التقارب في الفئات العمرية والجنس وقد تم جمع المعلومات من المرضى والتي شملت (العمر، الجنس، التدخين، التاريخ العائلي، صلة القرابة بين الوالدين، الاجتماعية للمريض واخيراً مدة الإصابة بالمرض) كما تم استبعاد بعض الحالات المرضية مثل مصابي الصدفية ومرضى الذئبة الحمراء وذلك بسبب حدوث تداخل بين تلك الأمراض وظهور تأثير ذلك على المعايير المناعية والهرمونية.

تم سحب 5ml من عينة الدم بواسطة محقنه طبية من الدم الوريدي (venous vein) للأشخاص قيد الدراسة بعد تطهير الجلد بالكحول بنسبة 70% ثم قسمت عينات الدم الى قسمين 2ml حفظت في انابيب EDTA tubes لغرض الدراسات الوراثة والقسم الاخر بمقدار 3ml حفظت في انابيب gel tubes لغرض الدراسات المناعية، إذ تركت لمدة 1-2 ساعة تحت درجة حرارة الغرفة لغرض التخثر التام وحدث التجلط أو الخثرة gloat وتم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة لمدة 5 دقائق ثم تم جمع المصل في أنابيب ابندروف بلاستيكية نظيفة ومعقمة وحفظ في الثلجة بدرجة (-10)م<sup>0</sup> لحين الاستخدام (5). حفظت عينات الدم blood samples وعينات المصل serum samples بعد جمعها من الأشخاص المصابين بمرض البهاق والسيطرة تحت درجة حرارة (-10) م<sup>0</sup> في أنابيب ابندروف البلاستيكية (6) استخدم الدم في الاختبارات الوراثة اما المصل فقد استخدم للتحري عن تركيز IL-2 والقسم آخر للتحري عن مستوى TNF-α في المصل عن طريق جهاز فحص المقايسة المناعية المرتبطة بالانزيم ELISA حسب طريقة الشركة الكورية Bioneer المصنعة لعدة القياس وكمايلي

اضيف 100 مايكروليتر من المحلول القياسي blank ، standard و العينة لكل حفرة، اضيف blank مع المحلول القياسي الاساسي References standard solution والعينة المخففة diluted sample اذ اضيفت جميع المحاليل اسفل الحفرة للصفحة plate الخاصة بعبدة القياس لتقنية Kit ELISA مع تجنب ملامسة جدران الحفر لتجنب حدوث الرغوة داخلها بعد ذلك غطيت الصفحة بسدادة sealer بلاستيكية شفافة مرفقة مع العبدة الخاصة بالقياس Kit وحضنة لمدة 90 دقيقة وعند درجة حرارة 37<sup>0</sup> م<sup>0</sup>. ازيل السائل من كل حفر الصفحة دون غسل مباشرة ثم اضيف 100 مايكروليتر من محلول البيروكسيد الكاشف Biotinylated Detection لكل حفرة ثم تم تغطيته بسدادة Sealer بلاستيكية شفافة وترك لمدة ساعة عند درجة حرارة 37<sup>0</sup> م<sup>0</sup>. طرح المحلول من كل حفرة مع الغسل Washing وكررت عملية الغسل ثلاث مرات اذ تم الغسل من خلال ملئ كل حفرة بمحلول الغسل (حوالي 350 مايكروليتر) ان ازالة السائل بشكل تام من الحفر تعد خطوة جدا ضرورية، بعد اخر عملية غسل يجب ازالة محلول الغسل المتبقي في الحفر بشكل كامل عن طريق النضح او الطرح من خلال قلب الصفحة وطرقها على ورق نشاف نظيف وجاف مثبت على سطح صلب. اضيف 100 مايكروليتر من المحلول الرابط HRP Conjugate لكل حفرة ثم غطيت الصفحة بالسدادة وحضنت لمدة 30 دقيقة تحت درجة حرارة 37<sup>0</sup> م<sup>0</sup>. اعيدت عملية الغسل كما في الخطوه الثالثة مع تكرار عملية الغسل 5 مرات. اضيفت 90 مايكروليتر من اضافة المحلول الاساس Substrate لكل حفرة وهنا غطيت الصفحة بسدادة جديدة وحضنت لمدة 15 ثانية تحت درجة حرارة 37<sup>0</sup> م<sup>0</sup> وحمايته من الضوء، وقت التفاعل يمكن ان يزداد او يقل تبعاً الى الوقت ودرجة حرارة الحضانة شرط ان لا يزداد الوقت عن 30 دقيقة عندما يظهر ميل التدرج اي التغير في اللون في الحفر القياسية يمكن ان يستخدم كدليل لنهاية التفاعل اذ تبدو الحفر باللون الازرق وتختلف شدة اللون باختلاف التركيز. اضافة 50 مايكروليتر من محلول التوقف Stop solution لكل حفرة. حددت الكثافة الضوئية OD Measurement لكل حفرة وتتم القراءة باستخدام الطول الموجي 450 نانومتر لقياس تركيز IL-2 و TNF-α.

\* تم تحليل النتائج إحصائياً ومقارنة المتوسطات باستعمال اختبار باتجاه واحد test one way (A.N.O.V) وكذلك اختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference L.S.D على مستوي احتمال 0.05، اختبار T-test ومعامل Person (7) .

## النتائج والمناقشة Results and Discussion

الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعاً للجنس كشفت النتائج الموضحة في جدول (1) لدراسة تأثير نوع الجنس gender على المعايير المناعية قيد الدراسة وهنا تناولت التحاليل الاحصائية دراسة ذكور المرضى مع مقارنتها مع ذكور مجموعة السيطرة اذ ظهر أن معدل TNF-α قد بلغ (3.80±13.19) لدى ذكور العينة التجريبية اما ذكور مجموعة السيطرة فقد بلغ لديها معدل TNF-α (1.61±7.37) اذ ظهرت هناك فروق معنوية دالة احصائياً (P<0.05) بين المجموعتين، أما في حالة IL-2 فقد انخفضت معدلاته (97.14±596.53) عند ذكور المرضى عن مجموعة السيطرة فقد بلغ (3548.02±786.96)

جدول (1) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى ذكور مرضى البهاق والسيطرة

Sig	SD±Mean	العينة	
0.00	3.80 ±13.19	مرضى	TNF-α(Pg/ml)
	1.61 ± 7.37	سيطرة	
0.73	97.14 ± 596.52	مرضى	IL-2(Pg/ml)
	3548.02 ± 786.96	سيطرة	

اجرت الدراسة مقارنة بين اناث مرضى البهاق وبين اناث مجموعة السيطرة اذ بلغ عدد كل من المجموعتين 8 اشخاص فقد اظهرت نتائج المقارنة كما في جدول (2) ارتفاع معنوي في كافة المعايير المناعية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) اتضح من النتائج الإحصائية وجود فروق معنوية دالة احصائيا للمعيار المناعي TNF- $\alpha$  عند مقارنة معدلات اناثه المجموعة التجريبية والتي بلغت ( $5.56 \pm 13.09$ ) مع اناث مجموعة السيطرة اذ كانت معدلاتها ( $2.42 \pm 7.23$ ) وبلغ مستوى المعنوية ( $0.016$ ) ، كما اوضحت نتائج الاختبار وجود فروق معنوية دالة احصائيا للمعيار المناعي الثالث IL-2 عند المقارنة بين اناث المجموعة التجريبية ومجموعة السيطرة اذ بلغت المعدلات ( $145.69 \pm 586.78$ )، ( $49.45 \pm 210.77$ ) على التوالي .

جدول (2) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى اناث مرضى البهاق والسيطرة

Sig	SD±Mean	العينة	
0.016	5.56 ± 13.09	مرضى	TNF- $\alpha$ (Pg/ml)
	2.42 ± 7.23	سيطرة	
0.00	145.69 ± 586.78	مرضى	IL-2(Pg/ml)
	49.45 ± 210.77	سيطرة	

من خلال النتائج اعلاه يلاحظ ان جميع المتغيرات قد ارتفعت مستوياتها عن مستويات الاصحاء وفي الوقت نفسه كانت مستويات المتغيرات لدى الذكور اكثر من مستوياتها لدى الاناث . اتفقت نتائج الدراسة مع النتائج التي قدمها كل من (8) و (9) والذي عزي السبب من خلال نتائجه الى ان المرض ينتشر لدى الذكور دون الاناث قد يعود الى اسباب متعلقة بالتدخين اذ ان الذكور يعدون اكثر مدخنين دون النساء بينما بينت الكثير من الدراسات الى ان نسبة الاصابة بين الذكور والاناث متساوية وليس للجنس تأثير معنوي على حصول المرض وتطوره (4). بينما عزي (10) كثرة الاصابة لدى النساء والرجال على حد سواء نتيجة لدور الهرمونات الجنسية وهي (Estrogen) و (Progesteron) وتأثيرها على تطور المرض ونشوءه من خلال وجود مستقبلات خاصة بها تقع على الخلايا الميلانية ترتبط الهرمونات الجنسية بهذه المستقبلات فتعمل على تحطيم الخلايا الميلانية ، بينما لم تتفق نتائج الدراسة مع بعض ما اشارت اليه الابحاث الى ان المرض ينتشر بين الاناث دون الذكور لاسباب تتعلق بالحمل والولادة بالنسبة الى الاناث (11) بينما بين البعض الاخر كثرة الاصابة بمرض البهاق لدى الاناث دون الذكور ناجمة عن كثرة استخدام مواد التجميل والتي قد تكون رديئة المنشأ (12) . بينما اشار (13) ان الارتفاع في مستويات تلك المعايير المناعية لدى النساء قد يكون متعلق بالسمنة وليس له علاقة بالمرض .

#### الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا للتدخين

تناول البحث دراسة تأثير التدخين ودوره السلبي على مرضى البهاق فقد قسمت عينات المرضى بين مدخنين وغير المدخنين فقد بلغ عدد المدخنين 23 بينما بلغ عدد غير المدخنين 13 شخص ارتفع معدل TNF- $\alpha$  عن قيم مجموعة السيطرة اذ بلغت على التوالي ( $3.09 \pm 12.75$ )، ( $1.42 \pm 7.25$ )، بينما شهد معدل IL-2 انخفاضا معنويا في مستوياته ( $70.64 \pm 611.58$ ) مقارنة مع مجموعة السيطرة ( $379.18 \pm 199.15$ )

جدول (3) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى المدخنين لمرضى البهاق والسيطرة

Sig	SD±Mean	العينة	
0.00	3.09±12.75	مرضى	TNF- $\alpha$ (Pg/ml)
	1.42±7.25	سيطرة	
0.44	70.64±611.58	مرضى	IL-2(Pg/ml)
	379.18±199.15	سيطرة	

#### غير المدخنين

بينت النتائج الظاهرة في جدول (4) الى ان قيم TNF- $\alpha$  لدى المرضى الغير مدخنين ( $4.38 \pm 13.32$ ) بينما بلغ لدى الاصحاء ( $1.85 \pm 7.37$ ) اما معدلات IL-2 فقد بلغت ( $114.43 \pm 589.13$ ) مقارنة بمجموعة السيطرة والتي بلغت لديها معدلات تلك المعايير ( $97.46 \pm 237.88$ )

جدول (4) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى غير المدخنين لمرضى البهاق والسيطرة

Sig	SD±Mean	العينة	
0.00	4.38 ± 13.32	مرضى	TNF- $\alpha$ (Pg/ml)
	1.85 ± 7.37	سيطرة	
0.00	114.43 ± 589.13	مرضى	IL-2(Pg/ml)
	97.46 ± 237.88	سيطرة	

من خلال ما قدمته النتائج لوحظ ان مستويات المعايير المناعية والهرمونات مرتفعة بشكل معنوي لدى مجموعة المدخنين وغير المدخنين لمرضى البهاق مقارنة بمجموعة السيطرة وجاءت النتائج موضحة ان مستويات المدخنين فيها اعلى من غير

المدخنين وهذا يدل على تأثير التدخين على مرض البهاق . للتدخين تأثيرا سلبيا على الجلد بشكل عام فهو يسبب نقص ترسب الكولاجين في الجسم مما يقلل مرونته كما يسرع من شيخوخة الخلايا الجلدية وهرمها نظرا للمواد السامة التي يمتلكها ومنها النيكوتين اذ يعمل النيكوتين على تقلص الاوعية الدموية في الجلد مما يؤدي الى تقليل التجهيز الدموي الى الخلايا فيؤدي الى حصول نقص الاوكسجين الواصل الى تلك الخلايا كما ان التدخين يحتوي على العديد من المركبات السامة اذ تتراكم على شكل جذور سامة في الخلايا الميلانية من نقص الاوكسجين الامر الذي يؤثر على الكثير من الوظائف الحيوية للخلايا الميلانية ومنها الية توليد الصبغة اضافة الى تثبيط العديد من الانزيمات المسؤولة عن ابيض الاكسدة وعن بناء صبغة الميلانين وكذلك تثبيط نواقل الاوكسجين الخلوية وتحطيم DNA للخلايا الميلانية وغيرها وهذا التأثير يعتمد على كمية النيكوتين المستهلك من قبل المدخنين المرضى كما اشارت هذه الدراسة الى ان الجذور الحرة التي يمتلكها التدخين تزيد من الاجهاد فتسبب تبدلات في نظام مضادة الاكسدة لمقاومة الاجهاد نظرا لاستحثاتها على اطلاق المركبات الالتهابية ومنها السايكوكينات (14) . بينما اشار (15) ان التدخين يحفز خلايا البلاعم الكبيرة macrophage على زيادة انتاج واطلاق المواد الالتهابية ومنها السايكوكينات بفعل الاجهاد لذلك لوحظ ارتفاع مستويات IL-2 و TNF- $\alpha$  بشكل متزايد لدى المرضى المدخنين والمصابين بمرض البهاق . كما اتفقت نتائج الدراسة مع (16) الذي برهن ارتفاع مستويات IL-2 في مصل المرضى المدخنين مقارنة مع الاصحاء غير المدخنين .

#### الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا للتاريخ العائلي

برزت نتائج البحث اهمية التاريخ العائلي وذلك من خلال ظهور فروق معنوية بين المرضى الذين يمتلكون تاريخ عائلي للمرض والذين لا يمتلكون تاريخ عائلي فقد بينت النتائج ارتفاع مستويات المعايير المناعية قيد الدراسة في امصال الاشخاص المصابين بمرض البهاق والذين لديهم اصابات بنفس المرض بين افراد العائلة مقارنة بالمرضى الذين لا يمتلكون ظهور لهذا المرض ، فقد لوحظ ارتفاع مستوى TNF- $\alpha$  ليلبلغ (4.06 ± 13.94) عن المجموعة الاخرى التي بلغ لديها نفس المعيار المناعي (4.05 ± 12.66) كما لوحظ ارتفاع مستويات بقية المعايير الاخرى ليلبلغ IL-2 (101.92 ± 617.13) كما في جدول (5).

جدول (5) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا للتاريخ العائلي

Sig	SD±Mean	العينة
0.28	4.06 ± 13.94	وجود تاريخ عائلي
	4.05 ± 12.66	لا يوجد تاريخ عائلي
0.23	101.92 ± 617.13	وجود تاريخ عائلي
	105.43 ± 580.19	لا يوجد تاريخ عائلي

اتفقت هذه النتائج مع ما اكده (17) اهمية التاريخ العائلي وتأثيره في ظهور وتطور مرض البهاق للاشخاص المصابين وعده احد الاسباب المهمة وفسره على ان وجود نفس الاصابة بمرض البهاق بين احد افراد العائلة هي احد المؤشرات المهمة لزيادة الاصابة بنفس المرض لدى افراد اخرين من نفس العائلة او بين اشخاص تجمع بينهم صلة قرابة كما بين من اهم الاسباب الاخرى هي الاصابة بامراض مناعية ذاتية من نوع اخر لنفس الشخص المصاب مثل الاصابة بامراض الغدة الدرقية الذاتية (Thyroid disease) وامراض السكر (Diabetes mellituse) او الاصابة بمرض ادبسون (Addison disease) اذ بين انه غالبا ما تترافق الاصابة بمرض البهاق مع هذه الامراض كون هذه الامراض المناعية الذاتية تسبب ضرر للجهاز المناعي والتي بدورها يمكن ان تسبب ضرر في الخلايا الميلانية وفقدان التصبغ كونها تنتج اجسام مضادة ومركبات التهابية عالية يمكن ان تهاجم تلك الخلايا الصبغية.

#### الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا لصلة القرابة بين الوالدين

بينت النتائج الظاهرة في جدول (6) انخفاض مستويات المعايير المناعية والهرمونات لدى المرضى الذين يمتلكون صلة قرابة بين الوالدين مقارنة بالمرضى الذين لا يمتلكون صلة قرابة بين الوالدين وقد كان هذا الانخفاض معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05) اذ بلغت قيمة TNF- $\alpha$  فقد بلغ (3.45 ± 12.47) اما مجموعة المرضى الذين لا يمتلكون تاريخ عائلي فقد بلغ (4.75 ± 14.22) في حين بلغ IL-2 فقد بلغ (96.67 ± 578.47) اما المجموعة الاخرى (113.48 ± 619.72) .

جدول (6) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا لصلة القرابة بين الوالدين

Sig	SD±Mean	العينة
0.14	3.45 ± 12.47	وجود صلة
	4.75 ± 14.22	عدم وجود
0.17	96.67 ± 578.47	وجود صلة
	113.48 ± 619.72	عدم وجود

يلاحظ من النتائج اعلاه على ان جميع المتغيرات اخذ بالنقصان وهذا يشير الى ان صلة القرابة ليس تأثير على تلك المعايير هذه النتائج لم تتفق مع بعض الدراسات الوراثية ودراسة الترابط الجيني ودراسات مرضية اخرى على ان مرض البهاق يرتبط الى مجموعة من الجينات الجسمية (Somatic genes) التي تسيطر على ظهور المرض وبينت الى ان تلك بعض من تلك الجينات هي

جينات مناعية تنتقل من الآباء إلى الأبناء عن طريق التوريث وتسيطر على الجهاز المناعي (18) وقد تبين أن هذه الجينات تظهر بشكل كبير في أجيال الجماعات المغلقة والتي يحصل تزاوج داخلي فيما بينها إذ يعطي هذا الانغلاق في التزاوج فرصة أكبر لالتقاء هذه الجينات وتوريثها للأجيال اللاحقة وتزيد في ظهور وانتشار مرض البهاق كما أنها تقلل فرص التعابير الوراثية كما أنها تسبب ظهور أمراض مناعية أخرى إضافة إلى زيادة تأثيرات عوامل الخطورة البيئية والوراثية على الأجيال اللاحقة وتبعاً لذلك سوف تضخم ظهور اليلات الخطيرة في الجماعات المغلقة مقارنة مع الجماعات المنفتحة وبعض من هذه اليلات هي المسؤولة عن تشفير العديد من المركبات المهمة في الجسم إذ يزداد التعبير الجيني لها وبالتالي ترتفع مستوياتها في الجسم بشكل ملحوظ (19)

### الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعاً للحالة الاجتماعية

أوضحت نتائج المقارنة الظاهرة في جدول (7) وجود تأثير للحالة الاجتماعية على مستويات المعايير المناعية في المصل إذ لوحظ ارتفاع متوسطات تلك المعايير لدى المتزوجين مقارنة بغير المتزوجين فقد بلغت المستويات لكل من TNF- $\alpha$  و IL-2 كالتالي (3.58  $\pm$  15.14)، (76.21  $\pm$  648.74) على التوالي مقارنة بغير المتزوجين وعلى نفس الترتيب السابق (1.221  $\pm$  9.35)، (65.94  $\pm$  490.59) على التوالي .

جدول (7) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعاً للحالة الاجتماعية :

العينة	متزوج	اعزب	Sig	SD+Mean
TNF- $\alpha$ (Pg/ml)	متزوج	اعزب	0.00	3.58 $\pm$ 15.14
	متزوج	اعزب		1.221 $\pm$ 9.35
IL-2(Pg/ml)	متزوج	اعزب	0.00	76.21 $\pm$ 648.74
	متزوج	اعزب		65.94 $\pm$ 490.59

كما تم إجراء مقارنة بين مجموعة المرضى والسيطرة تبعاً للحالة الاجتماعية فلو حظ وجود اختلافات بين تلك المعايير بين المتزوجين من المرضى وبين المتزوجين من السيطرة إذ ارتفعت معدلات المرضى بشكل ملحوظ ، كذلك هو الحال مع غير المتزوجين من المرضى مقارنة مع غير المتزوجين من مجموعة السيطرة وكانت النتائج مرتبة كالتالي TNF- $\alpha$  (1.33  $\pm$  8.23) ، IL-2 (399.47 $\pm$ 958.49) للمتزوجين من مجموعة السيطرة أما غير المتزوجين فقد كانت النتائج كالتالي TNF- $\alpha$  (0.96  $\pm$  5.62) ، IL-2 (33.07 $\pm$ 182.85) كما في جدول (8).

جدول (8) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى مجموعة السيطرة تبعاً للحالة الاجتماعية

العينة	متزوج	اعزب	Sig	SD+Mean
TNF- $\alpha$ (Pg/ml)	متزوج	اعزب	0.00	1.33 $\pm$ 8.23
	متزوج	اعزب		0.96 $\pm$ 5.62
IL-2(Pg/ml)	متزوج	اعزب	0.43	399.47 $\pm$ 958.49
	متزوج	اعزب		33.07 $\pm$ 182.85

تبعاً للحالة الاجتماعية فقد لوحظ ارتفاع تلك المعايير لدى المتزوجين مقارنة بغير المتزوجين وكذلك تبين من خلال المقارنة بين المتزوجين المرضى والمتزوجين من غير المرضى أن غالبية تلك المتغيرات قد ارتفعت وهذا ما قد يكون له تأثير على تطور المرض . اتفقت هذه النتائج مع دراسة قام بها (9) على الأشخاص المصابين بمرض البهاق من المتزوجين والتي شملت مجموعة من الذكور والإناث وقارن تلك النتائج مع مجموعة السيطرة فوجد ارتفاع نسب الإصابة بمرض البهاق بين المتزوجين أكثر من غير المتزوجين وعزى سبب الارتفاع في الإصابة إلى ارتفاع مستويات الهرمونات الجنسية الذكرية والإنتوية في المصل وبين أن هرموني البروجيسترون والإستروجين يزداد تركيزه لدى المصابين-المتزوجين إذ بين أن هذه الهرمونات تمتلك مستقبلات على الخلايا الميلانية تساهم في تطور الإصابة بالمرض إضافة إلى الإصابة بأمراض مناعية أخرى.

### الفروقات بين المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعاً لفترة الإصابة بمرض البهاق

اتضح النتائج المدونة في جدول (9) بعد تقسيم مدة الإصابة بمرض البهاق إلى فئات اعتماداً على الأشهر إذ لوحظ تباين مستويات TNF- $\alpha$  فقد سجلت أعلى نسبة لدى المجموعة من شهر (161-240) إذ بلغ المتوسط (3.17 $\pm$ 17.07) يليه المجموعة الثانية من (321-400) شهر ليصل (2.87 $\pm$ 16.58) ثم الفئة المتراوحة شهر (241-300) (4.26 $\pm$ 15.70) وأخيراً سجل انخفاض (1.69 $\pm$ 9.46) لدى الفئة من (1-80) شهر ، سجلت النتائج ارتفاعات في المتوسطات للحركي الخلوي الثاني لدى فئات الإصابة من (300-241) شهر و (400-321) شهر ليبلغ (77.87 $\pm$ 700.07) ، (65.75 $\pm$ 661.91) على التوالي في حين سجل انخفاضات لدى المجاميع من (240-161) شهر (57.62 $\pm$ 578.49) و (64.03 $\pm$ 488.42) (160-81) شهر وأدناها في فئة (80-1) شهر (4.06 $\pm$ 13.17) .

جدول (9) متوسطات المعايير المناعية والهرمونات لدى مرضى البهاق تبعا لمدة الإصابة بالمرض

Sig	SD±Mean	العينة
0.00	1.69 ± 9.46	1-80 شهر
	2.01 ± 11.66	81-160 شهر
	3.17 ± 17.07	161-240 شهر
	4.26 ± 15.70	241-300 شهر
	2.87 ± 16.58	321-400 شهر
0.00	4.06 ± 13.17	1-80 شهر
	64.03 ± 488.42	81-160 شهر
	57.62 ± 578.49	161-240 شهر
	77.87 ± 700.07	241-300 شهر
	65.75 ± 661.91	321-400 شهر
	10.78 ± 78.06	321-400 شهر

تفسير النتائج بشكل عام تبعا لمدة الإصابة يلاحظ ان هناك ارتفاع تدريجي في المستويات بشكل عام لكن هذا الارتفاع قد يكون فيه نوع من التباين اعتمادا على تلك فترات الإصابة ويفسر ذلك على ان تلك المعايير قد لا تتأثر بتاريخ الإصابة اشارت العديد من المصادر الى وجود ارتباط وثيق بين انماط مرض البهاق وبين فترة الإصابة اذ وجد الكثير من التصنيفات لمرض البهاق اعتمادا على انتشار وموقع الإصابة للبقع فقد قسم الى ثلاث انواع (Localized vitiligo) ، (Generilized vitiligo) و (Universal vitiligo) بينما قسمه الاخر الى (Segmental vitiligo) هذا النوع يشكل دائما نسبة قليلة لارتفاع عن 30% وهذا النوع سرعان ما يتوقف ولا ينتشر بعد سنة او سنتين من مدة ظهور البقع اما النوع الاخر (Non segmental vitiligo) هذا النوع يستمر بالانتشار والتوسع مع زيادة مدة الإصابة ، كما قسمه البعض الاخر على اساس الوقت الذي يستغرقه المرض على الانتشار وفقا لهذا التقسيم فقد قسم مرض البهاق الى البهاق التقدمي (Prognosis vitiligo) هذا النوع يتصف بسرعة انتشاره الى مناطق اخرى بتقادم الإصابة اذ يتميز بظهور بقع جديدة اضافة الى البقع القديمة كما قد تتوسع البقع القديمة اما النوع الثاني فهو البهاق الساكن (Quiescent vitiligo) يتميز هذا النوع ببطي تقدمه مع تقادم الإصابة وسرعان ما يتوقف كما تتميز بقعه القديمة بعدم توسعها وفي بعض الاحيان تصغر تلك البقع وقد تختفي (20). تناول (21) دراسة تأثير المرض على تطور مرض البهاق وزيادة شدته وقد اشارت النتائج ان زيادة مدة الإصابة سوف يزداد معها شدة المرض لدى غالبية مرضى البهاق و اشار الى ان البهاق نوع المتقطع (Segmental vitiligo) لا يتأثر كثيرا بفترة الإصابة ونادرا ما ينتشر ويتحول الى نوع اخر وهو (Mixed vitiligo) اما النوع الاخر وهو (Generalized vitiligo) هذا النوع يتأثر كثير بتقدم مدة الإصابة كونه قد يتطور الى انواع اخرى . برهن (22) ارتفاع مستويات TNF-α لدى مرضى البهاق نوع Generilized كما بين (23) ارتفاع مستويات IL-2 في المصل لنفس المجموعة مع زيادة مستوياته ولكن هذا الارتفاع يكون عكسي مع مدة الإصابة فمع تقادم الإصابة تقل مستويات وقد فسر انخفاض TNF-α و IL-2 تدريجيا مع التقدم بالإصابة قد يدل على انهما معيارين بايولوجيين غير مهمين . فسرت النتائج انخفاض السيروتونين خلال مدة الإصابة من خلال وجود فرضية بينت ان انخفاض مستويات السيروتونين وتنشيط مستقبلاتها اثناء الإصابة ناتجة عن زيادة انتاج الساييتوكينات مثل الحركي الخلوي الثاني IL-2 والانترفيرون (Interferon) وعامل التنخر الورمي نوع الفا TNF-α جميع هذه الساييتوكينات تنشط استهلاك جزئ التربتوفان tryptophan والذي يعد باذرة بناء السيروتونين وذلك من خلال تنشيط انزيم (Indoleamine 2,3-dioxygenase)IDO الذي يعمل على استهلاك جزئ التربتوفان (Tryptophan) وبيني (Quiolinic acid) اذ يدخل هذا الحامض الاميني في بناء الكلوامين في حين يحول التربتوفان الى مستقبلات سطحية لجزيئة الكلوامين لذلك تنخفض مستويات السيروتونين وترتفع مستويات الكلوامين في حالة الإصابة بالمرض اما في حالة الاصحاء يلاحظ ان هناك توازن بين السيروتونين والكلوامين ينظم بتغذيات راجعة اما في حالة الامراض يفقد هذا التوازن اي ان تقادم الإصابة يزيد من الالتهابات والمركبات الالتهابية ويثبط من مستويات السيروتونين لذلك يلاحظ استمرار تحطم الخلايا الميلانية ولذلك لعدم توفر الحماية الكافية لها من المواد الالتهابية (24) .

#### المصادر :

- 1- Lin, J. Y. & Fisher, D. E. (2007) . Melanocyte biology and skin pigmentation . *Nature* . 445(22):10.1038.
- 2- Bilal, A. & Anwar I. (2014). Guidelines for the management of vitiligo. *J. of Pakistan Association of Dermatologists*. 24 (1):68-78.
- 3- Aslanian, F. P.; Filguera, A. & Cuzzi, T. (2010). Histopathology in Vitiligo . *Berlin Heidelberg*. 25–32.
- 4- Le Poole, I. & Luiten R. (2008). *Curr Dir Autoimmun* . 10: 227–243.

- 5- Lewis, S.M. ; Bain, B.J. & Bates, I. (2001) . Dacie and Lewis practical hematology. 19<sup>th</sup> ed. *Churchill livingstone*. 1-5.
- 6- Lewis, S.M. ; Bain, B.J. & Bates, I. (2001) . Dacie and Lewis practical hematology. 19<sup>th</sup> ed. *Churchill livingstone*. 1-5.
- 7 - الراوي ، خاشع محمود و خلف الله عبد العزيز(1980) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .
- 8- Babar, ZUM.; Alam, M.; Khondker, L.; Siddiqua, A.; Alam, MN. & Imdad T. (2013). Association of other Autoimmune Diseases in Vitiligo Patients *CBM J*. 2 (2).
- 9 -Shahin, Z. ; Leheta, T. M. ; Abdel Hay, R. M. ; Abdel Aal, H. M. & Rashed, L. A. (2012). *Acta Dermatovenerol Croat* .20(1):14-20.
- 10- Sabek, N.A. ; Eyada, M. M., Abdel Aziz, S.M. ; Demerdash, S.M. ; Goma, A.I. H. Fikry, S. (2015). Serum Estrogen and Estrogen Receptor Beta Levels in Female and Male Patients with Vitiligo . *American J. of Biomedical Research* .3(3): 53-57.
- 11- Delatorre, G.; Oliveira, C. A. Chaves, T. P. Linsingen R. F. & Castro, C. C. (2013). A study of the prognosis of vitiligo during pregnancy *Surg Cosmet Dermatol* .5(1):37-9.
- 12- Sharquie K.E. (2011). common Hypopigmented in Baghdad Teaching hospital . *Iraqi J. Comm. Med* . 24(3). 12: 181-189.
- 13- Larsson, C. A. ; Bo, G.; L. Rastam & Lindblad, U. (2009). Salivary cortisol differs with age and sex and shows inverse associations with WHR in Swedish women: a cross-sectional study. *licensee BioMed Central Ltd* 9-16.
- 14- Lee, J. Taneja, V. & Vassallo R. (2012). cigarette smoking and Inflammation: cellular and Molecular Mechanisms . *J. Dent Res* . 91(2):142-149.
- 15- Tappia, P.S. ; Troughton. K.L. ; Langley-Evans S.C. & Grimble, R. F. (1995) . Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defences. *Clin Sci (Lond)*. 88(4):485-9.
- 16- Jiao, L. ; Gan, D. & Fang, Y. (1998). Effects of smoking on interleukin-2 and its receptor system in human peripheral blood . *Wei Sheng Yan J*. 27(6):385-8.
- 17- Kostovic ,K. & Pasic, A. (2005). New treatment modalities for vitiligo: focus on topical immunomodulators. *Drugs* .65(4) 447-459.
- 18- Spritz, R.A. (2007). The genetics of generalized vitiligo and associated autoimmune diseases. *Pigment Cell Res* 20:271–8
- 19- Wright, A.F. ; Carothers, A.D. & Pirastu, M. (1999) Population choice in mapping genes for complex diseases. *Nat Genet* .23:397–404.
- 20- Sehgal, V.N. (2004). Vitiligo . *Texbook of clinical Dermatology* 4<sup>th</sup> ed. Jaypee : *New Delhi*.99-101.
- 21- Cucchi, M. L.; Frattini, P.; Santagostino, G.; Preda, S. & Orecchia, G. (2003). Catecholamines increase in the urine of non-segmental vitiligo especially during its phase .*pigment Cell Res*. 16: 111.
- 22- Al-Gamdi , K.M. ;Kurrum , H. ; Taeib, A. ;Ezzedin , K. (2012) . Treatment of generalized vitiligo with anti-TNF- $\alpha$  Agents . *J. of drugs in dermatology*. 11(4):534-9 .
- 23- Shi, Y.; Li, K. Hamzavi, I.; Lim H. W. ; Zhou, L.; Mi, Q. (2013). Elevated circulating soluble interleukin-2 receptor in patients with non-segmental vitiligo in North American. *J. of dermatological science* 71(3) .
- 24- Muller, N. & Schwarz, M.J. (2007) .The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry*.12(11):988-1000.