مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثاني والعشرون - المجلد الأول - علوم الحياة - أيلول 2023 م
doi.org/10.52866/esj.2023.01.22.05

العلاقة المناعية بين مستوى تركيز الحركي الخلوي TGF-β1 والمصابين بالتهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis)

رفل عبد الكريم هادي علي ، أنور عبد ناصر ضبعان
الجامعة العراقية / كلية التربية - قسم علوم الحياة
Personal Email: dr.anwar.a.nasser@gmail.com and University
Email: anwar.a.nasser@aliraqia.edu.iq (ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-6157-7909)

مستخلص:

شملت الدراسة على 80 عينة دم، كان منها 50 عينة مأخوذة من اشخاص مصابين بالتهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis) تراوح متوسط أعمارهم من 67-18 سنة ، و30 عينة دم كانت لأشخاص اصحاء ، وكان متوسط أعمارهم تراوحت بين 30-18 سنة. أجريت دراسة مناعية على عينات الدم المأخوذة من المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي والعينة القياسية. تم تقُدير مستويات التركيز الحركي الخلوي TGF-β 1 في العينات المدروسة باستعمال جهاز الأليزا Elisa، إذ بلغ التركيز في مصل دم المصابين 675.82 بيكوغرام/ مليلتر، بينما كان تركيزه في العينة القياسية 500.36 بيكوغرام/ مليلتر. نتائج التحليل الأحصائي قد أظهر وجود فروق معنوية في تركيز الحركي الخلوي TGF-β 1 بين عينة المصابين والعينة القياسية وتحت مستوى احتمالية P<0.05 وكانت **0.000.

الكلمات المفتاحية: التهاب المفاصل الرثوي RA، عامل تحول النمو TGF-β 1، الاليزا .

Immunological relationship between TGF-β1 cytokine concentration with rheumatoid arthritis (RA) patients

Rafal Abd Alkareem Hadi and Anwar Abed Nasser Dhabaan
AL-Iraqia University/ College of Education/department of biology, Iraq.
Personal Email: dr.anwar.a.nasser@gmail.com and University
Email: anwar.a.nasser@aliraqia.edu.iq (ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-6157-7909)

Abstract :

This study included 80 blood samples, was from her 50 Rheumatoid Arthritis sample, collected from persons with mean age 18-68 years, and thirty blood samples were collected from control, with mean age 18-30 years, with mean age 18-30 years. Immunogenetic study was done on collected blood samples. Concentrations of TGF-β 1 were estimated from Rheumatoid Arthritis and control samples by using Elisa instrument. The concentration of this interferon was 675.82 pg/ml in Rheumatoid Arthritis sample in comparison with 500.36 pg/ml in control sample. Significant differences of this interferon concentration were found between Rheumatoid Arthritis and control samples.

Keywords: Rheumatoid Arthritis, TGF-β 1, Elisa .

المقدمة Introduction

التهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis) هو اضطراب التهابي ناتج عن استجابة المناعة الذاتية والتي تتطور لتكون الحالة مزمنة، وتؤثر على كل مفاصل العظام بما فيها المفاصل الكبيرة والصغيرة لتحدث نمط مرض جهازي مزمن، وقد يؤثر هذا المرض على حياة المريض ومتوسط العمر المتوقع إذا ترك دون علاج (Yap وآخرون ،2018). تلعب الاستجابة المناعية دور مهم في تطور المرض، حيث تعَّد الأجسام المضادة الذاتية، من اهم سمات التهاب المفاصل الرثوي، إذ إنها مؤشرات لاستجابة مناعية تزيد من الاضطرابات الوظيفية وتحدث تآكلًا لسطح المفصل (1).

تقدر نسبة الإصابة السنوية بمرض التهاب المفاصل الرثوي مآبين 0.5 – 1 ٪ في كل سنة بالنسبة للدول المتطورة، وبنسبة اكثر في أسيا والدول النامية الأخرى)2)، كذلك يؤثر بنسبة من 0.4 ٪ إلى 1 ٪ من السكان في أمريكا الشمالية وشمال أوروبا، و 0.3 ٪ إلى 0.7 ٪ من السكان في جنوب أوروبا (3). وفي العراق فإن التهاب المفاصل الرثوي أصبح من الامراض المشخصة لدى العديد من الأشخاص وخاصة لدى النساء قياسا بعدد الإصابات التي تعتبر اقل لدى الرجال، اذ تقدر نسبة انتشاره لدى البالغين ٪1 وهذه النسبة متفقة مع ما موجود في اماكن اخرى من العالم، كما إن نسبة إصابة النساء الى الرجال من 4 الى 3 اضعاف الإصابة، وهذا يشير الى النسبة الاعلى للنساء كما هو الحال في البلدان الأخرى (4).

عامل تحول النمو- بيتا (TGF-β) هو حركي خلوي له وظائف متعددة ومنها تكاثر الخلايا والتمايز والهجرة وموت الخلايا المبرمج، وإن تنشيط TGF- β يؤدي إلى تأثيرات وظيفية مناعية وفقًا لموقع الاستجابة، وتمت دراسة وظيفة TGF- في تطور التهاب المفاصل في نماذج الفئران على نطاق واسع مع نتائج مثيرة (5). تشير النتائج إلى دور ذي صلة لـ TGF- β في نموذج الفئران لالتهاب المفاصل الرثوي، وأظهرت دراسة TGF- β تأثيره على استجابات الخلايا التائية كمثبط أو محفز للاستجابة الالتهابية في RA (6).

أن الخلايا الموجودة في المفاصل الطبيعية لا تتعرض لمستويات عالية من TGF-β ولكن هذا سيتغير بمجرد تطور التهاب المفاصل. ستعمل المستويات المرتفعة من TGF-β في المفاصل على تنشيط الخلايا التي لا تتعرض عادةً لمستويات عالية من TGF-β النشط وهذا سيؤدي إلى تمايز خلوي متغير ويمكن أن يساهم في التسبب في المرض إذا استمرت مستويات TGF-β في الارتفاع (7). يمكن أن يكون TGF-β محفزًا للالتهاب الزليلي والتضخم في منطقة الالتهاب. تشير هذه البيانات إلى أن المستويات المرتفعة من TGF-β في مفاصل الملتهبة تؤدي إلى التهاب مزمن مرتبط بـ TGF-β يمكن أن يساهم في تلف المفاصل والغضاريف (8).

تهدف الدراسة إلى الكشف عن العلاقة المناعية بين مستوى تركيز الحركي الخلوي TGF-β1 في مصول عينات مرضى التهاب المفاصل الرثوي المزمن ومقارنتها مع العينات القياسية.

المواد وطرق العمل Materials and methods

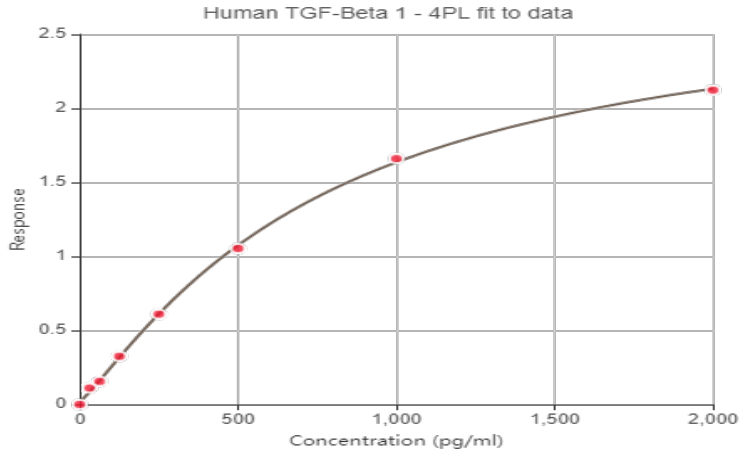
جمع العينات Samples collection

تم جمع 80 عينة دم، وكان منها 50 عينة لأشخاص مصابين بالتهاب المفاصل الرثوي، وكانت مقسمة 41 عينة من الذكور و 9 عينات

من الاناث تراوحت اعمارهم بين 18 الى 67 سنة. تم عزل العينات من دائرة صحة مدينة الطب / مستشفى بغداد التعليمي / شعبة المفاصل، وكما كان منها 30 عينة من الاشخاص الأصحاء (المجموعة القياسية) ومقسمة الى 21 عينة من الذكور و 9 عينات من الاناث تراوحت أعمارهم بين 18 – سنة 30 ضمن المدة من اليوم الأول من تشرين الأول عام 2021 ولغاية نهاية شهر كانون الاول من عام 2022، وجمع الدم بحجم 5 مل في انابيب خاصة لا تحتوي على مانع لتخثر الدم، التي استعملت في دراسة تعيين تركيز الحركي الخلوي عامل تحول النمو TGF-β1 باستعمال جهاز الـ ELISA، واستعملت عدة تشخيصية خاصة بالكشف عن الحركي الخلوي عامل تحول الورم TGF-β1 TGF-β1, ELISA complete Kit Huma والمصنعة من قبل شركة Komabiotech الكورية. شخصت الاصابة لدى المرضى من قبل أطباء متخصصين بأمراض المفاصل في مستشفى بغداد التعليمي وأعتمد الكشف السريري والمختبري والشعاعي في تحديد الإصابة.

حساب مستوى تراكيز الحركي الخلوي TGF-β في امصال دم المرضى والعينة القياسية

تم قياس الكثافة البصرية للحركيات الخلوية المدروسة في امصال عينات المصابين والعينة القياسية (الاصحاء) باستعمال جهاز ELISA تحت طول موجي 450، وسجلت نتائج العينات المدروسة بواسطة تسقيط القراءات على المنحني القياسي Standard curve لغرض استخراج تراكيز مستوى الحركي الخلوي TGF-β1 لدى المصابين والعينة القياسية، بين الشكل (1–3) المنحني القياسي ومعادلاتها المستعملة لاستخراج تراكيز الحركي الخلوي.



الشكل (3 – 1) المنحني القياسي لاستخراج تراكيز الحركي الخلوي TGF-β1

المعادلة المستعملة لاستخراج تراكيز الحركي الخلوي TGF-β1

$$y = d + \frac{a - d}{1 + (\frac{x}{c})^b}$$

$R^2 =$ ۹

a: Theoretical response at zero concentration , b: Slope factor

c: Inflection point (EC50/IC50) , d: Theoretical response at infinite concentration

النتائج Results

الكشف عن مستوى تركيز عامل تحول النمو

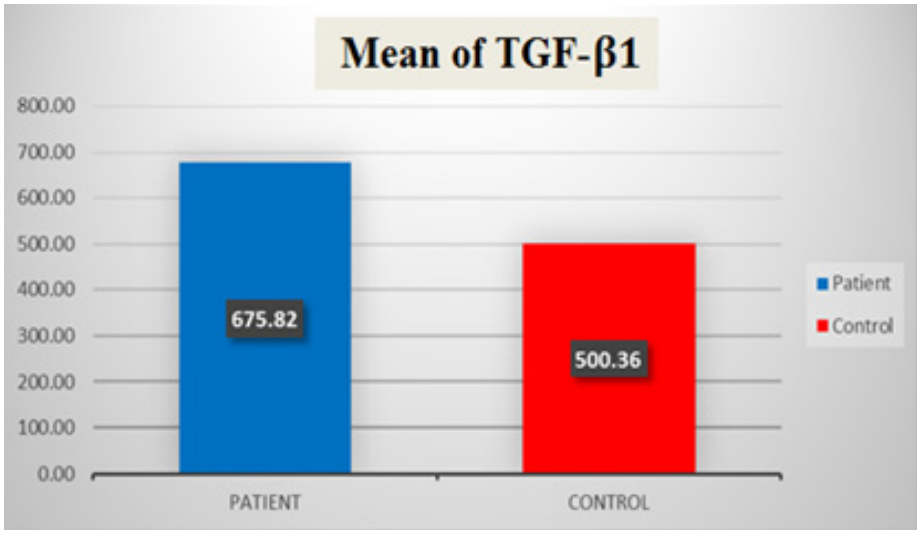
- بيتا TGF-β1

يبين الجدول (1) ارتفاعاً ملحوظاً في مستوى تركيز عامل تحول النمو بيتا في مصل المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي بالمقارنة مع العينة القياسية (الأصحاء)، اذ بلغ التركيز في مصل دم المصابين (675.82 ± 155.58) بيكوغرام / مليلتر، بينما كان تركيزه في العينة القياسية (500.36 ± 88.13) بيكوغرام / مليلتر.

الشكل (1) اظهر هناك فروق معنوية في تركيز عامل تحول النمو TGF-β1 لدى المصابين بألتهاب المفاصل الرثوي بالمقارنة مع العينة القياسية وتحت مستوى احتمالية $p < 0.05$, اذ بلغت قيمة الاحتمالية (0.000**).

جدول (1) TGF-β1 تركيز في مصل عينة المرضى والعينة القياسية

الحركي الخلوي	العينة المرضية (50 عينة) المتوسط ± الخطأ القياسي بيكوغرام / مليلتر	حدود الثقة 95٪		العينة القياسية (30 عينة) المتوسط ± الخطأ القياسي بيكوغرام / مليلتر	حدود الثقة 95٪		الاحتمالية P
		اقل قيمة	اعلى قيمة		اقل قيمة	اعلى قيمة	
TGF-β1	675.82 ± 155.58	631.60	720.03	500.36 ± 88.13	467.44	533.26	0.000



الشكل (1) متوسط تركيز TGF - β1

المناقشة Discussion

تبين نتائج الدراسة الحالية ارتفاع مستويات في مرضى التهاب المفاصل الرثوي مقارنة بالأصحاء وجاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج دراسة فان دير في عام 2018 (Van Der kraan ,2018). يمكن استنتاج ان الخلايا الموجودة في المفاصل الطبيعية لا تتعرض لمستويات عالية من الـ ولكن هذا سيتغير بمجرد تطور التهاب المفاصل. ستعمل المستويات المرتفعة من في المفاصل الطبيعية على تنشيط الخلايا التي لا تتعرض عادة لمستويات عالية من النشط وهذا سيؤدي الى تمايز خلوي متغير ويمكن ان يساهم في التسبب بالمرض اذا استمرت مستويات العالية (9).

يعتبر التهاب المفاصل منذ فترة طويلة مرض تأكل وتمزق غير التهابي ينطوي بشكل رئيسي على تدهور الغضاريف يكون محفزاً للالتهاب الزليلي، لقد ثبت ان الحقن داخل المفصل لمفاصل ركبة الفئران بأستخدام ادى الى تورم واحمرار في الجلد في غضون يوم واحد (10)، على الرغم من ان يمكن ان يجذب الخلايا الالتهابية الى المفصل ولكن من ناحية اخرى فأن له ايضاً تاثير قوي مضاد للالتهاب. ان الفئران التي تفتقر الى مركب تصاب بالتهاب شديد يشبه اضطرابات المناعة الذاتية (7).في نموذج لفأر حقن فان التهاب المفاصل الناجم عن الزيمو سان Zymo san-induced ar- thritis , لم يكن لـ اي تأثير على الالتهاب ولكنه حفز محتوى proteoglycan وحمايته من فقدان pro- teoglycan. تظهر هذه النتائج المتفاوته ان يجذب الخلايا الالتهابية الى المفصل ويحفز التضخم الزليلي والتليف ولكن ليس من الواضح ما هو التأثير النهائي لـ على تدمير الانسجة المفصلية. قد يكون هذا مرتبط بنموذج التهاب المفاصل وتوقيت علاج (11).

ان هو عامل نمو مهم في تحفيز تمايز الخلايا التائية المساعدة T helper 17 والخلايا التائية المنظمة regu- latory T cells, ويعتبر هذا العامل كهدف علاجي في الامراض المتوسطة الخلايا التائية T cell-medi- ated diseases مثل مرض التهاب المفاصل الرثوي rheumatoid arthritis, اذ وجد ان غلق TGF-β يؤدي الى كبح تمايز T helper 17 ويزيد من توازن Th17 (12). تم التوصل الى ان TGF-β1 قد يكون له وظيفة مفيدة في التهاب المفاصل وقمع التهاب المفاصل الحاد والمزمن في مرضى التهاب المفاصل (6). على سبيل المثال، يحمي حقن TGF-β1 من تطور التهاب المفاصل في التهاب المفاصل الناجم عن الكولاجين CIA (collagen-induced arthritis) والحقن الجهازي لـ TGF-β1 يؤدي الى تثبيط بعض المسببات لالتهاب المفاصل (13). لقد وجد ان هناك تنظيم عالي لـ TGF-β1 في حالة سكون المرض في حالة التهاب المفاصل الناجم عن الكولاجين، والذي يشير الى التنظيم المضاد للالتهاب للخلايا التائية بواسطة TGF-β1 في التهاب المفاصل. ان التغيرات غير المنتظمة في تركيز الـ TGF β1 تؤدي إلى اضطرابات التهابية خطيرة وغياب وظيفي للـ TGF– β1 يسبب تراكم الخلايا والسايتوكينات المحفزة للالتهاب مثل TNFα, IFN-y, IL-1 (14)، ومن المثير للاهتمام أن التعبير العالي عن TGF-β2 هو تم اكتشافه في cartilage-pannus junction في مرضى التهاب المفاصل الرثوي (15). ومع ذلك تم اجراء القليل من البحوث حول دور TGF-β2 في مرض التهاب المفاصل الرثوي. لا يوجد هناك

اي شك حول دور TGF-β2 في امراضية مرض التهاب المفاصل الرثوي، واظهر دراسة Müssen-er واخرون في عام 1997 ان التعبير عن TGF-β2 قد يتم تنظيمه بمرور الوقت بعد ظهور المرض في النسيج الزليلي (16).

الاستنتاجات Conclusions

أظهرت الدراسة وجود علاقة بين مستوى تركيز الـ TGF - β1 والأشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي، وكان مستوى التركيز لعامل تنخر الورم بيتا عاليا ومعنويا قياسا مع عينة الاصحاء.

المصادر References

1. Lucchino, B.; Spinelli, F.R.; Iannuccelli, C.; Guzzo, M.P.; Conti, F.; and Franco, M.D. (2019). Mucosa–Environment Interactions in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Cells. 8(7): 1-22.
2. Braunwald, E.; Fauci, A.S. and Kasper,D.L(2001)In Harrison's Principles of Internal Medicine 15th ed. Mc Group-Hill CO.,:1928-1937.
3. Bao YK, Weide LG, Ganesan VC, Jakhar I, McGill JB, Sahil S, et al. High prevalence of comorbid autoimmune diseases in adults with type 1 diabetes from the HealthFacts database. J Diabetes. 2019,11(4):273–9.
4. Muhamad, R. I., Candra, K. P., Lusiana, D., & Duma, K. (2020). Redesign of the Traditional Handloom for Sarong Female-Weavers Based on Anthropometric Data. Indian Journal of Public Health Research & Development, 10(10).
5. Elshafie, A.I.; Eibagir, S.; Aledrissy, M.I.E.; Elagib, E.M.; Nur, M.A.M.; and Ronnelid, J. (2019). Occurrence of anti- CCP2 and RF isotypes their relation to age and disease severity among Sudanese patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol.38(3): 1545-1553.
6. Gonzalo-Gil, E., & Galindo-Izquierdo, M. (2014). Role of transforming growth factor-beta (TGF) beta in the physiopathology of rheumatoid arthritis. Reumatología Clínica (English Edition), 10(3), 174-179.
7. De Araújo Farias, V., Carrillo-Gálvez, A. B., Martín, F., & Anderson, P. (2018). TGF-β and mesenchymal stromal cells in regenerative medicine, autoimmunity and cancer. Cytokine & Growth Factor Reviews,43, 25-37.
8. Ismaeel, A., Kim, J. S., Kirk, J. S., Smith, R. S., Bohannon, W. T., & Koutakis, P. (2019). Role of transforming growth factor-β in skeletal muscle fibrosis: a review. International journal of molecular scienc-

ease, 1792(8), 746-756.

14. Guo, L. (2017). TGF beta in the rheumatoid arthritis research. Eur. J. Biomed. Res, 3, 5-8.
15. Chen, C., Xie, J., Rajappa, R., Deng, L., Fredberg, J., & Yang, L. (2015). Interleukin-1β and tumor necrosis factor-α increase stiffness and impair contractile function of articular chondrocytes. Acta biochimica et biophysica Sinica, 47(2), 121-129.
16. Müssener, Å., Funa, K., Kleinau, S., & Klareskog, L. (1997). Dynamic expression of transforming growth factor-betas (TGF-β) and their type I and type II receptors in the synovial tissue of arthritic rats. Clinical & Experimental Immunology, 107(1), 112-119.

es, 20(10), 2446.

9. Van Der Kraan, P. M. (2018). Differential role of transforming growth factor-beta in an osteoarthritic or a healthy joint. Journal of bone metabolism, 25(2), 65-72.
10. Schneider, M. C., Chu, S., Randolph, M. A., & Bryant, S. J. (2019). An in vitro and in vivo comparison of cartilage growth in chondrocyte-laden matrix metalloproteinase-sensitive poly (ethylene glycol) hydrogels with localized transforming growth factor β3. Acta biomaterialia, 93, 97-110.
11. Stewart, A. G., Thomas, B., & Koff, J. (2018). TGF-beta: Master regulator of inflammation and fibrosis.
12. Aarts, J., van Caam, A., Marijnissen, R. M., Helsen, M. M., Walgreen, B., Vitters, E. L., ... & Koenders, M. I. (2021). Inhibition of TGF-β Signaling Suppresses Th17 Differentiation and Promotes Treg Numbers but Does Not Reduce Experimental Arthritis.
13. Pohlers, D., Brenmoehl, J., Löffler, I., Müller, C. K., Leipner, C., Schultze-Mosgau, S., ... & Wolf, G. (2009). TGF-β and fibrosis in different organs—molecular pathway imprints. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Dis-