



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم
قسم علوم الحياة



بعض التغيرات المناعية والدمية والكيموحيوية في عينة من مرضى التلاسيميا

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

فرح عباس فاضل علوان

بكالوريوس علوم حياة / جامعة ديالى

(2017-2018)

بإشراف

أ. د محمد عبد الدايم صالح

أ. د ابراهيم هادي محمد

2020 م

1441 هـ

قال الله تعالى في كتابه العزيز

"قَدْ لَنْ يُصِيبَنَا إِلَّا مَا كَتَبَ اللَّهُ لَنَا هُوَ مَوْلَانَا وَعَلَى اللَّهِ

فَلْيَتَوَكَّلِ الْمُؤْمِنُونَ" (51)

"صدق الله العظيم"

سورة التوبة: 51

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم الدور المناعي لمستضدات الخلايا البيض البشرية HLA-G وبعض المؤشرات الحيوية لدى المصابين بمرضى التلاسيميا. تم اجراء هذه الدراسة في مركز امراض الدم ا التلاسيميا - محافظة ديالى , والتي استمرت من بداية شهر تشرين الاول 2019 الى نهاية شهر شباط 2020 وتضمنت تقييم الحالة المناعية لدى مرضى التلاسيميا المزمن عن طريق قياس HLA-G وبعض المؤشرات المناعية وكذلك تقييم عدد من المؤشرات الدموية والكيميائية الحيوية. شملت المؤشرات المناعية قياس مستوى مستضدات الخلايا البيض البشرية HLA-G وكذلك قياس مستويات الراسمات CD4 & CD8 وقياس البين الابيضاضي IL-17A بواسطة تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم () Enzyme Linked Immunosorbent Assay .ELISA

تضمنت المؤشرات الدموية : الخلايا الدم الحمراء Red Blood Cells, Hemoglobin blood, hematocrit blood, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration . والخلايا الدم البيضاء white blood cells, Neutrophils, Lymphocytes, Monocytes. والصفائح الدموية Blood platelet. اما قياس المؤشرات الهرمونية فقد شملت Thyroxine, Triiodothyronine, thyroid stimulating hormone, Luteinizing hormone, follicle stimulating hormone. اما قياس وظائف الكبد فقد شملت قياس فعالية الانزيمات Alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase ، و Creatinin و Ferritin. تضمنت هذه الدراسة 90 عينة ، منها 60 عينة تعود لمصابين مرضى التلاسيميا 30 ذكورا و30 اناثا، اعمارهم تراوح (من 1 الى 27) سنة ، و30 عينة تم جمعها من اشخاص اصحاء 15 ذكورا و 15 اناثا ضمن مدى عمري ما بين

(15 الى 30) سنة ، تم استخدامهم كمجموعة سيطرة على ان عينات مرضى التلاسيميا المزمن تم جمعها بعد تشخيصها من قبل الطبيب المختص في مركز امراض الدم \ التلاسيميا - محافظة ديالى .

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، حيث سجلت ارتفاع مستوى HLA-G لدى المرضى 91.607 ng/ml مقارنة بمجموعة السيطرة 87.278 ng/ml . بينما كان نسبته بالذكور اعلى من الاناث وبلغت 101.187 ng/ml 82.027 ng/ml على التوالي . وبالنسبة للفئات العمرية كانت نسبته في الفئة العمرية (19-27) سنة وبلغت 106.242 ng/ml اعلى من الفئات العمرية (1-9),(10-18) سنة وبلغت 78.573 ng/ml , 85.126 ng/ml على التوالي .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فرق عالي المعنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، وسجلت ارتفاع مستوى CD8 لدى المرضى وبلغت 154.598 ng/ml مقارنة بمجموعة السيطرة وبلغت 136.083 ng/ml . بينما كان نسبته بالاناث مساوية للذكور وبلغت 154.937 ng/ml , 154.260 ng/ml على التوالي . وبالنسبة للفئات العمرية كانت نسبته في الفئة العمرية (10-18) سنة وبلغت 162.638 ng/ml اعلى من الفئات العمرية (1-9),(19-27) سنة وبلغت 151.289 ng/ml , 150.972 ng/ml على التوالي .

اظهرت نتائج الدراسة الاحصائية عدم وجود فرق معنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، وسجلت ارتفاع مستوى CD4 لدى المرضى 216.991 ng/ml مقارنة بمجموعة السيطرة 199.192 ng/ml . بينما نسبته بالاناث اعلى من الذكور وبلغت 219.157 ng/ml , 214.824 ng/ml على التوالي . وبالنسبة للفئات العمرية كانت نسبته في الفئة العمرية (1-9) سنة وبلغت 236.725 ng/ml اعلى من الفئات العمرية (10-18),(19-27) سنة وبلغت 211.432 ng/ml , 206.359 ng/ml على التوالي .

اشارت نتائج الدراسة الحالية المقارنة بين مستوى مرضى التلاسيميا والاصحاء ان مستوى المؤشرات الكيموحيوية للحديد اعلى في مرضى التلاسيميا مقارنة بالاصحاء ،بينما مستوى الكرياتينين اقل في مرضى التلاسيميا مقارنة بالاصحاء، ومن جهة اخرى اشارت ان المؤشرات لوظائف الكبد AST, ATP, ALT اذ كانت اعلى في مرضى التلاسيميا مقارنة بالاصحاء بوجود فرق عالي المعنوية احتمالية ($P < 0.01$).

List of Contents

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	ت
I	الخلاصة	
IV	قائمة المحتويات	
LX	قائمة الجداول	
X	قائمة الاشكال	
X	قائمة الملاحق	
XL	قائمة المختصرات	

الصفحة	الفصل الأول Introduction	ت
1	المقدمة	1-1
3	أهداف البحث	2-1

الصفحة	الفصل الثاني: References review	ت
4	أستعراض المراجع	2
4	Thalassemia الثلاسيميا	1-2
6	Types of thalassemia انواع الثلاسيميا	2-2
6	(Alpha thalassemia) α ثلاسيميا الفا	1-2-2
7	(Beta thalassemia) β ثلاسيميا بيتا	2-2-2
8	Human hemoglobin's الهيموغلوبين البشري	3-2
9	Inherited hemoglobin اضطرابات الهيموغلوبين الموروثة disorders	4-2
10	Epidemiology الوبائية	5-2
11	Symptoms of thalassemia أعراض مرض الثلاسيميا	6-2
12	Signs of increased blood علامات زيادة تركيب الدم structure	7-2
12	افراط حمولة الحديد (داء الهيموسدريني ، Hamoslooros) بسبب زيادة امتصاص الحديد	1-7-2
12	افراط نشاط نخاع العظم (فرط النسيج الأحمر) وزيادة هشاشة العظام (متلازمة نقص تكلس العظام ، هشاشة العظام)	2-7-2
12	افراط نشاط الطحال (متلازمة فرط الطحال) وتركيب الدم خارج النخاع العظمي	3-7-2

13	تشخيص التلاسيميا Diagnosis	8-2
14	العلاج Treatment	9-2
14	النظام المناعي Immune System	10-2
15	نظام المناعة الفطرية innate immune system	1-10-2
16	نظام المناعة المكتسبة Acquired Immune Response	2-10-2
17	مستضدات الكريات البيض البشرية Human Leukocyte Antigen (HLA)	11-2
17	نظام HLA The HLA system	1-11-2
17	التنظيم الجينومي Genomic organization of the HLA system	1-11-2
18	هيكل وتعدد الأشكال ووظيفة جزيئات HLA Structure, polymorphism, and function of HLA molecules	3-11-2
20	مستضدات الكريات البيض البشرية Human Leukocyte Antigen (HLA-G)	12-2
21	المؤشرات المناعية CD4 and CD8	13-2
23	الحركيات الخلوية Cytokines	14-2
24	البين الأبيضاضي Interlukin-17 (IL-17A)	1-14-2
25	المؤشرات الهرمونية hormonal indicators	15-2

25	Thyroid hormones هرمونات الغدة الدرقية	1-15-2
26	Follicle stimulating hormone and luteinizing hormone الهرمون المحفز للجريبات وهرمون الملوتن	2-15-2
27	Biochemical indicators المؤشرات الكيموحيوية	16-2
27	Ferritin الحديد	1-16-2
27	Creattinie الكرياتينين	2-16-2
28	Liver function parameters معلمات وظائف الكبد	17-2
28	Alanine Amino Transferase أنانين أمينية ترانسفيراز catalase	1-17-2
28	aspartate amino (AST) الأسبارتات الأمينية المنتقلة transporte	2-17-2
29	Alkaline Phosphatase(ALP) الفوسفاتيز القلوي	3-17-2

الصفحة	Materials and Methods : الفصل الثالث :	ت
30	المواد وطرق العمل	3
30	Instruments الأجهزة المستخدمة	1-3
31	Equipments الادوات المستخدمة	2-3

32	Laboratory kit عدة المختبرية	3-3
33	Methods طرق العمل	4-3
33	خطة العمل	1-4-3
35	Collection of Samples جمع العينات	2-4-3
36	Immunological Tests الاختبارات المناعية	5-3
36	تحديد مستوى المؤشرات المناعية (IL- ,CD8 ,CD4, HLA-G) في مصل دم المرضى المصابين في مرض التلاسيميا (17A)	1-15-3
39	Hematological tests الفحوصات الدموية	6-3
40	المؤشرات الهرمونية	7-3
40	تحديد مستوى TSH، T4، T3، LH، FSH، في مصل الدم	1-7-3
41	المؤشرات الكيموحيوية	8-3
41	تحديد مستوى Creatinine، Ferritin في مصل الدم	1-8-3
42	مؤشرات وظائف الكبد	9-3
42	تحديد مستوى (ALT,AST,ALP) في مصل الدم	1-9-3
43	Statistical analysis التحليل الاحصائي	10-3

الصفحة	Results and الفصل الرابع : discussion	ت
--------	---	---

44	النتائج و المناقشة	4
44	البيانات	1-4
44	توزيع مجاميع الدراسة حسب النسب المئوية بالنسبة للحالة الصحية	1-1-4
44	توزيع مجاميع الدراسة حسب النسب المئوية بالنسبة للجنس	2-1-4
44	توزيع مجاميع الدراسة حسب العمر	3-1-4
45	الدراسة المناعية	2-4
45	قياس مستوى مستضدات الكريات البيض البشرية (HLA-G)	1-2-4
45	توزيع مستوى HLA-G بالنسبة للإصابة بالمرض	-1-2-4 1
47	توزيع مستوى HLA-G مع الجنس بالنسبة للمصابين	-1-2-4 2
48	توزيع مستوى HLA-G مع العمر بالنسبة للمصابين	-1-2-4 3
49	قياس مستوى مجموعة من التمايز (CD8 & CD4)	2-2-4
69	توزيع مستوى CD8 & CD4 بالنسبة للإصابة بالمرض	-2-2-4 1
50	توزيع مستوى CD8 & CD4 مع الجنس بالنسبة للمصابين	-2-2-4 2
51	توزيع مستوى CD8 & CD4 مع العمر للإصابة بالمرض	-2-2-4

		3
53	توزيع مستوى IL-17A اليبين الأبيضاضي	3-2-4
53	توزيع مستوى IL-17A بالنسبة للاصابة بالمرض	-3-2-4 1
54	توزيع مستوى IL-17A مع الجنس بالنسبة للمصابين	-3-2-4 2
55	توزيع مستوى IL-17A مع العمر بالنسبة للمصابين	-3-2-4 3
56	قياس تحديد نسبة المؤشرات الدموية اكريات الدم البيضاء بالنسبة للاصابة بالمرض	3-4
58	توزيع المؤشرات الدموية امجاميع كريات الدم الحمراء بالنسبة للاصابة بالمرض	4-4
59	توزيع مجاميع الدراسة للصفحات الدموية بالنسبة للاصابة بالمرض	5-4
61	توزيع الدراسة مجاميع الهرمونية بالنسبة للاصابة بالمرض	6-4
63	توزيع مجاميع الدراسة ل Ferritin و Creatinine بالنسبة للاصابة بالمرض	7-4
65	توزيع مجاميع الدراسة لوظائف الكبد بالنسبة للاصابة بالمرض	8-4
67	الاستنتاجات Conclusions	
69	Recommendations التوصيات	

70	Reference	المصادر
88		الملاحق Appendices

قائمة الجداول List of Tables

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
30	قائمه بالأجهزة المستخدمة في هذه الدراسة	1-3
31	الادوات المستخدمة في هذه الدراسة	2-3
32	قائمة بالعدة المختبرية في هذه الدراسة	3-3
44	توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة المئوية للحالة الصحية والجنس	1-4
45	توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة للعمر	2-4
46	يوضح مستوى تركيز HLA-G بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للحالة	3-4
47	توزيع علاقة مستوى HLA-G مع الجنس بالنسبة للمصابين	4-4
48	توزيع مستوى HLA-G مع العمر بالنسبة للمصابين	5-4
50	توزيع مستوى CD8 & CD4 بالنسبة للحالة الصحية	6-4
51	توزيع مستوى CD8 & CD4 مع الجنس بالنسبة للمصابين	7-4
52	توزيع مستوى CD8 & CD4 مع العمر بالنسبة للمصابين	8-4
53	توزيع مستوى IL-17A بالنسبة للحالة الصحية	9-4
54	توزيع مستوى IL-17A مع الجنس بالنسبة للمصابين	10-4
55	توزيع مستوى IL-17A مع العمر بالنسبة للمصابين	11-4
57	مقارنة مستوى معدل خلايا الدم البيضاء بين مجموعتي الدراسة بالنسبة	12-4
58	مقارنة مستوى معدل خلايا الدم الحمراء بين مجموعتي الدراسة بالنسبة	13-4
60	مقارنة مستوى معدل الصفائح الدموية بين مجموعتي الدراسة بالنسبة	14-4
61	مقارنة مستوى معدل الهرمونات بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للاصابة	15-4

63	مقارنة مستوى معدل Ferritin و Creatinine بين مجموعتي الدراسة	16-4
65	مقارنة مستوى وظائف الكبد بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للحالة الصحية	17-4

قائمة الإشكال List of Schedule

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1-2	موقع الكروموسوم وهيكل مجموعات الجينات الفا وبيتا غلوبين	8
2-2	التغيرات التنموية في انتاج سلسلة غلوبين الانسان	9
3-2	MHC البشري على الذراع القصيرة للكروموسوم 6	18
4-2	رسم لجزيئات HLA من الصنف a,b	19
1-3	يوضح خطة العمل البحث	34
2-3	مبدأ اختبار شطيرة الاليزا	36
3-3	يوضح عملية تحضير المحلول القياسي (-IL, HLA-G, CD4, CD8) (17A)	38

قائمة الملاحق

رقم الملحق	العنوان
الملحق رقم 1	المنحنى القياسي HLA.G
الملحق رقم 2	المنحنى القياسي CD4
الملحق رقم 3	المنحنى القياسي CD8
الملحق رقم 4	المنحنى القياسي IL-17A
الملحق رقم 5	عملية التغير اللوني عند اضافته محلول التوقف لعمل الكت
الملحق رقم 6	جدول القيم الطبيعية

الخلاصة باللغة الانكليزية

قائمة المختصرات

الرمز	المصطلحات
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
APC	Antigen presenting cell
AST	aspartate aminotransferase
BMT	Bone Marrow Transplant
BTM	Bata Thalassemia major
b-TM	b-thalassemia major
CBC	Complete blood count
CD4	cluster of differentiation 4
CD8	cluster of differentiation8
DFO	Deferoxamine
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Fc	fragment crystallizable

FSH	follicle stimulating hormone
FT3	Free T3
FT4	Free T4
GPT	Glutamate Pyruvate Transaminase
HCC	hepatocellular carcinoma
HCG	Human chorionic gonadotropin
HCT	hematocrit blood
HGB	Hemoglobin blood
HLA	human leukocyte antigen
HPFH	Genetic stability of the fetal hemoglobin
HR	Risk ratio
HRP	Horseradish Peroxidase
HSCT	hematopoietic stem cell transplantation
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IgV	immunoglobulin variable
IL-17A	Interleukin-17A
ITAMs	immunoreceptor tyrosine activation motifs
LH	Luteinizing hormone
LYM	Lymphocytes
MCH	mean corpuscular hemoglobin

MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	mean corpuscular volume
MHC	Major histocompatibility complex
MON	Monocytes
MPV	Mean platelet volume
MRI	magnetic resonance imaging
NEU	Neutrophils
NIHF	Nonimmune oimmune resolution hdrops fetals
NK	Natural killer cell
NTDT	Non-transfusion-dependent thalassemias
PLT	Blood platelet
RBC	Red Blood Cells
ROS	Reactive oxygen species
SCA	Sickle cell anemia
T cell	<u>T</u>hymus
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine
TCR	T-cell receptor
TDT	transfusion-dependent thalassemias
Th-17	T helper-17
TMB	Tetramethyl benzidine

Treg	regulatory T cells
TSH	thyroid stimulating hormone
WBC	white blood cells

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

Introduction

المقدمة

الثلاسيميا مرض وراثي له أشكال وراثية متعددة ، بما في ذلك الثلاسيميا α ، وثلاسيميا β ، وتؤدي العيوب الجزيئية في مجموعة جينات α -globin على الكروموسوم 16 أو مجموعة جينات β -globin على الكروموسوم 11 إلى تخليق هيموغلوبين معيب . وتكمن اضطرابات الثلاسيميا في طيف من الشدة مع مختلف الأنماط السريرية واستراتيجيات العلاج. تؤدي الكمية النسبية لسلاسل α -globin و β -globin إلى موت الخلايا المبرمج في وقت مبكر من نضج خلايا كريات الدم الحمراء مع توسع المكونة للدم في محاولة للتعويض المحتمل ، وهي حالة غالبًا ما يشار إليها باسم فقر الدم الحمراء غير الفعالة مما يؤدي إلى فقر الدم الانحلالي المزمن من دون وجود شبكية كبيرة من مصفوفة الآليات الفسلجية المرضية الثانوية. درجة الاعتماد على نقل الدم هي أحد العناصر التي تم تناولها في تصنيف حديث لاضطرابات الثلاسيميا وهي الثلاسيميا المعتمدة على نقل الدم (TDT) والثلاسيميا غير المعتمدة على نقل الدم (NTDT) (Taher and Saliba, 2017).

الثلاسيميا هي مرض دم وراثي إذ يحدث فيها انخفاض في معدل بناء واحدة أو أكثر من سلاسل الكلوبين التي تؤدي إلى خلق غير متوازن في سلاسل الكلوبين وإنتاج الهيموغلوبين المعيب وتلف خلايا الدم الحمراء أو أسلافها الذي ينتج من تأثير وحدات بروتين الكلوبين التي يتم إنتاجها بشكل فائض ، والنقص يمكن أن يؤثر في سلاسل δ, β, α أو ربما يؤثر على بعض مكونات هذه السلاسل في نفس المريض ، لكن لا يؤثر على سلاسل α و β سوى (Hope *et al.*, 2010) .

صمم الجهاز المناعي للكائن الحي للحفاظ على التوازن بين الاستجابة للعوامل المعدية والحفاظ على تحمل الذاتي، والجهاز المناعي قد لا يستجيب إلى غزو العوامل الممرضة وفي المقابل قد يؤدي إلى رد الفعل المناعي المفرط الحساسية إلى استجابات التهابية ضارة . وبالتالي فإن تطور

مرض المناعة الذاتية ينطوي على انهيار في الآليات التي تتحكم في تحمل الخلايا التائية للمستضدات الذاتية وهذه الآليات كثيرة ومعقدة وتعرف مجتمعة باسم التنظيم المناعي . ومن بين الخلايا التي قد تكون مسؤولة عن هذا التنظيم هنالك نوع معين من الخلايا التائية التي لديها القدرة على تنظيم التمايز بين الخلايا المساعد ،الخلايا المستضدية المحددة للمستضد (Toubi, 2019).

ان عملية عرض الخلايا المناعية للمستضد هي مساهمة لا يمكن إنكارها في التسبب في أمراض المناعة الذاتية. أشارت دراسات مختلفة إلى العديد من العوامل المرتبطة بالمناعة الذاتية. تعد مستضدات الكريات البيض البشرية (HLAs) من بين هذه العوامل التي لها دور رئيسي في المناعة الذاتية بسبب مشاركتها في عملية تقديم المستضد (Rajaei et al.,2019).

ان جين يقع داخل معقد التوافق النسيجي الرئيسي (MHC) في الذراع القصير للكروموسوم 6 يدعى HLA- G، وتعمل تركيبه كعوامل تنظيمية للاستجابات المناعية التي تعمل في العديد من الحالات الالتهابية(Bortolotti et al.,2019). HLA-G هو غير كلاسيكي ، يشار إليه بوصفه جيناً أو كلاساً غير كلاسيكيين بسبب علاقته التركيبية بمنتجات الفئة (HLA-A, HLA-B, HLA-C) ، لأنها تعمل بطريقة مناعية الببتيدات حيث تقوم البروتينات غير المتجانسة وغير المتكافئة المرتبطة بـ 2 ميكروغلوبولين مرتبط بمركب موضع التوافق الرئيسي (MHC) كروموسوم 6. ومحل جزيء HLA-G ضد الاستجابات المناعية الخلوية الفطرية والتكيفية , Ajith et al., (2020).

البروتين السكري CD4 موجود على سطح الخلايا المناعية يدعى CD4 (مجموعة من التمايز 4) (cluster of differentiation 4) مثل الخلايا التائية المساعدة وحيدات الخلايا الضامة والخلايا الجذعية. تم اكتشافه في أواخر السبعينات 1970. في البشر ، يتم تشفير بروتين CD4 بواسطة جين CD4 (Kuchroo et al., 2020).

والبروتين السكري الغشائي الذي يعمل بمثابة مستقبلات مشتركة لمستقبلات الخلايا التائية

(TCR)

ويدعى (CD8) cluster of differentiation8 و يرتبط بجزئية التوافق النسيجي الكبير (MHC)

، لكنه خاص ببروتين الفئة الأولى من التوافق النسيجي الكبير. وهناك نوعان من أشكال البروتين ألفا

وبيتا ، يتم تشفير كل منهما بواسطة جين مختلف في البشر ويوجد كلا الجينين في الكروموسوم 2

في الموضع p12 (Liu *et al.*, 2019).

الحركيات الخلوية البادئة للالتهاب ينتج بواسطة الخلية التائية T helper-17 (Th-17)

و تمثل الخلية التائية المساعدة مجموعة فرعية من خلايا CD4+T Cells ، يعد IL-17A اهم

افرازات هذه الخلايا والتي تترك أثراً مهماً في تنظيم الالتهابات المناعية ويكشف عن احتمالات قوية

للمناعة الذاتية ، ويرتبط توافر L-17A بمستوى عالٍ مع الامراض الالتهابية المزمنة Wang *et al*

(., 2020).

1-2 اهداف الدراسة:

تهدف الدراسة الحالية الى بعض التغيرات المناعية والدمية والكيموحيوية في عينة من

مرضى التلاسيميا، وتشمل تلك المؤشرات التي تم قياسها في مصل ودم مرضى التلاسيميا مايلي :

1-المؤشرات المناعية وتشمل CD4, CD8, IL-17A,HLA-G .

2-المؤشرات الدموية وتشمل WBC, RBC, PLT .

3_المؤشرات الهرمونية الغدد الدرقية وتشمل T4,T3,TSH.

4-المؤشرات الهرمونية وتشمل LH,FSH .

5-المؤشرات الكيموحيوية وتشمل Creatinine & Ferritin ،وظائف الكبد وتشمل ALT, AST,

ALP

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURE

REVIEW

استعراض المراجع References review

1-2 الثلاسيميا (Thalassemia) :

الثلاسيميا هو احد امراض الدم الوراثية، ومشكلة صحية عامة كبيرة وهو أكثر حالات فقر الدم الانحلالي المزمن تحديًا وراثيًا، وتحدث الإصابة بمرض الثلاسيميا نتيجة لجينات b-globin أو طفرات مناطقها التنظيمية مع عدم التوازن الناتج في توليف سلسلة b / globin ، وتكون الكريات الحمراء غير فعالة ، وانخفاض خلايا كريات الدم الحمراء وفقر الدم (Elsayh *et al.*, 2016).

اعتمادًا على الشدة السريرية للمرض ، يتم تصنيف الثلاسيميا إلى طفيفة ومتوسطة وشديدة. تتميز الثلاسيميا الصغرى بفقر الدم الخفيف دون الحاجة إلى نقل الدم المنتظم ، على العكس من ذلك تتميز الثلاسيميا الكبرى بفقر الدم الحاد وتتطلب عمليات نقل دم متكررة لاستعادة خلايا الدم الحمراء ولكن وسطية الثلاسيميا ممثلة في الشدة السريرية التي تقع بين تلك الخاصة بالثلاسيميا الكبرى والثانية الثلاسيميا الصغرى (Keshk *et al.*, 2019).

تكون تنوع الثلاسيميا من الملاحظ لنقل الدم ، زرع نخاع العظم إلى استئصال الطحال ولكن يبقى تعديل حالة الهيموغلوبين أمرًا ضروريًا للغاية يؤدي حمل الحديد الزائد إلى تلف الأعضاء من خلال تعزيز أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) مع تكلمة الإجهاد التأكسدي المزمن ، الالتهاب الفيروسي المزمن، ضعف وظيفة الخلايا البلعمية / المناعة، التحفيز المستمر ضد المستضدات ، وزيادة خطر انتقال فيروسات المناعية مع زيادة الأمراض والوفيات في الثلاسيميا B Keshk *et al.*, 2019).

مرض الثلاسيميا هو انتاج غير صحيح للهيموكلوبين HbA ($\alpha_2\beta_2$) ينتج عنه تشوه تخليق سلاسل α او β كلوبين إذ تتألف جزيئة الهيموكلوبين من اربع سلاسل : سلسلتين علوية وتدعى سلاسل α وسلسلتين سفلية وتدعى سلاسل β ، يحدث هذا النوع من فقر الدم الوراثي بواسطة

الطفرات حيث يقل بناء خضاب الدم وبناء خلايا الدم الحمراء ،وبالاعتماد على الاضطرابات في هذه السلاسل تصنف الثلاسيميا الى ثلاثيميا α وثلاثيميا β ، شكل (1-2). الاعراض السريرية لهذا المرض تظهر خلال 3-6 اشهر بعد الولادة وتتميز بانيميا شديدة بسبب عدم القدرة على استبدال هيموغلوبين الجنيني (HbF) بهيموغلوبين الكبار بالاضافة الى انتاج كريات دم حمراء غير فعالة وانحلال الدم (Al-Zwaini,2018).

نقل الدم المتكرر لمرضى الثلاسيميا يؤدي الى ترسب الحديد في العديد من الاعضاء مثل الكبد ،القلب والغدد الصماء .الاضطرابات الرئيسية في الغدد الصماء التي يعاني منها مرضى الثلاسيميا تشمل اضطرابات النمو، التطور الجنسي والاختصاص ، داء السكري ، قصور الغدد الدرقية و قصور الغدة الكظرية (Lubis and Yunir, 2018).

تصنف الثلاسيميا حسب العيب الوراثي المسبب على النحو التالي:

1-ثلاثيميا α : تحدث نتيجة نقصان أو فقدان بناء سلاسل الفا كلوبين .

2- ثلاثيميا β : تحدث نتيجة فقدان أو نقصان سلاسل بيتا كلوبين .

التصنيف حسب الشدة السريرية على النحو التالي:

1- الثلاثيميا الكبرى 2-الثلاسيميا المتوسطة 3- الثلاثيميا القاصر (Lee et al.,)

(2019)

التصنيف الذي يعتمد على نقل الدم:

1-الثلاسيميا التي تعتمد على نقل الدم(TDT) (Transfusion dependent thalassemia):

يتم تعريفها على أنها مجموعة من مرضى الثلاسيميا الذين يحتاجون إلى عمليات نقل دم منتظمة كل أسبوعين إلى 6 أسابيع للبقاء على قيد الحياة.

2-الثلاسيميا التي لاتعتمد على نقل الدم(NTDT) Non-transfusion dependent)
(thalassemia): يتم تعريفها على أنها مجموعة من المرضى المصابين بالثلاسيميا الذين لا يحتاجون إلى عمليات نقل دم منتظمة للبقاء على قيد الحياة ، ولكن قد يتطلب الأمر نقل دم عرضياً (Hodroj *et al.*, 2019).

2-2 انواع الثلاسيميا : Types of thalassemia

1-2-2 ثلاسيميا ألفا α (Alpha thalassemia) :

الثلاسيميا ألفا تشفر اربعة جينات لانتاج سلاسل ألفا وهذه الجينات تقع على كروموسوم 16 التي تنظم انتاج α كلوبين . تحدث ثلاسيميا ألفا عندما يفشل واحد او اكثر من جينات سلاسل ألفا في وظيفته (Helmi *et al.*, 2017). في ثلاسيميا α لا ينتج الهيموغلوبين ما يكفي من بروتين α لصنع سلاسل بروتين ألفا α غلوبين وهناك حاجة إلى أربعة جينات ، اثنان منهم من كل والد وفي حالة فقد واحد أو أكثر من هذه الجينات سينتج ثلاسيميا ألفا α . (Farashi and Harteveld, 2018).

هناك اربعة انواع رئيسة من الثلاسيميا α :

1- ثلاسيميا -حامل α -: يكون الشخص حامل للثلاسيميا ولا تظهر عليه اعراض وتحدث نتيجة حذف او فقدان واحدة من نيوكلوتيدات ألفا كلوبين الاربعة الطبيعية.

2- ثلاسيميا α : يعاني الشخص المصاب بهذا النوع من الثلاسيميا من فقر دم طفيف وتحدث نتيجة فقدان أو حذف اثنين من نيوكلوتيدات ألفا كلوبين الاربعة الطبيعية.

3- مرض هيموغلوبين H: يتضمن جين α واحد عامل.

4- استسقاء الجنين Hydrops fetalis: يتضمن اربعة جينات طافرة . يصف مصطلح hydrops

fetalis تراكمات السوائل المرضية المفرطة داخل الأنسجة الرخوة وتجاويف الجسم. يتم تعريفه من

خلال وجود مجموعتين أو أكثر من السوائل غير الطبيعية في الجنين على تصوير الموجات فوق الصوتية (Swearingen *et al.*, 2020).

2-2-2 ثلاسيميا بيتا β (Beta thalassaemia) :

الجينات التي تسيطر على إنتاج سلاسل β تقع على الكروموسوم 11 وفشل كلا الجينين

يؤدي الى الاصابة بالثلاسيميا الكبرى وفي حالة فشل جين واحد المريض يكون مصابا بالثلاسيميا الصغرى (Paul *et al.*, 2019) ، وفي الثلاسيميا β هناك حاجة إلى اثنين من جينات الغلوبين لإنتاج سلاسل بيتا غلوبين ، جين واحد من كل والد وإذا كان أحد الجينات أو كلاهما معيبًا فسيحدث ثلاسيميا بيتا. تعتمد درجة الخطورة على عدد الجينات المتحورة (Thein, 2018). تصنف ثلاسيميا β على اساس الطراز الجيني (genotype) الى نوعين:

- 1- ثلاسيميا بيتا β الصغرى (Heterozygous) : يحدث في هذا النوع من الثلاسيميا عيب جين واحد من جينات β كلوبين بواسطة حدوث الطفرة (Torre *et al.*, 2019).
- 2- ثلاسيميا β الكبرى (Homozygous B⁰,B⁺) : ثلاسيميا بيتا الكبرى (B⁺) يعد النوع الاكثر شيوعا من الثلاسيميا . انتاج سلسلة β الاقل من الطبيعي يعود الى فشل واحد من الجينات المشفرة لسلاسل β (Vichinsky *et al.*, 2019).

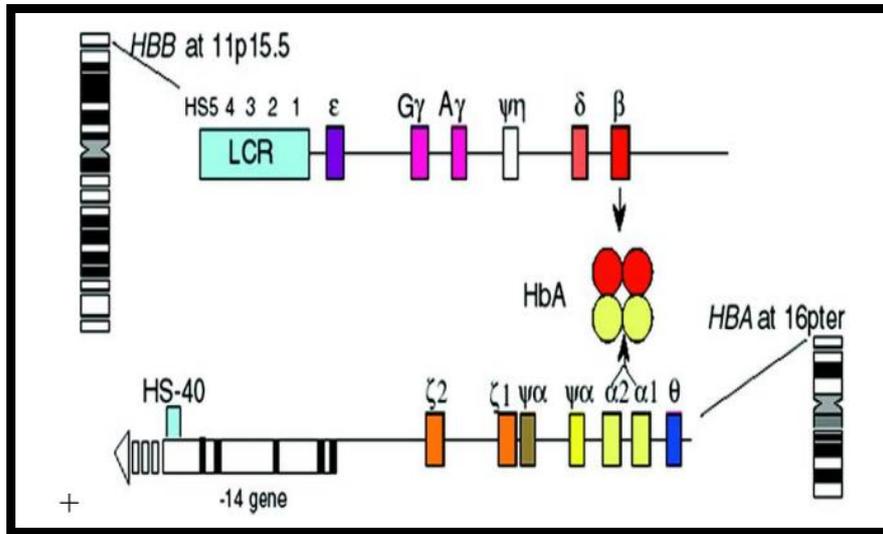
التصنيف الثلاسيميا β على نطاق واسع الى اربعة طرز جينية مختلفة :

- 1-ثلاسيميا β الصامتة (Silent β thalassaemia): يستخدم هذا المصطلح للتعبير عن حالة الثلاسيميا الخفيفة التي توجد في حالة متغايرة الزيجة heterozygote (Musallam *et al.*, 2013).

2-ثلاسيميا β الطفيفة (β -thalassemia trait or minor): ثلاسيميا بيتا متغايرة الزيجة تنتج من نقص في نسخة واحدة من جين β ثلاسيميا (Rasko *et al.*, 2019).

3-ثلاسيميا β المتوسطة (β -thalassemia intermedia): يمتاز مرضى ثلاسيميا بيتا المتوسطة بفقر دم خفيف الى متوسط ولا يحتاجون الى نقل دم وهذه الحالة اكثر اعتدلا من الثلاسيميا الكبرى لان وراثة طفرة β كلوبين ترتبط بانخفاض انتاج سلسلة الكلوبين ويحتاج المرضى الى المراقبة بسبب الشدة السريرية الى النمط الظاهري للثلاسيميا الكبرى (Musallam *et al.*, 2019 ; Luo *et al.*, 2013).

4-ثلاسيميا β الكبرى (β -thalassemia major): يمثل هذا النوع من الثلاسيميا الشكل الاكثر شدة من ثلاسيميا β وتحدث في كلا اليات β كلوبين تسبب الاعاقة نتاج سلسلة β كلوبين (Thein, 2013).

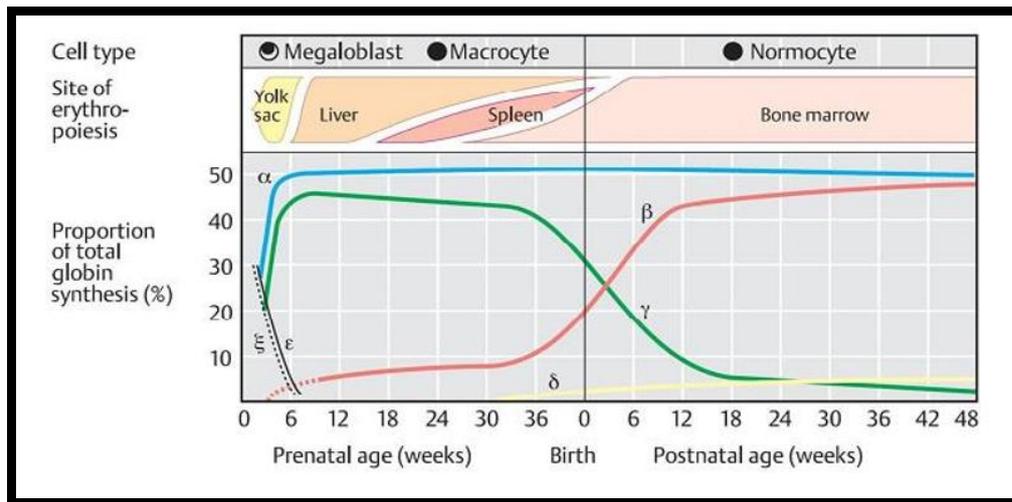


الشكل (1-2) موقع الكروموسوم وهيكل مجموعات الجينات الفا وبيتا غلوبين (Lahiry)

(2008).

2-3 خضاب الدم البشري Human hemoglobin's :

الهيموغلوبين البشري ذو هيكل رباعي الشكل ، يتكون من اثنتين من أزواج مختلفة من سلاسل بولي ببتييد الغلوبين المعبأة داخل خلايا الدم الحمراء (RBCS) وكل سلسلة غلوبين متصلة بجزء الهيم (1-5). الهيموغلوبينات عبارة عن بروتينات غير متجانسة ويتم تصنيع أشكال مختلفة خلال المراحل التطورية للحياة البشرية (Bienz *et al.*, 2019). وبعد الولادة يتم تبديل الهيموغلوبين الجنيني (HbF ، $\alpha_2 \gamma_2$) إلى الهيموغلوبين البالغ: (HbA ، $\alpha_2 \beta_2$) و (HbA2 ، $\alpha_2 \delta_2$) . ويحدث هذا التبديل في وقت الولادة تقريباً وينتهي بعد 6 أشهر كما هو موضح في الشكل (2-82) . ويوجد الهيموغلوبين في البالغين المكون من 97% من HbA ، وحوالي 2% من HbA2 ، كما توجد كمية صغيرة (2%) من HbF في دم البالغين (Scott, 2019).



الشكل (2-2) التغيرات التنموية في إنتاج سلسلة غلوبين الانسان (Scott, 2019).

4-2 اضطرابات الهيموغلوبين الموروثة (Inherited hemoglobin disorders):

اضطرابات الهيموغلوبين الموروثة والمعروفة باسم اعتلالات الهيموغلوبين hemoglobinopathies ، تعد واحدة من أكبر مشكلات الصحة العامة في العديد من البلدان

(Chambers *et al.*, 2020). يمكن تصنيف الطفرات في الجينات التي تتحكم في الهيموغلوبين

البشري في ثلاث فئات:

1- الكمية : وهو ينتج عن عيب في معدل إنتاج واحد أو أكثر من سلاسل globin.

2- النوعي : ينتج عنه إنتاج جزيئات الهيموغلوبين المختلفة غير الطبيعية.

3-

لثبات الوراثي لهيموغلوبين الجنين HPFH: هو النوع الثالث من الاضطرابات الوراثية للهيموغلوبين حيث يستمر نمط إنتاج الهيموغلوبين للطفل غير المماثل HbF في حياة البالغين ومع ذلك لا توجد آثار ضارة واضحة حتى عندما يكون 100 % من الهيموغلوبين المصنع هو HbF. تُعرف التشوهات الكمية بحد ذاتها بالثلاسيميا وفي حين تُعرف التشوهات النوعية باسم متغيرات الهيموغلوبين البنيوية (Scott, 2019). أكثر الهيموغلوبينات غير الطبيعية شيوعًا والأكثر أهمية من بين تلك المتغيرات هي الهيموغلوبين (HbS)S الهيموغلوبين (HbC)C والهيموجلوبين E (HbE) E وأظهر المرضى المتأثرون بهذه المتغيرات الهيكلية المرتبطة بسمات الثلاسيميا- B حالات فقر الدم الوخيمة الشبيهة بحالة الثلاسيميا الرئيسية وقد تؤدي هذه الحالة إلى تعقيد تشخيص (Chambers *et al.*, 2020) ويكون الهيموغلوبين الفعال الوحيد المتواجد هو (HbA2) فيعاني المريض من نقص الاوكسجين الذي يؤدي الى زيادة افراز هرمون erythropoietin ومما يحفز نخاع العظم الى اعلى حد وفي النهاية يحدث فيه تكون الدم الناقص مع تضخم الطحال حتى مع زيادة انتاج هيموغلوبين A2 و F لا تزال هناك سلاسل الفا زائدة (Andhale *et al.*, 2019) .

2-5 الوبائية (Epidemiology):

يوجد مايقارب 350 مليون حامل للثلاسيميا وحوالي 10000 طفل يولدون سنويا مصابين بالثلاسيميا في العالم (Al-Zwaini, 2018).

حوالي 3-6% من الأمريكيين من اصل ايطالي ويوناني يعانون من الثلاسيميا الصغرى . تم العثور على الثلاسيميا ايضا في اشخاص من خلفيات عرقية عديدة ولذلك لا يمكن ان يطلق عليه مرض البحر الابيض المتوسط . المناطق المتأثرة الاخرى هي منطقة الشرق الاوسط والهند وباكستان وجنوب شرق اسيا (De Sanctis et al., 2017). في العراق وجد ان معدل انتشار مرض الثلاسيميا في البلاد بلغ 4.74% وكان معدل الذكور 1.7% ومعدل الإناث 3.24% (Al-Hafidh and Younis 2019). وفي اخر احصائية لوزارة الصحة العراقية لسنة 2016 بلغ اعداد الثلاسيميا (115871) ،وفي الخصوص من محافظة ديالى كانت اخر احصائية لوزارة الصحة في المحافظة لسنة 2019 حيث ان هنالك ثلاث مراكز في المحافظة للتشخيص عن المرضى المصابين بالثلاسيميا B حيث كان مركز امراض الدم ا قسم الثلاسيميا كان عدد المصابين في مرض الثلاسيميا B بلغ (5043) من الذكور بلغ (2633) ومن الاناث بلغ (2410) ، و اشارت عدد المصابين في مستشفى البتول بلغ (383) حيث كان عدد الذكور (183) وعدد الاناث (200) ، و اظهرت في مستشفى العام كان عدد المصابين في الثلاسيميا B بلغ (413) من الذكور بلغ (211) ومن الاناث بلغ (202).

2-6 أعراض مرض الثلاسيميا Symptoms of thalassemia :

الثلاسيميا الكبرى تتسبب بفقر دم شديد في السنة الأولى من الحياة كثير من الأطفال والمراهقين المصابين بالثلاسيميا بيتا غالبا ما يكون لديهم حاجة لنقل دم بصورة دائمة ومنتظمة اعتبارا من عمر الأربعة أشهر وإذا تركو من دون علاج ،بموت المرضى في مرحلة الطفولة المبكرة علامات فقر الدم :

-1	زيادة بالشحوب.
-2	أصفرار بالجلد (يرقان) .
-3	تعب سريع و ضعف بالشهية ونقص بالوزن .
-4	تسرع بضربات القلب .
-5	ضيق بالنفس أثناء النشاط البدني.
-6	تضخم في الكبد والطحال.

قد يتسبب مرض الثلاسيميا في مجموعة متنوعة من العلامات والاعراض التي قد تؤثر على نوعية حياة المرضى ، وقد تشمل هذه الاعراض: التعب ، البشرة الفاتحة ، البطن البارز ، البول الداكن وعظام الوجه غير الطبيعية (Viprakasit and Ekwattanakit, 2018).

7-2 علامات زيادة تركيب الدم **Signs of increased blood structure**:

1-7-2 افراط حمولة الحديد (داء الهيموسدريني, Hemoslooros) زيادة امتصاص

الحديد:

كريات الدم الحمراء السليمة تحتوي على الهيموجلوبين الطبيعي وهذا بدوره يحتوي على الحديد لنقل الأوكسجين من أجل المساهمة في إنتاج خلايا الدم الحمراء السليمة وتقوم الخلايا المخاطية في الأمعاء عند مرضى الثلاسيميا بامتصاص كمية أكبر من الحديد المتوافر في الغذاء ومع ذلك فإن هذه الكمية المتزايدة من الحديد لا يمكن إعادة تدويرها وبالتالي يؤدي الأمر الى افراط في حمولة

الحديد في عديد من الأعضاء (داء الهيموسدريني) مثل القلب (Viprakasit and Ekwattanakit,) (2018).

2-7-2 افراط نشاط نخاع العظم (فرط النسيج الأحمر) وزيادة هشاشة العظام (متلازمة نقص تكلس العظام ، هشاشة العظام) :

نخاع العظام يحاول التعويض عن نقص خلايا الدم الحمراء السليمة عن طريق إنتاج المزيد من كريات الدم الحمراء وغالبا ما يضاعف حجمه حتى ثلاثين ضعفا حجمه الطبيعي هذا التضخم في النخاع العظم (فرط النسيج الأحمر) يؤدي بدوره إلى دفع العظام لتضخم بحجمها هكذا تصبح العظام ضعيفة وهشة (متلازمة نقص تكلس العظام - هشاشة العظام) (Gaudio *et al.*, 2019).

2-7-3 افراط نشاط الطحال (متلازمة فرط الطحال) وتركيب الدم خارج النخاع العظمي:

يبلغ عمر خلايا الدم الحمراء الطبيعية حوالي الـ 120 يوما بعد ذلك يتم تفكيكها في الطحال وهو عضو في الجزء العلوي الأيسر من البطن وان خلايا الدم الحمراء عند مرضى التلاسيميا المنقولة تعاني من قصور ملحوظ في العمر لذلك يتوجب على الطحال عند الأطفال والمراهقين المصابين بالتلاسيميا أن يقوم بتفكيك عدد أكبر بكثير من خلايا الدم الحمراء مقارنة بشخص السليم نتيجة لذلك (Taher *et al.*, 2018)، فإنه يعمل بشكل مكثف فيكبر حجمه أكثر (متلازمة فرط الطحال) هنا قد يؤدي فرط نشاط الطحال حتى إلى ارتفاع معدل تفكيك كل من خلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية بشكل أسرع من الطبيعي والنتيجة هي ضعف في المناعة ولذلك يعاني الأطفال والمراهقون المصابون بالتلاسيميا بيتا وغير الحاصلين على علاج فعال من العدوى بشكل متكرر والمرضى الذين يعانون من انخفاض في تعداد الصفائح الدموية يواجهون خطر نزيف متزايد

وبالإضافة إلى زيادة تفكك خلايا الدم وبالإضافة إلى ذلك فإن تضخم الطحال بحد ذاته يمكن أن يؤدي إلى مضاعفات أخرى بسبب الضغط على الأوعية أو الأعضاء الأخرى لأنه عادة ما يتم البدء بعلاج نقل الدم في مرحلة مبكرة (Taher *et al.*, 2018).

-3

تشخيص الثلاسيميا (Diagnosis):

1- التشخيص السريري: يعتمد على النتائج السريرية التي تشمل فقر الدم اليرقان وتضخم الكبد والطحال (Mettananda, 2018).

2- تعداد الدم الكامل (CBC): يعد CBC اختبارًا شائعًا للغاية في تشخيص مرض الثلاسيميا ويصنف مرض الثلاسيميا عمومًا على أنه فقر الدم الناقص الصبغي والدموي وزيادة عدد الأفراد المصابين بمرض الثلاسيميا يشخص من خلال عدد خلايا الدم الحمراء وانخفاض تركيز Hb والحجم المنخفض للشريان الكحولي (MCV) ومتوسط (MCH) توزيع الخلايا الحمراء (Viprakasit and Ekwattanakit, 2018).

3- تشخيص امراض الدم : فحوصات الدم تشمل فقر دم مع كريات دم حمراء صغيرة ناقصة الصبغة غير منتظمة الشكل غير طبيعي واضطراب في وظائف الصفائح الدموية (Ansari *et al.*, 2019).

4- قياس مستويات (Ferritin) في المصل: الحديد الزائد هو سمة من سمات الامراض مثل الثلاسيميا وفي مثل هذه الحالات يساهم الفيريتين في المصل في تشخيص ومراقبة المريض إذ يعمل مستوى فيريتين المصل كمؤشر لكميات الحديد في جسم الانسان (Cullis *et al.*, 2018).

2-9 العلاج (Treatment) :

1-عمليات نقل الدم: عمليات النقل المنتظمة ضرورية لتصحيح فقر الدم وقمع الكريات الحمر وتم

اقتراح العديد من أنظمة نقل الدم المختلفة (Kadhim *et al.*,2017).

2- علاج عملية إزالة معدن ثقيل: أكثر المضاعفات شيوعًا المتعلقة بالمرضى الذين يتم نقلهم

بانتظام هي الحمل الزائد للحديد وجسم الإنسان لا يوجد لديه وسيلة فعالة لإزالة الحديد (Kadhim *et*

al.,2017).

3- استئصال الطحال: عندما يصبح الطحال نشطا للغاية ويبدأ في تدمير كرات الدم الحمراء

وتصبح عمليات نقل الدم أقل فعالية وأكثر توترا وتصبح مؤشرات استئصال الطحال ضرورية للحد

من أعراض تضخم (Kadhim *et al.*,2017).

4- زراعة نخاع العظم:هي العلاج الوحيدة الفعالة حيث نجحت عملية زراعة النخاع العظمي في

علاج الاف مرضى التلاسيميا ومع ذلك فان المشكلة تكمن في الكلفة وترتبط مع مضاعفات ما بعد

الزرع (Biffi, 2018;Bandyopadhyay *et al.*, 2013) والعلاج الوحيد المحتمل هو زرع

نخاع العظام عالج بنجاح آلاف المرضى ومع ذلك فإن مشكلة هذا العلاج تكمن في التكلفة وإيجاد

الشخص المناسب وهي مرتبطة بمضاعفات ما بعد الزرع (Zahra *et al.*,2019)

؛(Bandyopadhyay *et al.*, 2013).

2-10 النظام المناعي Immune System

جهاز المناعة هو شبكة منظمة تنظيما جيدا يتكون من الخلايا والجزيئات ويستجيب للميكروبات

المناعيةImmune Response, كذلك هو شبكة من الخلايا والانسجة والاعضاء التي تعمل مع

بعضها البعض لتدافع عن الجسم ضد مسببات الامراض عن طريق تحديد وقتل هذه مسببات

الامراض والكائنات الغريبة كالبيكتريا و الفطريات الفيروسات والخلايا السرطانية ,لان الجسم سوف

يؤفر بيئة مثالية للعديد من الغازيات الغريبة والجهاز المناعي يقضي على هذه الغازيات (*et Abbas al.,2019*),تقسم الاستجابة المناعية المتأصلة او تسمى بالفطرية والاستجابة المناعية المكتسبة او تسمى بالمتكيفة والتي بدورها تقسم الى استجابة مناعية خلطية واستجابة مناعية خلوية التي تتوسطها الخلايا المناعية (*Morales-Yáñez et al.,2019*).

2-10-1 نظام المناعة الفطرية innate immune system :

يمثل خط الدفاع الاول ضد الممرض ويتحقق من قبل مجموعة متنوعة من الخلايا التي تشمل الخلايا الطلائية epithelial cell, العدلات neutrophiles, الخلايا الشجرية dentritic cell, الوحيدة monocytes, البلعمية macrophage, الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cell (*Morales-Yáñez et al.,2019*).

النظام المناعي يشمل الحواجز الفيزيائية وهي خلايا الغشاء المخاطي الداخلي الظهارية والتي تفرز المخاط, الذي يكسو الكائنات الدقيقة الضارة ويمنع التصاقها على سطح على الخلايا الظهارية . ان حركة الاهداب الظهارية في الجهاز التنفسي وكذلك الامعاء تحفز تدفق المخاط الذي يؤدي الى طرد الكائنات الدقيقة و غيرها من مسببات الممرضة (*Kesuma et al., 2019*).

ان توفر الحواجز الكيميائية مثل حامض المعدة و الانزيمات الهاضمة الموجودة في الجهاز الهضمي, والانزيمات المضادة للبكتريا مثل (phospholipase, lysozyme) وكذلك البيبتيدات المضادة للفطريات او المضادة للميكروبات مثل (β defeniss) التي تلعب دورا مهما في القضاء على الممرضات (*Spampinat et al.,2019*).

اذا تمكنت الممرضات من اختراق الحواجز الطلائية او الظهارية فأنها ستواجه

البلعمات

Phagocytes التي تميز وتبتلع وتدمر الكائنات الحية الدقيقة والغازية . يوجد نوعان من الخلايا البلعم التي تكون في البداية موقع الاصابة neutrophils العدلات المعروفة باسم الكريات البيض متعددة النوى PMNS , Polymorphonuclear leuckocyte تليها Monocyte التي تكون اقل وفرة Monocyte داخل الانسجة خارج الاوعية الدموية الاستجابة للعدوى. العدلات Neutrophils من ناحية الاخرى هي خلايا قصيرة العمر التي تنتشر في مجرى الدم بأعداد كبيرة. عند مهاجمة الممرضات , يتم تحفيز انتاج العدلات في نخاع العظام عن طريق الساييتوكينات Cytokines المعروفة باسم عوامل تحفيز المستعمرات Colony-stimulating factors مما يؤدي الى تضخم سريع وتوليد العدلات والنضج مثل (Monocyte و Neutrophils) التي تهاجر الى موقع الاصابة حيث تبتلع وتدمر الميكروبات (Spampinat *et al.*, 2019).

2-10-2 نظام المناعة المكتسبة Aquired Immune Response

هي مناعة يتم اكتسابها خلال حياة الكائن الحي بعد تعرضه لميكروبات وبكتيريا مسببة مرضه وتتميز المناعة المكتسبة بالعمل بطريقة انتقائية ومخصصة , اذ ان كل خلية او جسيم تابع لها يستطيع العمل ضد مستضد antigen ممرض واحد . خلافا للمناعة الطبيعية التي هي متشابهة عند افراد نوع معين فان الاستجابة المناعية المكتسبة تختلف من فرد الى فرد اخر , ميزة اخرى للمناعة المكتسبة هي القدرة على انتاج ذاكرة مناعية (Chevallereau *et al.*, 2019) .

خلايا جهاز المناعي المكتسبة هي انواع خاصة من كريات الدم البيضاء , الخلايا التائية Tcell والخلايا البائية Bcell وهي انواع رئيسة من الخلايا اللمفاوية مستمدة من الخلايا الجذعية المكونة للدم وتتشا نخاع العظام. وتشارك الخلايا البائية في الاستجابة المناعية الخلطية في حين تشارك الخلايا التائية في الاستجابة المناعية الخلوية (Drummond and Lionakis, 2019) .

11-2 مستضدات الكريات البيض البشرية Human Leukocyte Antigen :

: The HLA system

HLA نظام 1-11-2

يُعرف هذا النظام الجيني في رفض الأعضاء الغريبة باسم معقد التوافق النسيجي الكبير (MHC) ويتم تشفير جزيئات سطح الخلية متعددة الأشكال بواسطة MHC ويطلق على MHC البشري نظام HLA لأنه تم تحديد هذه المستضدات على سطوح الخلايا أولاً وكان نظام HLA معروفاً جيداً باسم مستضدات الزرع ولكن الدور البيولوجي الأساسي لجزيئات HLA هو في تنظيم الاستجابة المناعية (Busch *et al.*, 2019).

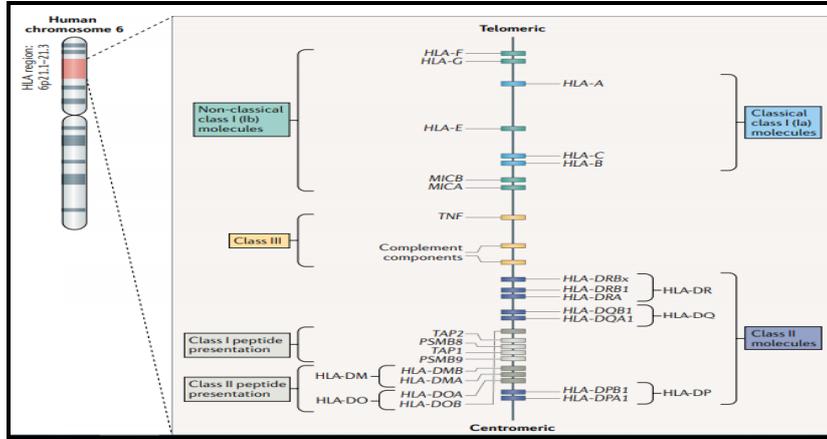
Genomic organization of the HLA

2-11-2 التنظيم الجينومي

system

خرائط [Major Histocompatibility Comple](#) (MHC) البشرية على الذراع القصيرة للكروموسوم 6 (p216) وتمتد لما يقرب من 3600 كيلو قاعدة من الحمض النووي وينقسم MHC البشري إلى ثلاث مناطق كما في الشكل (2-3). تحتوي منطقة الفئة الأولى على جينات HLA-A و HLA-B و HLA-C الكلاسيكية التي تشفر السلاسل الثقيلة لجزيئات الفئة الأولى وتتكون منطقة الفئة الثانية من سلسلة من المناطق الفرعية وتحتوي كل منها على سلاسل A و B على التوالي وتتكون عائلة الجين DR من جين DRA واحد وما يصل إلى تسعة جينات (DRB1 إلى DRB9) وثابت سلسلة وهو يربط سلاسل B المختلفة المشفرة بواسطة جينات DRB ويتم تحديد خصائص مستضدات HLA-DR (أي DR1 إلى DR18) بواسطة سلاسل DRB1 متعددة الأشكال المشفرة بواسطة أليلات DRB1 و تحتوي أنماط HLA لبعض الأليلات DRB1 المرتبطة بشكل محدد على DRB3، DRB4، أو موضع DRB5 تمتلك كل من عائلة DP و DQ جيناً واحداً

من الجينات المشفرة يرمز إلى جين مضغوط لسلاسل ومولدات كاذبة إضافية غير معبرة
(Dendrou *et al.*,2018).



الشكل (2-3) MHC: البشري على الذراع القصيرة للكروموسوم 6. Dendrou *et al.*,2018).

2-11-3 هيكل وتعدد الأشكال ووظيفة جزيئات HLA:

تتكون جزيئات الصنف الأول من سلاسل ثقيلة glycosylated مشفرة بواسطة جينات HLA من الصنف الأول والجزيئات الدقيقة من الخلايا B2microgloulin خارج الخلية (B2m) وتم تعيين جيناتها على الكروموسوم 15 (Robson *et al.*,2018) تحتوي السلسلة الثقيلة من الفئة I على ثلاثة مجالات خارج الخلية (a1 و a2 و a3) ، ومنطقة غشائية ، ومجال داخل السيتوبلازمي. يحتوي مجال a1 و a2 على تسلسلات متغيرة من الأحماض الأمينية ، وتحدد هذه المجالات خصائص المستضدات لجزيئات فئة HLA. يشكل مجال PBS و B2m معًا طيات ثابتة تشبه المجال المناعي الثابت ويشكل النطاقان الثقيلان a و a2 هيكلًا فريدًا يتكون من منصة من ثمانية خيوط B متوازية ومتوازنين اثنين من اللولب المتوازي ويتكون الأخدود من اللوحتين a والأرضية ذات الطيات B ، وهذا هو موقع الارتباط لمستضد الببتيد المعالج ويستوعب أخدود ربط الببتيد من

الصف الأول نسبة من الببتيد المعالج من 8 إلى 10 الأحماض الأمينية Busch *et al.* (2019).

جزيئات كريات الدم البيضاء (HLA)، بما في ذلك HLA-I (HLA-A و HLA-B و HLA-C و HLA-II و HLA-DR و HLA-DQ و HLA-DP) و HLA-III (TNF، C2، Bf، C4)، و HLA-IV غير الكلاسيكية (مثل HLA-E، HLA-F، HLA-G)، هي بروتينات تقع على خلايا الجسم المختلفة (Agarwal *et al.*, 2017) ويمكن أن تلعب جزيئات HLA دوراً مهماً في وظيفة جهاز المناعة وعلى سبيل المثال تحفز جزيئات HLA-I الجهاز المناعي وتقتل الخلايا السرطانية عن طريق عرض المستضد إلى الخلايا الليمفاوية T السامة للخلايا ومن ناحية أخرى، تلعب جزيئات HLA-II أيضاً دوراً مهماً في إيصال المستضد إلى الخلايا الليمفاوية T المساعدة (Th)، وكذلك في تحفيز الاستجابة المناعية وعلى عكس HLA الكلاسيكي، يمكن لجزيئات HLA غير الكلاسيكية قمع نظام المناعة بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال التأثير على مجموعة متنوعة من الخلايا المناعية مثل الخلايا القاتلة الطبيعية (NK)، والخلايا الليمفاوية التائية، والبلاعم، والخلايا المناعية الأخرى (Shahrabi *et al.*, 2019).

2-12 مستضدات الكريات البيض البشرية Human Leukocyte Antigen :

(HLA-G)

جزيئة HLA-G يمكن أن تكون موجوداً في سبعة أشكال متشابهة مختلفة مشفرة من خلال الربط البديل لنفس النسخة الأولية وتفقد الأشكال المتشابهة المرتبطة بالغشاء (HLA-G1 و HLA-G2 و HLA-G3 و HLA-G4) إلى إنترون -4، والتي يتم الاحتفاظ بها في الأشكال المتوازنة القابلة للذوبان (HLA-G5 و HLA-G6 و HLA-G7)، مما يؤدي إلى ربط المجال عبر الغشاء بالإضافة إلى ذلك، يمكن إنشاء sHLA-G1، المطابق من الناحية الهيكلية لـ sHLA-G5، عن طريق التخلص من

شكل HLA-G1 المرتبط بالأغشية من خلال الانقسام المعدني بواسطة البروتياز فقط HLA-G1 و G5- يقدمان سلسلة ثقيلة كاملة الطول ، والتي ترتبط بـ $\beta 2$ -microglobulin وترتبط الببتيدات الصغيرة وقد وصفته محددة في الببتيدات المقيدة HLA-G وخلصوا إلى أن HLA-G يمكن أن يقدم الببتيدات بشكل مشابه لجزيئات HLA من الدرجة الأولى (Mattuella *et al.*,2020).

جزء HLA-G وهو مهم له خصائص مناعية ، ينتمي إلى جزيئات Ib "غير الكلاسيكية" من فئة HLA ، إلى جانب HLA-E و F- و H-. على النقيض من جزيئات Ia من الفئة HLA "الكلاسيكية" (HLA-A و B- و C-) ، يمكن لجزيئات HLA-Ib أيضًا أن ترتبط الببتيدات المتولدة من خلال تحلل بروتيني خلوي مدفوع ببعض البروتينات وتقديمها إلى مجموعات فرعية محددة من خلايا CD8 + T ومع ذلك ، فإن الوظيفة الرئيسية لهذه الجزيئات هي تعديل الاستجابات المناعية في كل من الظروف الفسيولوجية والمرضية (Lázaro-Sánchez *et al.*,2019).

ان جزيئة HLA-G الذي تلعب دور مهم في التحمل المناعي وارتباطه بالظروف السريرية المختلفة المتعلقة بالمناعة بما في ذلك المناعة الذاتية وزرع الأعضاء أمر مهم بشكل متزايد مع النتائج السريرية لزراعة الخلايا الجذعية المكونة للدم وان الحماية من الرفض الزرع الحاد Acute graft في المقابل لمرضى المضيف وكانت نسبة الخطر (HR) 0.45 بذلك يتم التعرف على أي ارتباط مع الرفض أو البقاء معًا لدى مرضى الثلاثيميا B المضيف وتُظهر بياناتنا أنه جزيئة HLA-G تعمل كعامل للتنبؤ بالمخاطر الرفض او البقاء لدى المرضى المصابين بمرض الثلاثيميا بيتا (Sizzano *et al.*,2012).

على الرغم من أن العقود القليلة الماضية قد أظهرت تحسنًا في معدلات البقاء على قيد الحياة وخالية من المضاعفات في المرضى الذين يعانون من الثلاثيميا الرئيسية والعلاج الجيني، فإن زرع الخلايا الجذعية المكونة للدم (HSCT) hematopoietic stem cell

transplantation لا يزال هو الوحيد الفعال ونهج واقعي لعلاج هذا المرض المزمن غير الخبيث ، وكان مستضدات الكريات البيض البشرية (HLA) المصدر المفضل للخلايا المانحة بسبب نتائج متفوقة مقارنة بـ HSCT من مصادر أخرى وفي الوقت الحاضر (Morandi *et al.*,2016) ، أدى توفر شبكة دولية من سجلات التبرع بالخلايا الجذعية وبنوك دم الحبل السري إلى زيادة كبيرة في احتمالات العثور على متبرع مناسب HLA، ولقد جعلت المعايير الوراثية المناعية لاختيار المانحين من الممكن تحقيق معدلات البقاء على قيد الحياة والبقاء الخالية من التلاسيما مقارنة بمعدلات زرع الأخوة. إن التقييم المناعي الدقيق للمتبرعين والمتلقين يجعل من الممكن تخصيص الاستراتيجيات المناسبة للوقاية منها وإدارتها ، والتي يبدو أن لها دوراً محتملاً في نتائج عملية زرع التلاسيما (La Nasa *et al.*,2016).

2-13 المؤشرات المناعية CD4 and CD8 :

السمة المميزة لاستجابات الخلايا التائية هي تنوع مستقبلات الخلايا التائية (TCRs) بين استنساخ الخلايا التائية الفردية ويؤدي التفاعل بين TCR ومستضدها المعرف (على سبيل المثال ، الببتيد المرتبط بفتة معقدة من التوافق النسيجي الأول MHC I أو جزيئات MHC II على سطح خلية تقديم المستضد (APC) إلى تنشيط الخلية T وبدء للاستجابة المناعية (Horkova *et al.*,2020).

هناك نوعان أساسيان من الخلايا التائية ، خلايا T + CD8 المقيدة بـ MHC I وخلايا CD4 + T المقيدة بـ MHC II وتشارك خلايا T + CD8 في القتل المباشر للخلايا المصابة ، في حين تقوم خلايا T + CD4 بتنسيق الاستجابات المناعية من خلال العمل على خلايا مناعية أخرى وترتبط المستقبلات الثابتة CD4 و CD8 بـ MHC I و MHC II على التوالي ولتعزيز إشارات TCR أحد الأدوار الرئيسية للمستقبلات هو كيناز LCK إلى مركب إشارات TCR والذي يؤدي

بدوره إلى فسفرة السلاسل المرتبطة ب TCR وبدء الإشارات النهائية وينظم التفاعل بين المستقبلات و LCK حساسية الخلايا التائية للمستضد (Demissie *et al.*, 2019).

البروتين السكري الموجود على سطح الخلايا المناعية مثل الخلايا التائية المساعدة وحيدات الخلايا الضامة والخلايا الجذعية يدعى cluster differentiation 4 وكذلك خلايا مساعد CD4 T + هي خلايا دم بيضاء تشكل جزءًا أساسيًا من جهاز المناعة البشري وغالبًا ما يشار إليها باسم خلايا CD4 أو خلايا T أو خلايا T4 إذا أصبحت خلايا CD4 مستنفدة وعلى سبيل المثال في عدوى فيروس العوز المناعي البشري غير المعالجة أو في أعقاب قمع المناعة قبل عملية الزرع فإن الجسم يصبح عرضة لمجموعة واسعة من الالتهابات التي كان من الممكن أن تقاومها (Ciccarelli *et al.*, 2014).

يتألف زوج السلاسل CD8 الشكل الأكثر شيوعًا لـ CD8 من سلسلة CD8- α و CD8- β ، وكلاهما عضو في عائلة الغلوبولين المناعي الفائق مع متغير الغلوبولين المناعي (IgV) (immunoglobulin variable) مثل المجال خارج الخلية المتصل بالغشاء بواسطة ساق رفيع ، ويتفاعل مجال يشبه IgV خارج الخلية من CD8- α مع الجزء $\alpha 3$ من جزيء الفئة I MHC وهذا التقارب يحافظ على مستقبلات الخلايا التائية للخلايا التائية السامة للخلايا والخلايا المستهدفة مرتبطة ببعضها البعض عن كثب أثناء تنشيط المستضد المحدد، تسمى الخلايا التائية السامة للخلايا مع البروتين السطحي CD8 خلايا CD8 + T (Legat *et al.*, 2013).

14-2 الحركيات الخلوية : (Cytokines)

تعرف الحركيات الخلوية Cytokines على أنها وسائط حركية وهي عبارة عن بروتينات ذائبة ذات سلاسل بيتيدية منخفضة الوزن الجزيئي تتراوح بين (5-20 كيلو دالتون)، وتعد

وسائط مهمة تشترك مع مظاهر الاستجابات المناعية قبل وبعد حدوث الالتهاب وبذلك تحث الخلايا على التفاعل بشكل دائم مع المسببات المرضية (Janka, 2019). يتم انتاج الحركيات الخلوية من قبل مدى واسع من خلايا البيض (Leukocytes) وغير البيض Non (leukocytes) لتكون بمثابة الاتصالات من خلية واحدة إلى أخرى وكذلك تعمل على التمايز والتكاثر الخلايا المناعة المؤثرة (O'Shea *et al.*, 2019).

2-14-1 البين الأبيضاوي (IL-17A) Interlukin-17

تتكون عائلة البين الأبيضاوي السابع عشر (IL - 17) Interleukin - 17 من 6 أفراد وهي IL -17 A , B , C , D , E , F وجميع هذه الأفراد مرتبة اعتمادا على تاريخ اكتشافها إذ أن يشار للحركي الخلوي السابع عشر ب IL - 17A ، وتشترك جميع هذه الأفراد في خاصية عملها التي تنطوي ضمن المناعة الفطرية و التكيفية وتعمل على انتاج الحركيات الخلوية الممهدة للالتهاب Pro-inflammatory cytokines وخلايا الدم المتعادلة المتحركة (Neutrophil) (Owen *et al.*, 2013).

البين الأبيضاوي السابع عشر (IL-17A) Interleukin-17 هو حركي خلوي بادئ للالتهاب Proinflammatory وهو عبارة عن بروتين سكري يتألف من 155 حامضاً أمينياً، ذات وزن جزيئي يتراوح ما بين (15-20 كيلو دالتون) وينتج هذا الحركي الخلوي بواسطة خلايا (Th17) وتعرف بانها مجموعة فرعية فريدة من الخلايا T المساعدة ووظائفه الرئيسية هي حث انتاج خلايا (CD4⁺T) cell وانتاج الحركيات الخلوية البادئة للالتهاب الاخرى، كما يحث على تمايز الخلايا المكونة للدم (Intlekofer *et al.*,2019) ودورها المباشر يتمثل من خلال فعالية الخلايا التائية السمية (T-cytotoxic) لكن دورها غير المباشر يكون من خلال الفعالية والوظيفة المؤثرة للخلايا البادئة للالتهاب الأخرى Proinflammatory cells ، وكذلك ايضا (IL-

17A) يلعب دوراً مهم في الجهاز المناعي الذاتي والتكيفي إذ يخلق استجابة مناعية إلى مسببات الأمراض البكتيرية والفطرية الخارج خلوية وايضا له دور مهم في تطوير أمراض الإلتهابية وأمراض المناعة الذاتية ومرض التلاسيميا ترتبط مستوى عالٍ مع الأمراض الالتهابية المزمنة (Katara *et al.*, 2013; Shin *et al.*, 2020)

أظهرت الدراسات الحديثة أن الخلايا المساعدة لـ IL-17 المنتجة لـ CD4 + T (Th17) تلعب دوراً مهماً في العمليات الالتهابية وتحليل مستويات مصل IL-17 في الدم المحيطي لمرضى التلاسيميا بيتا والذين أظهروا سريريا استئصال الطحال والحمل الزائد للحديد وتم قياس مستويات المصل لـ IL-17 بواسطة فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) وكان أعلى في مرضى التلاسيميا مقارنة بالمجموعة الضابطة وكانت عمليات نقل الدم المتعددة تسبب التحفيز المناعي وقد يكون لهذا تأثيرات كبيرة على تحفيز الخلايا المنتجة للسيتوكين في هؤلاء المرضى التلاسيميا B ويمكن استخدام ملف تعريف السيتوكين كعلامة ذات صلة لتقييم شدة المرض وبالتالي التدخل العلاجي (Baharlou *et al.*, 2016).

hormonal

15-2 المؤشرات الهرمونية

indicators

1-15-2 هرمونات الغدة الدرقية Thyroid hormones

تفرز الغدة الدرقية هرمونين هما الثايروكسين (thyroxine T4) والثايرونين الثلاثي اليود (triiodothyronine T3) وهي تدمج اليود ككمون نشط وكمية اليود تختلف بين هرمون الغدة الدرقية T4 (thyroxine) مع أربعة جزيئات من اليود و T3 (triiodothyronine) مع ثلاثة جزيئات يود، في حين ان (T4) موجود بكثرة اكبر من (T3) في الجسم (Janovsky *et al.*, 2019) ويعد (T3) اكثر نشاطا ويعتقد حاليا ان (T4) قد تكون بمثابة شكل احتياطي ، وله

دور مباشر اكثر في حلقة التغذية العكسية السلبية في الغدة النخامية في حين ان (T3) له تأثير فسيولوجي أكثر ديناميكية في الجسم ويشير آخرون إلى إن كليهما له دور مهم في النشاط الفسيولوجي ويفرز الجسم تحت السريري هرمون بروتيني (thyrotropin) الذي يطلق الهرمون (TRH Thyrotropic releasing Hormone) الذي يتوجه مباشرة الى الغدة النخامية عبر نظام الدم البوابي النخاعي مما يحفز اطلاق (Thyroid-stimulating hormone TSH)، ثم ينتقل (TSH) عبر مجرى الدم ، وتؤدي مرض التلاسيميا الكبرى غير المعالج الى قصور القلب ومشاكل الكبد ، ويجعل الشخص اكثر عرضة للاصابة بالعدوى ، ومع ذلك ممكن ان تساعد عمليات نقل الدم المتعددة في السيطرة على بعض الاعراض ولكن قد تؤدي الى تدمير القلب والكبد ونظام الغدد الصماء والغدد الدرقية (Ghimire *et al.*,2019) .

Follicle stimulating hormone and luteinizing hormone

هرمون (luteinizing hormone LH) يلعب دوراً هاماً في النشاط التناسلي في كل من الذكور والاناث ، (LH) يدفع الاباضة من الحويصلات الناضجة في المبيض عن طريق افراز انفجار كبير من (LH) المعروفة باسم (مرحلة ما قبل ارتفاع LH التبويض) وخلال التبويض تتكاثر الخلايا المتبقية لتشكيل الجسم الاصفر الذي ينتج البروجسترون لاعداد بطانة الرحم لاحتمال الزرع وبالتالي فان (LH) ضروري للحفاظ على وظيفة الجسم الاصفر في الاسبوعين الاولين من الدورة الشهرية وفي حالة حدوث الحمل سوف تنخفض مستويات (LH) وهرمون (HCG) سيعمل بدلا من الجسم الاصفر (Al-Hamdany and Morshed, 2019).
اما هرمون *Follicle stimulating hormone* FSH ضروري لتنمية الجريبات غير الناضجة في المبيض وله دور مهم في انقاذ البصيلات الصغيرة من الموت المبرمج وخلال مرحلة الطور

الاصفر الجريبي سيزداد مستوى FSH ويصل الى الذروة في حوالي اليوم الثالث من الحيض بسبب الانخفاض في مستويات المصل من هرمون البروجسترون والاستروجين لذلك لم يعد يمنع أفرز FSH ، وتعد اضطرابات الغدد الصماء من مشاكل تحميل الحديد الزائد في مرضى الثلاسيميا والغدة النخامية الامامية حساسة جدا لترسب الحديد في الانسجة هذه الحساسية يمكن ان تسبب اضطرابات في بناء وافراز الهرمونات ، ومن الاضطرابات الاخرى انخفاض النمو إذ يؤدي تأخر أو فقدان النمو خلال سن البلوغ الى قصر القامة (Tari *et al.*, 2018).

Biochemical indicators

16-2 المؤشرات الكيموحيوية

1-16-2 الحديد Ferritin :

هو بروتين خزن الحديد الذي يعمل على تخزين الحديد في شكل غير سام وإيداعه في شكل آمن ونقله إلى المناطق التي يكون فيها ضروريً ويرتبط مستوى الفيريتين في المصل مباشرة بكمية الحديد المخزنة في الجسم ، وهو أمر مهم لإنتاج خلايا الدم الحمراء. إذا كان مستوى الفيريتين مرتفعًا بذلك تسبب ثلاسيميا بيتا الكبرى امتصاصا مفرطاً للحديد من الامعاء نتيجة لنمو كريات الدم الحمراء غير الفعالة ، فهناك الحديد الزائد ويوجد مستوى عالٍ من الفيريتين في المرضى الذين يعانون من زيادة الحديد ، وقد يساعد ذلك في تمييز مرضى الثلاسيميا عن أولئك الذين يعانون من نقص الحديد ، كلاهما سيحتوي على عدد منخفض من خلايا الدم الحمراء وبالإضافة إلى ذلك يمكن أن يسبب أي اضطراب التهابي مستوى عالٍ من الفيريتين ومن الضروري رصد الفيريتين على المدى الطويل وللحصول على أي معلومات إضافية لتشخيص الثلاسيميا أو متابعة العلاج (Kontoghiorghes *et al.*,2020).

2-16-2 الكرياتينين Creatinine :

ينتمي الكرياتينين إلى مركبات النيتروجين غير البروتيني وي طرح من الدم إلى البول بواسطة الكلى ويخرج الكرياتينين من الكرياتين بعد فقدان جزيء الماء من الأخير ويتكون الكرياتين في الكبد ونقله إلى العضلات ، مع مخازن في شكل فوسفات الكرياتين ، مما يساعد على توفير الطاقة للعضلات لأداء وظائفها ، وعندها تبدأ السلطة في تحويل Creatinine إلى مجرى الدم عن طريق الكلى، وبذلك ادى ارتفاع مستوى في المرضى الذي يعانون من مرض الثلاسيميا وامراض اخرى (Aydin et al.,2019).

2-17-2 معلمات وظائف الكبد Liver function parameters : -

2-17-1 ألانين أمينية ترانسفيراز Alanine Amino Transferase

: catalase

التفاعل التحول في الكلى والقلب والعضلات وزيادة التركيز في الكبد مقارنة بأنسجة الجسم الأخرى ويسمى أيضًا (GPT) Glutamate Pyruvate Transaminase وإن ALT عبارة عن تحفيز بحث للتفاعل الخلوي وأي نوع من إصابات خلايا الكبد يمكن أن يزيد بشكل معقول مستويات ALT والارتفاعات الملحوظة لمستويات ALT أكبر من القيمة العادية التي تؤثر بشكل رئيسي على خلايا الكبد مثل التهاب الكبد الفيروسي ، وإصابة الكبد الإقفاري (صدمة الكبد) وتلف الكبد الناجم عن السموم ويزيد من مستوى في الثلاسيميا وإن وجود ارتباط الكبد ومستوى ALT المرتفع في البلازما بشكل مستقل يزيد خطر الإصابة بمتلازمة التمثيل الغذائي لدى البالغين الذي يعانون من مرض الثلاسيميا وإن قياس ALT و AST للأنزيمات الكبدية داخل الخلايا التي

تسربت إلى الدورة الدموية وتعمل كمؤشر على إصابة خلايا الكبد *Sehatpour et al.* (2020).

2-17-2 الأспارتات الأمينية المنتقلة (AST) aspartate amino transporter

هناك أيضًا ناقل أميني أسبارتاتي اويسمى Oxaloacetate Transaminase ، وهو موجود في شكلين مختلفين من أشكال الإنزيم يختلفان جينيًا ، شكل الميتوكوندرية والسيتوبلازمية ويتم AST في أعلى تركيز في القلب مقارنة بالأنسجة الأخرى في الجسم مثل الكبد والعضلات الهيكلية والكلية ، وارتفاع الميتوكوندريا AST يظهر في تتخر الأنسجة الواسع خلال احشاء عضلة القلب وكذلك في أمراض الكبد المزمنة مثل تكلس أنسجة الكبد وتتخر ويساهم إنزيم الميتوكوندريا في حوالي 80 % من نشاط AST في الكبد ، في حين أن معظم نشاط AST المتداول في الأشخاص العاديين مشتق من الإنزيم الإنزيمي الخلوي ومع ذلك فإن نسبة الميتوكوندريا AST إلى النشاط الكلي لها أهمية تشخيصية في تحديد حالة الخلايا الميتة من نوع الكبد والتهاب الكبد الكحولي. غالبًا ما تسود ارتفاعات AST في المرضى الذين يعانون من تليف الكبد وحتى في أمراض الكبد التي عادة ما يكون لها زيادة ALT وكذلك ادى الى زيادة في ارتفاع مستوى لدى مرضى التلاسيميا وامراض اخرى (Blüthner et al.,2020).

2-17-3 الفوسفاتيز القلوي (ALP) Alkaline Phosphatase :

الفوسفاتيز القلوية هي عائلة من الإنزيمات المعدنية في المركز النشاط وتفرز الفوسفات غير العضوي من الفوسفات العضوي المختلفة وفي الكبد تم وجود الفوسفات القلوية النسيجية في القنوات الصفراوية وعلى سطح الجيب الكبدي ، ALP الموجود في الدورة الدموية له أصله في

خلايا الكبد أو أنسجة العظام ويرتفع مستوى في المرضى الثلاثيميا والمرضى الذين يعانون من أمراض الكبد و تشمل أمراض الكبد التي تسبب ارتفاع مستويات البيليروبين يؤدي الى التهاب الكبد والتهاب الأوعية الصفراوية والتليف الكبدي وانسداد القناة الصفراوية ، ويمكن أن مستويات البيليروبين في المرضى الذين يعانون من مرض الثلاثيميا او فقر الدم الانحلالي أو التدمير الذاتي سيكون لديهم البيليروبين مرتفع حيث يتم إطلاق الهيموغلوبين في الدورة الدموية بمجرد أن تتفتح خلية الدم الحمراء ويتم تحويلها إلى البيليروبين bilirubin كجزء من عملية التمثيل الغذائي Lala (and Minter, 2020).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

MATERIALS AND METHODES

(Materials and Methods)(Materials and Methods) المواد وطرق

العمل

1-3 الأجهزة المستخدمة (Instruments):

تم استخدام لهذه الدراسة كل من الاجهزة المبينة في الجدول (1-3) لغرض اجراء الفحوصات بالبحث قيد الدراسة .

جدول (1-3) قائمه بالأجهزة المستخدمة

ت	الاجهزة	المنشأ	الشركة المصنعة
1	مجمده عموديه Deep freeze-20c	الامارات	ALHafidh
2	ثلاجه Refrigerator	الامارات	AlHafidh
3	جهاز الغسل ELISA washer	المانيا	Hettich
4	جهاز القراءة ELISA reader	المانيا	Hettich
5	الحاضنة Incubator	فرنسا	Sanofi Pasteur
6	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	المانيا	Hettich
7	جهاز Cobase 411 analyzers	اليابان	Apal
8	جهاز Cobase Integra 400 Plus	المانيا	Roche

Bio Kit	المانيا	جهاز ELISA Dynex Automated	9
RORIBA Medical	فرنسا	جهاز ABX Micros 60 Hematology Analyzer	10

2-3 الأدوات المستخدمة (Equipment):

تم استخدام هذه الدراسة الأدوات المبينه في الجدول (2-3) لغرض اجراء الفحوصات بالبحث قيد الدراسة .

جدول رقم(2-3) الأدوات المستخدمة

ت	الأدوات	المنشأ	الشركة المصنعة
1	mechanical pipette 10-100 ul ماصة دقيقة	فنلندا	Proline
2	UL mechanical pipette 100-1000 ماصة المتعددة	فنلندا	Proline
3	إنابيب EDTA Test tubes	المانيا	Labcco
4	أوراق ترشيح Filter papers	المانيا	Schweihes schuell
5	تورنيقا Tourniqet	سوريا	Medicd lect
6	حامل إنابيب Rack tube	كوريا	Bioneer
7	محقنة طبية syringes 5 ml	الصين	Meheco
8	ساعة توقيت Timer	المانيا	Termaks

Bioneer

كوريا

انابيب اختبار test tubes

9

3-3 عدة الفحص المخبرية (Examination kit):

تم استخدام لهذه الدراسة المواد الاتية في الجدول (3-3) لغرض اجراء الفحوصات بالبحث قيد الدراسة.

جدول (3-3) قائمة بعدة الفحص المخبرية

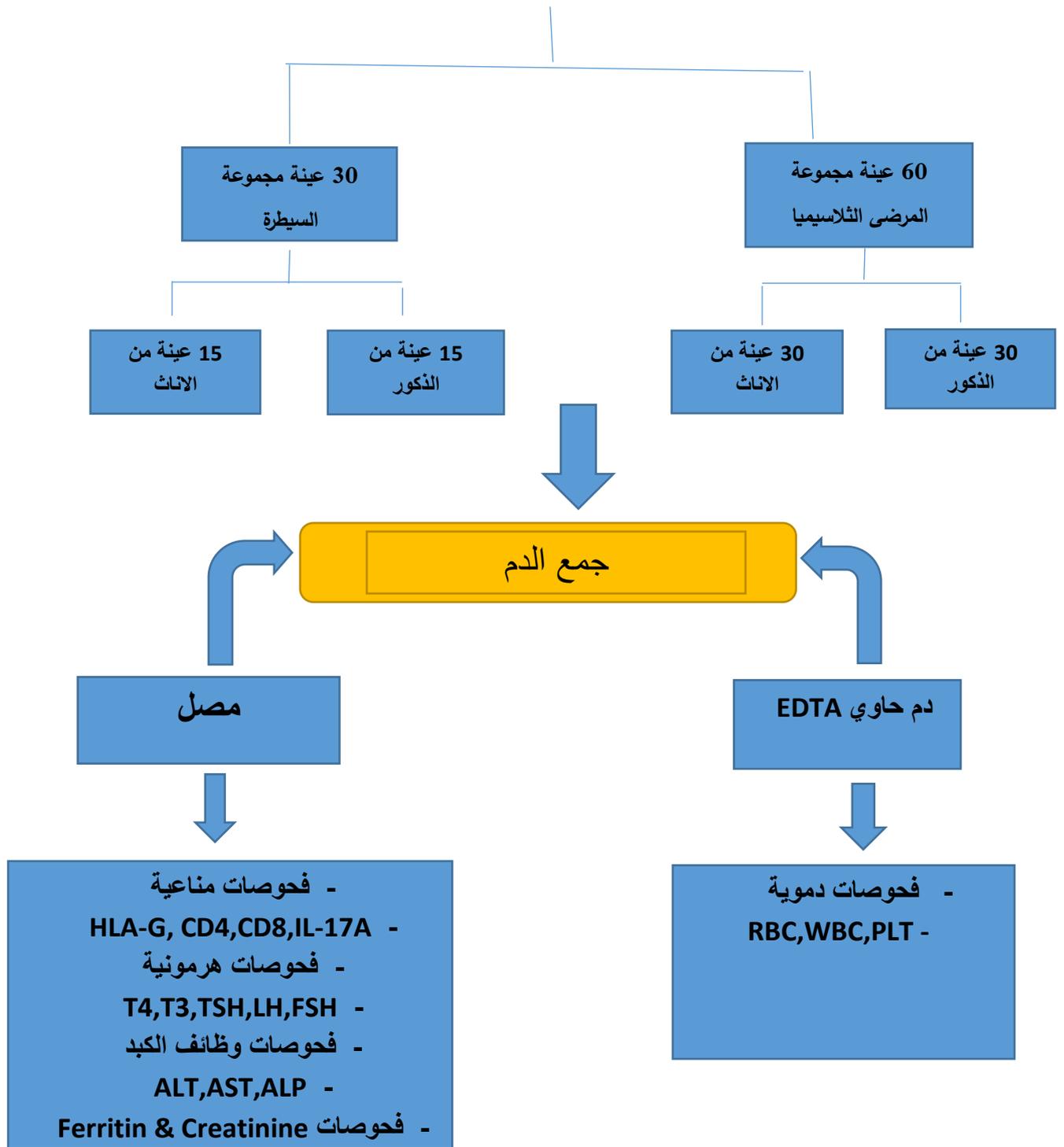
ت	العدة المختبرية	المنشأ	الشركة المصنعة
1	عدة قياس HLA_G في مصل الدم	الصين	Cusabio
2	عدة قياس CD4 في مصل الدم	الصين	Cusabio
3	عدة قياس CD8 في مصل الدم	الصين	Cusabio
4	عدة قياس IL_17A في مصل الدم	الصين	Cusabio
5	عدة قياس Hematological test	فرنسا	HORIBA
6	عدة قياس T3 في مصل الدم	المانيا	Roche
7	عدة قياس T4 في مصل الدم	المانيا	Roche
8	عدة قياس TSH في مصل الدم	المانيا	Roche

Roche	المانيا	عدة قياس LH في مصل الدم	9
Roche	المانيا	عدة قياس FSH في مصل الدم	10
Roche	المانيا	عدة قياس Ferritin في مصل الدم	11
Roche	المانيا	عدة قياس Creatinine في مصل الدم	12
Roche	المانيا	عدة قياس ALP في مصل الدم	13
Roche	المانيا	عدة قياس AST في مصل الدم	14
Roche	المانيا	عدة قياس ALT في مصل الدم	15

3-4 طرق العمل Methods :

3-4-1 خطة العمل :

كما هو موضح في الشكل (3-1) الذي يبين خطة عمل البحث .



الشكل (1-3) : يوضح خطة العمل البحث

3-4-2 جمع عينات الدم Collection of Samples

اجريت هذه الدراسة للمدة من شهر تشرين الاول 2019 الى نهاية شهر شباط 2020, تم

جمع 60 عينة دم من مرضى الثلاسيميا من كلا الجنسين , وتضم 30 من الذكور و30 من

الاناث ضمن مدى عمري من (1-27) سنة بعد الشخيص من قبل الطبيب الاخصائي في مركز امراض الدم التخصصي في محافظه ديالى . وكذلك ضمننت الدراسة المجموعة السيطرة من كلا الجنسين , حيث تم جمع 30 عينة دم اصحاء وتألفت من 15 ذكور و15 اناث ضمن مدى عمري من (15-30) سنة . تم اجراء جميع الفحوصات ولم يكن يعانون من اي مرض مزمن او حاد في وقت جمع النموذج.

اخذت موافقة المرضى والاصحاء بالمشاركة في هذه الدراسة وحسب استمارة المرفقة في البحث ملحق رقم 7، واخذت منهم المعلومات المطلوبة والتي تضمنت الجنس والعمر... الخ ، وكذلك تم قياس النسب وتراكيز لدى المرضى والاصحاء ومقارنتهم مع النسب القيمة الطبيعية بالملحق رقم 6 .

تم جمع جميع العينات عن طريق سحب الدم الوريدي بعد تعقيم المنطقة بالكحول 70% , اذ تم سحب (5مل) من الدم عن طريق استخدام محاقن طبية بلاستيكية وتم وضع الدم المسحوب في انابيب اختبار (جل تيوب) , ثم فصلت الامصال وضعها في انابيب , بواسطة جهاز الطرد المركزي لمدة (5) دقائق وبمعدل (3000 دورة ادقيقه) .وبينما الانابيب الذي تحتوي على ماده Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (EDTA) لغرض اجراء الفحوصات الدموية . وتتم الخزن عند درجة حرارة c-20 .

3-5 الاختبارات المناعية Immunological Tests

1-5-3 تحديد مستوى المؤشرات المناعية (IL- ,CD8 ,CD4, HLA-G)

(17A) في مصل دم المرضى المصابين في مرض التلاسيميا :

تم تحديد مستوى المؤشرات المناعية (IL-17A ,CD8 ,CD4, HLA-G) في مصل دم

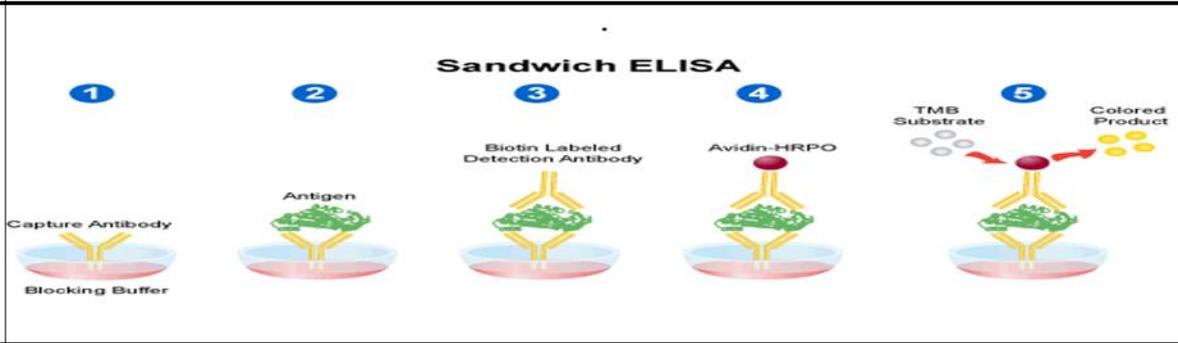
المرضى المصابين في مرض التلاسيميا باستخدام اختبار شطيرة الاليزا Sandwich ELISA

(test) لـ(90) شخصا، 60 عينة من مرضى التلاسيميا ، 30 عينة من الذكور و30 عينة من

الاناث. و30 عينة مجموعة السيطرة 15 عينة من الذكور و 15 عينة من الاناث. وحسب

التعليمات الواردة في عدة الفحص المصنوعة في شركة (Cusabio) ومبادئ الاختبار المبينة

في الشكل رقم (2-3).



شكل رقم (2-3) مبدأ اختبار شطيرة الاليزا

أولاً: مبدأ الاختبار Test Principle:

صفحة الاليزا تحتوي على الجسم المضاد الخاص ،ويضاف المحلول القياسي و العينات

المصل الى حفر صفحة الاليزا إذ تتحد مع الاجسام المضادة الخاصة، يتم إضافة محلول

Biotinylated للكشف عن الاجسام المضادة البشري ، ثم يضاف (HRP) الى كل حفر

الصفحة ، بعدها يتم الغسل بـ (Wash Buffer) لإزالة انزيم البروكسيداز الغير المرتبط بكاشف

الجسم المضاد ويضاف محلول مادة الأساس في كل حفرة وسوف يظهر اللون الأزرق ، ثم يتم

إضافة محلول التوقف الى كل حفرة ويتحول اللون من الأزرق الى الأصفر . يتم قياس الكثافة البصرية (OD) بطول موجي (450) نانوميتر .

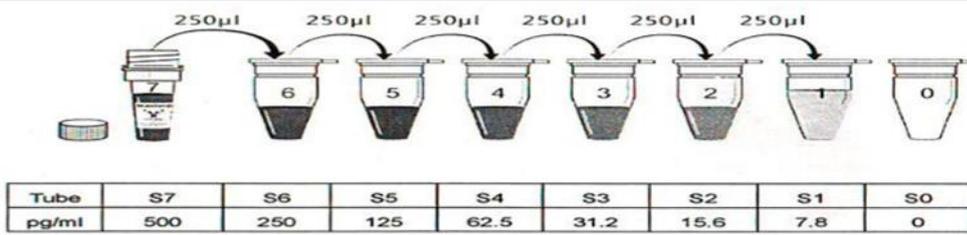
ثانياً: محتويات العدة **Kit Components** :

1. الصفيحة الخاصة بقارئ الاليزا Micro Elisa Plate .
2. كاشف الجسم المضاد المركز Concentrated Biotinylated Detection Ab .
3. محلول الاقتران المركز Concentrated HRP Conjugate .
4. مخفف محلول القياسي Standard diluent TMP .
5. محلول الغسل المركز Concentrated Wash Buffer .
6. محلول التوقف Stop Solution .
7. سداد الصفيحة Plate Sealers .

ثالثاً: تحضير المحاليل **Reagent Preparation** :

1. يتم وضع جميع محاليل في درجة حرارة (25°C) قبل الاستعمال.
2. تحضير محلول الغسل Wash Buffer: يخفف (30) مليلتر من محلول الغسل المركز مع (720) مليلتر من الماء المقطر (D.W) ليصبح حجم الكلي المحلول الغسل (750) مليلتر .
3. تحضير المحلول القياسي Standard Working Solution: نعمل طرد مركزي لتقنية المحلول القياسي في (1000دور/دقيقة) واحدة ،تحتوي عدة الفحص على المحلول القياسي (1600pg/μl) وتم تحضير تخافيف قياسيه متسلسله من المحلول الأصلي وعلى النحو التالي
أ- لتحضير محلول قياسي بتركيز (800pg/μl) تم مزج (120μl) من المحلول القياسي الأصلي (1600pg/μl) مع (120μl) من مخفف المحلول القياسي .

- ب- ولتحضير محلول قياسي (400pg/μl) تم مزج (120μl) من المحلول القياسي الأول) مع (120μl) من مخفف المحلول القياسي .
- ت- ولتحضير محلول قياسي (200pg/μl) تم مزج (120μl) من المحلول القياسي الأول) مع (120μl) من مخفف المحلول القياسي .
- ث- ولتحضير محلول قياسي (100pg/μl) تم مزج (120μl) من المحلول القياسي الأول) مع (120μl) من مخفف المحلول القياسي .
- ج- ولتحضير محلول قياسي (50pg/μl) تم مزج (120μl) من المحلول القياسي الأول) مع (120μl) من مخفف المحلول القياسي . كما في الشكل الاتي :-



الشكل (3-3) مراحل عمل تخفيف للمحلول القياسي

رابعاً: طريقة العمل Assay procedure :

- 1- أضفت معياراً أو عينة 100 pl إلى كل الحفر . واحضنت 2 ساعة في 37 C.
- 2- أخرجت السائل من كل الحفر ، وعدم الغسل.
- 3- أضفت 100 pl البيوتين الأجسام المضادة (X1) إلى كل حفره. واحضنت 1 ساعة في 37 C.
- 4- غسلت 3 مرات.

5- أضفت HRP-avidin (1x100 PL) إلى كل الحفر. واحضنت لمدة ساعة عند 37 درجة مئوية.

6- غسلت 5 مرات.

7- أضفت 90 pl من التركيز TMB إلى كل الحفر. واحضنت 15-30 دقيقة عند 37 درجة مئوية. والحماية من الضوء. الملحق رقم (5) التغير اللوني

8- أضفت محلول إيقاف 50 pl لكل حفرة. قراءة النتائج خلال 5 دقائق في طول موجي في nm 450 .

ب- الحسابات **Calculation**: الملحق رقم (1,2,3,4) على التوالي .

3-6 الفحوصات الدموية (Hematological tests):

اجريت الفحوصات الدموية من خلال جهاز (ABX Micros 60 Hematology

analyzed) الذي قمت بتحليل نتائج الفحوصات التاليه: (WBC, RBC, PLT) اذا يمتاز الجهاز في الدقة والسرعة في استخراج النتائج من جهة اخرى سعة الجهاز تتضمن تحليل 60 عينه خلال ساعة واحدة.

تم استخدام الجهاز (ABX Micros 60 Hematology analyzed) محلل دموي اوتوماتيكي وهو جهاز تقنية المحرك السائر التي تمكن النظام من العمل بدون ضاغط ويستخدم هذا الجهاز تقنيه المقاومة وقياس الضوء كطرق قياس اضافية . تم سحب عينة الدم من المريض ووضعت في أنابيب خاصة تحتوي على (EDTA). المحاليل المستخدمة في هذا الجهاز هي: محلول محلل (Lyse), محلول مخفف (diluent), محلول منظف (cleaner) .

7-3 المؤشرات الكيموحيوية (Creatinine، Ferritin) و المؤشرات الهرمونية

(LH ,FSH ، TSH، T4،T3) في مصل الدم:

أ- مبدأ العمل واحدة بكت اللانير ELISA Linear (Mahmood, 2019) .

حسب تعليمات الشركة المصنعة والمرفقة طيا مع العدة الاختبار لشركة (Roche).

1-مدة الحضانة الأولى :تكوين معقد sandwich الذي يتكون من (30µL) من العينة ، (biotinylated monoclonal Ferritin-specific antibody)، و (monoclonal Ferritin-specific antibody معلم بمعقد ruthenium).

2-مدة الحضانة الثانية :اضافة (streptavidin) المغطى بالجزيئات الدقيقة (microparticles)، المعقد المتكون يرتبط الى طور صلب خلال تداخل ال (biotin و streptavidin).

3-خليط التفاعل يدخل إلى داخل الخلايا المقاسة بينما الجزيئات الدقيقة تتقبض مغناطيسيا إلى سطح القطب الكهربائي. الجزيئات غير المرتبطة تزال مع الخلايا الأولية .تطبيق جهد كهربائي على القطب ثم يحفز إنبعاث توهج يقاس بواسطة مضخم.

4-النتائج تحدد من خلال منحنى معايرة الذي هو أداة متخصصة تتولد بواسطة نقطتي معايرة ورأس المنحنى يجهز خلال كواشف البراكود.

الحسابات Calculation :

يتم قياس تراكيز التحاليل من كل عينة تلقائيا بجهاز Cobas E 411 analyzers امعدل 0.500-2000

8-3 مؤشرات وظائف الكبد:

1-8-3 تحديد مستوى (ALT،AST،ALP) في مصل الدم :

أ-مبدأ العمل : (Spectrophotometer) (Raof and Daoud, 2019).

حسب تعليمات الشركة المصنعة والمرفقة طيا مع عدة الاختبار لشركة (Roche).

ملاحظة : قبل بدأ العمل نقوم بتحضير المحلول العملي (Working solution) ٤ مل من ال R1
١ مل من ال (R2) او اكثر او ربما اقل حسب الحاجة لها ويكون ثابت لمدة شهر بدرجة حرارة
٨-٢ °مئوي ويكون بعيد عن الضوء ومحكم الغلق.

1-ناخذ 2 تيوب ونكتب ع كل منها:

أ -Blank .ويستخدم للتصغير فقط نضع فيه D.W ماء مقطرا.

ب- Sample .النموذج (السيرم) نضع فيه ١ مل من المحلول العملي المحضر مسبقاً
Working Reagent ونضيف له 50 مايكروليتر من مصـل Serum.

2- نمزج بلطف ونتركها لمدة ١ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧ °مئوية حاضنة او حمام مائي (ايأ كان
المهم توفير الدرجة)ونقوم بتسجيل القراءة الاولى (A1) بجهاز المطياف ٣٤٠ نانومتر.

3- نكرر القراءة على جهاز المطياف مرة ثانية بعد مرور دقيقة اخرى ونسجل A2 وبعد دقيقتين
نسجل A3 وبعد ثلاثة دقائق نسجل (A4 سيكون لدينا اربع نتائج اي. A1, A2, A3,and A4
ملاحظة الوقت المستغرق فقط ٤ دقائق.

الحسابات Calculation

1-نقوم بحساب الفرق في الامتصاصية: □

$$*** = (A2-A1) - (A3-A2) - (A4-A3)$$

2-وبالتالي النتيجة من المعادلة التالية:

النتيجة اعلاه *** التي حصلنا عليها من الفرق بالامتصاصية تقسم على ٤ (عدد الدقائق)
وتضرب ب ٣٣٣٣ ونسجل النتيجة بوحدة U/L.

3- اذا اردنا الحصول على وحدة uKat/L نضرب الناتج اعلاه ب 0.01667 .

3-9 التحليل الاحصائي Statistical analysis :

تم إجراء التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام برنامج The Statistical (SAS)

Analysis System، الإصدار 4.9 وتم حساب المعدلات المتوسط الحسابي Mean (M)

والخطأ المعياري Standard Error (SE) للمتغيرات وتم استخدام اختبار T-test للمقارنة بين

مجاميع المرضى والاصحاء وكذلك الذكور والاناث ، بينما استخدم اختبار ANOVA للمقارنة بين

الفئات العمرية وقورنت المتوسطات الحسابية باختبار LSD وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) .

الفصل الرابع
النتائج والمناقشة

RESULTS AND DISCUSSION

النتائج والمناقشة : Results and discussion

1-4 البيانات :

1-1-4: توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة للحالة المرضية:

شملت هذه الدراسة 90 عينة قسمت بالنسبة الى الحالة المرضية الى مجموعتين وهي مجموعة المرضى المصابين بمرض التلاسيميا وتضم 60 عينة. إما المجموعة الثانية فهي المجموعة السيطرة وتضم 30 عينة .

2-1-4: توزيع مجاميع الدراسة حسب الجنس

قسمت المجموعة المصابين بمرض التلاسيميا على اساس الجنس الى 30 عينة من الذكور وبنسبة % 50 و 30 من الإناث وبنسبة % 50 ، قسمت مجموعة الاصحاء الى 15 الذكور وبنسبة % 50 و 15 الإناث وبنسبة % 50 .

3-1-4: توزيع مجاميع الدراسة حسب العمر:

قسمت المجموعات العمرية إلى ثلاث فئات عمرية كما موضحة بالجدول رقم (4-2)، وشملت الفئة العمرية الاولى 1-9 سنة وكان عددهم 18 مريضا وبنسبة 30% ، والفئة العمرية الثانية 10-18 سنة وكان عددهم 24 مريضا وبنسبة 40% ، اما الفئة العمرية الثالثة من 19-27 سنة وكان عددهم 18 مريضا وبنسبة 30% . اما بالنسبة لمجموعة السيطرة فقد قسمت الى نفس الفئات المذكورة عددهم 30 فردا، 10 افراد لكل فئة وبنسبة 33% لكل فئة عمرية وكما مبين في جدول رقم (4-1).

جدول رقم (1-4) توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة للعمر

Age groups(years)	Patients		Control	
	NO.	%	NO.	%
(1-9)	18	30 %	10	33.3 %
(10-18)	24	40 %	10	33.3 %
(19-27)	18	30 %	10	33.3 %
TOTAL	60	100.0 %	30	100.0 %

2-4 الدراسة المناعية Immunological Study

1-2-4 قياس مستوى HLA-G

1-1-2-4 مستوى HLA-G بالنسبة للإصابة بالمرض:

تم قياس مستوى هذا المستقبل في مصل الأشخاص المصابين بمرض التلاسيميا وكذلك مجموعة السيطرة وظهرت نتائج الدراسة بان ارتفاع المتوسط الحسابي للأشخاص المصابين بمرض التلاسيميا كان 91.607 ng/ml ومقارنة مع مجموعة السيطرة اذا كان المتوسط الحسابي ng/ml 87.278 مع عدم وجود فروق معنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) كما في الجدول (2-4).

جدول (2-4) مستوى تركيز HLA-G بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للإصابة بالمرض

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	

HLA-G	91.607	4.777	87.278	7.784	0.6205
-------	--------	-------	--------	-------	--------

عدم وجود فروق معنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Craenmehr *et al.*,2019)، وبينت نتائج الدراسة ان هناك ارتفاعا في مستوى المرضى مقارنة بالاصحاء مع عدم وجود فرق معنوي، وهذه دلالة واضحة نتيجته لضعف الاستجابة المناعية، وعلى الرغم من أن العلاج التقليدي أدى إلى تحسن كبير في بقاء حياة مرضى الثلاثيميا ، إلا أن المضاعفات المرتبطة بالعلاج مثل التهاب الكبد أو العدوى الأخرى ، وتليف الكبد وأمراض القلب تتقدم بمرور الوقت وتقصير حياة هؤلاء المرضى الثلاثيميا وفي بعض الحالات التي لا يتوفر فيها العلاج التقليدي الكافي ويصبح البحث عن متبرع غير ذي صلة مستحيلاً ، قد يصبح العلاج المداوم بالميتادون اي متبرع بديل ذو صلة هو النهج الوحيد المتاح لبعض المرضى ولم يجد معظم مرضانا العلاج المناسب لأنه كان من المستحيل إعطائه في بلدانهم ، (Dahl *et al.*,2014) (Chen *et al.*,2019).

2-1-2-4 توزيع مستوى HLA-G مع الجنس بالنسبة للمصابين

عند مقارنة HLA-G مع الجنس بالنسبة للمصابين وجد ان مستوى الذكور 101.187 ng/ml اعلى من مستواه في الاناث 82.027 ng/ml مع وجود فروق معنوية بين المجموعتين ($P < 0.05$) .ويوضح الجدول (3-4)

Factors	Male		Female		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	

HLA-G	101.187	7.348	82.027	5.706	*0.0439
-------	---------	-------	--------	-------	---------

الجدول (3-4) توزيع علاقة مستوى HLA-G مع الجنس بالنسبة للمصابين.

* يوجد فرق المعنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Schwich *et al.*, 2019) ،بينت نتائج الدراسة ان هناك انخفاضاً في مستوى HLA-G عن الاناث بالنسبة للذكور لان شدة الإصابة والالتهابات كانت منخفضة لديهم نتيجة تعبير HLA-G وبوجود فرق معنوي عند مستوى (0.05) ($P <$ ، بذلك يعود الى أن معدل فشل أو رفض الكسب غير المشروع بعد زراعة نقي العظم BMT من متبرع بديل مرتفع ،وان حالات رفض قليلة نسبياً (12-13%) في المرضى الذين يعانون من التلاسيما (Castelli *et al.*,2010).

3-1-2-4 مستويات HLA-G للمصابين مع العمر

سجلت الفئة العمرية 27-19 سنة اعلى مستوى وهو 106.242 ng/ml مقارنة بالفئة العمرية 9-1 سنة ، 18-10 سنة باقل مستوى 85.126 ng/ml ، 78.573 ng/ml على التوالي مع وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) . يوضح الجدول (4-4)

الجدول (4-4) توزيع مستوى HLA-G مع العمر بالنسبة للمصابين.

Factors	Age: 1-9		Age:10-18		Age: 19-27		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
HLA-G	85.126	8.912	78.573	6.731	106.24	7.811	*0.0352

*يوجد فروق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Gragert *et al.*,2014) ، بينت نتائج الدراسة ان هناك فرقا معنويا ويوجد انخفاض بالفئة الاولى لدى مرضى التلاسيميا ، يعود الى ضعف الاستجابة المناعية عند مطابقة HLA من اضافة الخلايا او الاعضاء المتوفرة بين المتبرعين الكبار على احتمال تحديد الطعم المناسب بالنسبة لمصادر الكسب غير المشروع ، وتؤثر المجموعة العرقية للمريض بشدة على احتمال تحديد الطعم المناسب وتشير النتائج إلى أن جميع المرضى التلاسيميا تقريبا الذين من المحتمل أن يستفيدوا من زرع الخلايا الجذعية المكونة للدم من المتبرع ومع ذلك يكون أي طعم من HLA متطابق مع متبرع بالغ ، لأن احتمالات المطابقة تزيد بنسبة مئوية واحدة فقط في السنة ، و ينقص البقاء على قيد الحياة *et al.* (Pidala *et al.*, 2013)

2-2-4 مستويات CD8 & CD4

1-2-2-4 توزيع مستوى CD8 & CD4 بالنسبة للإصابة بالمرض:

اظهرت النتائج وجود ارتفاع ملحوظ في مستوى CD8 للأشخاص المصابين بمرض التلاسيميا 154.598 ng/ml مقارنة بمجموعه السيطرة وبلغت 136.083 ng/ml مع وجود فرق عالي المعنوية بين مجموعتي الدراسة عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، وكذلك اظهرت النتائج وجود ارتفاع ملحوظ في مستوى CD4 للأشخاص المصابين بمرض التلاسيميا 216.991 ng/ml مقارنة بمجموعه السيطرة وبلغت 199.192 ng/ml مع عدم وجود فروق معنوية بين مجموعتي الدراسة عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) . ويوضح الجدول (4-5)

الجدول (4-5) توزيع مستوى CD8 & CD4 بالنسبة للحالة الصحية

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	

CD8	154.598	4.340	136.083	4.564	**0.0091
CD4	216.991	11.793	199.192	8.762	0.3208

**يوجد فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية (P< 0.01)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Allali *et al.* 2019) ، اظهرت نتائج الدراسة ان هنالك ارتفاعا في تركيز المرضى المصابين في الثلاثيميا مقارنة بالاصحاء مع وجود فرق عالي المعنوية ، وبينت انها تكون مسؤولة عن زيادة القابلية للعدوى في أمراض الخلايا المنجلية وامرض الثلاثيميا نتيجة ضعف الاستجابة المناعية وانهايار خضاب الدم واستئصال الطحال الذاتي الوظيفية فضلا عن ذلك فأن ضعف المناعة تكون بوساطة الخلايا المناعية في المرضى الذين يعانون من عيوب في الطحال ومع ذلك ان المجموعات الفرعية من الخلايا الليمفاوية في المرضى الذين لديهم طحال طبيعي تكون طبيعية أو عالية ويشير الارتباط بين حالة نظام الدفاع عن المضيف في المرضى الذين يعانون من الانيميا الخلايا المنجلية SCA وحالة الطحال الذي يحلل مجموعة الخلايا التائية الفرعية (CD8 ، CD4) وقد تكون ذو قيمة تنبؤية في مرض الخلايا المنجلية ،ومرضى الثلاثيميا، ويكون هنالك ارتباط السيتوكين بنظام إنتاج الأجسام المضادة المنتجة بالمجموعة الفرعية TH2 من خلايا CD4 (Mohammed *et al.*,2019).

4-2-2-2 توزيع مستوى CD8 & CD4 مع الجنس بالنسبة للمصابين

اظهرت نتائج الدراسة بان مستويات CD8 & CD4 كانت في الذكور ng/ml

154.260, 214.824 ng/ml بينما كانت في الاناث 154.937 ng/ml ,

219.157 على التوالي مع عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين (P< 0.05) . كما في

الجدول (4-6)

Factors	Male	Female	P Value
---------	------	--------	---------

	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
CD8	154.260	5.898	154.937	6.468	0.9386
CD4	214.824	12.678	219.157	20.121	0.8561

الجدول (4-6) توزيع مستوى CD8 & CD4 مع الجنس بالنسبة للمصابين

عدم وجود فرق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (El-Shanshory *et al.*,2019)، اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان عدم وجود ارتفاع او انخفاض في مستوى تركيز الذكور والاناث وعدم وجود فرق معنوي، وذلك لان الحمل الزائد من الحديد يمنع التوازن المناعي مما يتسبب في ضعف وظائف المناعة وزيادة معدلات نمو الخلايا الضارة والكائنات المعدية ومسببات الأمراض والعدوى وعادة ما تكون العدوى مصاحبه بمسببات الأمراض الخبيثة في المرضى الذين يعانون من زيادة الحديد وقد يؤدي الحديد إلى خلل وظيفي للخلايا العدلة نتيجة ترسبه في الأوعية الدموية والحمل الزائد للحديد يغير من توزيع الخلايا اللمفاوية التائية في أقسام مختلفة من الجهاز المناعي ويقلل من قدرة تكاثر الخلايا المساعدة (CD8) ويقلل من عدد الخلايا التائية ووظائفها ويضعف تكوين الخلايا الليمفاوية التائية (CD4) ويعزز قمع أعداد الخلايا التائية ونشاطها وقمع الخلايا البلعمة المحرصة بوساطة الأجسام المضادة (بواسطة الوحيدات والبلاعم) ويغير من إفراز إنتاج الغلوبولين المناعي (Muslim *et al.*,2015).

4-2-2-3 مستويات CD8 & CD4 مع العمر للاصابة بالمرض

اظهرت نتائج الدراسة بان الفئة العمرية 10-18 سنة سجلت اعلى مستويات للمؤشر المناعي CD8 حيث كان 162.638 ng/ml وبينما الفئات العمرية 1-9 سنة، 19، 27 سنة سجلت 151.289 ng/ml ، 150.972 ng/ml على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). وبينت نتائج الدراسة بان الفئة العمرية 1-9 سنة سجلت اعلى

مستوى للمؤشر المناعي CD4 حيث كان 236.725 ng/ml وبينما الفئات العمرية 10-18 سنة ,
 27-19 سنة سجلت 211.432 ng/ml, 206.359 ng/ml على التوالي مع عدم وجود فرق
 معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). يوضح الجدول 4-7

الجدول (4-7) توزيع مستوى CD8 & CD4 مع العمر بالنسبة للمصابين.

Factors	Age: 1-9		Age: 10-18		Age19-27		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
CD8	150.972	8.987	162.638	6.621	151.289	6.978	0.4868
CD4	236.725	32.992	211.432	12.080	206.359	13.749	0.5481

عدم وجود فرق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Keshk *et al.*,2019). اظهرت نتائج عدم وجود فرق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) بين الفئات العمرية ، بذلك يعود الى ان علاج نقل الدم المتكرر قد حسن من متوسط العمر المتوقع لمرضى التلاسيميا بيتا وقد يؤدي الحديد الزائد الى اختلال المفرد منه في العديد من الأعضاء مثل الكبد مع تتابع التحسس المستضد المتكرر ، والإجهاد التأكسدي ، والالتهاب ، والعدوى ، واختلال وظيفي في الأعضاء مما يؤدي إلى زيادة المرضى والوفيات ويؤثر الحمل الزائد للحديد سلبًا على الجهاز المناعي مما يتسبب في ضعف البلعمة ويزيد من عدد نشاط الخلايا التائية السمية CD8، ويقلل من عدد نشاط الخلايا التائية المساعدة (CD4) وحالة الالتهاب المناعي يكون الاختزال إلى الفسلجة الامراضية لمرض التلاسيميا بيتا وشدتها وظهرت الدراسة ان الإجهاد التأكسدي والمناعة والالتهاب عمليات ذا صلة وثيقة تسبب إصابة الأنسجة واختلال وظيفي (Gharagozloo *et al.*,2013).

4-2-3 توزيع مستوى IL-17A البين الأبيضاضي

4-2-3-1 توزيع مستوى IL-17A بالنسبة للإصابة بالمرض:

أظهرت النتائج وجود ارتفاع ملحوظ في مستوى IL-17A للأشخاص المصابين بمرض التلاسيميا حيث سجلت 64.400 ng/ml مقارنة بمجموعه السيطرة وبلغت 43.164 ng/ml مع وجود فرق عالي المعنوية بين مجموعتي الدراسة عند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ويوضح الجدول (8-4)

الجدول (8-4) توزيع مستوى IL-17A بالنسبة للحالة الصحية

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
IL-17A	64.400	5.433	43.164	3.287	**0.0098

* * يوجد فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Adegoke *et al.*, 2017) ، وفي هذه الدراسة ، تم تحليل مستويات مصل IL-17 في الدم المحيطي للمرضى الذين يعانون من التلاسيميا β وأشارت البيانات إلى مستويات أعلى من IL-17 في المرضى مقارنة بالضوابط مع وجود فرق عالي المعنوية ، مما يشير إلى حالة التهابية مرتبطة بقمع الاستجابة المناعية للخلايا التائية وتظهر زيادة IL-17 في مرضى التلاسيميا ، مما يعني أن الخلايا التائية تظهر نمطاً ظاهرياً محفزاً، وإن الإجهاد التأكسدي يحفز المعالجات المؤيدة للالتهابات مع أنماط مختلفة من السيتوكين والتعبير المناعي ويتم إنتاج IL-17 السيتوكين المؤيد للالتهابات ومن العديد من الخلايا مثل الخلايا الليمفاوية والبلاعم التي تحفز العدلات وإن الانجذاب الكيميائي يعمل على زيادة مستوى IL-17 بشكل ملحوظ في المرضى المصابين في التلاسيميا بيتا لارتباطه بشكل إيجابي بالحديد ومعدل مدة نقل الدم ، وعدد خلايا الدم البيضاء ، وتعمل الخلايا الليمفاوية على استجابة الجهاز المناعي في التلاسيميا بيتا بسبب نقل الدم والحديد الزائد (Akcal *et al.*, 2015).

2-3-2-4 توزيع مستوى IL-17A بالنسبة للمصابين حسب الجنس

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان مستوى IL-17A مرتبط بالجنس بالنسبة للمصابين قد سجلت ارتفاعا في الذكور 66.552 ng/ml مقارنة بالاناث 62.247 ng/ml مع عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). ويوضح الجدول (9-4)

الجدول (9-4) توزيع مستوى IL-17A مع الجنس بالنسبة للمصابين

Factors	Male		Female		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
IL-17A	66.552	6.477	62.247	8.824	0.6956

عدم وجود فرق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع (Garcia *et al.*,2020 ؛ *et al.*,2016 Baharlou)، بينت نتائج الدراسة الحالية ان هناك ارتفاعا في مستوى تركيز IL-17 في الذكور مقارنة بالاناث مع عدم وجود فرق معنوي ، نتيجته استئصال الطحال والحمل الزائد للحديد والعوامل الدموية قد تاتر على الاستجابة المناعية لمرضى التلاسيميا β بذلك قد يؤدي الى زيادة مستويات مصل IL-17 في المرضى التلاسيميا بيتا ، حيث تأثير Th17 في وظيفة Treg ، وان مجموعتين فرعيتين من الخلايا للاستجابة المناعية لكبت المناعة مقابل التقوية المناعية ، ويمكن تفسير اكتشافنا لزيادة التعبير عن IL-17 على أنه سيتوكين التهابي رئيسي في الدم المحيطي من المرضى الذي يعانون من التلاسيميا بيتا دون استئصال الطحال بذلك يكون انعكاس لاستجابة الالتهاب ، وان إنتاج IL-17 ، قد يؤثر على تنشيط كرات الدم الحمراء والخلايا البيضاء والصفائح الدموية والخلايا البطانية إلى زيادة إنتاج السيتوكينات المضادة للالتهابات ومما يعطي خصائص لمرض التهابي مزمن (Vilas-Boas *et al.*,2016)، ويعمل السيتوكين على تنظيم الجهاز

المناعي وينتج العديد من الخلايا مثل الوحيدات ، والبلاعم ، والخلايا التائية ويلعب دورًا مركزيًا في التحكم في العمليات الالتهابية ، والخلايا التائية والحفاظ على التحمل المناعي ، وان ارتفاع مستويات IL-17 في مرضى التلاسيميا بيتا عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة قد يؤدي الى ارتباط سلبي كبير في مستوى الحديد ومعدل مدة نقل الدم وحدوث نوبات العدوى وعدد خلايا الدم البيضاء والمفاويات وبذلك قد تكون بسبب ضعف العدلات والبلاعم نتيجة لزيادة الحديد مع زيادة الالتهاب وكبت المناعة في التلاسيميا الكبرى (Jeddoa *et al.*, 2011).

4-2-3 توزيع مستوى IL-17A مع العمر بالنسبة للمصابين

اظهرت نتائج الدراسة بان الفئة العمرية 10-18 سنة سجلت اعلى مستويات للمؤشر IL-17A حيث كان المتوسط المؤشر 77.801 ng/ml وبينما الفئات العمرية 1-9 سنة , 19 27 سنة سجلت 66.254 ng/ml , 52.958 ng/ml على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$). يوضح الجدول (4-10)

الجدول (4-10) توزيع مستوى IL-17A مع العمر بالنسبة للمصابين.

Factors	Age: 1-9		Age: 10-18		Age: 19-27		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
IL-17A	66.254	10.780	77.801	13.575	52.958	3.332	0.1634

عدم وجود فرق معنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Allali *et al.*, 2019)، اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان عدم وجود فرق معنوية بين الفئات العمرية ، ان نتيجة امراض التهابية يؤدي إلى التهاب مزمن في انسداد الأوعية الدموية ، وان زيادة إنتاج IL-17 ليس فقط عن طريق (CD4 + Th17) ولكن أيضًا عن طريق الأغشية المخاطية المترافقة T وربما الخلايا T في مجموعات الخلايا التائية المختلفة هذه يبدو أن إنتاج IL-17 لم يزد بشكل أكبر بين الفئات العمرية أثناء عمل

المركبات العضوية، والانتروكين IL-17 المشتق من الخلايا التائية المؤيد للالتهابات والذي وجد أنه يلعب دوراً محورياً في الدفاع ضد الالتهابات الفطرية خارج الخلية، وأن الإنتاج IL-17 قد يؤدي إلى التهاب مزمن وحالات مناعية شديدة له تأثيرات عديد المظاهر على خلايا مستهدفة متعددة ويعزز الالتهاب بشكل رئيسي عن طريق العديد من السيتوكينات والكيماوكينات ، وتعزيز الخلايا العدلات (Li-Thiao-Te *et al.*,2018).

3-4 قياس تحديد نسبة المؤشرات الدموية ا خلايا الدم البيضاء بالنسبة للحاله الصحية :

بينت نتائج الدراسة الحالية ان هناك فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية (0.01) $P <$ في معدل خلايا الدم البيضاء WBC في المصابين بالثلاسيميا بالمقارنة مع المجموعة الضابطة ، إذ ظهرت ارتفاع في معدل WBC في دم المصابين بالثلاسيميا 20.69 ng/ml , اما معدل WBC في العينة الضابطة اذ بلغ 7.7110 ng/ml . وسجلت إن هناك فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)، في معدل الخلايا العدلة NEU في المصابين بالثلاسيميا بالمقارنة مع المجموعه السيطرة اذ بينت النتيجة انخفاض في معدل NEU في دم المصابين بالثلاسيميا 47.46 ng/ml , اما معدل NEU في عينة الضابطة اذ بلغ 58.000 . وبينن ايضا الجدول (4-11) إن هناك فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، في معدل الخلايا للمفاوية LYM للمصابين بالثلاسيميا بالمقارنة مع المجموعه السيطرة اذ بلغ ارتفاع في معدل LYM في دم المصابين بالثلاسيميا 40.962 ng/ml , وكان معدل LYM في العينة الضابطة اذ بلغ 29.976 ng/ml . وأشارت الى إن هناك فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، في معدل الخلايا الوحيدة MON في المصابين بالثلاسيميا بالمقارنة مع المجموعه الاصحاء اذ سجلت ارتفاع في معدل MON في دم المصابين

بالتلاسيميا 7.503 ng/ml ، وكان معدل MON في العينة الضابطة 5.613 ng/ml ، وبين
الجدول (11-4) .

جدول (11-4) مستوى معدل خلايا الدم البيضاء بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للاصابة
بالمرض.

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
WBC g/L ^{×10}	20.693	3.248	7.711	0.225	**0.0060
NEU g/L ^{×10}	47.460	1.616	58.00	1.410	**0.0001
LYM g/L ^{×10}	40.962	1.569	29.976	0.855	**0.0001
MON g/L ^{×10}	7.503	0.448	5.613	0.249	**0.0052

**وجود فرق عالي المعنوية وتحت مستوى احتمالية (P < 0.01)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Thiengtavor *et al.*,2019) ، اظهرت
نتائج الدراسة الحالية هناك مستويات مرتفعة جدا من معدل خلايا الدم البيضاء (WBC) ومعدل
والخلايا اللمفاوية والخلايا الوحيدة والخلايا العدلة فقد زادت قيمتها في المصابين بالتلاسيميا مقارنة
مع الأصحاء. أن مرض التلاسيميا هو أحد اسباب إرتفاع خلايا الدم البيضاء التي تتكون داخل
نخاع العظم والكبد والطحال والأنسجة اللمفاوية إذ أن أصابة نخاع العظم وايضا امراض الجهاز
المناعي في مرضى التلاسيميا هي احدى أسباب زيادة خلايا الدم البيضاء بشكل غير طبيعي وتقوم
بعض خلايا الدم البيضاء (mast cells) بأفراز الهيستامين الذي يسبب أتساع الأوعية الدموية
التي تؤدي إلى حدوث حساسية في الجسم وأيضا تقوم بأفراز الهيبارين الذي يمنع تجلط الدم

للأشخاص الذين يعانون من مرضى الثلاسيميا (Piga *et al.*, 2005)، والجذور الحرة التي تولدت بسبب الحمل الزائد للحديد ، وتمسخ / أكسدة سلسلة الهيموغلوبين غير المفردة والكريات الحمراء غير الفعالة تتجاوز آليات الدفاع المضادة للأكسدة مما يسبب الإجهاد التأكسدي. تسببت حالة الأكسدة المضطربة في تلف البروتينات الخلوية والدهون والأحماض النووية خاصة تلك الموجودة في غشاء كرات الدم الحمراء التي قد تلعب دوراً مهماً في الفيزيولوجيا المرضية لثلاسيميا الدم عن طريق تقليل عمر كرات الدم الحمراء. في حالة الثلاسيميا بيتا حالة اختلال الأكسجين لدى المرضى الرئيسيين ضعيف بشكل ملحوظ عند مقارنته بالمجموعات الأخرى. بالإضافة إلى ذلك تم العثور على ارتباط إيجابي في الحديد ومستوى الفيريتين ومعدل مدة النقل وعدد خلايا الدم البيضاء والخلايا الليمفاوية (Keshk *et al.*,2019).

4-4 توزيع المؤشرات الدموية امجاميع خلايا الدم الحمراء بالنسبه للاصابة

بالمرض:

اظهرت نتائج الدراسة الحاليه ان هناك فرقا معنويا عاليا وعند مستوى احتمالية (0.01) $P <$ ، وأشارت الى انخفاض في معدل مجموعة المصابين بالثلاسيميا مقارنة بمجموعة السيطرة . وسجلت انخفاض في معدل الخلايا الدم الحمراء RBC ، الهيموغلوبين HGB ، الهيماتوكريت HCT ، حجم كريات الدم الحمراء MCV ، متوسط وزن هيموجلوبين MCH ، وسجلت ارتفاع في متوسط تركيز الهيموجلوبين MCHC ، في دم المصابين بالثلاسيميا 2.861 ng/ml ، 7.760 ng/ml ، 20.208 ng/ml ، 68.243 ng/ml ، 26.671 ng/ml ، 37.534 ng/ml على التوالي، اذ سجلت معدل HGB, RBC, MCV, MCH, MCHC مقارنة في العينة الضابطة ng/ml 5.125 ، 14.780 ng/ml ، 45.256 ng/ml ، 89.916 ng/ml ، 29.963 ng/ml ، 33.230 على التوالي . ويوضح الجدول (4-12)

جدول (4-12) مستوى معدل خلايا الدم الحمراء بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للاصابة

بالمرض.

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
RBC g\ L× ¹⁰	2.861	0.145	5.125	0.103	**0.0001
HGB g\dl	7.7600	0.279	14.780	0.349	**0.0001
HCT%	20.208	1.092	45.256	1.229	**0.0001
MCV fl	68.243	1.877	89.916	1.026	**0.0001
MCH pg	26.671	0.667	29.963	0.420	**0.0013
MCHC g\dl	37.534	1.271	33.230	0.233	**0.0196

**وجود فروق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية (P < 0.01)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Timilsena *et al.*, 2019)، اظهرت نتائج

الدراسة الحالية أن الانخفاض الكبير في مستوى تركيز و MCH و MCV و RBC و ارتقاع و

MCHC قد يكون بسبب التغير في بنية الهيموغلوبين والشكل والحجم وعدد كرات الدم الحمراء

الناجمة عن الاضطرابات في تصنيع سلسلة β- غلوبين، أن انخفاض مستوى تركيز الهيموغلوبين

بين مرضى الثلاسيميا الرئيسيين قد يكون نتيجة اضطرابات في تخليق الغلوبين ، مما أدى إلى

انخفاض معدل إنتاج واحد أو أكثر من سلسلة الهيموغلوبين β غلوبين وزيادة في نسبة ألفا غلوبين

(Rachmilewitz and Giardina , 2011) و أن الانخفاض في مستوى MCV ، RBC قد

يكون بسبب التغيرات في هيكل وتركيز الهيموغلوبين ، وكذلك بسبب صغر حجم وعدد كرات الدم

الحمراء الضئيلة ، بسبب نقص الإنتاج g- سلاسل غلوبين من الهيموغلوبين Thein and Rees,

(2011)، وأوضح الإنتاج المفرط لسلاسل ألفا غلوبين في المرضى الذين يعانون من الثلاسيميا

يؤدي إلى إنتاج خلايا الدم الحمراء غير طبيعية (microcytic ونقص الصباغية) ، قد تموت

خلايا الدم الحمراء غير الطبيعية المنتجة في نخاع العظم في المراحل المبكرة من التكوين أو تتكسر في الطحال بواسطة خلية البلاعم ، مما تسبب في انخفاض نتائج الاختبار أعلاه مقارنة بالمستويات الطبيعية (Chaichompoo *et al.*,2019).

4-5 توزيع مجاميع الدراسة للصفائح الدموية بالنسبة للإصابة بالمرض:

بينت نتائج الدراسة الحالية ان هناك وجود فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)، حيث سجلت ارتفاع في معدل الصفائح الدموية في مجموعة المصابين مقارنة بالمجموعة السيطرة ،اذ بلغ معدل عدد الصفائح الدموية PLT 405.416 ng/ml في دم مجموعته المصابين بينما كان معدل PLT 262.166 ng/ml في دم المجموعه الضابطه . كذلك سجلت الدراسة بان معدل حجم الصفائح الدموية MPV، كان 9.940 ng/ml في دم المجموعه المصابين في مرض التلاسيميا، بينما 8.290 ng/ml في دم المجموعه السيطرة و الجدول (4-13).

جدول (4-13) مستوى معدل الصفائح الدموية بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للإصابة

بالمرض.

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
PLT $\text{g/L} \times 10$	405.416	37.031	262.166	13.924	**0.0088
MPV%	9.940	0.163	8.290	0.162	**0.0001

* * يوجد فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Timilsena *et al.*,2019) ، بينت نتائج

هذه الدراسة وجود مستويات مرتفعة من معدل عدد الصفائح الدموية فقد إرتفعت قيمتها في

المصابين بالتلاسيميا مقارنة مع الأصحاء مع وجود فرق معنوي عالي ، وبذلك فأن كثرة عدد

الصفائح الدموية يعود إلى إنخفاض خلايا الدم الحمراء وأيضا ناجم عن اضطرابات في نخاع العظم وأن فقر الدم الأنحلالي هو نوع من فقر الدم الذي يدمر خلايا الدم الحمراء في إنتاج الدم (Casparyan, 2011). إذ أن زيادة تراكم الصفائح الدموية يؤدي إلى زيادة الحديد في الجسم وان زيادة في تراكم الصفائح الدموية في مرضى نتيجته وجود الكولاجين في المرضى الذين يعانون من الثلاسيميا β ، خاصةً الذين يصيبون الطحال ، قد يرتبط تراكم الصفائح الدموية بالتغيرات ، سواء بسبب نقل الدم ، أو بسبب خصائص المرض ، مثل تعرض كرات الدم الحمراء أو نوع الطفرة ، أو حتى بسبب وجود اختلافات عرقية ، وعندما يتم نقل الصفائح الدموية من المتبرعين إلى المرضى المصابين بالثلاسيميا وبالتحديد إلى الأطفال الرضع يكون خطيراً جداً على حياتهم إذ يتطلب قياساً دقيقاً للصفائح الدموية وتتأثر بعده عوامل مثل مضادات التخثر المستخدمة بعد درجة حرارة التخزين وأخذ عينات من الدم وتأخر عملية النقل (Zahedpanah *et al.*, 2018).

4-6 توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة للمؤشرات الهرمونية للاصابة بالمرض:

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى عدم وجود فرق معنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، حيث اشارت الى وجود انخفاض غير معنوي بالهرمونات T4 و LH في مجموعة المصابين مرض الثلاسيميا مقارنة بالمجموعه الضابطة ، اذ بلغ معدل T4 و LH 104.103 ng/ml ، 3.815 ng/ml على التوالي في دم المصابين بمرض الثلاسيميا ، بينما بلغ معدل T4 و LH 112.753 ng/ml ، 4.904 ng/ml على التوالي في دم المجموعه السيطره . وبيين الدراسة من جهة اخرى ان هناك فرقا عالي معنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، اذ سجلت ارتفاع في معدل T3 ، TSH ، وانخفاض FSH حيث كانت المستويات 2.387 ng/ml ، 3.268 ng/ml ، 3.407 ng/ml ، على التوالي في دم المجموعه المصابين بمرض الثلاسيميا ، بينما اشارت معدل T3 ، TSH ، FSH 1.720 ng/ml ، 1.726 ng/ml ، 6.263 ng/ml ، على التوالي في دم المجموعه الضابطة ويوضح الجدول (4-14).

جدول (4-14) مقارنة مستوى معدل الهرمونات بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للاصابة

بالمرض .

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
T4 nmoi\l	104.103	3.705	112.753	3.226	0.1343
T3 nmoi\l	2.387	0.078	1.720	0.054	**0.00010
TSH nmoi\l	3.268	0.263	1.726	0.025	**0.00010
LH nmoi\l	3.815	0.556	4.904	0.250	0.1815
FSH nmoi\l	3.407	0.374	6.263	0.210	**0.00010

**يوجد فرق عالي المعنويه وعند مستوى احتمالية (P< 0.01)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Zaghlol *et al.*,2019)، اظهرت الدراسة الحالية هنالك فرق معنوي عالي في مستويات الهرمونات قد اثبت ان اضطرابات الغدة الدرقية لدى هؤلاء المرضى مرتبط مع الحديد الزائد ، تعد التركيزات العالية من الحديد البلازمي والحديد الخلوي مسؤولة عن تكوين الجذور الحرة ونتاج انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) والتي قد تؤدي إلى تلف الخلايا والاعضاء في المرضى الذين يعانون من BTM الذين عولجوا بعلاج عملية إزالة معدن ثقيل (Abdulla and Polus, 2019) ، كذلك الى الارتباط بين العناصر Zn ,Cu وظائف الغدة الدرقية العديد والآليات المسؤولة عن اختلال وظيفة الغدة الدرقية في مرضى الثلاسيميا ، ومن المحتمل ان يكون ارتفاع هرمونات الغدة الدرقية نتيجة ارتفاع مستويات Zn و Cu في المصل بسبب ضعف التمثيل الغذائي في الجسم واستخدامه في الأنسجة لدى هؤلاء المرضى ،وقد تساهم عوامل إضافية أيضاً في زيادة Cu و Zn بما في ذلك زيادة امتصاص Zn و Cu عبر الجهاز الهضمي ، ومعدلات نقل مختلفة ، وأنواع وجرعات من علاجات الاستقلاب ، وعمر المرضى ، وحالة التغذية ، والمشاكل النفسية والصحية ، مثل الاكتئاب ، ومضاعفات التمثيل

الغذائي والغدد الصماء، وأن وظيفة الغدة الدرقية ممثلة بـ FT3 و FT4 و TSH لا ترتبط بمستوى فيريتين المصل، ويمكن تفسير غياب العلاقة بين الفيريتين وقصور الغدة الدرقية من خلال تلف الغدد الصماء الناجم عن نقص الأنسجة المزمن يكون أكثر وضوحاً من ذلك الذي يسببه داء ترسب الأوعية الدموية نتيجة لانهايار الحديد (Pirinccioglu *et al.*,2011).

وبينت نتائج هذه الدراسة ان نسبة انتشار قصور الغدد التناسلية (hypogonadism) (5.5 %) (إنخفاض في مستوى LH و FSH عن المستوى الطبيعي) وهذه النسبة هي نسبة منخفضة مقارنة مع الدراسات الأخرى ففي دراسة (Chahkandi *et al.*, 2017) كانت النسبة (71.4%) ، قصور الغدد التناسلية (Hypogonadism) هو أكثر اختلالات الغدد الصماء التي يتم الإبلاغ عنها والتي تؤثر على % 70-80 من مرضى التلاسيميا الكبرى Nienhuis *et al.*, (2012). اسباب قصور الغدد التناسلية في مرضى التلاسيميا يرجع بشكل اساسي إلى ترسب الحديد في الغدد الصماء (De Sanctis *et al.*,2015) ، قد يعود السبب وراء النسبة المنخفضة إلى كفاءة ادوية استقلاب الحديد التي لها دور في التقليل من تأثير ترسب الحديد في الانسجة (De Sanctis and Giovannini,2011) إذ كان جميع مرضى التلاسيميا في هذه الدراسة مستمرين على العلاج من سن مبكر جدا ، وهذا الهرمون LH هو الهرمون المسؤول عن الاباضة لذلك قد يكون انخفاض مستواه في الذكور طبيعياً ، ومستوى هرمون FSH إذ يظهر ان مستوى الهرمون في الاناث (JOUDA *et al.*, 2019).

7-4 توزيع مجاميع الدراسه لـ Ferritin و Creatinine بالنسبه للاصابة بالمرض:

بينت نتائج الدراسة الحالية ان هناك فرقا عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، حيث اشارت الدراسة الى وجود ارتفاع في معدل Ferritin في مجموعة المصابين مرض التلاسيميا مقارنة بالمجموعه الضابطة. اذ بلغ معدل الحديد 2770.31 ng/ml في دم مجموعه

المصابين مرض التلاسيميا ، بينما كان 39.633 ng/ml في دم مجموعته الضابطة . وبين ان هناك وجود فرق عالي معنوية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$) ، اذ اظهرت انخفاض في معدل الكرياتينين في دم المصابين بمرض التلاسيميا . اذا بلغ معدل الكرياتينين 34.672 ng/ml ، بينما بلغ معدل الكرياتينين 68.797 ng/ml في دم المجموعه السيطرة وجدول (4-15).

جدول (4-15) مستوى معدل Ferritin و Creatinine بين مجموعتي الدراسة بالنسبة

للاصابة بالمرض

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
Ferritin ng\ml	2770.31	280.885	39.633	1.782	**0.0001
Creatinine umoi\l	34.672	2.1248	68.797	1.983	**0.0001

**يوجد فرق عالي المعنويه وعند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما جاء به (Rasool *et al.*, Zaghlol *et al.*, 2019) ، اظهرت الدراسة الحالية ارتفاع مستوى Ferritin لدى مرضى التلاسيميا مقارنة بمجموعة الاصحاء مع وجود فرق معنوي عالي ، وذلك من المعروف أن المرضى الذين يعانون من التلاسيميا بيتا BTM من ضعف النمو ، وتاخر سن البلوغ نتيجة ضعف الاستجابة المناعية ، وتُعزى مسببات هذه الأمراض عادةً إلى التأثيرات السامة لحمل الحديد الزائد المرتبط بنقل الدم ، ويعاني هؤلاء المرضى أيضاً من الحديد الزائد بشكل مستقل عن نقل الدم ، ويواجه المرضى الذين يعانون من التلاسيميا الكبرى بيتا (TM) مشكلة أخرى يشار إليها باسم فرط الحديد وداء ترسب الأصبغة الدموية بسبب نقل الدم المفرط ، Ferritin هو بروتين داخل الخلايا يقوم بتخزين وكذلك إطلاق الحديد بطريقة محكمة حسب متطلبات النظام البيولوجي ومع ذلك يتم تقييم الفيريتين في

المصل كقياس غير مباشر لنقص الحديد و / أو الحديد الزائد (Rasool *et al.*,2016) وان المقياس الاول او تدبيره في حالة الثلاسيميا بيتا ، غير فعال وغير موثوق به لمستويات الحديد، يمكن استخدام التصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) لقياس محتويات الحديد في الجسم لأن التصوير بالرنين المغناطيسي يعتبر أكثر حساسية مقارنة بالتقييم الروتيني للفيريتين من المصل وتعكس المستويات المنخفضة من الفيريتين في المصل خطراً أقل للمشكلات السريرية المختلفة بالإضافة إلى بقاء أطول للمرضى الذين يعانون من الثلاسيميا، ان فقر الدم الذي يبقى طويلاً ، والحمل الزائد ، وسمية ديفيروكسامين (عامل مخلب للحديد) ونقص الأكسجة المزمن يؤديان إلى اختلالات كلوية لدى مرضى TM -B (Bhagat *et al.*,2013) وفي الدراسة الحالية ايضا لوحظ انخفاض الكرياتينين في الدم المرضى لوجود الكميات الكبيرة من الحديد في مصل هؤلاء المرضى وبالتالي فإن ذلك سيؤدي الى ترسب كميات من الحديد في انسجة الكلية مما يؤدي الى فقدان اهم وظائف الكلية وهو الترشيح الكلوي حيث تأتي نواتج الفضلات من عمليات الايض عن طريق الدم الى الكبيبات الكلوية ثم تترشح خلال الانابيب الصغيرة وهذا يحصل لدى المرضى لوجود الكميات الكبيرة من الحديد (Fatemeh Bazvand *et al.*, 2011).

4-8 توزيع مجاميع الدراسه لوظائف الكبد بالنسبة للاصابة بالمرض:

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان هناك فرقا عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية (0.01) ($P <$) ، بارتفاع لوظائف الكبد في الاشخاص المصابين مرض الثلاسيميا مقارنة للمجموعه الضابطة .اذ بلغ معدل ALT،AST،ALP،Total Bilirubin، بمعدل 38.914 ،41.765 ng\ml ، 152.457 ng\ml ، 34.412 ، على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة اذ كان معدل ALT،AST،ALP،Total Bilirubin، بمعدل 24.208 ng\ml ، 29.300 ng\ml ، 70.425 ng\ml ، 7.496 ng\ml ، على التوالي ويوضح الجدول (4-16) .

جدول (4-16) مقارنة مستوى معدل وظائف الكبد بين مجموعتي الدراسة بالنسبة للصابية

بالمرض .

Factors	Patients		Control		P Value
	Mean	Std. Error	Mean	Std. Error	
ALT u\l	38.914	4.264	24.208	1.034	**0.0178
AST u\l	41.765	3.264	29.300	1.272	**0.0097
ALP u\l	152.457	8.343	70.425	2.526	**0.00010
Total Bilirubin	34.412	4.696	7.496	0.255	**0.0001

**يوجد فرق عالي المعنوية وعند مستوى احتمالية (P< 0.01)

اتفقت نتائج الدراسة الحاليه مع ما جاء به (Raof and Daoud, 2019) ، اظهرت نتائج الدراسة وجود ارتفاع في المصابين بمرضى الثلاسيميا مع وجود فرق عالي المعنوية ، اظهرت وظائف لدى المرضى المصابين بالثلاسيميا انهم يعانون من خلل مزمن في الكبد ويشير الارتباط بين نشاط ALT والفيريتين المصلي إلى إصابة الخلايا الكبدية ،ويؤدي فرط الحديد المزمن في خلايا الكبد إلى نتائج تليف الكبد وكذلك سرطان الكبد وبالتالي يؤدي ترابط معدل الوفيات بسرطان الخلايا الكبدية (HCC) والسكري واعتلال عضلة القلب واعتلال وظائف الكبد (Rasool et al.,2016)، ويبدو أن زيادة مستوى الفيريتين في الدم يرتبط بتليف الكبد ،كذلك وجود ارتباط بين مضاعفات واضطراب الغدد الصماء وخاصة قصور الغدة الدرقية والخلايا الكبدية التي اظهرت بين المرضى وان انتشار قصور الغدة الدرقية مع زيادة الحديد في الغدة هو واحد من أكثر المضاعفات السامة والأسباب الرئيسية للوفاة وان نقص في إفراز الغدة الدرقية والغدة النخامية والتي يتم تحديدها من خلال انخفاض مستويات هرمون الغدة الدرقية بسبب تعزيز الإجهاد التأكسدي مع نقص الأوكسجين وهذا يؤدي الى سبب الحديد الزائد في الكبد وإصابات الكبد تميل إلى زيادة في

مستوى الإنزيم الكبدي (Raouf and Daoud, 2019) ، وكذلك ان دراسة انزيم (Alkaline phosphatase(ALP) في مرضى الثلاسيميا هي احدى امراض الدم الوراثية التي تمتاز بانخفاض نسبة الدم داخل خضاب الكريات الدم الاحمر حيث يتواجد انزيم في الكبد ونخاع العظم و ان القسم الاكبر من انزيم في مصل الدم يأتي من نسيج نخاع العظم ويتم افرازه في الدورة الدموية لذلك فان ارتفاع نشاط هذا الانزيم غالبا ما يرجع الى الحالات المرضية لهذا النسيج لمرضى الثلاسيميا او ربما يعود السبب الى تاثيرات الحديد على خلايا الكبد مما يؤدي الى انتقال هذا الانزيم وبكميات كبيرة الى مجرى الدم (Prakash *et al.*, 2013).

الاستنتاجات

Conclusions

الاستنتاجات Conclusions

استنتجت الدراسة الحالية مايلي :

1-زيادة تركيز مستضدات الخلايا البيض البشرية HLA-G و مجموعة تمايز CD4 و

CD8 و البين الابيضاضي IL-17A اعلى في مرضى التلاسيميا مقارنة بالأصحاء .

2- اشارت الى ان نسبته تركيز HLA-G و IL-17A بالذكور اعلى من الاناث . وبينت ان

نسبة تركيز CD4 و CD8 بالاناث اعلى من الذكور .

3- اشارت ان تركيز HLA-G في الفئة العمرية (19-27) سنة اعلى , وبينت تركيز CD4

في الفئات العمرية (1-9) سنة كانت اعلى وبينت تراكيز CD8 و IL-17A في الفئة

العمرية (10-18) سنة كانت اعلى .

4-زيادة اعداد تركيز خلايا الدم البيضاء WBC و الخلايا اللمفاوية LYM و الخلايا

الوحيدة MON و متوسط تركيز هيموغلوبين MCHC و عدد الصفيحات الدموية PLT

,MPV, في مرضى التلاسيميا مقارنة بالأصحاء . وسجلت خلايا العدلة NEU و كريات

الدم الحمراء RBC و الهيموغلوبين HGB و حجم كريات الدم MCV و

والهيماتوكريت HCT و متوسط وزن هيموغلوبين MCH في مرضى التلاسيميا اعداد اقل

مقارنة بالأصحاء .

5-زيادة تركيز الهرمونات الدرقية T3, TSH , الهرمونات الجنسية LH وضائف الكبد

ALT , ATP, AST و Ferritin و Bilirubin Total في مرضى التلاسيميا مقارنة

بالأصحاء . وضمنت T4 و الكرياتينين في مرضى التلاسيميا اقل مقارنة بالأصحاء .

التوصيات

RECOMMENDATIONS

Recommendations

التوصيات

اظهرت الدراسة الحالية التوصيات كل ما ياتي :

- 1- يجب اجراء حملات واسعة للتوعية ومستمرة بشكل عام من قبل وزارة الصحة عن خطورة هذا المرض واهمية اجراء الفحوصات قبل الزواج .
- 2- اجراء الفحص المناعي لـ HLA-G لدوره كمتنبئ بالحالة الصحية في المرضى الذين يعانون من أورام أو عدوى. الهدف المستقبلي للمجتمع العلمي هو تحديد وتوحيد التطبيقات السريرية لتحليل HLA-G ، من أجل إدخال هذا الجزء في الاختبارات الروتينية التي قد تساعد في تشخيص المرض ومتابعة المرضى.
- 3- اجراء الفحص المؤشرات المناعية IL-17A ,CD4,CD8 كعامل تنبؤي بالحالة الصحية لدى مرضى في المستشفيات .
- 4- اجراء الفحص و دراسة لتقييم مستوى هرمون النمو في مرضى الثلاسيميا.
- 5- اجراء الفحص نسبة الحديد الموجودة في الدم لتجنب مضاعفات تحميل الحديد الزائد .
- 6- اختبار الثلاسيميا (الترحيل الكهربائي للهيموغلوبين) ، thalassemia test) Hemoglobin electrophoresis : الفحص المخبري للتحقق من نقصان او زيادة أنواع مختلفة من الهيموجلوبين الموجود في الدم (الهيموغلوبين هو المادة في خلايا الدم الحمراء التي تحمل الأكسجين) ويعد الهيموغلوبين A من الأنواع الأكثر شيوعا ونقصانه يؤدي الى الاصابة بالثلاسيميا اما بالنسبة لهيموغلوبين F فان زيادته تؤدي الى الاصابة بالثلاسيميا

المصادر

REFERENCES

المصادر باللغة الانكليزية :

- ❖ Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2019). *Basic Immunology E-Book: Functions and Disorders of the Immune System*. Elsevier Health Sciences.
- ❖ Abdulla, J. A., & Polus, R. K. (2019). Assessment of Thyroid Function in patients with β -Thalassaemia Major and Intermedia: A comparative Study. *Diyala Journal of Medicine*, 17(2), 115-126.
- ❖ Adegoke, S. A., Smith, O. S., Adekile, A. D., & Figueiredo, M. S. (2017). Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and inflammatory cytokines in paediatric sickle cell disease. *Cytokine*, 96, 87-93.
- ❖ Agarwal, R. K., Kumari, A., Sedai, A., Parmar, L., Dhanya, R., & Faulkner, L. (2017). The case for high resolution extended 6-loci hla typing for identifying related donors in the Indian subcontinent. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 23(9), 1592-1596.
- ❖ Ajith, A., Portik-Dobos, V., Horuzsko, D. D., Kapoor, R., Mulloy, L. L., & Horuzsko, A. (2020). HLA-G and humanized mouse models as a novel therapeutic approach in transplantation. *Human Immunology*.
- ❖ Akcalı, A., Kahraman Çeneli, S., Gümüş, P., Buduneli, N., Lappin, D. F., & Özçaka, Ö. (2015). The association between thalassemia major and periodontal health. *Journal of periodontology*, 86(9), 1047-1057..
- ❖ Alassane, D., Fatou, C., Fatou, G. T., Fatou, D., Oumar, T. F., Ndéné, S. G., ... & Méïssa, T. (2014). Serum lipids and oxidized low density lipoprotein levels in sickle cell disease: assessment and pathobiological significance. *African Journal of Biochemistry Research*, 8(2), 39-42.
- ❖ Al-Hafidh, N. M., & Younis, M. S. (2019). Efficacy of Deferasirox Median Dose of 30 mg/kg/day in Pediatric Patients with β -Thalassemia Major during One Year Follows-up Therapy. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*, 10(03), 69-72.

- ❖ Allali, S., Dietrich, C., Machavoine, F., Rignault-Bricard, R., Brousse, V., de Montalembert, M., ... & Leite-de-Moraes, M. (2019). Innate-like T cells in children with sickle cell disease. *PloS one*, 14(6).
- ❖ Al-Zwaini, I. J. (2018). Introductory Chapter: Thalassemia-An Overview. In *Thalassemia and Other Hemolytic Anemias*. IntechOpen.
- ❖ Andhale, R., Ahmad, S. A., Lodha, S., & Wankhade, V. (2019). Kidney Functions and Physiological Complications in Pediatric Thalassemia Patients of Indian Origin. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, 23(3).
- ❖ Ansari, S., Rashid, N., Hanifa, A., Siddiqui, S., Kaleem, B., Naz, A., ... & Khan, T. (2019). Laboratory diagnosis for thalassemia intermedia: Are we there yet?. *Journal of clinical laboratory analysis*, 33(1), e22647.
- ❖ Ayadi, A., Nafari, A. H., Irani, S., Mohebbi, E., Mohebbi, F., Sakhaee, F., ... & Fateh, A. (2019). Occult hepatitis C virus infection in patients with beta-thalassemia major: Is it a neglected and unexplained phenomenon?. *Journal of cellular biochemistry*, 120(7), 11908-11914.
- ❖ Aydin, S., Ugur, K., Aydin, S., Sahin, İ., & Yardim, M. (2019). Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vascular health and risk management*, 15, 1.
- ❖ Baharlou, R., Davami, M. H., Ahmadi-Vasmehjani, A., & Ebrahimi, M. (2016). Increased IL-17 and TGF- β serum levels in peripheral blood of patients with β -thalassemia major: implication for continual transfusions role in T helper 17-mediated proinflammatory responses. *Turkish journal of medical sciences*, 46(3), 749-755.
- ❖ Bandyopadhyay, U., Kundu, D., Sinha, A., Banerjee, K., Bandyopadhyay, R., Mandal, T., & Ray, D. (2013). Conservative management of Beta-thalassemia major cases in the sub-division level hospital of rural West Bengal, India. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4(1), 108.

- ❖ Bhagat, S. S., Sarkar, P. D., Suryakar, A. N., Padalkar, R. K., Ghone, R. A., Patil, S. M., & Hundekar, P. S. (2013). Attenuation of serum ferritin and iron burden by intake of antioxidants in beta thalassemia major.
- ❖ Bienz, M. N., Hsia, C., Wayne, J. S., Bode, M., & Solh, Z. (2019). A Novel Human β -Globin Gene Variant [Hb London-Ontario, HBB: c. 332T> G] is Associated with Transfusion-Dependent Anemia in a Patient with a Hemoglobin Electrophoresis Pattern Consistent with β -Thalassemia Trait. *Hemoglobin*, 43(2), 129-131.
- ❖ Biffi, A. (2018). Gene therapy as a curative option for beta-thalassemia. *N Engl J Med*, 378(16), 1551-1552.
- ❖ Blüthner, E., Bednarsch, J., Pape, U. F., Karber, M., Maasberg, S., Gerlach, U. A., ... & Stockmann, M. (2020). Advanced liver function assessment in patients with intestinal failure on long-term parenteral nutrition. *Clinical Nutrition*, 39(2), 540-547.
- ❖ Borregaard, N. (2010). Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*, 33(5), 657-670.
- ❖ Bortolotti, D., Vitali, E., Stendardo, M., Fucili, A., Rizzo, R., & Boschetto, P. (2019). Plasma soluble HLA-G levels in a cohort of heart failure patients exposed to chemicals. *Human Immunology*.
- ❖ Busch, R., Kollnberger, S., & Mellins, E. D. (2019). HLA associations in inflammatory arthritis: emerging mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Rheumatology*, 15(6), 364-381.
- ❖ Castelli, E. C., Mendes-Junior, C. T., Deghaide, N. H. S., De Albuquerque, R. S., Muniz, Y. C. N., Simoes, R. T., ... & Donadi, E. A. (2010). The genetic structure of 3' untranslated region of the HLA-G gene: polymorphisms and haplotypes. *Genes & Immunity*, 11(2), 134-141.
- ❖ Chahkandi, T.; Norouziasl, S.; Farzad, M.; and Ghanad, F. (2017). Endocrine Disorders in Beta thalassemia Major Patients. *International Journal of Pediatrics*, 5(8): 5531-5538.

- ❖ Chaichompoo, P., Qillah, A., Sirankapracha, P., Kaewchuchuen, J., Rimthong, P., Paiboonsukwong, K., ... & Worawichawong, S. (2019). Abnormal red blood cell morphological changes in thalassaemia associated with iron overload and oxidative stress. *Journal of clinical pathology*, 72(8), 520-524.
- ❖ Chambers, C. B., Gross, J., Pratt, K., Guo, X., Byrnes, C., Lee, Y. T., ... & Wilber, A. (2020). The mRNA-Binding Protein IGF2BP1 Restores Fetal Hemoglobin in Cultured Erythroid Cells from Patients with β -Hemoglobin Disorders. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, 17, 429-440.
- ❖ Chen, W. C., Gau Sr, J. P., Hsiao, L. T., Liu, C. J., LIU, Y. C., Wang, H. Y., ... & Chiou, T. J. (2019). The Impact of HLA Mismatch Direction on the Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in AML Patients.
- ❖ Chevallereau, A., Meaden, S., van Houte, S., Westra, E. R., & Rollie, C. (2019). The effect of bacterial mutation rate on the evolution of CRISPR-Cas adaptive immunity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1772), 20180094.
- ❖ Ciccarelli, F., De Martinis, M., & Ginaldi, L. (2014). An update on autoinflammatory diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 21(3), 261-269.
- ❖ Copyright © 2019 www.kinderblutkrankheiten.de Autor: PD Dr. med. Holger Cario, erstellt am 01.02.2012, Redaktion: Ingrid Grüneberg, Übersetzung: Dr. med. Dani Hakimeh,
- ❖ Craenmehr, M. H., Haasnoot, G. W., Drabbels, J. J., Spruyt-Gerritse, M. J., Cao, M., van der Keur, C., ... & van der Hoorn, M. L. P. (2019). Soluble HLA-G levels in seminal plasma are associated with HLA-G 3' UTR genotypes and haplotypes. *Hla*, 94(4), 339-346.
- ❖ Cullis, J. O., Fitzsimons, E. J., Griffiths, W. J., Tsochatzis, E., Thomas, D. W., & British Society for Haematology. (2018). Investigation and

management of a raised serum ferritin. *British journal of haematology*, 181(3), 331-340.

- ❖ Dahl, M., Perin, T. L., Djuriscic, S., Rasmussen, M., Ohlsson, J., Buus, S., ... & Hviid, T. V. F. (2014). Soluble human leukocyte antigen-G in seminal plasma is associated with HLA-G genotype: possible implications for fertility success. *American Journal of Reproductive Immunology*, 72(1), 89-105.
- ❖ Daraghmeh, N. M. (2016). Management and Complications of Thalassemic Patients in Palestine: Retrospective Study (Doctoral dissertation).
- ❖ De Sanctis, V. S. and Giovannini, M. (2011). Endocrine histology findings in a prepubertal thalassemic girl with multiple endocrine complications secondary to iron overload. *Georgian medical news*. (193): 51-55.
- ❖ De Sanctis, V., Kattamis, C., Canatan, D., Soliman, A. T., Elsedfy, H., Karimi, M., ... & Sobti, P. (2017). β -Thalassemia distribution in the old world: an ancient disease seen from a historical standpoint. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 9(1).
- ❖ De Sanctis, V., Soliman, A. T., Yassin, M. A., Di Maio, S., Daar, S., Elsedfy, H., ... & Kattamis, C. (2018). Hypogonadism in male thalassemia major patients: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Acta bio-medica: Atenei Parmensis*, 89(Suppl 2), 6.
- ❖ De Sanctis, V.; Soliman, A. T.; Elsedfy, H.; Soliman, N. A.; and Elalaily, R. (2015). Late-onset male hypogonadism and fertility potential in thalassemia major patients: two emerging issues. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 7(1).
- ❖ Demissie, E., Mahajan, V. S., Alsufyani, F., Kumari, S., Yuen, G. J., Viswanadham, V., ... & Pillai, S. (2019). DOCK2 sets the threshold for entry into the virtual memory CD8⁺ T cell compartment by negatively regulating tonic TCR triggering. *bioRxiv*, 582486.

- ❖ Dendrou, C. A., Petersen, J., Rossjohn, J., & Fugger, L. (2018). HLA variation and disease. *Nature Reviews Immunology*, *18*(5), 325.
- ❖ Drummond, R. A., & Lionakis, M. S. (2019, May). Organ-specific mechanisms linking innate and adaptive antifungal immunity. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 89, pp. 78-90). Academic Press.
- ❖ Elsayh, K. I., Mohammed, W. S., Zahran, A. M., & Saad, K. (2016). Leukocytes apoptosis and adipocytokines in children with beta thalassemia major. *Clinical and experimental medicine*, *16*(3), 345-350.
- ❖ El-Shanshory, M., Hablas, N. M., Aboonq, M. S., Fakhreldin, A. R., Attia, M., Arafa, W., ... & Nabo, M. M. H. (2019). Nigella sativa improves anemia, enhances immunity and relieves iron overload-induced oxidative stress as a novel promising treatment in children having beta-thalassemia major. *Journal of Herbal Medicine*, *16*, 100245.
- ❖ El-Shansory, M. R., Awad, M. E. A., & Soliman, H. H. (2018). Hepatitis C Virus in Thalassemia. *Thalassemia and Other Hemolytic Anemias*, 77.
- ❖ Farashi, S., & Harteveld, C. L. (2018). Molecular basis of α -thalassemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, *70*, 43-53.
- ❖ Fatemeh Bazvand, Sedigheh Shams, Mahtab Borji Esfaahani, Lili Koochakzadeh, Maryam Monajemzadeh (2011), Total Antioxidant Status in patients with major β -Iran JPediatr.;21(2):159-165.).
- ❖ Galanello, R., & Origa, R. (2010). Beta-thalassemia. *Orphanet journal of rare diseases*, *5*(1), 11.
- ❖ Garcia, N. P., Júnior, A. L. S., Soares, G. A. S., Costa, T. C. C., dos Santos, A. P. C., Costa, A. G., ... & de Paula, E. V. (2020). Sick Cell Anemia Patients Display an Intricate Cellular and Serum Biomarker Network Highlighted by TCD4. *Journal of Immunology Research*, 2020.

- ❖ Gaudio, A., Morabito, N., Catalano, A., Rapisarda, R., Xourafa, A., & Lasco, A. (2019). Pathogenesis of thalassemia major-associated osteoporosis: a review with insights from clinical experience. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, *11*(2), 110.
- ❖ Gharagozloo, M., Karimi, M., & Amirghofran, Z. (2013). Immunomodulatory effects of silymarin in patients with β -thalassemia major. *International immunopharmacology*, *16*(2), 243-247.
- ❖ Ghimire, M. R., Thapa, S. G., Thapa, L., & Soti, B. (2019). Awareness among Adult Females about Thyroid Disorder attending Neuro and Allied Clinic, Bhairahawa, Rupandehi, Nepal. *Journal of Universal College of Medical Sciences*, *7*(2), 9-14.
- ❖ Gragert, L., Eapen, M., Williams, E., Freeman, J., Spellman, S., Baitty, R., ... & Maiers, M. (2014). HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the US registry. *New England Journal of Medicine*, *371*(4), 339-348.
- ❖ Helmi, N., Bashir, M., Shireen, A., & Ahmed, I. M. (2017). Thalassemia review: features, dental considerations and management. *Electronic physician*, *9*(3), 4003.
- ❖ Hodroj, M. H., Bou-Fakhredin, R., Nour-Eldine, W., Noureldine, H. A., Noureldine, M. H. A., & Taher, A. T. (2019). Thalassemia and malignancy: An emerging concern?. *Blood reviews*.
- ❖ Hope, R.A., Longmore, J.M., Maunus, S.K. and Wood Allum, C.A. (2010). "Oxford handbook of clinical medicine" 8thed. Oxford University Press.109-125.
- ❖ Horkova, V., Drobek, A., Mueller, D., Gubser, C., Niederlova, V., Wyss, L., ... & Stepanek, O. (2020). Dynamics of the Coreceptor-LCK Interactions during T Cell Development Shape the Self-Reactivity of Peripheral CD4 and CD8 T Cells. *Cell reports*, *30*(5), 1504-1514.
- ❖ Intlekofer, K. A., Clements, K., Woods, H., Adams, H., Suvorov, A., & Petersen, S. L. (2019). Progesterone receptor membrane component 1

inhibits tumor necrosis factor alpha induction of gene expression in neural cells. *PloS one*, 14(4).

- ❖ Janka, G. E. (2019). History of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. In *Cytokine Storm Syndrome* (pp. 3-16). Springer, Cham.
- ❖ Janovsky, C. C. P. S., Bittencourt, M. S., Goulart, A., Lotufo, P. A., & Bensenor, I. M. (2019, May). NMR-measured subfractions of HDL-cholesterol through thyroid function spectrum. In *21st European Congress of Endocrinology* (Vol. 63). BioScientifica.
- ❖ Jeddoa, Z. M. A., jabbar Rahi, S., & Ali, A. A. A. (2011). Immunological Evaluation of Patients with B-Thalassemia Major in Kerbala City Using Single Radial Immunodiffusion (SRID) Techniqu *Karbala Journal of Medicine*, 4(9), 939-943.
- ❖ Jouda, j., ghazzay, r. A., & al-mosawy, w. F. (2019). Effect of age, and spleen and treatment status on male reproductive hormones and some physiological parameter levels in patients with beta-thalassemia major. *Asian j pharm clin res*, 12(5), 213-216.
- ❖ Kadhim, K. A., Baldawi, K. H., & Lami, F. H. (2017). Prevalence, incidence, trend, and complications of thalassemia in Iraq. *Hemoglobin*, 41(3), 164-168.
- ❖ Kang, T. H., & Jung, S. T. (2020). Reprogramming the Constant Region of Immunoglobulin G Subclasses for Enhanced Therapeutic Potency against Cancer. *Biomolecules*, 10(3), 382.
- ❖ Keshk, W. A., Hablas, N. M., Esheba, N. E. S., & Abd Elsalam, S. A. (2019). Crosstalk between cytokine profile, redox, and iron status in β -Thalassemia: relation to frequency/duration of blood transfusion. *Pediatric hematology and oncology*, 36(3), 151-160.
- ❖ Kesuma, Y., Firmansyah, A., Bardosono, S., Sari, I. P., & Kurniawan, A. (2019). Blastocystis ST-1 is associated with Irritable Bowel Syndrome-diarrhoea (IBS-D) in Indonesian adolescences. *Parasite epidemiology and control*, 6, e00112.

- ❖ Kim, W. R., Flamm, S. L., Di Bisceglie, A. M., & Bodenheimer, H. C. (2008). Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology*, *47*(4), 1363-1370.
- ❖ Kontoghiorghe, G. J., Kleanthous, M., & Kontoghiorghe, C. N. (2020). The history of Deferiprone (L1) and the paradigm of the complete treatment of iron overload in thalassaemia. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, *12*(1).
- ❖ Kuchroo, V. K., Regev, A., Gaublomme, J., Lee, Y., Shalek, A. K., Wang, C., ... & Park, H. (2020). U.S. Patent Application No. 16/675,398.
- ❖ La Nasa, G., Vacca, A., Littera, R., Piras, E., Orru, S., Greco, M., ... & Caocci, G. (2016). What unrelated hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia taught us about transplant immunogenetics. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, *8*(1).
- ❖ Lahiry, P., Al-Attar, S. A., & Hegele, R. A. (2008). Understanding beta-thalassemia with focus on the Indian subcontinent and the Middle East. *The open hematology journal*, *2*(1).
- ❖ Lala, V., & Minter, D. A. (2020). Liver function tests. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- ❖ Lázaro-Sánchez, A. D., Salces-Ortiz, P., Velásquez, L. I., Orozco-Beltrán, D., Díaz-Fernández, N., & Juárez-Marroquí, A. (2019). HLA-G as a new tumor biomarker: detection of soluble isoforms of HLA-G in the serum and saliva of patients with colorectal cancer. *Clinical and Translational Oncology*, 1-6.
- ❖ Lee, Y. K., Kim, H. J., Lee, K., Park, S. H., Song, S. H., Seong, M. W., ... & Han, J. Y. (2019). Recent progress in laboratory diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathy: a study by the Korean Red Blood Cell Disorder Working Party of the Korean Society of Hematology. *Blood research*, *54*(1), 17-22.

- ❖ Legat, A., Speiser, D. E., Pircher, H., Zehn, D., & Fuertes Marraco, S. A. (2013). Inhibitory receptor expression depends more dominantly on differentiation and activation than “exhaustion” of human CD8 T cells. *Frontiers in immunology*, 4, 455.
- ❖ Li-Thiao-Te, V., Uettwiller, F., Quartier, P., Lacaille, F., Bader-Meunier, B., Brousse, V., & de Montalembert, M. (2018). Coexistent sickle-cell anemia and autoimmune disease in eight children: pitfalls and challenges. *Pediatric Rheumatology*, 16(1), 5.
- ❖ Liu, Y., Cuendet, M. A., Goffin, L., Šachl, R., Cebecauer, M., Cariolato, L., ... & Luescher, I. F. (2019). CD8 Binding of MHC-Peptide Complexes in cis or trans Regulates CD8+ T-cell Responses. *Journal of molecular biology*, 431(24), 4941-4958.
- ❖ Lubis, D. A., & Yunir, E. M. (2018, March). Endocrinopathies in thalassemia major patient. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 125, No. 1, p. 012174). IOP Publishing.
- ❖ Luo, Y., Bajoria, R., Lai, Y., Pan, H., Li, Q., Zhang, Z., ... & Liang, Y. (2019). Prevalence of abnormal glucose homeostasis in Chinese patients with non-transfusion-dependent thalassemia. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 12, 457.
- ❖ Mahmood, E.I (2019).Evaluation of thyroid, Anterior pituitary hormones,hepatitis B & C for β -thalassemia patient in Diyala province. Thesis.
- ❖ Mattuella, L. G., Bernardi, L., Zambra, F. M. B., Campagnaro, M. B., Oppermann, R. V., Xavier, L. L., ... & Miranda, L. A. (2020). Human leukocyte antigen-G polymorphisms in periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 78(2), 141-145.
- ❖ Mehmetçik, G. (2019). Estimation of MDA, CRP and Some hematological parameters in the mature Cypriot Thalassemia patients. *ZANCO Journal of Pure and Applied Sciences*, 31(s4), 143-149.

- ❖ Mettananda, S. (2018). Management of Thalassaemia. *Sri Lanka Journal of Child Health*.47(2): 159-165.
- ❖ Mohammed, Z. H., Mohamed, G. B., Abdelhakeem, G. L., & Monir, A. M. (2019). Assessment of plasma CD3, CD4 and CD8 levels in β -thalassemic patients with different treatment modalities. *Kuwait Medical Journal*, 1(2).
- ❖ Morales-Yáñez, F., Trashin, S., Hermy, M., Sariago, I., Polman, K., Muyldermans, S., & De Wael, K. (2019). Fast one-step ultrasensitive detection of toxocara canis antigens by a nanobody-based electrochemical magnetosensor. *Analytical chemistry*, 91(18), 11582-11588.
- ❖ Morandi, F., Rizzo, R., Fainardi, E., Rouas-Freiss, N., & Pistoia, V. (2016). Recent advances in our understanding of HLA-G biology: lessons from a wide spectrum of human diseases. *Journal of immunology research*, 2016.
- ❖ A- Musallam, K. M., Cappellini, M. D., & Taher, A. T. (2013). Evaluation of the 5 mg/g liver iron concentration threshold and its association with morbidity in patients with β -thalassemia intermedia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 51(1), 35-38.
- ❖ B -Musallam, K. M., Rivella, S., Vichinsky, E., & Rachmilewitz, E. A. (2013). Non-transfusion-dependent thalasseмии. *haematologica*, 98(6), 833-844.
- ❖ Muslim, Ibn Al-Hajjaj. Sahih Muslim.(2015) (Correct prophet's sayings in Arabic). Book of Al-salam (peace). Chapter of treatment using black cumin (nigella sativa) Page 936. Hadeeth no. 2215. 2nd ed. El-Risala publisher.
- ❖ Nienhuis, A. W.; and Nathan, D. G. (2012). Pathophysiology and clinical manifestations of the β -thalassemias. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2(12): a011726.

- ❖ O'Shea, J. J., Gadina, M., & Siegel, R. M. (2019). Cytokines and cytokine receptors. In *Clinical immunology* (pp. 127-155). Content Repository Only!.
- ❖ Owens, Judith A., Punt, Jenni, Stranford, Sharon A., Jones, Patricia P. (2013). *Kuby Immunology* (7th ed.). New York: W.H. Freeman. pp. 100–101.
- ❖ Padgett, L. E., Broniowska, K. A., Hansen, P. A., Corbett, J. A., & Tse, H. M. (2013). The role of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in type 1 diabetes pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 16.
- ❖ Patel, K. R., Roberts, J. T., & Barb, A. W. (2019). Multiple variables at the leukocyte cell surface impact Fc γ receptor-dependent mechanisms. *Frontiers in immunology*, 10.
- ❖ Paul, A., Thomson, V. S., Refaat, M., Al-Rawahi, B., Taher, A., & Nadar, S. K. (2019). Cardiac involvement in beta-thalassaemia: current treatment strategies. *Postgraduate medicine*, 131(4), 261-267.
- ❖ Perera, S., Bonsall, D., Niriella, M. A., Allen, A., Peries, A. C., Nelumdeniya, U. B., ... & Weatherall, D. J. (2020). Transfusion-transmitted hepatitis C: A cluster of cases in transfusion-dependent thalassaemia patients in Sri Lanka. *Transfusion Medicine*.
- ❖ Pidala, J., Kim, J., Schell, M., Lee, S. J., Hillgruber, R., Nye, V., ... & Fernandez, H. F. (2013). Race/ethnicity affects the probability of finding an HLA-A,-B,-C and-DRB1 allele-matched unrelated donor and likelihood of subsequent transplant utilization. *Bone marrow transplantation*, 48(3), 346-350.
- ❖ Pirinççioğlu, A. G., Deniz, T., Gökalp, D., Beyazit, N., Haspolat, K., & Söker, M. (2011). Assessment of thyroid function in children aged 1-13 years with Beta-thalassaemia major. *Iranian journal of pediatrics*, 21(1), 77.

- ❖ Prakash I.Shah.RameshK.Goyal, MehulGosai,C B Tripathi.(2013) Protective actions of wheatgrass capsules in patients with thalassemia major.PHARMA SCIENCE MONITOR, ,4;296 -302).
- ❖ Raof, I. B., & Daoud, A. G. (2019). Diagnostic efficiency of Alpha Feto Protein, Hypothyroidism in Thalassemic patients with Liver Damage. *Age*, 10(30), 18.
- ❖ Rasko, J., Walters, M., Kwiatkowski, J., Hongeng, S., Porter, J., Sauer, M., ... & Deary, B. (2019). Efficacy and safety of LentiGlobin gene therapy in patients with transfusion-dependent β -thalassemia and non- $\beta 0/\beta 0$ genotypes: Updated results from the completed phase 1/2 Northstar and ongoing phase 3 Northstar-2 studies. *Cytotherapy*, 21(5), S14.
- ❖ Rasool, M., Malik, A., Jabbar, U., Begum, I., Qazi, M. H., Asif, M., ... & Jamal, M. S. (2016). Effect of iron overload on renal functions and oxidative stress in beta thalassemia patients. *Saudi medical journal*, 37(11), 1239.
- ❖ Rutten, M. J., Dijk, F., Savci-Heijink, C. D., Buist, M. R., Kenter, G. G., van de Vijver, M. J., & Jordanova, E. S. (2014). HLA-G expression is an independent predictor for improved survival in high grade ovarian carcinomas. *Journal of immunology research*, 2014.
- ❖ Schwich, E., Rebmann, V., Horn, P. A., Celik, A. A., Bade-Döding, C., Kimmig, R., ... & Buderath, P. (2019). Vesicular-Bound HLA-G as a Predictive Marker for Disease Progression in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancers*, 11(8), 1106.
- ❖ Scott, M. D. (2019). Model Human β Thalassemic Erythrocytes: Effect of Unpaired Purified α -Hemoglobin Chains on Normal Erythrocytes. In *Beta Thalassemia*. IntechOpen.
- ❖ Sehatpour, F., Salehi, A., Vardanjani, H. M., Poustchi, H., Gandomkar, A., & Malekzadeh, R. (2020). Upper Normal Limit of Serum Alanine Aminotransferase and Its Association with Metabolic Risk Factors in

Pars Cohort Study. *Middle East Journal of Digestive Diseases*, 12(1), 19.

- ❖ Shahrabi, S., Hadad, E. H., Asnafi, A. A., Behzad, M. M., Ehsanpour, A., & Saki, N. (2019). Human leukocyte antigens in cancer metastasis: Prognostic approach and therapeutic susceptibility. *Histol Histopathol*, 34, 111-124.
- ❖ Sharba, I.R. M. (2015). Role of Some Biomarkers on B-thalassemic Women. Sciences/Kufa University.
- ❖ Shin, B., Benavides, G. A., Geng, J., Koralov, S. B., Hu, H., Darley-Usmar, V. M., & Harrington, L. E. (2020). Mitochondrial Oxidative Phosphorylation Regulates the Fate Decision between Pathogenic Th17 and Regulatory T Cells. *Cell Reports*, 30(6), 1898-1909.
- ❖ Sizzano, F., Testi, M., Zito, L., Crocchiolo, R., Troiano, M., Mazzi, B., ... & Chiesa, R. (2012). Genotypes and haplotypes in the 3' untranslated region of the HLA-G gene and their association with clinical outcome of hematopoietic stem cell transplantation for beta-thalassemia. *Tissue Antigens*, 79(5), 326-332.
- ❖ Sollaino, M. C., Paglietti, M. E., Perseu, L., Giagu, N., Loi, D., & Galanello, R. (2009). Association of α globin gene quadruplication and heterozygous β thalassemia in patients with thalassemia intermedia. *Haematologica*, 94(10), 1445-1448.
- ❖ Sompayrac, L. M. (2019). How the immune system works. John Wiley & Sons.
- ❖ Spampinato, M., Murabito, P., Raffaele, M., Vanella, L., Licari, M., Distefano, A., ... & Tibullo, D. (2019). N-ACETYLCYSTEINE RESTORES ENDOGENOUS ANTIOXIDANT SYSTEM IN HUMAN BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE EXTRACT.
- ❖ Swearingen, C., Colvin, Z. A., & Leuthner, S. R. (2020). Nonimmune Hydrops Fetalis. *Clinics in Perinatology*, 47(1), 105-121.

- ❖ Taher, A. T., & Saliba, A. N. (2017). Iron overload in thalassemia: different organs at different rates. *Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book, 2017(1)*, 265-271.
- ❖ Taher, A. T., Weatherall, D. J., & Cappellini, M. D. (2018). Thalassaemia. *The Lancet*, 391(10116), 155-167.
- ❖ Tari, K., Valizadeh Ardalan, P., Abbaszadehdibavar, M., Atashi, A., Jalili, A., & Gheidishahran, M. (2018). Thalassemia an update: molecular basis, clinical features and treatment. *International Journal of Biomedicine and Public Health*, 1(1), 48-58.
- ❖ Thein ,S.L. ; and Rees ,D .(2011) Postgraduate Haematology.6 ED. Hoffbrand. Oxford.UK.
- ❖ Thein, S. L. (2013). The molecular basis of β -thalassemia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(5), a011700.
- ❖ Thein, S. L. (2018). Molecular basis of β thalassemia and potential therapeutic targets. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 70, 54-65.
- ❖ Thiengtavor, C., Siriworadetkun, S., Paiboonsukwong, K., Fucharoen, S., Pattanapanyasat, K., Vadolas, J., ... & Chaichompoo, P. (2019). Increased ferritin levels in non-transfusion-dependent β^0 -thalassaemia/HbE are associated with reduced CXCR2 expression and neutrophil migration. *British Journal of Haematology*.
- ❖ Timilsena, S., Ardsiri, S., Lerdwana, S., Manandhar, K. D., Pattanapanyasat, K., & Noolsri, E. (2019). Accuracy of lymphocyte counts from UniCel DxH 800 in β -thalassemia/HbE patients having various numbers of nucleated red blood cells. *Asian Pacific journal of allergy and immunology*.
- ❖ Torre, L. D. C. R. D. L., Díaz, F. J. P., Cortés, B. I., López, V. M. R., López, J. Y. S., Anzaldo, F. J. S., ... & Bonello-Palot, N. (2019). Three Mexican Families with β thalassemia intermedia with different molecular basis. *Genetics and Molecular Biology*, 42(4).

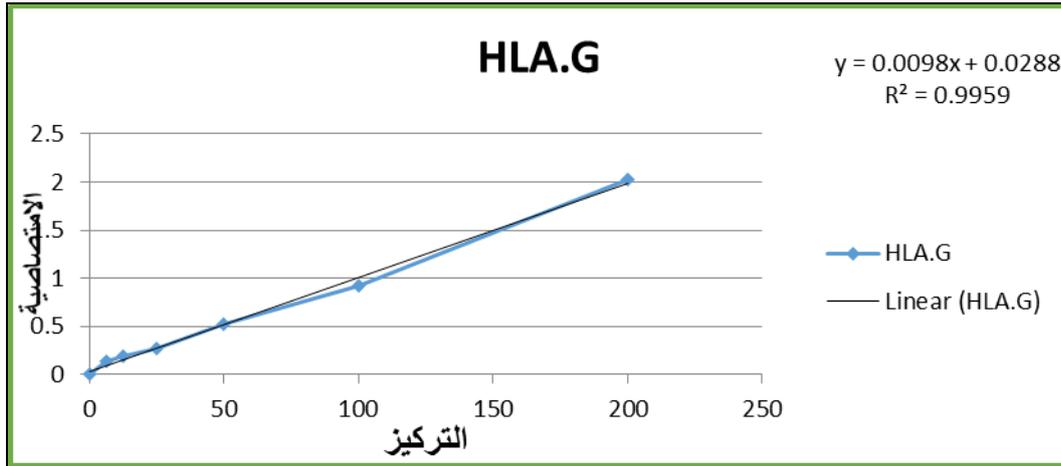
- ❖ Toubi, E., & Vadasz, Z. (2019). Innate immune-responses and their role in driving autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 18(3), 306-311.
- ❖ Vichinsky, E. P. (2019). Overview of variant sickle cell syndromes. *UpToDate*. Retrieved July, 20, 2019.
- ❖ Vilas-Boas, W., Veloso Cerqueira, B. A., Figueiredo, C. V., Santiago, R. P., da Guarda, C. C., Pitanga, T. N., ... & Goncalves, M. D. S. (2016). Association of homocysteine and inflammatory-related molecules in sickle cell anemia. *Hematology*, 21(2), 126-131.
- ❖ Viprakasit, V., & Ekwattanakit, S. (2018). Clinical classification, screening and diagnosis for thalassemia. *Hematology/Oncology Clinics*, 32(2), 193-211.
- ❖ Wang, D., Zhu, B., Liu, X., Han, Q., Ge, W., Zhang, W., ... & Shi, L. (2020). Daphnetin Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Through Regulating Heme Oxygenase-1. *Neurochemical Research*, 45(4), 872-881.
- ❖ Yassin, M. M., Sirdah, M., Al Haddad, R. M., Lubbad, A. M. M., & Al-Yazji, M. S. (2013). Genotype-phenotype characteristics of β thalassemia children in the Gaza Strip, Palestine. *Genotype-phenotype characteristics of β thalassemia children in the Gaza Strip, Palestine*, 2.
- ❖ Yuri Gasparyan, A., Ayvazyan, L., P Mikhailidis, D., & D Kitas, G. (2011). Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation?. *Current pharmaceutical design*, 17(1), 47-58.
- ❖ Zaghlol, M. S., Al-Sayed, M. T., Yonis, M. M., & Mohamed, A. Q. (2019). Thyroid functions and levels of some trace elements in children with beta-thalassemia major. *Al-Azhar Assiut Medical Journal*, 17(3), 215.
- ❖ Zahedpanah, M., Azarkeivan, A., Ahmadinejad, M., Tabatabaiee, M. R., Hajibeigi, B., & Maghsudlu, M. (2018). Evaluation of platelet aggregation in splenectomized beta-thalassemia major and intermedia patients. *Journal of Applied Hematology*, 9(4), 126.

- ❖ Zahra, T., Amber, W., & Fatima, I. (2019). Effect of Combined Hydroxyurea and Chelation Therapy in Reducing Serum Ferritin Level, Liver and Spleen Size in Transfusion Dependent Thalassaemia Major Patients. *Journal of Rawalpindi Medical College*, 23(1), 30-33.

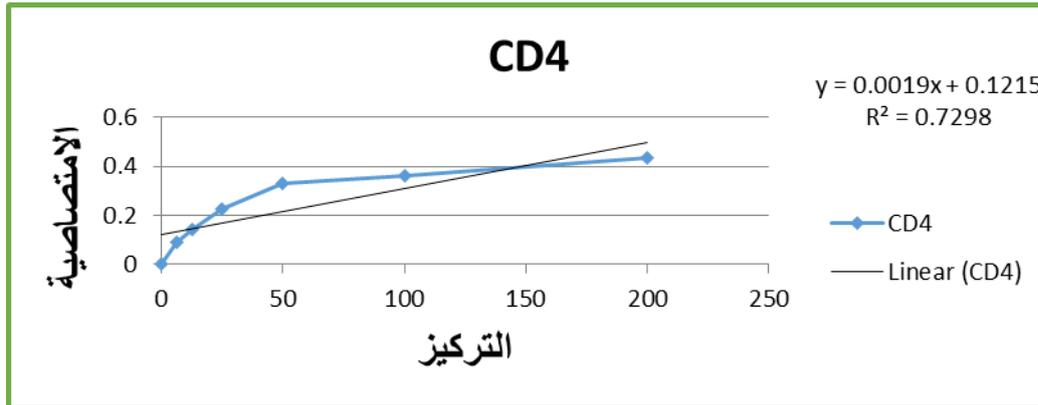
الملاحق

APPENDICES

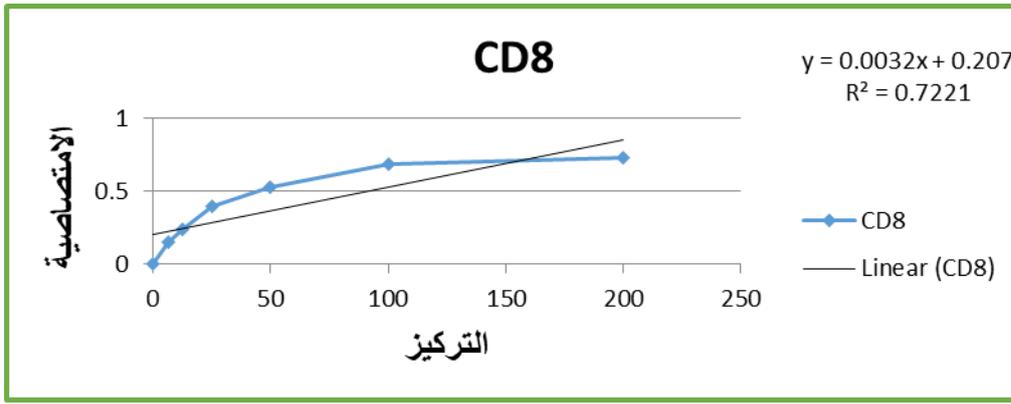
الملحق رقم (1) المنحنى القياسي HLA.G



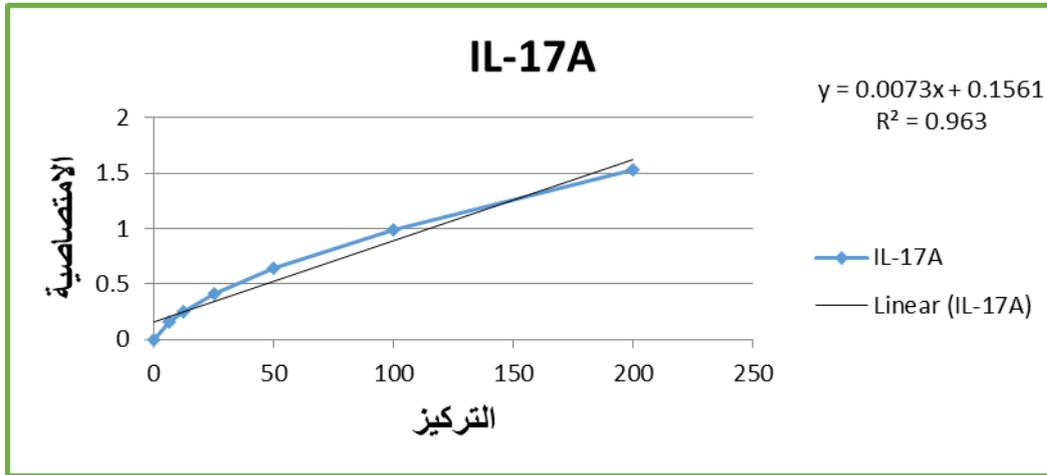
الملحق رقم (2) المنحنى القياسي CD4



الملحق رقم (3) المنحنى القياسي CD8



الملحق رقم (4) المنحنى القياسي IL-17A



الملحق رقم (5) عملية التغير اللوني عند اضافته محلول التوقف لعمل

. الكت



الملحق رقم (6) جدول القيم الطبيعية.

القيم الطبيعية	الاختبار
3.6-6.1 mmol/L	Glucose test

	4-11 *10 ⁹ /L	WBC
	4-6.2*10 ⁹ /L	RBC
		اسم المريض
	11-18 g/dL	HGB
	35-55%	HCT
	150-400*10 ⁹ /L	PLT
	1.0-2.5 nmol/L	T3
	70-140 mmol/L	T4
	0.25-5 MU/mL	TSH
	1.7-8.6 5 MU/mL	LH
	4.0-9.4 mlU/mL	FSH Follicular phase
	7-140 ng/mL 12-150ng/mL 15-200ng/mL	Ferritin 6month-15year Adult women Aduit man

الملحق رقم (7) الاستمارة الخاصة بمرضى التلاسيميا

	عمر المريض
	عنوان السكن
	هل الام والاب اقارب
	صلة القرابة
	التشخيص
	العمر الذي تم فيه التشخيص
	صنف الدم
	هل يوجد المرض في العائلة
	هل الام مصابة
	هل الاب مصاب
	هل ياخذ علاج طبي
	هل ياخذ الدم 1-بشكل دوري 2-في بعض المرات
	هل قم الوالدين باجراء فحص قبل الزواج
	هل يعرف الوالدين طرق الوقاية من المرض

الخلاصة

The present study aimed to evaluate the immune role of human leukocyte antigens HLA-G and some vital indicators in patients with thalassemia B patients. This study was conducted at the Center for Hematology / Thalassemia - Diyala Governorate, which continued from the beginning of October 2019 to the end of February 2020, which included assessing the immune status of chronic thalassemia patients by measuring HLA-G and some immunological indicators as well as evaluating a number of indicators Bloody and biochemical. Immunohistochemistry indicators included the measurement of the level of human leukocyte antigens HLA-G, the measurement of levels of immunological markers CD4 & CD8 and the measurement of IL-17A white levels by means of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Hematological indicators included: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC. Leukocytes WBC, NEU, LYM, MON. PLT. As for the measured indicators, hormones included T4, T3, TSH, LH, FSH. As for the measurement of liver function, it included ALT, AST, ALP. Biochemical indicators included Ferritin and Creatinin. This study included 90 samples, of which 60 samples belong to patients with thalassemia patients 30 males and 30 females, with a life span ranging from (1 to 30) years, and 30 samples collected from healthy people 15 males and 15 females within the age range between (20 to 40) years ago, they were used as a control group, in addition to that, samples of chronic thalassemia patients were collected after being diagnosed by a doctor specializing in the Center for Hematology / Thalassemia - Diyala Governorate.

The results of the current study indicated a significant difference at a probability level of ($P < 0.05$), and a high level of HLA-G was recorded in patients ng / ml 91.607 compared to the control group ng / ml 87.278. The percentage of males in females was higher than females and reached 101.087 ng / ml 82.027, respectively. As for age groups, its percentage was in the age group

(27-19) years and reached ng / ml 106.242 higher than age groups (1-9), (10-18) years and reached ng / ml 85.126 ng / ml, 78.573 respectively

The results of the current study showed the presence of a highly significant difference at the probability level ($P < 0.01$), and a high CD8 level was recorded among patients and it reached 154.598 ng / ml compared to the control group and it reached 136.083 ng / ml. While the percentage of females was equal to that of males and reached 154.937 ng / ml, ng / ml, respectively. As for age groups, its percentage was in the age group (10-18) years and it reached ng / ml 162.638 higher than the age groups (27-19), (9-1) years and it reached ng / ml 151.289 ng / ml, 150.972, respectively

The results of the current study showed that there was no significant difference at a probability level of ($P < 0.05$), and a high CD4 level was recorded in patients ng / ml 216.991 compared to the control group ng / ml 199.192. While the percentage of females is higher than that of males, it reached 219.157 ng / ml, 214.824, respectively. For age groups, its proportion was in the age group (1-9) years and it reached 236.725 ng / ml higher than the age groups (27-19), and (10-18) years, and it reached 211.432 ng / ml 206.359 ng / ml, respectively

The results of the current study showed a high significant difference at the probability level ($P < 0.01$), and between the high level of IL-17A in patients ng / ml 64.400 compared to the control group ng / ml 43.164. While the percentage of males is higher than that of females, and it reached 66.552ng / ml ng / ml, 62.247, respectively. As for the age groups, its percentage was in the age group 1018-year, and the ng / ml was 77.801 higher than the age groups (1-9), (19-27) years The ng / ml was 66.254 ng / ml, 52.958, respectively

The results of the current study indicated a comparison between the level of thalassemia and healthy subjects in the white blood cells markers WBC, LYM, MON, as they were higher in thalassemia patients compared with healthy

ones. While the level of NEU as it was lower in patients with thalassemia compared with healthy ones. On the other hand, it showed that the level of indicators of erythrocytes RBC, HGB, HCT, MCV, and MCH are lower in thalassemia patients compared with healthy ones. While the level of MCHC as it was higher in patients with thalassemia compared with the healthy ones, on the other hand, it indicated that the level of platelet indicators, PLT, MPV as it was higher in patients with thalassemia compared with the healthy ones, with a high significant difference and at the probability level (P <0.01)

The results of the current study indicated a comparison between the level of thalassemia and healthy subjects in the indicators of thyroid hormones T3 and TSH, as they were higher in thalassemia patients compared with healthy ones. While the level of T4 as it was lower in patients with thalassemia compared to healthy subjects, the presence of a highly significant difference at the probability level (P <0.01)

On the other hand, the results of the current study indicated a comparison between the level of thalassemia and healthy subjects in the indicators of sexual hormones LH, FSH, as they were less in patients with thalassemia compared with healthy ones, with a high significant difference and at the probability level (P <0.01)

The results of the current study indicated a comparison between the level of thalassemia and healthy subjects in the indicators for liver function ALT, ATP, AST, as it was higher in thalassemia patients compared to healthy ones. On the other hand, it indicated that the level of iron-chemical indicators is higher in patients with thalassemia compared to healthy people, while creatine level is lower in patients Thalassemia was compared to healthy subjects, with a highly significant difference (P <0.01)

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education & Scientific
Research
Diyala University
College of Science
Department of Biology



Some Immunological, Hematological and Biochemical Alterations in a Sample of Thalassemia Patients

A thesis

Submitted to the Council of College of Science/Diyala University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in
Biology

By

FARAH ABBAS FADHIL

B.Sc.Biology/ University of Diyala

(2017-2018)

Supervised by

Prof.Dr. Ibrahim Hadi Mohammed

Prof.Dr.Mohammed Abdul Daim Saleh

2020A.

1441 C