مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الخامس والعشرون - المجلد الثاني عشر - علوم الحياة - آب 2025 م
doi.org/10.52866/esj.2023.12.25.08

تقدير التعبير الجيني لـ IL-2 والكشف المناعي لـ IL-4 وعلاقتهم مع خطر نزف الدم الوراثي نوع A لدى بعض السكان العراقيين

طارق خليل حمادي حسين[1] ، أنور عبد ناصر[2] ، علي صالح حسين [3]
كلية التربية/ الجامعة العراقية [1و2] ، رئاسة الجامعة العراقية [3]
البريد الالكتروني: anwar.a.nasser@aliraqia.edu.iq

مستخلص:

نزف الدم الوراثي هو مرض وراثي نادر يؤثر على قدرة الدم في عملية التخثر والذي يسبب نزيف طويل ومفرط بعد الإصابة به، وقد يحدث النزيف أيضًا تلقائيًا دون التعرض لأي إصابة. يعزى هذا المرض إلى نقص أو غياب أحد عوامل التخثر وهي بروتينات ضرورية لتجلط الدم التي يحتاجها الجسم والتي تحدث بشكل طبيعي. ان مرض نزف الدم الوراثي هو مرض نادر يرتبط بالكروموسوم الجنس X مع فقدان أو عيب في عامل التخثر. هدفت هذه الدراسة الى تقدير التعبير الجيني لجين IL-2 في مرضى نزف الدم الوراثي نوع A باستعمال تقانة Real-Tim-PCR. كذلك قياس مستوى تركيز للبروتين الحركي الخلوي Cytokine وهو IL-4 في مصول عينات مرضى نزف الدم الوراثي نوع A ومقارنتها مع العينات القياسية باستعمال تقانة الاليزا.

جمعت العينات لمرضى نزف الدم الوراثي A من مستشفى حماية الطفل مركز نزف الدم الوراثي، مدينة الطب في بغداد والتي شارك فيها 50 مريضا تتراوح اعمارهم من (10 – 50) وكذلك شارك 30 شخصا سليما (اصحاء ظاهريا) تتراوح اعمارهم من (15 – 25) كمجموعة ضابطه . كشفت هذه الدراسة ان مستويات IL-4 في الكشف المناعي لدى مرضى نزف الدم الوراثي A كانت عالية بشكل ملحوظ وسجلت متوسط (483.7739 ±80.296) مقارنة بالأشخاص الاصحاء غير المصابين التي بلغت متوسط التركيز (151.705±45.957) وتحت مستوى احتمالية *P<0.05*، اذ بلغت القيمة الاحتمالية *P<0.001* مما يشير الى وجود فرق معنوي بين المجموعتين. نتائج تقدير التعبير الجيني لجين IL-2 أظهرت ارتفاع بشكل ملحوظ لدى مرضى نزف الدم الوراثي A وكان مستوى التعبير الجيني يساوي (35.3413 ± 1.31698) مقارنة بالأشخاص الاصحاء غير المصابين التي بلغت قيمة التعبير الجيني لديهم (30.4420 ± 1.70246)، كذلك أظهرت النتائج وجود معنوية عالية بين المرضى والاصحاء وتحت مستوى احتمالية P<0.05 اذ بلغت قيمة الاحتمالية P<0.001 مما يشير الى وجود فرق معنوي بين المجموعتين.

الكلمات المفتاحية: جين IL-2 ، البين ابيضاض (IL-4) -4 , نزف الدم الوراثي A.

Estimation of IL-2 gene expression and Immune detection of IL-4 and relationship with hemophilic A risk in some Iraqi Population

Tariq Khalil Hammadi Hussein [1], Anwar Abed Nasser Dhabaan[2] , and Ali Salih Hussein[3]
Al-Iraqia University , College of Education [1و2] ، Al-Iraqia University 3
Corresponding Email : anwar.a.nasser@aliraqia.edu.iq

Abstract:

Hereditary bleeding disorder is a rare genetic disease that affects the blood's ability to clot, causing prolonged and excessive bleeding after injury, and it may also cause spontaneous bleeding without any trauma. This disease is attributed to a deficiency or absence of one of the clotting factors, which are proteins essential for the blood clotting process that naturally occurs in the body. Hereditary bleeding disorder is a rare X-linked genetic disease associated with the loss or defect of a clotting factor.This study aimed to evaluate the gene expression of IL-2 in patients with hereditary bleeding disorder type A using Real-Time PCR technology. It also aimed to measure the concentration level of the cytokine IL-4 in the serum of patients with hereditary bleeding disorder type A and compare it with healthy control samples.The tests were conducted on patients with hereditary bleeding disorder type A from the Hemophilia Protection Hospital, Hemophilia Center, Medical City in Baghdad. A total of 50 patients aged between (10–50) years participated, along with 30 healthy individuals aged between (15–25) years as the control group.The study revealed that the levels of IL-4, detected through immunoassay, were significantly higher in patients with hereditary bleeding disorder type A (483.7739 ± 80.296) compared to healthy individuals (151.705 ± 45.957) at a probability level of P<0.05, with the P-value reaching P<0.001, indicating a significant difference between the two groups.Regarding the estimation of IL-2 gene expression, patients with hereditary bleeding disorder type A showed significantly higher levels (35.3413 ± 1.31698) compared to healthy individuals (30.4420 ± 1.70246) at a probability level of P<0.05, with a P-value of P<0.001.

Keywords: IL-2 gene, Interleukin-4 (IL-4), Hemophilia A .

المقدمة:

نزف الدم الوراثي هو مرض وراثي خلقي مرتبط بالكروموسوم الجنس X ويصيب بنحو 1125000 فرد في جميع أنحاء العالم، ويقسم المرض الى نوعين الاول نزف الدم الوراثي A وينتج عن نقص عامل التخثر الوظيفي الثامن (FVIII) والثاني نزف الدم الوراثي B وينتج عن نقص عامل التخثر الوظيفي التاسع (FIX)، وان معظم الأفراد المصابين بنزف الدم الوراثي لكلا النوعين يكون لديهم متغير في الجينات التي تشفر عامل (FVIII F8) وعامل (FIX (F9 على التوالي، ويكون نزف الدم الوراثي A أكثر شيوعًا من النوع الثاني نزف الدم الوراثي B، حيث يمثل حوالي 80٪ إلى 85٪ من جميع حالات نزف الدم الوراثي (Rezende et al,2024). نزف الدم الوراثي المكتسب (AHA Acquired Hemophilia) هو مرض نزفي نادر ينتج عن التطور التلقائي للأجسام المضادة المثبطة ضد عامل التخثر الثامن (Franchini et al,2017) F8. عامل التخثر الثامن (FVIII) هو بروتين سكري عالي الوزن الجزيئي يعمل كعامل مساعد في سلسلة التخثر. يتم ترميزه بواسطة جين يقع على الذراع الطويل للكروموسوم X في الموقع Xq28. يمتد هذا الجين على مساحة 186 كيلوباز (Kb) من الحمض النووي الجينومي ويتكون من 26 إكسونًا ويُشفِّر 0.9 كيلوباز من الحمض النووي الرسولي (mRNA) والذي بدوره يُشفِّر متعدد الببتايد أوليًا مكوّنًا من 2351 حمضًا أمينيًا. يتم إنتاج هذا البروتين بشكل أساسي في خلايا الكبد (Tantawy, 2010). تم الإبلاغ عن حدوث نزف الدم الوراثي A بمعدل حالة واحدة لكل 4000 إلى 5000 ولادة ذكر. كما قدّر تحليل تلوي حديث (هو مراجعة وتجميع بيانات من دراسات سابقة متعددة حول المرض) معدل انتشار نزف الدم الوراثي A بجميع درجات شدتها عند الولادة بحوالي 24.6 حالة لكل 100.000 ذكر (Ferri Grazzi et al., 2024). ايضا تم الابلاغ عن معدل انتشار جميع أنواع نزف الدم الوراثي في أربعة مراكز متخصصة في مرض نزف الدم الوراثي في بغداد حوالي 8.1 لكل 100.000 نسمة، وهو معدل أعلى من التقديرات المسجلة في بعض البلدان المجاورة والإقليمية (Salman et al., 2024). وفقًا للمسح العالمي السنوي الذي أجراه الاتحاد العالمي لنزف الدم الوراثي عام 2020 تم تحديد حوالي 241.535 شخصًا مصابًا بجميع أنواع نزف الدم الوراثي في حين يُقدَّر العدد الفعلي للمرضى المحتملين عالميًا بحوالي 815.100 بمعدلات انتشار تبلغ 24.6 لكل 100.000 من الذكور لجميع مرضى نزف الدم الوراثي A و5.0 لكل 100.000 من الذكور لجميع مرضى نزف الدم الوراثي من النوع B. كما كشف التقرير السنوي لعام 2020 للاتحاد العالمي لنزف الدم الوراثي أنه في باكستان يبلغ العدد الإجمالي للمرضى الذين تم تحديد إصابتهم بأي نوع من أنواع نزف الدم الوراثي2.459.1 ومع ذلك، قد يكون معدل الإصابة الفعلي لنزف الدم الوراثي أعلى بسبب انتشار زواج الأقارب (Zafar et al., 2024) تشخيص نزف الدم الوراثي له اهمية لتحديد نوعية ودرجة وشدت المرض بالإضافة إلى الكشف عن حاملي لعوامل المرض بما فيها الأفراد المصابين حديثًا، مثل الأشخاص الذين لديهم طفرات جينية مسؤولة عن المرض. وتعتمد طرق التشخيص على الكشف الوراثي للجينات المرتبطة

بالإصابة، وذلك باستخدام التقنيات الجينية الحديثة (مثل تحليل تعدد الأشكال الجينية)، وكذلك قياس مستويات بروتينات عامل التخثر الدم في البلازما، (Liras et al., 2012). تساهم الحركيات الخلوية Cytokines في الاستجابة للمرض وخاصة الحركيات الخلوية المؤيدة للالتهابات التي تساهم في تطور المرض، في حين تسهل الحركيات الخلوية Cytokines المضادة للالتهابات تراجع الالتهاب والتعافي من المراحل الحادة من مرض المناعة الذاتية (et al,2021 Liu). تعتبر الإنترلوكينات (ILs) أيضًا نوعًا من أنواع الحركيات الخلوية Cytokines ذات الوظائف التنظيمية المناعية، وهي مشتقة من مجموعة متنوعة من الخلايا بما في ذلك الخلايا البلعمية، والخلايا الليمفاوية التائية، والخلايا البدينة، والخلايا السدوية،والخلايا الظهارية، وكذلك العدلات (She and Tang,2021). يعمل الإنترلوكين-4 (IL-4) وهو احد الحركيات الخلوية Cytokines المضادة للالتهابات ويشارك في الإستجابة المناعية للأشخاص المصابين بالمرض، ويعمل على تعزيز تطور الخلايا التائية المساعدة من خلال حث الخلايا Th2 لإنتاجها ، والتي تنظم المناعة الخلطية وإنتاج الغلوبولين المناعي (Ig) (Zakaria et al., 2023) .كذلك يلعب إنترلوكين-2 (IL-2) دورًا مهمًا في تنشيط وتنظيم الجهاز المناعي، كما يتضح في إمراضية العديد من أمراض المناعة الذاتية. يقع جين IL-2 في الموقع 4q27 من الكروموسوم، ويتكون من خمسة إكسونات، ويحتوي على موقع تقييد عند 2069762 (rs2069762). (Marwanta et al,2022)

تهدف الدراسة الى تقدير التعبير الجيني لجين IL-2 لدى المرضى المصابين بنزف الدم الوراثي النوع A وتحديد فاعلية التعبير للجين في المرضى ومقارنته مع الاصحاء، وكذلك تقدير تركيز مستوى البين ابيضاض IL-4 ودراسة علاقته مع المرض وخطر تطور الإصابة لدى السكان العراقيين.

المواد وطرائق العمل:

1 – جمع العينات

شملت الدراسة 80 عينة، 50 عينة من مرضى نزف الدم الوراثي من النوع Hemophilia) (A A و30 عينه من الاصحاء Control ، تراوحت اعمارهم بين 10–50 سنة تم جمع العينات للمرضى من مستشفى مدينة الطب (مستشفى الطفل / قسم الهيموفيليا) في مدينة بغداد وتم جمع عينات الاصحاء من مناطق واماكن متفرقة من بغداد الكرخ للفترة الزمنية من 2024 23/ 9/ الى 2024 /11/15

2– تقدير تركيز جين IL-4 بطريقة الإليزا

تم قياس تركيز (IL–4) عن طريق جهاز قارئ لوحة الميكروتيتر من شركة (HumaReader HS) الالماني المنشأ . وذلك باستخدام عِدد تشخيص بحثية تعتمد على طريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) Kit منتجة من قبل شركة CUSABIO الامريكية، كما تم اتباع الخطوات المذكورة في التعليمات الخاصة بالعدة لإجراء الفحص.

المعيار Standard (1x)

تم عمل طرد مركزي للقارورة حتى 6000 دورة بالدقيقة لمدة 30 ثانية قبل الفتح. وتم احضار 7 انابيب خاصة لعمل تراكيز مختلفة للمحلول القياسي بتركيز يبدأ من (500 pg/ml)

حتى (0 pg/ml). بعد ذلك قمنا بإحضار جميع الكواشف والعينات الى درجة حرارة الغرفة قبل الاستعمال وتم توزيع العينات البالغ عددها 80 عينة على الحفر وفق خطة توزيع مسبقة مرسومة لتحديد مكان كل عينة عند الرجوع اليها بسهولة تم أضافة 100µL من العينة لكل حفرة عدى الحفر المخصصة للمحاليل القياسية أذ نضع فيها المحاليل القياسية، ثم قمنا بعمل خلط للعينات وذلك عن طريق تدوير الصفيحة سطحيا بلطف، ثم تم تغطية الصفيحة بالغطاء المخصص وحضنت لمدة ساعتين في درجة حرارة 37 م°. ثم بعد ذلك تم التخلص من الزائد عن طريق سكبه بقوة دون غسل. بعد ذلك تم اضافة100µL من Enzyme conjugate لكل حفرة وتم عمل خلط للعينات وذلك بتدوير الصفيحة سطحيا برفق لمدة 20– 30 ثانية، بعد ذلك تم تغطية العينات بالغطاء المخصص و حضنت بدرجة حرارة 37 م°. ثم بعد ذلك تم افراغ محتويات الحفر و تم غسلها بمحلول الغسل ثلاث مرات عن طريق ملئها بمحلول الغسل ثم سكبت بقوة ، تم طرقها بقوة على ورق التنشيف للتخلص من محلول الغسل. تم أضافة مادة TMB Substrate أذ تتفاعل تفاعل عكسي مع Enzyme conjugate. أذ يجب ان تجري هذه الخطوة من العمل في الظلام، وتم حضن الصفيحة 20–10 دقيقة وتم خلال هذه الفترة متابعة التغير اللوني. تعتبر هذه الخطوة من اهم الخطوات لحساسيتها. بعد ظهور اللون الازرق تم اضافة50 µL محلول التوقف Stop solution ليتحول لون العينات من الازرق الى الاصفر و حسب التدرج اللوني للتركيز. بعد ظهور اللون الاصفر تم قراءة التراكيز من خلال جهاز HumaReader HS على طول موجي 450 nm وتم الحصول على النتائج.

3 – **عزل واستخلاص الدنا الكلي** DNA Extraction

عزل واستخلاص الحامض النووي الدنا DNA من عينات الدم المتحصل عليها من الأشخاص المصابين بمرض نزف الدم الوراثي من نوع A Hemophilia ومن مجموعة السيطرة وباستعمال العدةDNA Extraction Kit الخاصة بعزل الدنا DNA والمصنعة من قبل شركة Bioneer الكورية وحسب ما مبين في نشرة الكت.

البوادئ Primers

استعملت زوج من البوادئ للكشف عن تعبير جين IL-2 في عينة المرضى والعينة القياسية ،.والذي صمم من قبل الباحث.

الجدول (1) البوادئ المستعملة للكشف عن تعبير جين IL-2 في عينة المرضى والعينة القياسية.

حجم الجين	التسلسل النيوكلوتيدي للجين IL-2 (3→5)	اسم البادئ	التقانة
84 pb	5-GTCTTGCATTGCACTAAGTC -3	IL-2 Forward	RT-PCR
	5-TCCAGTTGTAGCTGTGTTTT -3	IL-2 Reverse	

واستعمل في هذه الدراسة الحالية زوج من البوادئ Housekeeping gene للمقارنة مع مجموعة المرضى والمبينة في جدول 2.

جدول (2) البوادئ Housekeeping gene المستعملة للمقارنة مع مجموعة المرضى .

Human Gene	اسم وحجم البادئ للـ Housekeeping gene	التسلسل النيوكلوتيدي للجين IL-2 (5→3)
151	151 F	5-GCACAGTCAAGGCCGAGAAT -3
	151 R	5-GCCTTCTCCATGGTGGTGAA -3

تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتحويل RNA إلى cDNA

تم تحويل RNA الى cDNA لغرض قياس التعبير الجيني باستخدام كت خاص مجهز من شركة BIONEER وبحسب التركيز الموصي بها لكل عينة قمت بإضافة Eppendorf بحجم 0.5 مل. أضيف13 µL من RNA ثم أضيف 2 µL من dT Oligo ويكون معلوم التركيزبعدها وضعت العينة في جهاز PCR على درجة حرارة 70 م لمدة 5 دقائق ليتفاعل Oligo d.T مع Primer ثم وضع في التجميد لمدة 5 دقائق .بعدها وضعت الخليط وهو العينة الى Master Mix الذي يحتوي على انزيم التحويل Reverse Transcriptase وهو انزيم تحويل RNA الى cDNA ثم اكمل الحجم بإضافة 5 µL من D.W.Free .ليكون حجم التفاعل 25 µL. مزجت المكونات باستخدام جهاز المازج ، ثم وضعت في جهاز PCR وبحسب البرنامج الخاص به كما موضح في الجدول (3) بعد انتهاء الخطوات و تحويل ال RNA الى cDNA وضعت في التجميد للحفاظ عليه مدة طويلة.

الجدول (3) البرنامج المستعمل بجهاز Real-Time –PCR للكشف عن تعبير جين IL-2 في عينة المرضى والعينة القياسية

Step المرحلة	Tempreture درجة الحرارة	Time الوقت
cDNA Synthesis	42 c	60min
Heat Inactivation	95c	5 min

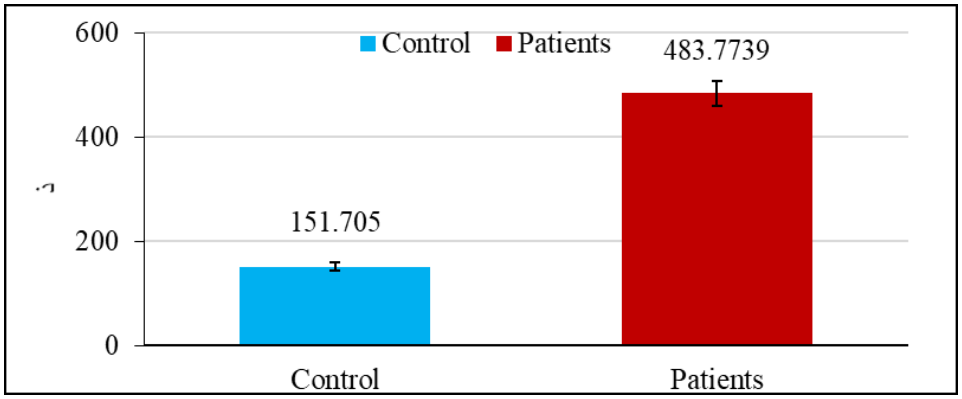
التحليل الاحصائي:

في هذه الدراسة، تم تحليل ترددات واختلافات تعبيرالجين المدروس وتركيزه لمرضى الهيموفيليا أ العراقيين ومجموعات الضبط، بقيمة P<0.05 باستخدام معادلة فيشر وكذلك باستخدام برناج SPSS.

النتائج والمناقشة:

اشارت الدراسة الحالية وجود فرق معنوي في قيم جين IL-4 والذي بلغت قيمته لدى المرضى المصابين بنزف الدم الوراثي (483.7739 A ±80.296) مقارنة بالأشخاص الاصحاء غير المصابين التي بلغت (151.705±45.957) كما موضح في

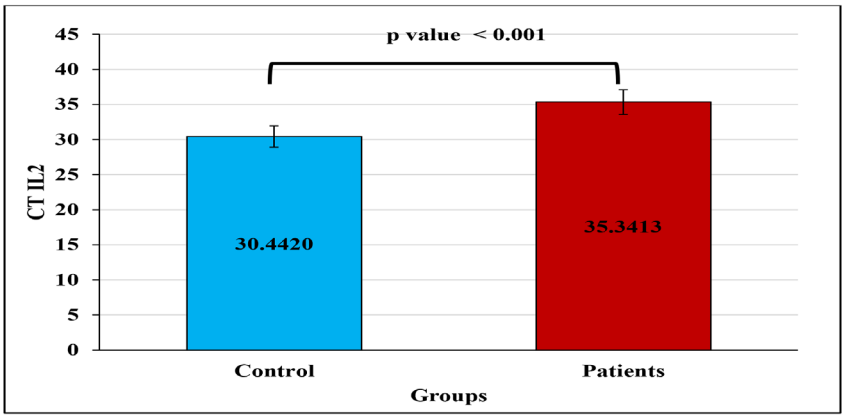
الشكل (1). قد اظهر وجود فروق معنوية في تركيز IL-4 بين الاشخاص المصابين بنزف الدم الوراثي والعينة القياسية وتحت مستوى احتمالية P<0.05 اذ بلغت قيمة الاحتمالية P<0.001 . بينت نتائج هذه الدراسة الى وجود مستويات عالية من تركيز IL-4 .وهذه النتائج تتوافق مع نتائج AL-Hamadiny et al,2024). ان IL-4 من الحركيات الخلوية Cytokines المهمة في تنظيم الاستجابة المناعية حيث زادت مستويات تركيزه في مرضى نزف الدم الوراثي A وقد تحدث بسبب الالتهاب المزمن الناتج عن النزيف المتكرر يؤدي النزيف المتكرر في المفصل (الممثل بقطرات الدم من أجل التبسيط) إلى تكاثر (تضخم الغشاء الزليلي) للخلايا الزليلية الشبيهة بالخلايا الليفية والخلايا الزليلية الشبيهة بالبلعميات التي تنتج عامل نمو بطانة الأوعية الدموية المسؤول عن تكوين الأوعية الدموية وإعادة تشكيل الأوعية الدموية، الحركيات الخلوية المؤيدة للالتهابات مثل عامل نخر الورم ألفا-TNF-α، والإنترفيرون- γو IL-6 وبيتا 1(β 1) (Gualtierotti et al,2021).



الشكل (1) مقارنة مستويات تركيز الحركي الخلوي IL-4 بين مرضى نزف الدم الوراثي A والاصحاء

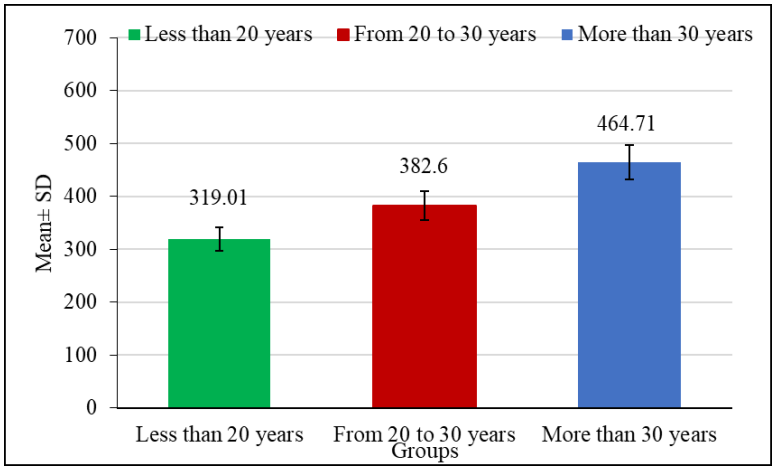
أظهرت نتائج التعبير الجيني للانترلوكين IL-2 ناتج تعبير اعلى لدى مجموعة السيطرة وبمتوسط تعبير (1.70246 ±30.4420) مقارنة بالمرضى التي أظهرت تعبير (1.31698 ± 35.3413) كما موضح في الشكل (2) وكانت قيمة P بين المجموعتين (0.001>) عند مستوى احتمالية (P<0.05) مما يشير الى وجود فرق معنوي بين المجموعتين حيث أظهرت مجموعة المرضى تغيرا أكبر في تعبير جين IL-2 مقارنة بمجموعة السيطرة . نتائج التحليل الاحصائي قد اظهر وجود فروق معنوية في قيمة تعبير جين IL-2 بين الاشخاص المصابين بنزف الدم الوراثي A والعينة القياسية وتحت مستوى احتمالية P<0.05 اذ بلغت قيمة الاحتمالية P<0.001 IL-2 . هو احد الحركيات الخلوية Cytokines المؤيدة للالتهابات ، والذي يلعب دورًا في عدة حالات منها فرط الحساسية والأمراض المناعية الذاتية مثل تطوّر مثبطات العامل الثامن (Liu et al,2014). قد يزداد تعبير جين IL-2 في مرضى نزف الدم الوراثي A والذي تفرزه الخلايا التائية T cells عند تنشيطها حيث تنشط عند دخول مستضد غريب داخل الجسم كالعلاج بالعامل الثامن والتي تساعد الخلايا البائية B cells على انتاج اجسام مضادة ضد العامل الثامن (مثبطات) حيث بعد العلاج بالعامل الثامن (FVIII)، يطور عدد كبير من مرضى

نزف الدم الوراثي A أجسامًا مضادة مثبطة تعمل على تعطيل وضيفة العامل الثامن (FVIII) في عملية تخثر الدم، حيث يتعرف الجهاز المناعي على العامل الثامن (FVIII) باعتباره مادة مستضدة غريبة تثير تكوين أجسام مضادة عالية الألفة تعتمد على الخلايا التائية (T cells) (Fijnvandraat et al ,2003).

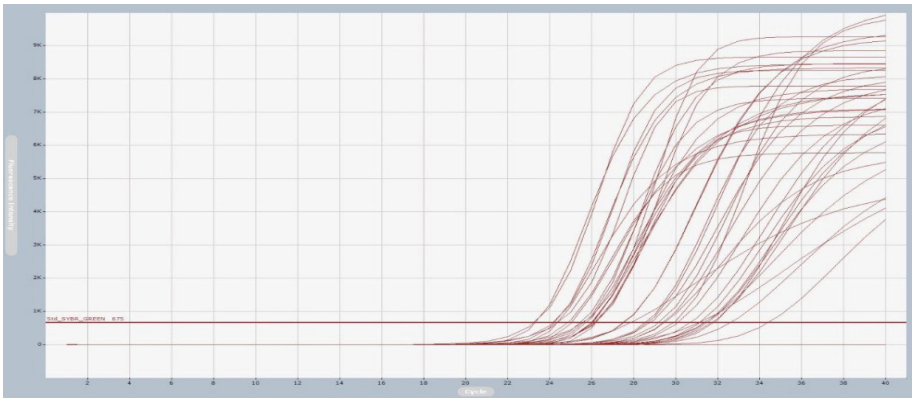


الشكل (2) :مقارنة بين مستويات تعبير جين IL-2 بين المرضى والاصحاء

يعرض الشكل (3) تغيير الطيف في تعبير جين IL-2 وقيمة الدالة الحيوية (-2 ΔΔCt) لكل فئة عمرية في مجموعة الاعمار دون 20 سنة ، كان متوسط التغيير في التعبير الجيني IL-2 هو (319.01 ± 80.91) وفي مجموعة الاعمار من 20-30 كان متوسط التغيير في التعبير الجيني IL-2 هو (382.60 ± 78.66) وفي مجموعة الاعمار اكبر من 30 كان متوسط التغيير في التعبير IL-2 هو (464.71 ± 58.15) وكانت قيمة الدلالة تساوي 0.048 فهذا يشير إلى وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعات. وبالتالي، يمكننا استنتاج أن هناك فرقًا ذا دلالة إحصائية في القيم المتوسطة بين المجموعات العمرية المختلفة. يبين الشكل (3-2) منحنيات قيم ct لجين IL-2 في مجموعتي المرضى وعينة الأشخاص الاصحاء (العينة القياسية) والتي تم قراءتها باستعمال تقانة Real-Time –PCR.

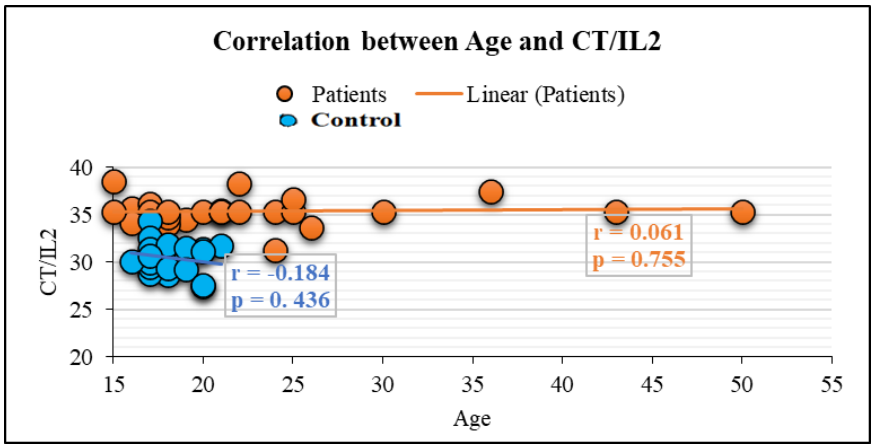


الشكل (3): مقارنة بين الفئات العمرية في التعبير الجيني لجين IL-2 في مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة



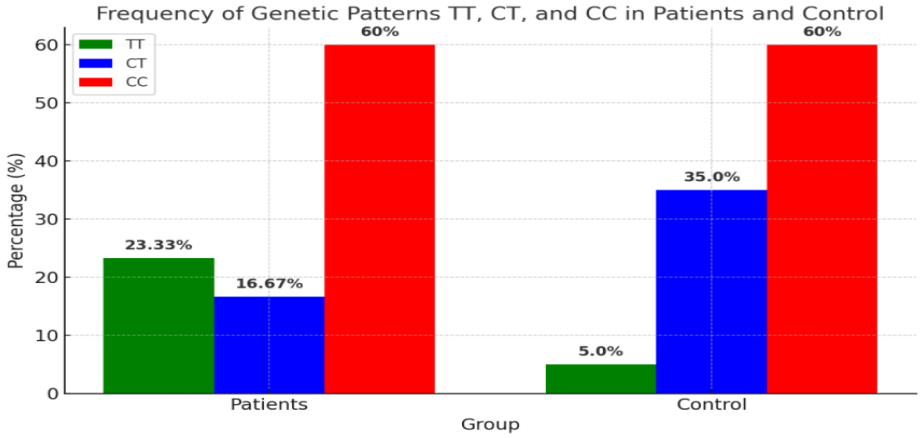
الشكل (3-2) يمثل منحنيات قيم ct لجين IL- 2 في مجموعتي المرضى والسيطرة (العينة القياسية)

يظهر الشكل (4) العلاقة بين العمر ومستويات التعبير الجيني لجين IL-2 في مجموعة المرضى والعينة القياسية، في مجموعة المرضى. بلغ معامل الارتباط بيرسون r = 0.061، مع قيمة احتمالية p = 0.755، مما يشير إلى وجود ارتباط ضعيف جدًا وإيجابي بين العمر وتركيزتعبير جين IL-2 لكنه غير معنوي إحصائيًا (p > 0.05). كما أن الخط البياني المائل بشكل شبه أفقي يؤكد غياب وجود علاقة خطية واضحة بين العمر وتركيز المؤشر الحيوي في هذه المجموعة.أما في مجموعة العينة القياسية فقد أظهر التحليل وجود ارتباط سلبي ضعيف حيث كان معامل الارتباط r = -0.184 وقيمة p = 0.436، وهي كذلك غير معنوية إحصائيًا. يشير الاتجاه النازل في الخط البياني إلى وجود ميل طفيف لانخفاض مستويات تعبير جين IL-2 مع التقدم في العمر، إلا أن القيمة الاحتمالية لا تدعم هذا الارتباط كمؤشر موثوق.بشكل عام، تشير النتائج إلى أن العمر لا يرتبط بشكل معنوي بمستويات تعبير جين IL-2 سواء في مجموعة المرضى أو في مجموعة العينة القياسية. كما أن تداخل قيم تعبير جين IL-2 عبر فئات عمرية متعددة يعزز من احتمالية أن هذا المؤشر الحيوي قد يتأثر بعوامل فسيولوجية أو مرضية أخرى غير العمر الزمني.



الشكل (4): العلاقة بين العمر و ومستويات التعبير الجيني لجين IL-2 في مجموعتي المرضى والسيطرة (العينة القياسية)

ان من بين العوامل المؤثرة في تطور المثبطات، تلعب العوامل الوراثية المتعلقة بالاستجابة المناعية دورًا رئيسيًا. حيث ان أحد هذه العوامل الوراثية هو تعدد الأشكال الجيني C>T 590 في محفز جين الإنترلوكين-4 (IL-4). يُعد IL-4 من الحركيات الخلوية Cytokines المضادة للالتهاب التي تحفز نشاط الخلايا البائية، وبالتالي تعزيز إنتاج الأجسام المضادة. حيث ان التغير الجيني من الأليل C إلى الأليل T عند هذا الموقع يرتبط بزيادة التعبير الجيني لـ IL-4، مما يؤدي إلى زيادة الاستجابة المناعية التحسسية (Astermark et al., 2006)



الشكل (4-6): نسبة التكرار للأنماط الوراثية المشاهدة للجين IL-4(590 C<T) في عينة المصابين بنزف الدم الوراثي A والعينة القياسية.

الاستنتاجات

توضح البيانات الإحصائية لبيانات مرضى **بنزف الدم الوراثي نوع A** وجود تعبير جيني ملحوظ لجين IL-2 لدى الأشخاص المصابين بالمرض، وهذا قد يكون مؤشر مرتبط بخطر الإصابة بنزف الدم الوراثي **نوع A** لدى المرضى العراقيين، وكذلك تشير النتائج إلى أن الحركي الخلوي IL-4 له علاقة أيضا كمؤشر مرتبط مع عامل خطر المرض وهذا ما ظهرا واضحا بارتفاع تركيز هذا الحركي الخلوي لدى المرضى العراقيين.

المصادر:

1-Al-Hamadiny, S. Q., Maleek, M. I., Faraj, S. A., & Zainulabdeen, A. B. (2024). Relationship of Interleukin 2 and 4 Levels in Moderate and Severe Hemophilia Patients with Arthropathy. TWIST, 19(3), 364-367

2-Astermark, J., Oldenburg, J., Pavlova, A., Berntorp, E., Lefvert, A. K., & MIBS Study Group. (2006). Polymorphisms in the IL10 but not in the IL1beta and IL4 genes are associated with inhibitor development in patients with hemophilia A. Blood, 107(8), 3167-3172

3-Alsaid, A., El-Missiry, M., Hatata, E., Tarabay, M. and 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):343-247

gene polymorphism and FVIII inhibitor development in Indonesian patients with severe hemophilia A. Medical Journal of Indonesia, 31(4), 213-7

11-Rezende, S. M., Neumann, I., Angchaisuksiri, P., Awodu, O., Boban, A., Cuker, A., ... & Rosendaal, F. R. (2024). International Society on Thrombosis and Haemostasis clinical practice guideline for treatment of congenital hemophilia A and B based on the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation methodology. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 22(9), 2629-2652

12-Sahu, S., Lata, I., Singh, S., & Kumar, M. (2011). Revisiting hemophilia management in acute medicine. Journal of emergencies, trauma, and shock, 4(2), 292-298 .

13-Salman, R. I., Salih, K. M., & Al-Rahal, N. K. (2024). Association Between Low Bone Mineral Density in Hemophilia Patients and Musculoskeletal Function Impairments. Journal of Angiotherapy, 8(2),1-8

14-She, Y. X., Yu, Q. Y., & Tang, X. X. (2021). Role of interleukins in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. Cell Death Discovery, 7(1), 52

15-Tantawy, A. A. (2010). Molecular genetics of hemophilia A: Clinical perspectives. Egyptian Journal of Medical Human Genetics, 11(2)

16-Zafar, L., Zafar, T., Azam, U., Nafisa, A., Durrani, S., Iqbal, M., & Ikram, N. (2024). Epidemiological Profile of Patients with Hemophilia in Northern Pakistan: A Single-Center Study. Journal of Haematology and Stem Cell Research, 4(1), 135-139

17-Zakaria, M., Beshir, M., Hassan, T., Esh, A., Abdelaziz, E., Tayib, R., & Nafea, A. (2023). Role of interleukin 4 (IL4) and interleukin 6 (IL6) in the pathogenesis and prognosis of childhood primary immune thrombocytopenia. European Journal of Pediatrics, 182(7), 3129-3138.

4-Erri Grazzi, E., Hawes, C., Camp, C., Hinds, D., O'Hara, J., & Burke, T. (2024). Exploring the relationship between condition severity and health-related quality of life in people with haemophilia A across Europe: a multivariable analysis of data from the CHESS II study. Health and quality of life outcomes, 22(1), 58 .

5-Esh, A., Abdelaziz, E., Tayib, R., & Nafea, A. (2023). Role of interleukin 4 (IL4) and interleukin 6 (IL6) in the pathogenesis and prognosis of childhood primary immune thrombocytopenia. European Journal of Pediatrics, 182(7), 3129-3138 .

6-Fijnvandraat, K., Bril, W. S., & Voorberg, J. (2003). Immunobiology of inhibitor development in hemophilia A. In Seminars in thrombosis and hemostasis (Vol. 29, No. 01, pp. 061-068). Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.:+ 1 (212) 584-4662

7-Franchini, M., Vaglio, S., Marano, G., Mengoli, C., Gentili, S., Pupella, S., & Liumbruno, G. M. (2017). Acquired hemophilia A: a review of recent data and new therapeutic options. Hematology, 22(9), 514-520.

8-Gualtierotti, R., Solimeno, L. P., & Peyvandi, F. (2021). Hemophilic arthropathy: current knowledge and future perspectives. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 19(9), 2112-2121

8-Liras, A., Segovia, C., & Gabán, A. S. (2012). Advanced therapies for the treatment of hemophilia: future perspectives. Orphanet journal of rare diseases, 7, 1-9

9-Liu, C. L., Ye, P., Lin, J., Djukovic, D., & Miao, C. H. (2014). Long-term tolerance to factor VIII is achieved by administration of IL-2/IL-2mAb complexes and low dosages of factor VIII. Journal of thrombosis and haemostasis: JTH, 12(6), 921

10-Marwanta, S., Muhammad, F., Maryono, S., Salimah, K., Sudarmadi, S. D., Purwanto, B., ... & Ardyanto, T. D. (2022). Association between interleukin-2 (rs2069762)