الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الطب البشري

أهمية عيار TNF-α (tumor necrosis factor) و(uric-acid)
في تشخيص ماقبل الإرجاج

The importance of measurement the TNF-a and Uric-acid in diagnosis of preeclampsia

بحث علمي أعد لنيل درجة الدراسات العليا (الماجستير) في الطب المخبري

أعد في قسم الطب المخبري

برئاسة الأستاذ الدكتور عماد أبو عسلي

إعداد الدكتورة كندة عدنان كامل

إشراف الأستاذ الدكتور
محمد محجوب جيرودي

مشاركة الأستاذ الدكتور
صلاح شيخة

مخطط البحث

الموضوع	الصفحة
المقدمة	٢
الدراسة النظرية	
الفصل الأول:ماقبل الإرجاج	٣
الفصل الثاني:العامل المنخر للورم- الفا	١٣
الفصل الثالث:دور العامل المنخر للورم- الفا في ماقبل الإرجاج	٢٤
الفصل الرابع:حمض البول	٣٠
الفصل الخامس:دور حمض البول في ماقبل الإرجاج	٣٤
الدراسة العملية	
أهداف وأهمية الدراسة	٣٨
مجموعة الدراسة:مجموعة الشاهد- مجموعة المرضى	٣٨
المواد والطرق المستخدمة	٤٢
التحليل الإحصائي	٤٢
النتائج	٤٣
مناقشة النتائج	٥٣
مقارنة نتائج الدراسة مع دراسات سابقة	٥٥
الخلاصة والتوصيات	٥٨
الملخص	٥٩
المراجع	٦٢

الاختصارات الواردة	
ASH	American Society of Hypertension
NHBPEP	National High Blood Pressure Education Program
ACOG	American College of Obstetrics and Gynecology
GFR	glomerular filtration rate
AST	aspartate aminotransferase
LDH	lactic acid dehydrogenase
BMI	body mass index
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha
sFlt-١	soluble fms-like tyrosine kinase١
VEGF	vascular endothelial growth factor
PIGF	placental growth factor
CBC	complete blood count
HELLP	Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets
APTT	Activated partial tromboplastin time
PT	Protrombin time
PDF	Product dimer fibrin
sEng	Soluble endoglin
PF	preeclampsia
NP	Normal pregnancy
MAP	Mean arterial blood pressure
BUN	Blood Urea Nitrogen
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
ELISA	Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay
LPS	lipopolysaccharide
ROS	reactive oxygen species
PE	preeclampsia
NP	normal pregnancy

Introduction : المقدمة

يمثل ماقبل الإرجاج مشكلة صحية هامة وتحدي لمهارات الفريق الطبي وذلك للأسباب التالية حسب نشرة الجمعية الأمريكية لارتفاع الضغط الشرياني(ASH) حول ارتفاع الضغط الشرياني والحمل المنشورة عام ٢٠٠٨[١]:

١-يعتبر ماقبل الإرجاج المتلازمة الأشيع حدوثاً عند النساء الحوامل حيث يشاهد في الولايات المتحدة الأمريكية بنسبة % ١٠-٥ من الحمول و في الدول النامية بنسبة تتراوح من حالة لكل ١٠٠ حمل إلى حالة لكل ١٧٠٠ حمل.

٢-يعد سبب هام للمرا ضة والوفيات الوالدية حيث تبلغ نسبة الوفيات الوالدية الناجمة عنه مابين ٧٠٠٠٠-٥٠٠٠٠ وفاة سنوياً.

٣- يعد السبب الأكثر شيوعاً للمراضة والوفيات عند الجنين فهو مسؤول عن وفاة ٥٠٠٠٠٠ جنين سنوياً لكونه عامل أساسي لحدوث الخداج preterm birth ومايرافقه من خطورة.

٤-يعد ماقبل الارجاج واحداً من أهم عوامل الخطر الأساسية في حدوث الأمراض القلبية الوعائية والاستقلابية للحامل المصابة بماقبل الإرجاج في المستقبل.

٥- يعد من الأمراض ذات الكلفة الاقتصادية العالية حيث تبلغ الكلفة السنوية له تقريباً ٧ بليون دولار.

وعلى الرغم من الجهود المبذولة لتحديد الآليات الإمراضية لماقبل الإرجاج لم يوضع حتى الآن آلية مرضية محددة.

يعتقد أن الاضطراب البطاني Endothelial Dysfunction يلعب دور أساسي في العملية المرضية لماقبل الإرجاج حيث يقف وراء معظم المظاهر السريرية المشاهدة مثل ارتفاع الضغط الشرياني – احتباس السوائل – اضطرابات التخثر

ومن المعروف أن السيتوكينات الالتهابية pro-inflammatory cytokines تلعب دور في تفعيل الخلايا البطانية وهذا مادعا للاعتقاد بأنها من العوامل الأساسية المؤدية للتفعيل البطاني خلال ماقبل الإرجاج .

حيث سجلت العديد من الدراسات مستويات شاذة للسيتوكينات في مريضات ماقبل الارجاج ولكن مايزال نموذج السيتوكين والدور المحتمل له في ماقبل الإرجاج محل بحث ونقاش.

تركز الدراسة الحالية على أهمية TNF-α وهو سيتوكين التهابي مفرز بشكل أساسي من البالعات كوسيط هام للتفعيل البطاني في ماقبل الارجاج بالاضافة إلى دور حمض البول وذلك بقياس المستوى المصلي لهما في مريضات ماقبل الارجاج ومقارنته مع حوامل طبيعيات.

الدراسة النظرية

الفصل الأول

ماقبل الإرجاج: Preeclampsia

١-تصنيف ارتفاع الضغط الشرياني أثناء الحمل: CLASSIFICATION

يعد ماقبل الإرجاج أخطر اضطرابات ارتفاع الضغط الشرياني أثناء الحمل والتي تصنف حسب تقرير (NHBPEP) المنشور عام ٢٠٠٠ [٢] إلى :

- ماقبل إرجاج- إرجاج- Preeclampsia-eclampsia
- ارتفاع ضغط شرياني مزمن لأي سبب-Chronic hypertension of any cause
- ارتفاع ضغط شرياني مزمن مضاف له ماقبل الإرجاج-
  Preeclampsia superimposed on chronic hypertension
- ارتفاع ضغط حملي - Gestational hypertension

٢- تعريف ماقبل الإرجاج:DEFINITION

يعتبر ماقبل الإرجاج متلازمة خاصة بالحمل تحدث بعد الأسبوع ٢٠ من الحمل (قد يحدث باكراً في أمراض الأرومة الغاذية مثل الرحى العذارية hydatidiform mole)ويعرف بوجود ارتفاع في الضغط الشرياني عند نساء كان الضغط لديهن طبيعي قبل الأسبوع ٢٠ من الحمل مع وجود بيلة بروتينية[٢].

ويصنف ماقبل الإرجاج حسب نشرة الجمعية الأمريكية للمولدين والنسائيين (ACOG)[٣] إلى أقل خطورة Less Severe وأكثر خطورة More Severe عوضاً عن التعبير السابق شديد "severe" وخفيف "mild" وذلك للإشارة إلى ضرورة الاهتمام بأي شكل من أشكال ماقبل الإرجاج والجدول رقم(١-١) يوضح المعايير المستخدمة لتصنيف ماقبل الارجاج .

المعايير	أقل خطورة Less Severe	أكثر خطورة More Severe
البدء	≤٣٤أسبوع حملي	<٣٥أسبوع حملي
الضغط الانبساطي	<١٠٠ ملم زئبقي	> ١١٠ ملم زئبقي
الصداع	-	+
الاضطرابات البصرية	-	+
الالم البطني	-	+
شح البول	-	+
كرياتينين	طبيعي	مرتفع
معدل الرشح الكبي GFR	طبيعي	منخفض
LDH – AST	طبيعي	مرتفع
بيلة بروتينية	خفيفة – متوسطة	>٣غ/بول ٢٤ساعة
اختبارات جنينية مضطربة*	-	+

*وجود تحدد في نمو الجنين أو علامات خطيرة عند إجراء المراقبة الدورية للجنين أو استخدام الأمواج فوق الصوتية

الجدول (١-١) المعايير المستخدمة لتصنيف ماقبل الإرجاج حسب ACOG

٣-عوامل الخطورة لماقبل الإرجاج : Risk factors for preeclampsia

لوحظ وجود العديد من العوامل التي تزيد نسبة حدوث ماقبل الإرجاج حيث يسبب بعضها ضعف في عملية تشكل المشيمة poor placentation بينما يؤدي البعض الآخر إلى نقص تروية المشيمة بسبب إحداثها اضطرابات وعائية وتتضمن مايلي [٤] :

١-الخروس Nulliparity
٢-قصة ماقبل ارجاج في حمل سابق
٣-نساء عند طرفي العمر >٤٠ سنة أو <١٨ سنة
٤- قصة عائلية لماقبل إرجاج Family history
٥-حمول متعددة Multiple pregnancy
٦-امراض وعائية استقلابية مزمنة :ارتفاع ضغط مزمن - سكري
٧- متلازمة اضداد الفوسفولبيد Antiphospholipid syndrome
٨-أمراض كلوية مزمنة
٩-ازدياد مشعر كتلة الجسم BMI

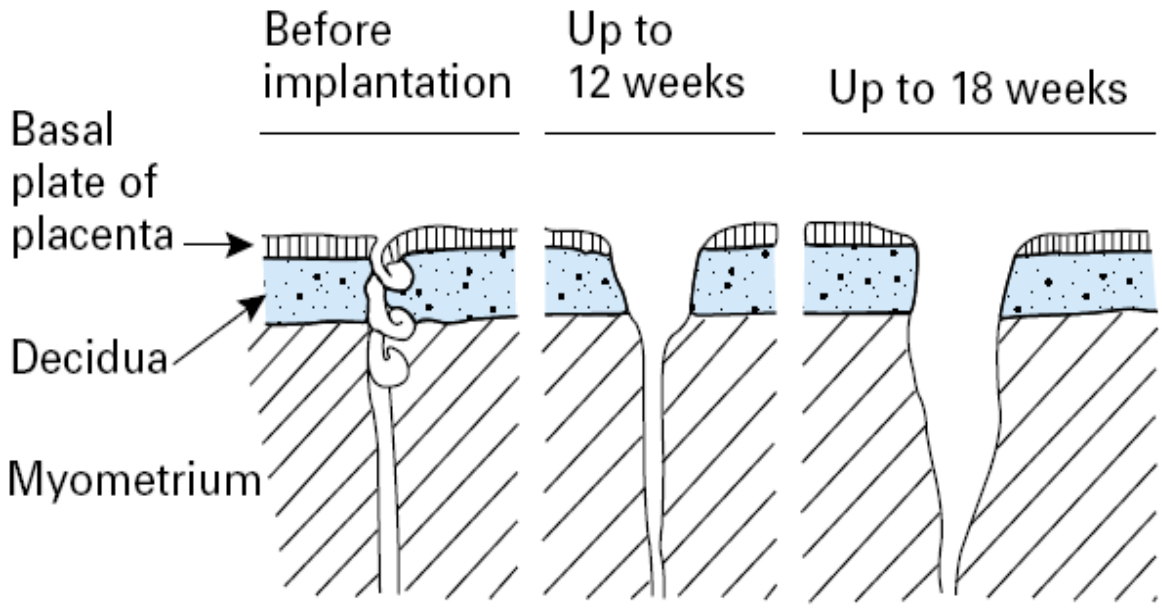
٤-الآلية الامراضية لماقبل الارجاج: Pathogenic Mechanism

يمثل ماقبل الإرجاج حالة تحفل بالنظريات فقد اقترح العلماء العديد من الآليات لتفسيرها حيث تم ربط المتلازمة بالأمور التالية [٥]:

- أذية الخلايا البطانية endothelial cell injury
- رفض مناعي للمشيمة immune rejection of the placenta
- نقص تروية المشيمة compromised placental perfusion
- تغيرات وعائية أساسية altered vascular reactivity

- خلل التوازن مابين بروستاسيكلين و ترمبوكسان A٢
imbalance between prostacyclin and thromboxane
- انخفاض معدل الرشح الكبي واحتباس الماء والملح
decreased glomerular filtration rate with retention of salt and water
- ازدياد اثارة الجهاز العصبي increased central nervous system irritability
- تخثر منتشر داخل الأوعية disseminated intravascular coagulation
- احتشاء العضلة الرحمية uterine muscle stretch (ischemia)
- عوامل غذائية(عوز الفيتامينات)
dietary factors, including vitamin deficiency
- عوامل وراثية [٦] genetic factors

تركز الدراسات الحديثة على المشيمة ودورها الذي يبدأ باكراً خلال الحمل:
ففي الحمل الطبيعي: تهاجر خلايا الأرومة الغاذية trophoblasts خلال السرير الرحمي الوالدي وتغزو البطانة الرحمية والشرايين الحلزونية (فروع من الشريان الرحمي الذي يزود المشيمة بالدم) حيث تتحول هذه الأوعية من شرينات عضلية ملساء إلى أوعية ذات سعة كبيرة ومقاومة منخفضة بعملية تدعى pseudovascularization وهذا ضروري لتأمين دوران دموي كافي للجنين لتلبية متطلباته الغذائية والتخلص من فضلاته.
تكتمل هذه العملية تقريباً في أواخر الثلث الأول من الحمل مابين الأسبوعين ٢٠-١٨ كما يظهر في الشكل (١-١)



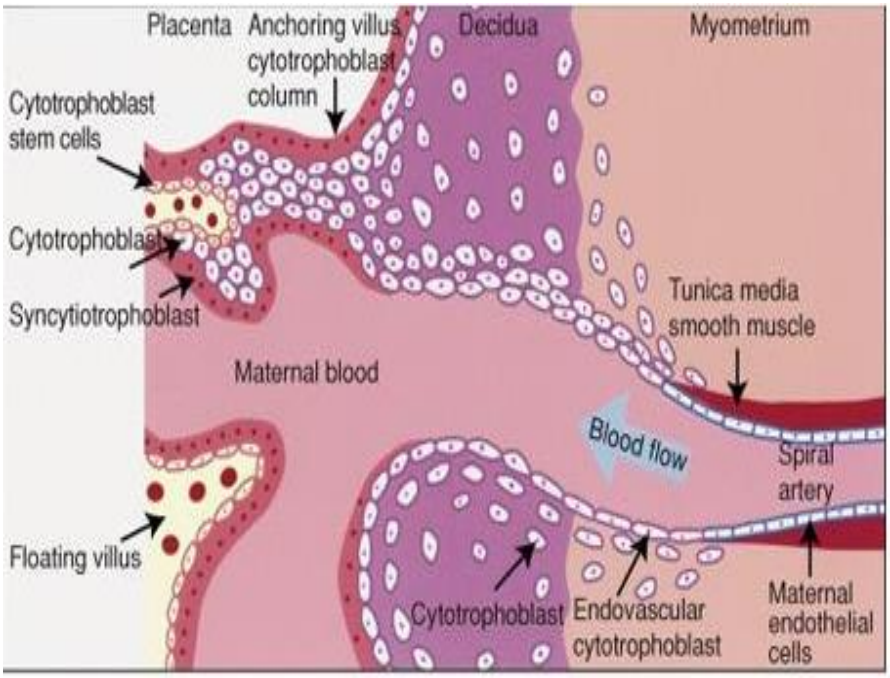
Figure(١): The invasion of spiral arteries by the trophoblast converts them into deltas and so improves the flow.

الشكل(١-١) عملية غزو الأرومة الغاذية للشرايين الحلزونية

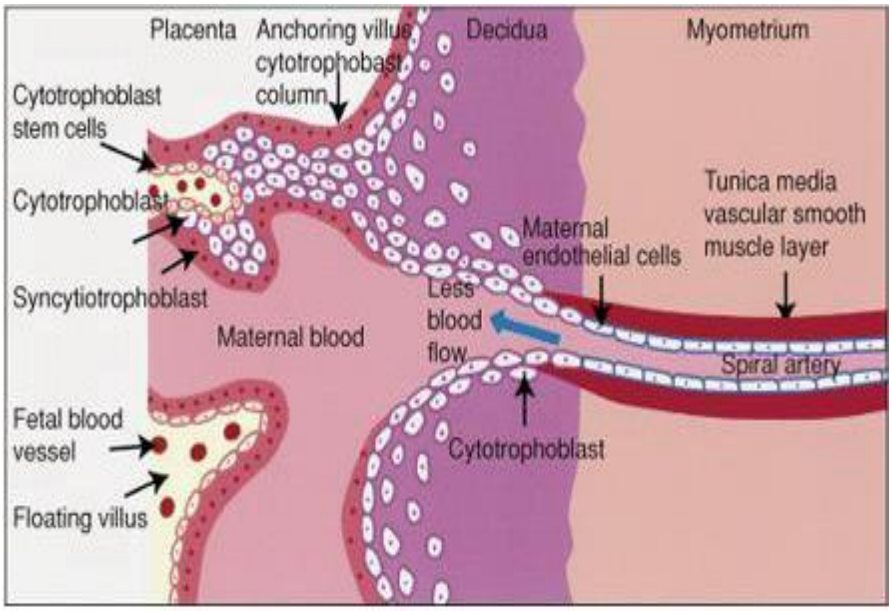
في ماقبل الإرجاج : تفشل الأرومة الغاذية في اختراق الجزء من الشرايين الموجود في العضلة الرحمية وهذا ما يسبب انخفاض الجريان الدموي بمقدار ٧٠٪-٥٠ وتبقى الأوعية متضيقة مسببة نقص تروية رحمية – مشيمية قد يتطور الى احتشاء مشيمي وهذا مايوضحه الشكل (١-٢)

Abnormal placentation in preeclampsia

NORMAL PREGNANCY



PREECLAMPSIA



الشكل (١-٢) التشكل الشاذ للمشيمة في ماقبل الإرجاج

انطلاقاً مما سبق ترى معظم الدراسات[٥] [٧] [٨] أن العملية المرضية لماقبل الإرجاج تسير على مرحلتين:

المرحلة الأولى : تشمل العوامل المؤدية إلى نقص تروية رحمية - مشيمية وما يتلو ذلك من تحرر العديد من المواد المنحلة الفعالة وعائياً نذكر منها:

١- (Sflt-١) soluble fms-like tyrosine kinase١ وهو مستقبل لكل من :
placental growth factor (PIGF) و
vascular endothelial growth factor (VEGF)
حيث يرتبط بهما ويمنعهما من الارتباط بمستقبلاتهما مؤدياً إلى اضطراب بطاني[٩]

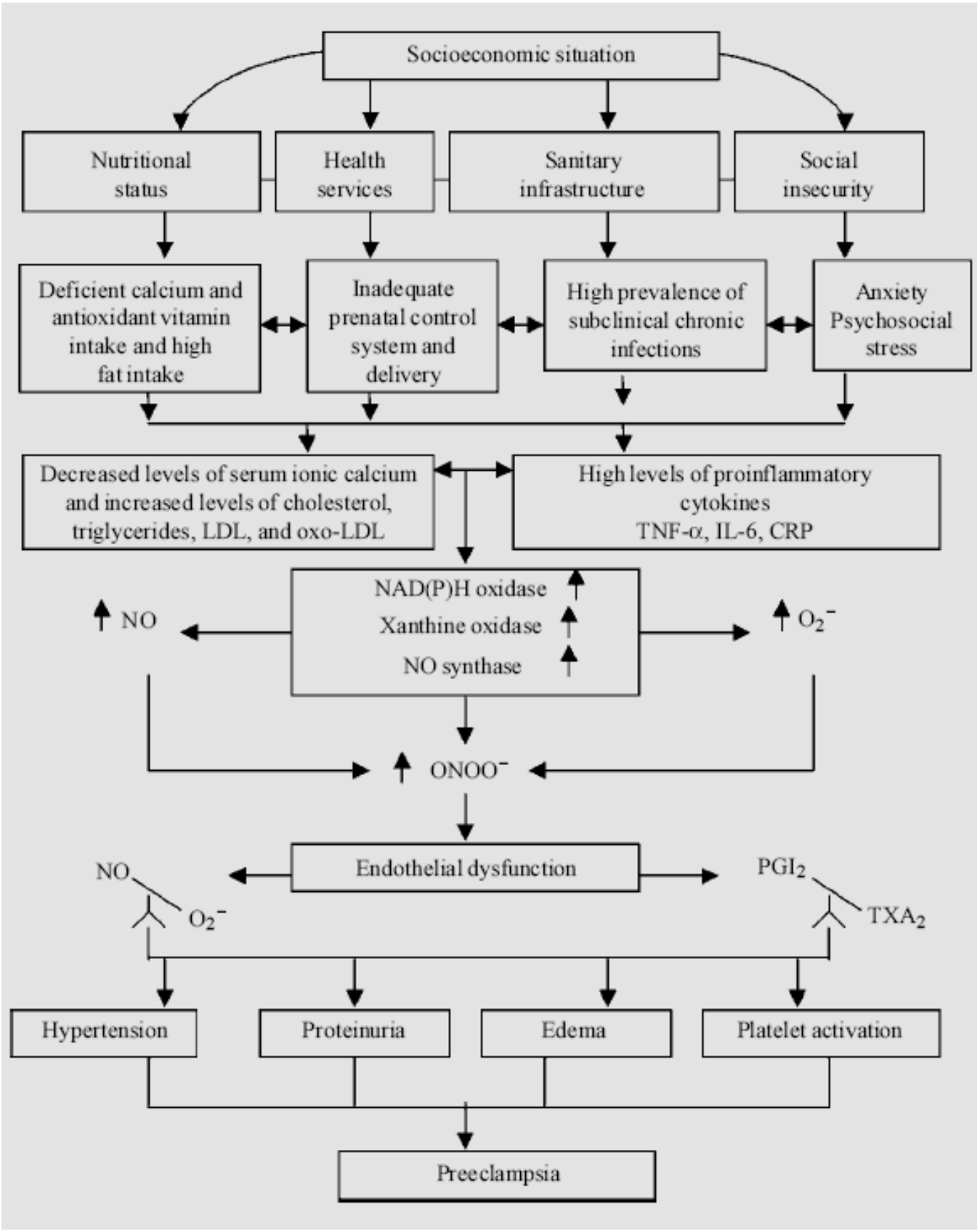
٢-Soluble endoglin (sEng) الذي يضعف من ارتباط TGF-β١ transforming growth factor-١))مع مستقبلات بطانية خاصة مؤدياً إلى نقص إنتاج حمض النيتريك من البطانة الوعائية وبالتالي نقص التوسع الوعائي المحدث به .[١٠]

٣- السيتوكينات[١١][١٢][١٣]: ومنها TNF-α الذي سنركز على دراسته في الفصل القادم

٤-angiotensin II type-١ receptor autoantibody (AT١-AA) [١٤]

المرحلة الثانية:وتدعى بالمرحلة الوالدية وهي تنتج عن تأثير المواد السابقة على الجهاز الوعائي الوالدي حيث تحدث هذه المواد اضطراباً بطانياً وظيفياً واسع الانتشار بالإضافة إلى الاستجابة الجهازية الالتهابية وهذا ما يسبب بدوره ارتفاع في الضغط الشرياني من خلال إضعاف الجريان الكلوي وازدياد المقاومة الوعائية المحيطية. [١٥]

والشكل (١-٣) يلخص الآليات المرضية التي يمكن أن تساهم في ماقبل الإرجاج



الشكل (١-٣) الآليات المرضية المتداخلة في ماقبل الإرجاج .

٥-الفيزيولوجيا المرضية لماقبل الارجاج: PATHOPHYSIOLOGY

يعتبر ماقبل الإرجاج متلازمة تؤثرعلى العديد من الأجهزة ويتجلى المظهر الإمراضي الأساسي بالتقبض الوعائي الذي يؤدي إلى نقص أكسجة وما قد يتلو ذلك من حدوث نزوف وتنخرات في أعضاء متعددة ويتظاهر ذلك كمايلي[٣][١٦]:

الجهاز القلبي الوعائي: ***Cardiovascular System*** وهو متورط بشكل روتيني مع تغيرات هيموديناميكية ناجمة عن ارتفاع ضغط شرياني أعلى ما يكون في الليل حيث يلاحظ اضطراب في نظم القلب وازدياد الحساسية للانجيوتانسين٢ وتزداد كذلك المقاومة للأنسولين.

الكليتان: ***Kidney*** تتأثر أيضاً بشكل شائع مع بيلة بروتينية وانخفاض في معدل الرشح الكبي بمقدار ٢٥%وقد يحدث نخر أنبوبي حاد أو قصور كلوي في الحالات الشديدة.

التغيرات الدموية:تعود إلى استهلاك الصفيحات وعوامل التخثر وما قد يسببه ذلك من تخثرمنتشر داخل الأوعية.

الكبد: ***Liver*** يلاحظ اضطراب في وظائف الكبد مع ارتفاع خمائر الكبد ونادراً ما قد يحدث تمزق كبد.

الجهاز العصبي المركزي: يحدث نزوف وتنخرات بؤرية وما يلاحظ من اختلاجات تشير إلى تورط الدماغ .

العين:يظهر تنظير قعر العين تقبضاً وعائياً وتعد نزوف الشبكية علامة إنذار سيئة.

٦-المظاهر السريرية : CLINICAL MANIFESTATIONS

وهي تتلو التغيرات المرضية السابقة بأسابيع إلى أشهر حيث يلاحظ ما يلي[٣][١٧] :

- ارتفاع الضغط الشرياني :وهو من العناصر الأساسية لتشخيص ماقبل الإرجاج حيث يكون≤ ١٤٠/٩٠ ملم زئبقي بعد الأسبوع ٢٠ من الحمل
- الوذمات :وهي شائعة قد تكون معممة أو موضعة في الوجه واليدين ولكنها لم تعد أساسية في التشخيص.
- الألم البطني ويشير إلى وجود أذية كبدية.
- زيادة مفاجئة في الوزن.
- الأعراض العصبية :وتشمل : الصداع
  نوبات اختلاجية
  الاضطرابات البصرية
  اشتداد المنعكسات
  السبات

٧-التشخيص: DIAGNOSIS

تشمل المعايير التشخيصية لماقبل الإرجاج حسب ACOG ما يلي[٢][٣][١٨]:

١-ارتفاع الضغط الشرياني الانقباضي ≤١٤٠ملم زئبقي أو الانبساطي≤٩٠ ملم زئبقي

٢-بيلة بروتينية ≤٣غ/بول ٢٤ ساعة.

وهي موضحة في الجدول رقم (١-٢) مع مراعاة ما يلي:

يجب أن يؤخذ مقدار الضغط بالاعتماد على قرائتين منفصلتين بفارق على الأقل من ٤-٦ ساعات

والضغط الانبساطي بالاعتماد على اختفاء الصوت الخامس (KOROTKOFF) والمريض في وضعية الجلوس
تعتبر البيلة البروتينية العشوائية ٣٠ملغ/دل أو ١+على dipstick موجهة ولكنها لاتعد معياراً للتشخيص.

المعايير التشخيصية لماقبل الإرجاج
الضغط الانقباضي ≥ ١٤٠ ملم زئبقي
أو
الضغط الانبساطي ≥٩٠ ملم زئبقي
و
بيلة بروتينية ≥ ٠,٣ غ في بول ٢٤ ساعة

الجدول (١-٢) المعايير التشخيصية لماقبل الإرجاج

٨-التشخيص التفريقي: DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

يمكن أن يقلد ماقبل الإرجاج العديد من الأمراض نذكر منها[١٩]:
١- ارتفاع الضغط المزمن
٢ - الأمراض الكلوية المزمنة
٣- أمراض البنكرياس المزمنة
٤- أمراض نقص الصفيحات الخثرية أو المناعية
٥- متلازمة أضداد الفوسفوليبيد
٦-المتلازمة الانحلالية اليوريمائية

٩-التقويم المخبري لمريضة ماقبل الإرجاج:

يمكن إجراء الاختبارات التالية[١٩][٢٠] :

- تعداد دم كامل CBC مع لطاخة دم محيطية:
  قد يشير إلى: فقر دم انحلالي باعتلال الأوعية الدقيقة المشاهد في متلازمة HELLP
  نقص صفيحات Thrombocytopenia
  تكثف دموي في الحالات الشديدة Hemoconcentration
- فحوص مصلية: BUN– كرياتينين لتقيم وظيفة الكلية
  ALT-AST-البومين لتقيم وظيفة الكبد حيث ترتفع عند وجود أذية كبدية وفي متلازمة HELLP

الشوارد
حمض البول

- فحص بول ٢٤ ساعة Urinalysis : لتحري البيلة البروتينية وتصفية الكرياتينين
- دراسات خثرية: فيبرينوجين-PDF-PT-APTT

والجدول رقم (١-٣) يلخص الفحوص التي يمكن اجرائها لمريضة ماقبل الإرجاج.

الفحوص **Examination**	الاختبار **Parameters**
المخبرية Laboratory	مصلية: شوارد BUN –كرياتينين AST-ALT –البومين URIC-ACID CBC –لطاخة دم محيطية
	فحص بول ٢٤ ساعة لتحري البروتين
	دراسات خثرية:فيبروجين PT-APTT PDF
الشعاعية Radiology	صورة شعاعية للصدر طبقي محوري للدماغ
القلبية Cardiology	تخطيط قلب كهربائي ايكو قلب

الجدول(١-٣) :الفحوص المخبرية لمريضة ماقبل الإرجاج

١٠-التنبؤ-الوقاية: prediction-prevention

التنبؤ: لقد حاولت العديد من الدراسات البحث عن اختبارات قد تساعد في التنبؤ بما قبل الارجاج وبا لتالي الوقاية من اختلاطاته المهددة لحياة كل من الأم والجنين ولكنها لم تكن مفيدة حسب المراجعة review التي أجريت عام ٢٠٠٤ لتقيم الفحوص المجراة لتحري ماقبل الإرجاج بدليل عدم انخفاض نسبة الحدوث وأوصى الباحثون بضرورة الاعتماد على أكثر من اختبار[٢١].
الدراسات الأكثر حداثة قدمت أملاً واعدا من خلال الحساسية العالية للتآزر مابين العوامل التالية (Sflt-١,sENg and PIGF).[٢٢].

الوقاية: لقد بينت الدراسات المجراة عام ٢٠٠٨ وجود مداخلتين قد يكون لهما بعض التأثيرات الوقائية وهما :

١- إعطاء جرعة منخفضة من الأسبرين قد تخفض نسبة الحدوث تقريباً ١٠٪[٢٣].
٢- إضافة الكالسيوم وهنا لم يلاحظ انخفاض في نسبة الحدوث[٢٤].

١١-التدبير: management

توصي معظم الدراسات الحديثة [٢][٣][٢٥] بضرورة الاستشفاء للمريضة المشتبه إصابتها بما قبل الارجاج نظراً لإمكانية التطور السريع للمرض وما يقدمه وجود المريضة في المشفى من إمكانية أفضل لتقليل الأخطاء التشخيصية ونسبة حدوث الإرجاج وتحسين حالة المريضة

وبما أن العلاج الوحيد الشافي المعروف لماقبل الارجاج هو إنهاء الحمل ينصح بما يلي:

١- في الأسبوع ٣٧-٣٨ من الحمل يعتبر إنهاء الحمل الخيار الأساسي

٢- قبل الأسبوع ٣٧ من الحمل يجب محاولة إطالة الحمل باستخدام العديد من الأدوية الخافضة للضغط والتي تعتبر آمنة أثناء الحمل حسب NHBPEP وهي:

Methyldopa
Labetalol
Nifedipine
Hydralazine
B-receptor blockers
Hydrochlorothiazid

Contraindicated ACE inhibitors- and AT١- receptor antagonists

٣-إنهاء الحمل في أي وقت من الحمل عند حدوث ما يلي:

أ-عدم التمكن من السيطرة على الضغط الشرياني خلال ٢٤-٤٨ ساعة

ب-ظهور علامات خطيرة مثل :

اضطراب وظائف الكبد والتخثر
انخفاض الوظيفة الكبدية
علامات وشيكة للاختلاج (صداع شديد- الم شرسوفي- اشتداد منعكسات)
علامات نقص نمو جنيني شديد أو اضطراب اختبارات وظائف الجنين

٤-الاستمرار بالحمل في حال التمكن من السيطرة على الضغط وعدم ظهور علامات مهددة للحياة.

١٢ – الاختلاطات: COMPLICATIONS

قد يحدث مايلي[١٧] :

١-إرجاج Eclampsia

٢-متلازمة HELLP (انحلال دموي - ارتفاع خمائر الكبد- انخفاض صفيحات)

٣-تمزق مشيمة Abruptio placentae

٤-نزف مخي Cerebral hemorrhage

٥-وفاة الأم أو الجنين

١٣ – الإنذار: PROGNOSIS

ذكرت العديد من الدراسات الوبائية أن النساء اللواتي ترافق الحمل لديهن مع ماقبل إرجاج وخاصة الباكر قبل الأسبوع ٣٤ يملكن نسبة أكبر لحدوث أمراض قلبية وعائية و استقلابية في المستقبل مقارنة مع نساء كان الحمل لديهن طبيعي وبالتالي تنصح هؤلاء النسوة بإجراء فحوص دورية متكررة وتغير نمط الحياة لتقليل نسبة حدوث مثل هذه المشاكل في المستقبل[٢٦][٢٧] .

الفصل الثاني

العامل المنخر للورم-الفا

TNF-α

تعريف السيتوكينات: DEFINITION

هي بروتينات منخفضة الوزن الجزيئي اقل من ٣٠ كيلو دالتون تفرز من قبل أنواع مختلفة من الخلايا (لمفاوية – وحيدات - بالعات....)
تلعب دور رئيسي في تنظيم الجواب المناعي وسير الحدثية الالتهابية
وتؤثر على الخلايا عن طريق تثبتها على مستقبلات نوعية عالية الالفة(AFFINITY) ولذلك تحدث تأثيراتها بتراكيز من رتبة نانومول (10^{-9} m/L) أو بيكومول(10^{-12} m/L).
وتكون تأثيراتها على ثلاثة أشكال:
autocrine :عندما تؤثر على نفس الخلية المفرزة لها
Paracrine :عندما تؤثر على خلايا مجاورة
Endocrine :عندما تؤثر على خلايا في مواقع بعيدة
وتتمتع السيتوكينات بأهمية خاصة في علم المناعة بسبب تأثيراتها العميقة فهي تنظم تميز وانقسام الخلايا الجذعية وتفعيل الخلايا اللمفاوية والبلاعم ويعمل البعض منها كسموم خلوية كما تؤثر على التوازن مابين عملية المساعدة HELP والتثبيط وبين التحمل والاستجابة المناعية وبين الجواب الخلطي والخلوي.
وتظهر السيتوكينات الظواهر التالية التي تمكنها من تنظيم الفعالية الخلوية بطريقة ملائمة وفعالة:
Pleiotropic (التأثير المتعدد):حيث تبدي السيتوكينات تأثيرات متعددة في خلايا مختلفة .
Redundancy(الإسهاب السيتوكيني):عندما يتواسط أكثر من سيتوكين نفس التأثير وهذه الخاصية تجعل من الصعوبة أن يعزى الفعل إلى سيتوكين بمفرده.
Synergy(التآزر السيتوكيني):هنا يكون التأثير الناجم عن اتحاد سيتوكينين أكبر من تأثير السيتوكين المفرد.
Antagonism(التعاكس): تظهر السيتوكينات هنا تأثيرات متعاكسة حيث تثبط تأثيرات سيتوكين تأثيرات سيتوكين آخر.
Cascade induction(التفعيل الشلالي):تحدث هذه الظاهرة عندما يحث السيتوكين الخلية الهدفية على إنتاج سيتوكينات تحث بدورها خلايا أخرى على إفراز السيتوكينات.
بالإضافة لماسبق تتقاسم السيتوكينات بعض الخواص مع الهرمونات وعوامل النمو وهذا مايجعل الحدود بينهم غير واضحة[٢٨].

تصنيف السيتوكينات:

لقد تم التعرف على اكثر من ٢٠٠ نوع مختلف من السيتوكينات يمكن إدراجها في أربع عائلات هي:
١-عائلة الهيماتوبويتين,: hematopoietin family

٢-عائلة الانتيرفيرونات,: interferon family
٣-عائلة الكيموكينات: chemokine Family
٤-عائلة TNF: the tumor necrosis factor family الذي سنركز على دراسة العضو الثاني منها وهو TNF-α [٢٨] .

مستقبلات السيتوكينات:

حتى تتمكن السيتوكينات من إظهار تأثيراتها البيولوجية يجب أن ترتبط أولاً مع مستقبلات خاصة في الغشاء الخلوي للخلايا المستهدفة توجد في العديد من الخلايا وهذا ما يفسر قدرة السيتوكينات على التأثير على أنواع واسعة من الخلايا و تصنف مستقبلات السيتوكينات في ٥ عائلات هي[٣٠]

- Immunoglobulin superfamily receptors
- Class I cytokine receptor family
- Class II cytokine receptor family
- TNF receptor family
- Chemokine receptor family

لمحة تاريخية

لقد تم التعرف على الاستجابة المناعية المضادة للورم قبل ١٠٠ عام من قبل الطبيب WILLIAMB.COLEY الذي لاحظ حدوث تنخر للورم عند مرضى الأورام المصابين بإنتانات جرثومية وسعياً نحو إيجاد علاج دوائي مضاد للسرطان بدأ COLEY بحقن مرضى السرطان بخلاصات مشتقة من مزارع جرثومية متنوعة دعيت ذيفانات COLEY (COLEY TOXINS) و بالفعل فقد أحدثت هذه الذيفانات نخراً نزفيا في العديد من الأورام ولكن ترافقت بالمقابل مع العديد من التأثيرات الجانبية غير المرغوبة.

بعدعقود تبين أن ذيفانات كولي هي في الواقع LPS (عديد السكريد الشحمي جزء من الجدار الداخلي للجراثيم سلبية الغرام)وأن الذيفان لايحدث الورم بنفسه وإنما يحرض البالعات على إفراز عامل يملك تاثير سمي مباشر على الخلية الورمية.[٢٨]

في عام ١٩٧٥ ذكر الطبيب Dr. Lloyd Old عن وجود ذيفان سمي يفرز من قبل البالعات وسماه بالعامل المنخر للورم TNF-α بالاعتماد على قدرته على قتل الساركوما الليفية عند الفئران.[٢٩]

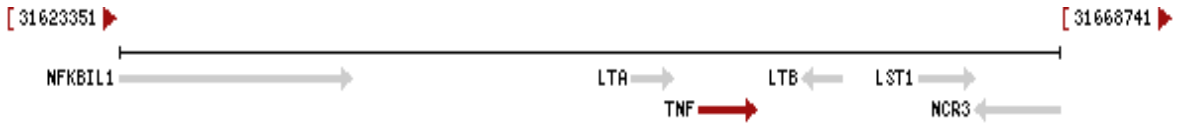
في عام ١٩٨٥ اكتشف كل من BRUCEA.BEUTTLE وANTONY CERAMI أن الهرمون الذي يحدث الدنف cachexia والمسمى سابقاً كايكتين ماهو إلا TNF-α واعتبر الوسيط الالتهابي الاساسي المحدث للصدمة الانتانية.

لاحقاً تبين أن TNF-α هو النموذج الاساسي لعائلة كبيرة من السيتوكينات تعرف بعائلة TNF-α[٢٨]

المورثة: Gene

تم ترميزها ١٩٨٥ على الذراع القصير للصبغي السادس ٦p٢١,٣ في الصف الثالث من منطقة الهلا (مستضدات التوافق النسيجي) وهذا موضح في الشكل(٢-١) ويبلغ طولها ٣Kb وتتألف من أربع اكسونات حيث يرمز الاكسون الاخير>٨٠٪ من البروتين المنتج [٣٠].

chromosome: ٦; Location: ٦p٢١,٣



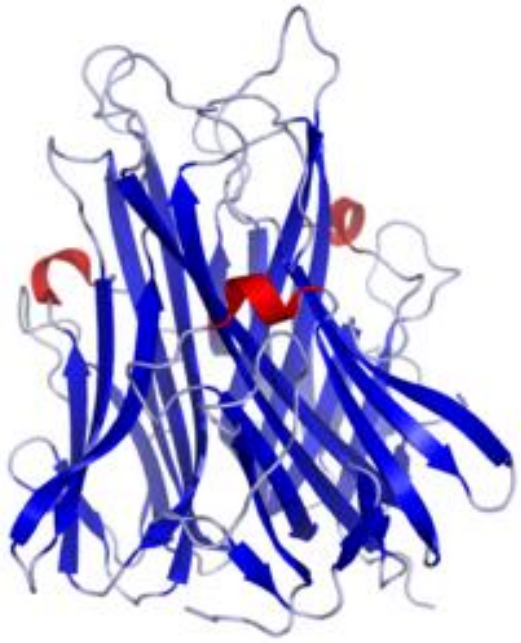
الشكل (٢-١) مورثة TNF-α

التركيب: structure

يوجد العامل TNF-α على شكلين[٣١]:

١- شكل بدئي مرتبط بالغشاء يتألف من٢١٢ حمض أميني بوزن ٢٥,٦ كيلو دالتون مرتب في ثلاثيات متماثلة homotrimers

٢- شكل ذواب ينشأ من انفصام الشكل الأول تحت تأثير أنزيم حال للبروتين يدعى TACE(TNF-α CONVERTING ENZYME) والمعروف ايضاً باسم ADAM١٧ حيث يقوم هذا الانظيم بشطر ٧٦ حمض اميني من النهاية N للشكل الاول معطياً الشكل الذواب sTNF-α ثلاثي التكوثر بوزن ١٧ كيلو دالتون وهو الشكل الفعال حيوياً . الشكل(٢-٢)

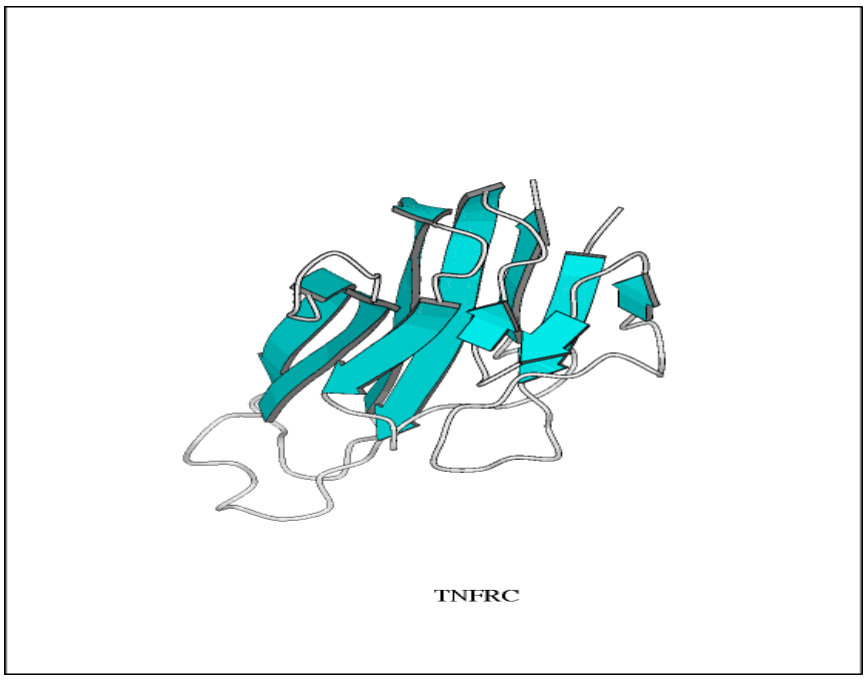


الشكل(٢-٢) TNF-α

مستقبلة العامل TNF-α

يملك TNF-α مستقبلتين هما :

١-TNF-R١ (P٥٥/٦٠-CD١٢٠a):توجد في معظم الخلايا المنواة وتملك إلفة عالية لكلا الشكلين الغشائي والذواب الشكل (٢-٣)



الشكل (٢-٣) : TNF-R١

٢-TNF-R٢(P٧٥/٨٠ -CD١٢٠b):تتوضع غالباً في الخلايا البطانية والأرومة الليفية وتتفعل فقط بالشكل الغشائي.

تعتبر المستقبلةTNF-R١من النمط الأول الأساسية في فاعلية TNF-α في حين أن دورالمستقبلة TNF-R٢ من النمط الثاني غير واضح حتى الآن[٣١].

وتتصف مستقبلة TNF-α من النمطين بما يلي :

- تتركب من بروتينات سكرية عابرة للغشاء (Transmembrans) تحوي مناطق غنية بالسيستئين (CRDs) في النهاية N خارج الخلوية
- تخضع للشطر الحال للبروتين بواسطة أفراد عائلة

(Matrix metaloprotease family) وتتحول إلى مستقبلة ذوابة تحتفظ بقدرتها على الارتباط مع TNF-α وتعمل بذلك كمثبط طبيعي له بحيث تمنعه من الارتباط مع المستقبل الغشائي.

- يزداد تركيز الشكل الذواب للمستقبلة في الالتهاب المزمن والحاد وتطرح عن طريق البول بواسطة الكليتين.
- بالإضافة لماسبق تحمل مستقبلةTNF-α من النمطين في جزئها السيتوبلاسمي مجالاً يدعى مجال الموتDD (Death Domain) وهو أساسي في إطلاق إشارة الموت المبرمج وإشارات تفعيلية لاحقة تتلو ارتباط المستقبلة بالرباط النوعي لها(TNF-α) بحيث تبقى المستقبلة الحاوية على DD غير فعالة في غياب الرباط Ligand [٣٢].

الإشارات الخلوية: Cell Signaling

عندما ترتبط مستقبلة TNF-α مع الرباط النوعي لها فإنها تشكل ثلاثيات متناسبة مع الأثلام الموجودة بين أحاديات TNF-α ويؤدي هذا الارتباط أيضاً إلى تغير بنيوي في المستقبلة ينجم عنه إزاحة البروتين المثبط SODD (Silencer of death domains)من مجال الموت داخل الخلوي وهذا ما يسمح بارتباط TRADD

(TNFR ASSOCIATED DEATH DOMAIN) الذي يعتبر من البروتينات المساعدة Adaptor protein أي أنها بروتينات غير قادرة على إحداث فعالية أنزيمية لوحدها وإنما تتواسط تفاعلات نوعية بين بروتين وآخر مشكلة معقد بروتيني فهو يعمل إذاً كقاعدة لارتباط البروتينات المتعاقبة ويتلو ارتباط TRADD تفعيل أحد السبل التالية[٣٣][٣٤] :

١-تفعيل العامل النووي NFkappaB

(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

حيث يستدعي TRADD كل من TRAF٢وRIP

يقوم**TRAF٢**(TNF receptor-associated factor ٢) من عائلة TRAF

(TNF receptor associated factor) بالتفاعل مع مستقبلة TNF ويشكل مع TRAF١ معقد بروتيني يستدعي بدوره IκB kinase (IKK) وهو معقد أنزيمي غيرفعال وهنا يأتي دور **RIP** الذي يقوم بتفعيله فيصبح قادر على فسفرة البروتين (inhibitor of kappa B) IκBα المرتبط بشكل طبيعي بـNF-KB والمسؤول عن تثبيطه وهذا مايسمح بتحررNF-KB الذي يعتبر عامل نسخ رئيسي حيث ينتقل إلى النواة و يتواسط عملية نسخ مجموعة واسعة من البروتينات المتورطة في بقاء الخلايا وتكاثرها- الاستجابة الالتهابية- العوامل المضادة للموت المبرمج

٢-السبيل الثاني:تفعيل سبيل MAPK

(MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE)

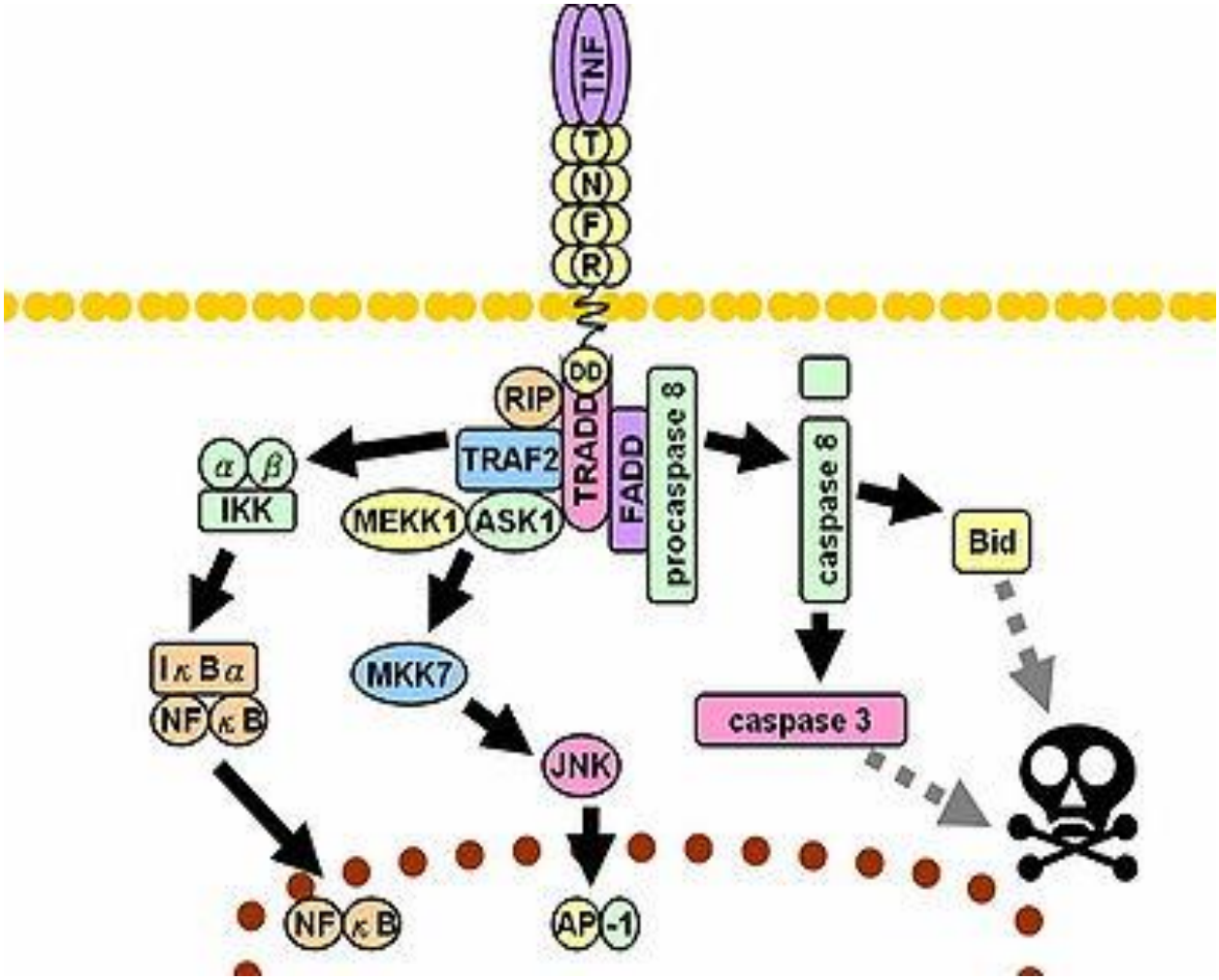
حيث يقوم TNF-α بتفعيل محموعةJNK (c-Jun N-terminal kinases)ويعتبر هذا السبيل مسؤول عن تمايز الخلايا وتكاثرها ومرحلة ماقبل الموت المبرمج.

٣-إ طلاق إشارة الموت:Induction of death signaling

يشارك TNF-α في إشارة الموت بشكل مشابه لكل أفراد عائلة TNF-R المحتوية على مجال موت ولكن تعتبر قدرته ضعيفة مقارنة مع عائلات أخرى مثل FAS

في هذا السبيل يرتبط TRADD مع FADD
(Fas Associated protein with Death Domain) الذي يستدعي CASPASE٨
(خمائر خلوية حالة للبروتين)الذي يحدث وجوده الانحلال الذاتي وبالتالي الموت المبرمج[٣٥].

ويلاحظ أن دور TNF-α في إحداث الموت المبرمج قليل مقارنة مع دوره الأقوى في الالتهاب
إن رجحان سبيل على آخر من السبل الثلاثة السابقة يتأثر بالعديد من العوامل نذكر منها:
نمط الخلايا- وجود تنبيه متواقت من سيتوكين آخر- كمية الجذور الأكسجينية الحرةROS
(reactive oxygen species)
إن الإشارات المعقدة السابقة تؤكد أنه أينما تحرر TNF-α فإن ذلك يضمن استجابة العديد من الخلايا بوظائف متنوعة للالتهاب. الشكل (٢-٤)



الشكل(٤-٢) الإشارات التفعيلية لمستقبلة TNF-α

الفعاليات البيولوجية: يفرز

TNF-α بشكل أساسي من قبل البالعات MACROPHAGE ولكن يمكن إفرازه من قبل أنواع أخرى من الخلايا(وحيدات – لمفاوية - بدينة – بطانية – شحمية - عصبية)وتشاهد التراكيز العالية في الدوران استجابة لإشارة تفعيلية قد تكون: LPS

منتجات باكتيرية

IL-١

ويملك TNF-α تأثيرات على العديد من الأجهزة وهذا مايعرف ب pleiotropic ويتآزر مع العديد من السيتوكينات بما يعرف بالإسهاب السيتوكيني cytokin redundancy[٢٨]

حيث يعمل بالتآزرمع IL-١ وIL-٦ على مايلي:

١- في **الوطاء**(hypothalamus): :ينبه المحور الكظري النخامي بتنبيه تحرير CRH (corticotropin releasing hormone)

يثبط الشهية

يسبب الحمى من منشأ داخلي

٢- في **الكبد**(liver): ينبه استجابة الطور الحاد وبالتالي ازدياد CRP (C-reactive protein)

يحدث مقاومة للانسولين

٣- يزيد تركيب جزيئات الالتصاق البطانية وخاصة SELECTIN-E وبالتالي يساهم في هجرة العدلات والتصاقها على جدارن الوعاء الدموي في مكان الخمج .

٤- في البالعات يفعل النشاط التنفسي ضمن البالعات الكبيرة فيعزز القدرة القاتلة لهذه الخلايا البلعمية

٥- ينشط اصطناع السيتوكينات IL-١ وIL-٦

٦- ينشط اصطناع وسائط الالتهاب (لوكوترينPAF وPGE٢)

٧- في بقية الانسجة يزيد المقاومة للأنسولين

٨- الزيادة الموضعية تحدث العلامات الأساسية للالتهاب (حرارة – الم – وذمة –احمرار)

٩- التراكيز العالية تحدث أعراض شبيهة بالصدمة

١٠- التعرض المزمن يسبب الدنف بشكل مماثل لما يحدث عند مرضى السرطان[٢٩].

والجدول رقم(٢-١) يوضح تأثيراته

التأثيرات المتعددة والإسهابية لكل من TNF-α و IL-١ و IL-٦			
التأثير	TNF-α	IL-١	IL-٦
توليد الحمى داخلياً	+	+	+
تركيب بروتينات الطور الحاد	+	+	+
ازدياد النفوذية الوعائية	+	+	+
ازدياد تركيب جزيئات الالتصاق الخلوية	+	+	_
ازدياد إنتاج الكيموكينات	+	+	_
ازدياد إنتاج IL-٦	+	+	_
تفعيل خلايا B	+	+	+
تفعيل خلايا T	+	+	+
ازدياد إنتاج الغلوبولينات المناعية	_	_	+
ازدياد الصفيحات	_	+	+

الجدول (٢-١) تأثيرات TNF-α

الأمراض التي لها علاقة بـ TNF-α:

إن اضطراب إنتاج TNF-α خاصة الإنتاج المتزايد منه قد ذكر في العديد من الأمراض نذكر منها [٣٠] :

الداءالرثياني - الربو- السرطان - الأمراض القلبية الوعائية- أمراض الأمعاء الالتهابية- تليف الرئة –الصدمة الإنتانية

بالإضافة الى ترافق الاضطراب المورثي في المورثة المرمزة للTNF-α سواء بحدوث طفرات

Mutations أو تعدد شكلي polymorphisms مع العديد من الامراض :
ربو- صدمة إنتانية - صداف-

التطبيقات العلاجية:PHARMACOLOGY

مازالت الأبحاث العلمية متواصلة لدراسة إمكانية الاستفادة من السيتوكينات في مجالات علاجية جديدة وخاصة المعالجة المناعية للاورام الخبيثة وبعض الامراض الالتهابية المزمنة.
وقد ذكرت بعض التطبيقات العلاجية للTNF-α باستخدام مثبطاته على اعتبار أن TNF-α يحرض الاستحابة الالتهابية في العديد من أمراض المناعة الذاتية كالداء الرثياني.
هذه المثبطات إما أن تكون أضداد وحيدة النسيلة مثل infliximab وadalimumab أومستقبلات ذوابة للعامل TNF-α تقوم بالارتباط به مؤدية دورا حاصرا مثل etancrcept حيث أثبت فعاليتها في كل من الداء الرثياني وداء كرون وقدمت أملاً واعداً لأمراض أخرى منها المتلازمة الانحلالية اليوريمائية- التهاب الكبد الكحولي .....[٣٦]

الطرق المخبرية لمعايرة TNF-α

يؤثر TNF-α كوسيط للاتصال بين الخلايا بطريقتين :
طريقة مباشرة: من خلال الشكل الغشائي الذي ينظم الوظائف المناعية للخلايا المتجاورة وهذا النوع من الصعب قياسه ولذلك لم يدرس بشكل واسع في الحياة in vivo

طريقة غير مباشرة: بواسطة الشكل الذواب الذي يسمح للخلايا بإظهار تأثيراتها على مسافات بعيدة ضمن نفس النسيج وفي بعض الحالات قد يصل إلى أعضاء أخرى بواسطة الدوران الجهازي ولقد تم قياس هذا الشكل للTNF-α في مختلف سوائل الجسم وأنسجته وقدم نافذة لمعرفة الآلية الإمراضية المتواسطة بالTNF-α وذلك من خلال طرق مختلفة نذكر منها:

✓ المقايسة الحيوية:Biologic assay

تعتبر هذه الطريقة الأكثر حساسية وأول الطرق استخداماً قبل تصنيع الأضداد وحيدة النسيلة النوعية وتقوم على مبدأ دراسة تأثير عينة الاختبار الحاوية على TNF-α على الخلايا حيث يتم قياس التغيرات التي يمكن أن تطرأ على الخلايا بعد تعرضها للTNF-α مثل درجة تكاثرها- قدرتها على إنتاج الأضداد.
ولكن على الرغم من حساسية هذه الطريقة فإنها تعد قليلة النوعية وصعبة الإجراء بالإضافة إلى تداخل مثبطات TNF-α في نتائج هذه المقايسة مثل بروستاغلاندينات-المستقبلات الذوابة[٣٧]

✓ المقايسة المناعية: Immunoassay

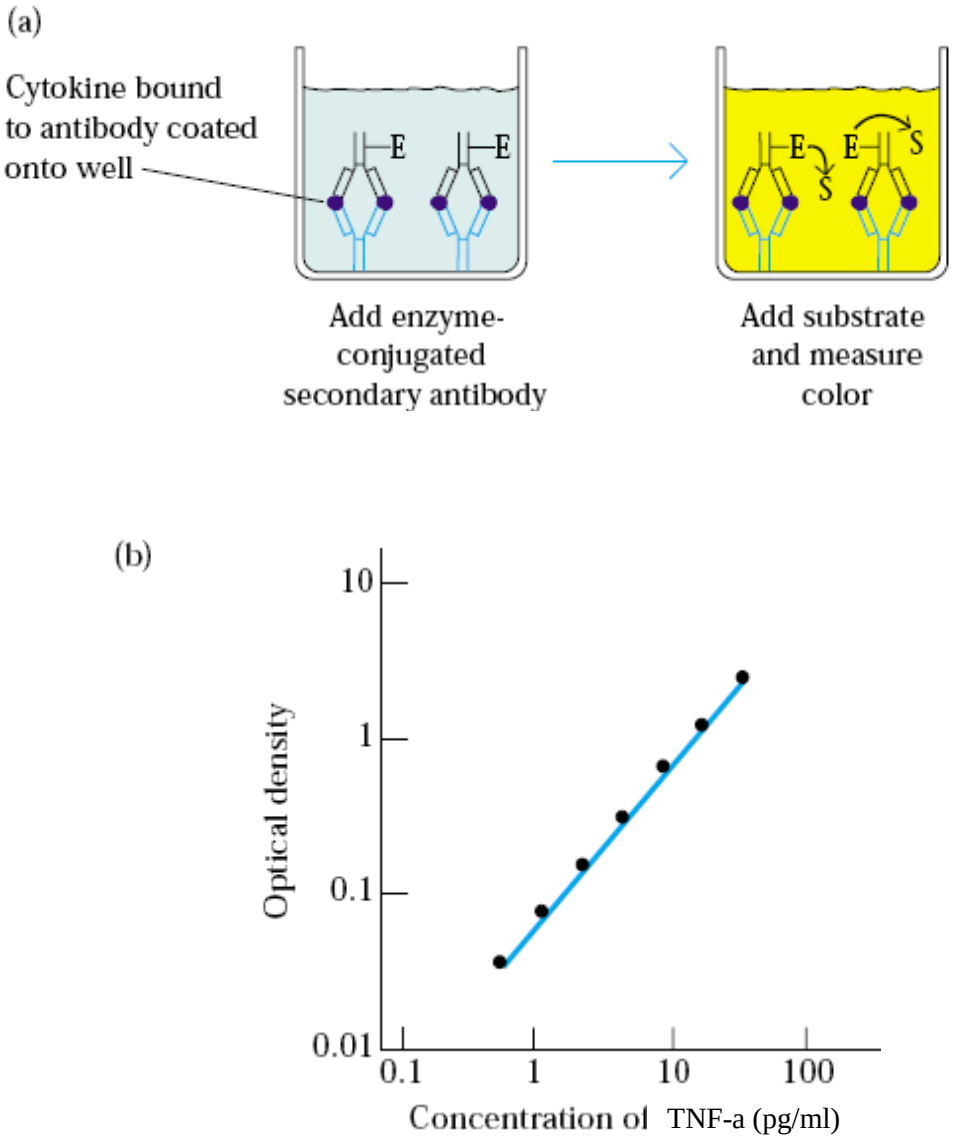
تعتمد هذه الطريقة في معايرة الشكل الذواب للTNF-α على استخدام أضداد تجارية جاهزة للارتباط بالTNF-α وعلى الرغم من وجود عدة تقنيات لهذه الطريقة تعتبر طريقة المقايسة المناعية المرتبط بالأنزيم السندويش "ELISA "sandwich الأكثر شيوعاً .

في هذا النوع من المقايسة تضاف العينة الحاوية على TNF-α إلى قعر آبار صفيحة بلاستيكية مغلفة بأضداد جاهزة للTNF-α حيث ترتبط هذه الأضداد مع TNF-α ثم تضاف أضداد ثانية للTNF-α مرتبطة مع أنزيم معين وتقاس الفعالية الأنزيمية بإضافة ركيزة الأنزيم وتقدير التفاعل اللوني في مقياس الطيف الضوئي وتكون كمية TNF-α المرتبطة متناسبة مع الفعالية الأنزيمية ويمكن حساب تركيزه من خلال منحني معايرة منشأ باستخدام تراكيز معلومة للTNF-α الشكل (٢-٥)

تعبر هذه الطريقة أبسط وأكثر نوعية من المقايسة الحيوية رغم وجود تفاعلات متصالبة مع أضداد أخرى وإيجابية كاذبة بوجود العامل الرثياني خاصة في أمراض المناعة الذاتية[٣٨]

- ✓ **مقايسة RNA الرسول:Messenger RNA assays**

وتعتمد على طريقة RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction التي تستخدم ناسخ عكسي RT في خطوة سابقة للتضخيم باستخدام PCR .وتعتبر معقدة الإجراء ولا تترافق دوماً مع تحرر البروتين (TNF-α) المعبرعنه ولكن ماتزال الدراسات متواصلة للاستفادة من هذه الطريقة في التحديد الكمي للTNF-α [٣٩].



الشكل (٢-٥) قياس TNF-α بطريقة ELISA

الفصل الثالث

دور العامل المنخر للورم- ألفا في ماقبل الإرجاج

The role of TNF-α in preeclampsia

الاستجابة المناعية خلال الحمل

يعتبر الحمل من وجهة نظر مناعية نموذجا للتحمل المناعي الذي تبديه الأم تجاه الجنين باعتباره طعم مخايف allograft

ولا تزال الآليات المفترضة لتفسير آلية التحمل الجنيني ونجاح الطعم الجنيني غير مفهومة بشكل واضح حتى الآن

تشمل المواقع الأساسية لتعديل الاستجابة المناعية الوالدية للجنين على موقعين[٤٠]:

١-**الموقع الأول**: يتوضع عند سوية الساقط decidual ويشمل التفاعل مابين الخلايا المناعية الساقطية الوالدية وخلايا الأرومة الغاذية خارج الزغابية extravillous cytotrophoblast ويكون هذا الموضع مسيطرا خلال المراحل الباكرة من الحمل ويتلاشى تقريبا في الثلث الثالث من الحمل مع تراجع عملية غزو الأرومة الغاذية

٢-**الموقع الثاني** : يشمل التفاعل مابين الخلايا المناعية الوالدية في الدوران العام والأرومة الغاذية المخلوية syncytiotrophoblast التي تشكل السطح الزغابي من المشيمة الكوريونية ويبدأ مع بداية الدوران الرحمي المشيمي ويتعزز من خلال نمو المشيمة ليصبح مسيطرا خلال الثلث الأخير من الحمل

ويلاحظ خلال الحمل التغيرات المناعية التالية على مستوى السطح الأول

موضعيا:ازدياد ارتشاح الكريات البيض leukocyte infiltration

ازدياد إنتاج السيتوكينات الالتهابية التالية: (IL-١٢, IL-١٥, IL-١٨, INF-y)

جهازيا:يترافق الحمل مقارنة مع نساء غير حوامل بمايلي:

١-ازدياد عدد الكريات البيض وتفعيلها leukocytosis and leukocyte activation

٢-تفعيل المتممة complement activation

٣-تفعيل شلال التخثر والصفيحات coagulation and thrombocyte activation

٤-ازدياد إنتاج السيتوكينات الالتهابية التالية:-(IL-12, IL-6, IL-18, IL-8, TNF-α, INF-y)

ويكون نموذج الخلايا المناعية المسيطرة خلال الثلث الأول من الحمل كمايلي [٤١]:

٧٥٪ NK من نمط فريد تدعى uterine natural killer (uNK)

٢٠-٢٥٪ وحيدات- بالعات

القليل من اللمفاويات التائية

وكما ذكرنا سابقاً تعتبر عملية غزو الأرومة الغاذية للساقط القاعدي أساسية لتكون سوي للمشيمة وتساهم المناعة في الإشراف على هذه العملية من خلال الآليات المناعية التالية[٤٢] :

- **توتر الأكسجين الموضعي** Local oxygen tension الذي يزداد بشكل مرافق لازدياد الجذور الاكسجينية الحرة reactive oxygen species وهنا تلعب القدرة المضادة للأكسدة عند الأم Maternal antioxidant capacity دور هام بحيث يسبب انخفاضها ضعف في عملية الغزو.
من ناحية أخرى فقد أظهرت الدراسات المجراة في الزجاج in vitro أن هذا الازدياد في توتر الأكسجين يؤدي إلى تغير في النمط الظاهري لخلايا الأرومة الغاذية بحيث تتحول من خلايا ظهارية إلى خلايا بطانية تبدي العديد من جزيئات الالتصاق الخلوية cellular adhesion molecules الأمر الذي يلاحظ انخفاضه في ماقبل الإرجاج إما لخلل وراثي في قدرة هذه الخلايا على التحول أو أن الأمر عائد لانخفاض القدرة المضادة للأكسدة المشاهدة في ماقبل الإرجاج

- **الخلايا القاتلة الطبيعية الرحمية** uterine natural killer (uNK) والتي لها دور هام في عملية غزو الأرومة الغاذية بسبب امتلاكها مستقبلات نوعية KIRs (Killer immunoglobulin receptors) ترتبط مع واسمات خاصة في الخلايا المغذية الجنينية بالإضافة إلى ذلك يعتبر (HLA-C) Trophoblastic human leukocyte antigen C أساسي في التفاعل مابين الساقط والأرومة الغاذية trophoblast/decidual interaction فقد لوحظ أن ارتباط نمط مورثي خاص منه (HLA-C٢) مع نمط مورثي خاص من KIR (KIR–AA) يزيد من خطورة ماقبل الإرجاج لازدياد نشاط uNK

- **الموت المبرمج** apoptosis والذي يمكن اعتباره السبيل النهائي للآليات السابقة حيث يلاحظ تركز البالعات والوحيدات في مكان انغراس المشيمة و تساهم البالعات بالتالي بشكل غير مباشر في عملية غزو الأرومة الغاذية للساقط القاعدي من خلال إزالة الخلايا الميتة بإطلاق إشارة الموت المبرمج الذي يعتبر عملية أساسية لحمل ناجح تساعد في التخلص من الخلايا الميتة الناجمة عن الساقط الوالدي وعملية انغراس المشيمة وبالتالي منع تحرر المستضدات الغيرية للأب paternal alloantigens [٤٣]

دور السيتوكينات في الحمل الطبيعي:

تبين العديد من الدراسات دور السيتوكينات المفرزة من قبل المشيمة في تحمل الجهاز المناعي الوالدي للجنين ومستضداته الغريبة عنه بالإضافة إلى دورها في العديد من الوظائف الأساسية في الحمل حيث تلعب دورا فعالا في[٤٣][٤٤][٤٥]:

١- تكوين الأعراس الذكرية والأنثوية

٢- تعتبر من المحفزات الأولية للرحم لتهيئته للتعشيش

٣- تتواسط عملية التعرف الوالدي للجنين وتنظم بذلك الأوجه المتنوعة لعملية التعشيش وغزو الأرومة وبالتالي فهي تساهم في تكون الجنين ونموه .

٤- تعتبر من المحرضات الالتهابية لبدء المخاض في المراحل الأخيرة من الحمل
ونظرا لهذا الدور المركزي الذي تلعبه السيتوكينات في الحمل فإن اضطراب تركيزها قد يترافق مع العديد من الاختلاطات نذكر منها: ماقبل الارجاج – الإسقاط - المخاض المبكر

الاضطراب البطاني في ماقبل الارجاج : Endothelial Dysfunction

يمكن تفسير ماقبل الارجاج على أنه اضطراب بطاني وظيفي واسع الانتشار بالاعتماد على مايلي[٤٦]:

١-يمكن تفسير كل المظاهر السريرية المرافقة لماقبل الارجاج على أنها ناجمة بالأصل عن اضطراب بطاني حيث يعزى ارتفاع الضغط الشرياني إلى التقبض الوعائي والبيلة البروتينية إلى أذية البطانة الكبية والوذمة إلى ازدياد النفوذية الوعائية

٢- الدراسات المخبرية وتشمل:

- ازدياد التركيز المصلي لل

fibronectin, factor VIII antigen and thrombomodulin

- تناقص إنتاج الموسعات الوعائية المشتقة من البطانة مثل

nitric oxide and prostacyclin

وازدياد إنتاج المقبضات الوعائية مثل endothelins and thromboxanes.

- ازدياد الحساسية الانجيوتنسينII
- لوحظ أن مصل النساء المصابات بماقبل الارجاج يحدث تفعيل بطاني في مزارع الخلايا البطانية المستخرجة من أوردة الحبل السري
- لوحظ أيضا ضعف جريان الدم في الشريان العضدي عند نساء بعد ٣سنوات من إصابتهن بماقبل الارجاج.

وتعتبر العوامل التالية مرشحة لإحداث الاضطراب البطاني في ماقبل الإرجاج [٤٢]:

- **Nitric Oxide**
- **Oxidative Stress**
- **Endothelin**
- **Arachidonic Acid Metabolites**
- **Renin-Angiotensin System**
- **Cytokines**
- **Angiogenic Factors**

- **Metabolic and Dietary Factors**

ويظهر الجدول (٣-١) بعض الدراسات التي ذكرت دور الاضطراب البطاني في ماقبل الإرجاج

Endothelial dysfunction and preeclampsia	
Authors	Markers of Endothelial Dysfunction
Di Paol etal, ٢٠٠٣[٤٧]	Placental expression of endothelin-١(ET-١), nitric oxide synthase (NOS), and tissue factor
Hung et al, ٢٠٠٤[٤٨]	TNF-α , mRNA, E-Selectin
Wang et al, ٢٠٠٤[٤٩]	Relative mRNA and protein expression for endothelial NOS
Beckmann et al, ٢٠٠٤[٥٠]	TNF-α _ concentrations in blood culture

NO indicates nitric oxide; TF, tissue factor; mRNA, messenger ribonucleic acid.

الجدول (٣-١) بعض الدراسات التي تبين دور الاضطراب البطاني في ماقبل الإرجاج

دور السيتوكينات في ما قبل الإرجاج:

حاولت العديد من الدراسات معرفة العوامل التي تبدأ الأذية البطانية في ماقبل الارجاج وذكر من بينها ازدياد الاستجابة الالتهابية للام تجاه الحمل MSIR (maternal systemic inflammatory response)فمن المعروف أن وجود الجنين داخل رحم الأم يخلق درجة خفيفة من الاستجابة الالتهابية أكثر ماتشاهد في الثلث الثالث من الحمل في ماقبل الارجاج لوحظ ازدياد هذه الاستجابة الالتهابية من خلال ازدياد مستويات السيتوكينات في الدوران الوالدي التي اعتبرت بدورها مسؤولة عن تحريض التفعيل البطاني وبالتالي الأذية الوعائية[٥١][٥٢][٥٣]

حيث ذكرت العديد من الدراسات[٥٤][٥٥] حدوث اضطراب في شبكة السيتوكينات خلال ماقبل الإرجاج فقد لوحظ وجود خلل في التوازن مابين th١/th٢ مع سيطرة th١ التي تقوم بإنتاج IL-٢ وIFN- gamma والذي يعتبر العامل الرئيسي المنشط لسمية البالعات الكبيرة حيث يساعد البالعات الكبيرة غير الناضجة على إنتاج العامل المنخر للورم الفا TNF-α وهذا مايشير إلى تورط الجهاز المناعي الوالدي في الآلية الامراضية لماقبل الارجاج وحاولت العديد من الدراسات التعمق في دراسة السيتوكينات على أمل الاستفادة من النتائج في فهم الآلية الامراضية لماقبل الارجاج وبالتالي إمكانية التنبؤ به بالاعتماد على قياس هذه السيتوكينات بالإضافة إلى

تطوير استراتيجيات علاجية جديدة قد تفيد في علاج ماقبل الارجاج وبالتالي تقليل نسبة المراضة والوفيات التي يسببها هذا المرض ومن بين هذه السيتوكينات سنركز على دور TNF-α

دور TNF-α في ما قبل الإرجاج

TNF-α سيتوكين التهابي يسبب تبدلات وظيفية وتركيبية في الخلايا البطانية و يعتبر من العوامل المرشحة لإحداث الأذية البطانية المرافقة لماقبل الارجاج وذلك من خلال الآليات المفترضة التالية:

١-اقترحت بعض الدراسات حدوث تفعيل متزايد للبالعات بجانب الشرايين الحلزونية وبالتالي ازدياد إفرازها للTNF-α الذي يقوم بشكل مباشر بإحداث موت مبرمج لخلايا الأرومة الغاذية خارج الزغابية extravillous trophoblasts ويمنعها بالتالي من عملية الغزو وإعادة تشكيل الأوعية [٥٥][٥٦].

٢-يقوم TNF-α بتثبيط عملية غزو الارومة الغاذية بشكل غير مباشر من خلال رفعه لمستوى١-PAI(plasminogen activator inhibitor ١)المعروف أيضاً باسم١SERPINE الذي يقوم بتثبيط uPA (urokinase plasminogen activator) بشكليه المرتبط والحروهو عبارة عن serine proteinase يسرع من عملية تحوبل البلاسمينوجين إلى بلاسمين الذي يلعب دور هام في عملية الغزو الخلوي بسبب قدرته على تفكيك مركبات الهيكل خارج الخلوي (extracellular matrix)[٥٧][٥٨].

٣-يزيد TNF-α من النفوذية الوعائية التي تعتبر مسؤولة عن العديد من اختلاطات ماقبل الإرجاج من خلال عدة آليات منها:

- ❖ زيادة تركيب جزيئات الالتصاق١-VCAM(Vascular Adhesion Molecule-١) و١-ICAM(intercellular adhesion molecule-١) والتي تسمح بدورها للعدلات بالالتصاق على جدار الوعاء الدموي[٥٩]
- ❖ يسبب TNF-α عدم استقرار في الكترونات الميتوكندريا وهذا مايسبب تحرر جذور أكسجينية حرة وتشكيل البيروكسيدازالشحمي وماينجم عن ذلك من تأذي للبطانة الوعائية باعتبارهما مركبات عالية الفعالية[٦٠]

٤-وجدت بعض الدراسات أن TNF-α يعزز من مستوى mRNA لل MMP٩ (Matrix Metalloproteinase ٩) الذي يساهم في حدوث ما قبل الارجاج بإحداثه خلل في الهيكل خارج الخلوي للساقط وهذا مايسبب اضطراب في علاقته مع الأرومة الغاذية خارج الزغابية[٦١].

٥- يعتبر TNF-α عامل خطورة يعززمن MCP-١RNA وبالتالي مستوى البروتين١-MCP (MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-١) في الخلايا الساقطية والذي يقوم بجلب البالعات إلى مواقع انغرس المشيمة والتي تضعف بدورها من عملية الغزو من خلال إحداث موت مبرمج لخلايا الأرومة الغاذية[٦٢]

٦- يقوم TNF-α بزيادة إنتاج الجذور الاكسيجينية الحرة وينقص من إنتاج NO(NITRIC-OXIDE) بواسطة الشكل المؤكسد للNAD(P)H[٦٠].

٧- يزيد TNF-α من تركيب SELECTIN-E حيث لوحظ ازدياد الشكل الذواب له في ماقبل الإرجاج ويعتبر وجوده علامة هامة على الاضطراب البطاني المحدث بTNF-α [٦٣].

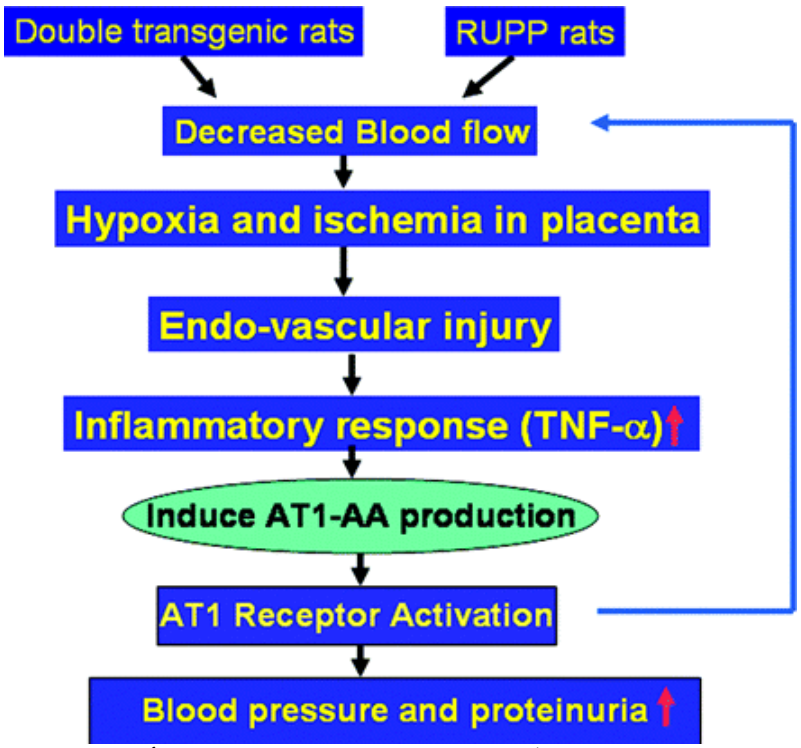
٨- يعزز TNF-α من IL٦-mRNA وبالتالي من إفراز IL٦ في الذي يساهم في الاضطراب البطاني من خلال[٦٠]:

ازدياد نفوذية الخلايا البطانية

تثبيط إنتاج البروستاسيكلين

إحداث اضطراب في التنشؤ الوعائي angiogenesis

٩- تشير الدراسات الحديثة إلى ترافق ماقبل الارجاج مع وجود أضداد ذاتية قادرة على تفعيل مستقبلات الأنجيوتانسين نمط١ (AT-١) ولقد أظهرت نماذج لماقبل الارجاج عند الجرذان دور TNF-α في إفراز هذه الأضداد وتشكيل معقد AT١-AA الذي يؤدي مباشرة إلى ارتفاع في الضغط وحدوث بيلة بروتينية نتيجة تفعيل مستقبل الأنجيوتانسين نمط١[٦٤][٦٥] كما هو موضح في الشكل (٣-١)



الشكل (٣-١) دور TNF-α في ماقبل الإرجاج من خلال تأثيره على AT١-AA

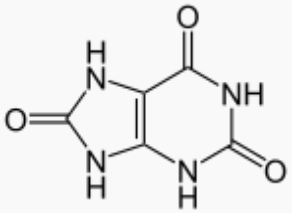
١٠-أخيراً يعتبر التعدد الشكلي (Polymorphisms) لمورثة TNF-α عامل خطورة لماقبل الإرجاج حيث ركزت الدراسات على اهمية الاليل TNF-α -G-٣٠٨A[٦٦][٦٧] .

الفصل الرابع

حمض البول Uric acid

تعريفه Definition :

حمض البول أو بولات (urate) مركب عضوي يتألف من الهيدروجين – الاوكسجين – النترجين – الكربون وله الصيغة التالية $C_5H_4N_4O_3$

Uric acid	
	
IUPAC name	٧،٩-dihydro-١H-purine-٢،٦،٨(٣H)-trione
Other names	٢،٦،٨ Trioxypurine

الجدول (٤-١) البنية الكيميائية لحمض البول

يعتبر الشكل النهائي الناتج عن استقلاب البورين (مكون أساسي للحموض النووية) الذي يتحول إلى كزانتين أو هيبوكزانتين ثم إلى حمض البول بوجود اوكسيداز الكرانتين xanthine oxidase

إن الثدييات المجترة تملك خميرة uricase الضرورية لأكسدة حمض البول و تحوله إلى مادة منحلة بالماء هي allontoin لذلك لايترسب حمض البول عندها.

بينما عند الإنسان وبسبب افتقاره لهذه الخميرة فقد يترسب حمض البول عند ازدياد تركيزه في العديد من الانسجة [٦٨].

ويكون معظم حمض البول في الدوران على شكل شاردة بولات وفق التفاعل التالي:

$$\text{Uric acid} \longleftrightarrow \text{Urate}^- + H^+$$

الذي ينزاح نحو اليمين عند الباهاء الشرياني الطبيعي ph=٧,٤٠ وهذا مايفسر وجود حمض البول على شكل بولات

ويعتبر حمض البول من العوامل القوية المضادة للأكسدة في الجسم حيث تأتي نصف القدرة المضادة للأكسدة في الجسم من حمض البول فهو يحمي الخلايا من تأذي DNA[٦٩].

إنتاج حمض البول:URIC ACID PRODUCTION

لايوجد حمض البول بشكل جاهز في الطعام وإنما يتم تركيبه في الكبد بواسطة تحطيم مركبات البورين الواردة مع الغذاء بالإضافة إلى البورين الناجم عن عمليات الاستقلاب الداخلي في الجسم ويعتبر البورين الغذائي المصدر الأساسي لحمض البول حيث لوحظ أن الحمية الخالية من البورين تؤدي إلى تناقص الطرح الكلوي لحمض البول تقريباً ٤٠%.
وتشمل عملية إنتاج حمض البول تحطيم مركبات البورين إلى الغوانين والهيبوكزانتين اللذان يتحولان إلى كزانتين يتحول بدوره بوجود الكزانتين أوكسيداز إلى حمض البول بشكل نهائي غير عكوس[٦٩] .

إطراح حمض البول:URIC ACID EXCRETION

كما ذكرنا سابقاً فإن أنسجة جسم الإنسان لاتستطيع استقلاب حمض البول ولذلك لابد من طرحه للحفاظ على الاستتباب الداخلي ويتم ذلك بطريقين :

الطريق المعدي المعوي:Gastrointestinal tract

وهو مسؤول عن طرح ثلث الوارد اليومي من حمض البول حيث يتم دخول حمض البول إلى الأمعاء بطريقة منفعلة تعتمد على تركيزه البلاسمي .
ثم تقوم الجراثيم الكولونية بتحطيم حمض البول ولايشاهد إلا كمية قليلة في البراز.

الطريق البولي:Urinary excretion

إن هذا الطريق مسؤول عن طرح ٧٠% من الوارد اليومي لحمض البول .ولقد أظهرت الدراسات أن عملية الطرح الكلوي لحمض البول تشمل أربع مراحل:
الرشح الكبي- عود امتصاص سابق للإفراز- الإفراز الأنبوبي – عود امتصاص تالي للإفراز حيث تحدث المراحل الثلاث الأخيرة في الأنبوب القريب كمايلي.

الرشح الكبي Glomerular filtration:يرتبط ٥٪ فقط من حمض البول البلاسمي بالبروتينات وهذا يجعل من المتوقع أن يرشح كامل حمض البول عن طريق الكبب ولكن من المعروف أن التصفية الكلوية لحمض البول عند الكهل الطبيعي تبلغ ١٢٪-٧ فقط من الحمل الراشح وهذا ما يشير إلى حدوث عود امتصاص أنبوبي ل٩٠% تقريباً من حمض البول الراشح

عود الامتصاص والإفرازالانبوبي:Proximal reabsorption and secretion
يعاد امتصاص معظم حمض البول الراشح في بداية الأنبوب القريب ويتلو ذلك حدوث إفراز أنبوبي في القطعة الثانية من الأنبوب القريب S٢ ويعتبر هذا الإفراز أهم مصدر لحمض البول المطروح ولكن يلاحظ حدوث عود امتصاص تالي للإفراز في القطعة الثالثة من الأنبوب القريب S٣ [٧٠]
ولمعرفة الآليات المؤثرة على عملية الطرح الكلوي لحمض البول يركز الاهتمام حالياً على نواقل حمض البول urate transporters

وراثيا : تم التعرف على أربع مورثات مسؤولة عن طرح حمض البول عن طريق الكليتين وهي : SLC١٧A٣ and ABCG٢, SLC٢A٩, SLC٢٢A١٢ ويعتبر URAT١ المرمز بواسطة المورثة SLC٢٢A١٢ الناقل الأساسي لحمض البول ويتواجد فقط في الخلايا الظهارية للأنبوب القريب وينقل حمض البول بالتبادل مع الأيونات العضوية [٧١][٧٢] A urate/organic anion exchanger
ويبدو أن الخصائص الوظيفية لهذا الناقل يمكن أن تفسر وبشكل نهائي الديناميكية الحركية للأنبوب القريب في عود امتصاص حمض البول.
بالإضافة إلى ذلك فقد ذكر وجود العديد من المواد ذات الألفة العالية لل URAT١ منها:
النواتج الاستقلابية مثل (اللاكتات- نيكوتينات- حمض الخل acetoacetate-حمض الزبدة hydroxybutyrate)وبعض الأدوية منها(Probenecid- phenylbutazone-Losartan-sulfinpyrazone- diuretics)
حيث تؤثر هذه المواد على عود امتصاص حمض البول حسب موقع تأثيرها فهي تقوم بفعل مدر لحمض البول عندما تؤثر من داخل لمعة الأنبوب القريب بينما تثبط إفراز حمض البول عندما تؤثر من الحيز داخل الخلوي وهذا مايفسر الأساس الذي ينظم من خلاله URAT١ مستوى البولات الدموي بالإضافة إلى ذلك فقد ذكر أن الطفرات في المورثة المرمزة لل URAT١ مسؤولة عن انخفاض حمض البول في الدم[٧٠][٧١]

المجال المرجعي
تبلغ القيم المرجعية لحمض البول حسب الجمعية الأمريكية الطبية American Medical Association
مابين mg/dL (٣,٦ - ٨,٣)
أو µmol/L (٢١٤ – ٤٩٤) حيث (١mg/dL=٥٩,٤٨ µmol/L)
إن اضطراب تركيز حمض البول في البلاسما زيادة أو نقصانا يترافق مع العديد من الأمراض وعندما يبلغ حمض البول حد الأشباع يمكن أن يظهر على شكل حصيات كلوية ناجمة عن ترسب بلوراته في الكليتين.

ارتفاع حمض البول في الدم : hyperuricemia
يعرف بإنه ارتفاع حمض البول > ٦,٥ أو ٧ ملغ / دل عند الرجال و> ٦ ملغ/ دل عند النساء ويعتبر تناقص الإطراح الكلوي لحمض البول مسؤول عن ٨٥-٩٠٪ من أسباب ارتفاع حمض البول في الدم البدئي والثانوي بينما تعزى النسبة الباقية إلى الإنتاج المتزايد له حيث يلاحظ ارتفاعه في الامراض التالية:[٧٣]
١ – قصور كلوي حاد أو مزمن
٢ – نقرس Gout
٣ – امراض نقي تكاثرية (امراض دم – لفوما – ورم نقى متعدد)
٤ – متلازمة Lesch-Nyhan syndrome (مرض وراثي)
٥ – ارتفاع ضغط شرياني أثناء الحمل
٦ – معالجة كيماوية
٧ – امراض قلبية وعائية Cardiovascular disease

٨ – متلازمة استقلابية Metabolic syndrome MS
hyperinsulinemia, hypertension, hyperlipidemia, and hyperglycemia
٩ – السكري Diabetes

انخفاض تركيز حمض البول في الدم : HYPOURICEMIA

يعرف بأنه انخفاض تركيز حمض البول في الدم <٢ملغ/دل وهو اضطراب نادر قد ينجم عن انخفاض إنتاج حمض البول بسبب تناقص فعالية الكزانتين أوكسيداز الذي يعزى إلى ثلاثة أسباب (وراثي- أذية كبدية شديدة - دوائي (الوبيرنول)) ولكن يعتبر السبب الأكثر شيوعاً لحدوثه هو تناقص عود الامتصاص الأنبوبي له وذلك يشاهد في الحالات التالية [٧٤].

١-خلل وراثي في البروتين الناقل لحمض البول في الأنبوب القريب
٢-متلازمة فانكوني Fanconi syndrome
٣- SIADH (syndrome of inappropriate ADH secretion)
٤- بعض الخباثات خاصة متلازمة هودجكن

وعلى الرغم من اعتبار انخفاض حمض البول في الدم اضطراب كيميائي حيوي أكثر من كونه علامة لمرض معين تبين أنه يساهم في ازدياد حدوث نسبة كل من :

القصور الكلوي الحاد غالباً بعد التعرض للجهد
Acute renal failure often following exercise
تشكل حصيات حمض البول uric acid stone formation.

الفصل الخامس

دور حمض البول في ماقبل الارجاج

THE ROLE OF URIC-ACID IN PREECLAMPSIA

الوظيفة الكلوية في الحمل الطبيعي وماقبل الارجاج:

في الحمل الطبيعي: يزداد الجربان الكلوي البلاسمي بمقدار ٨٠٪-٥٠ في الثلثين الأوليين من الحمل ويعود لمستوياته في الثلث الثالث

يزداد معدل الرشح الكبي بمقدار ٥٠٪

ينخفض تركيز حمض البول ليصل إلى٣ملغ/دل مقارنة مع ٤ ملغ/ دل خارج الحمل

ويعزى ما سبق إلى انخفاض المقاومة الوعائية الشريانية الواردة والصادرة.[٧٥]

في ماقبل الإرجاج :تحدث التغيرات التالية [٧٦][٧٧]

١-في الكبب :يتناقص كل من معدل الرشح الكبي والجربان الكلوي البلاسمي

وتحدث أذية بطانة الشعيرات الكبية ."glomerular endotheliosis" والتي تعتبر مميزة لماقبل الارجاج

ضياع البروتين في البول بسبب ازدياد نفوذية الكبب

٢ - في الانابيب : في الحالة الطبيعية يرشح حمض البول بشكل كامل تقريباً من الكبب يفرز ويعاد امتصاصه بواسطة الأنبوب القريب وتبلغ تصفية حمض البول ١٠٪ من تصفية الكرياتينين.

في ماقبل الارجاج يلاحظ انخفاض التصفية بشكل يسبق الأذية الكبية وهذا مايقترح دوراً إمراضياً للأنابيب والشكل رقم(٥-١) يوضح تغيرات تركيز حمض البول في ماقبل الإرجاج.

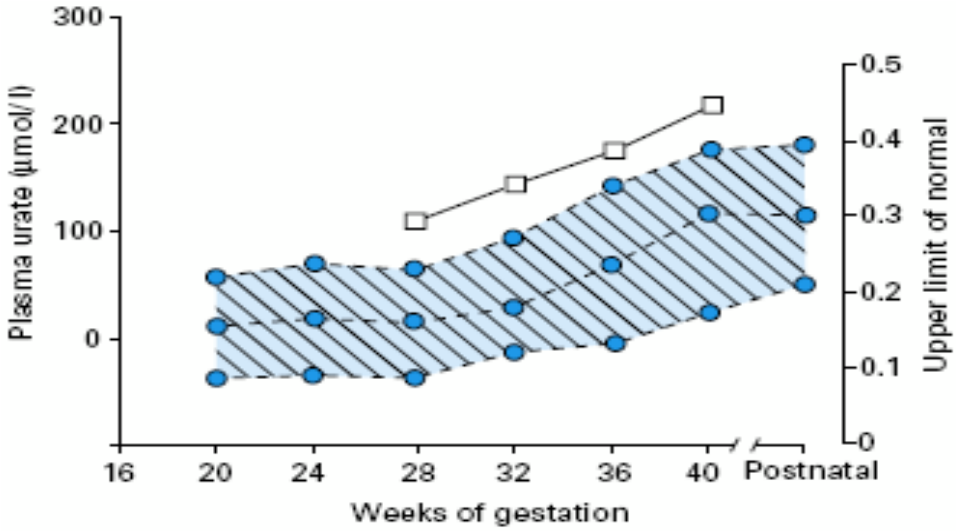


Figure 9.6 Changes in plasma urate concentration from 16 weeks of gestation showing 10th, 50th, and 90th centiles and the accepted upper limit of normal values. ❑—❑ shows the levels in a woman with severe pre-eclampsia

الشكل (٥-١) تغيرات تركيز حمض البول في ماقبل الإرجاج

دور حمض البول في ماقبل الارجاج:

يعتبر ارتفاع حمض البول من الموجودات الشائعة لماقبل الارجاج بالاضافة الى ترافقه مع الاختلاطات الوالدية والجنينية [٧٨] .

ومن الآليات المذكورة لتفسير ارتفاعه[٧٩][٨٠] :

١- تناقص الجريان الكلوي البلاسمي ومعدل الرشح الكبي GFR وهذا مايسبب ازدياد في عود امتصاصه.

٢- اعتلال الاوعية الدقيقة MICROVASCULA RPATHY الذي يسبب احتشاء موضعي نسيجي.

٣-ترافق الاحتشاء الناجم مع ازدياد إنتاج اللاكتات التي تثبط افراز البولات من الانبوب القريب وتزيد من تركيب حمض البول بسبب ازدياد منتجات تحطم DNA-RNA وبالتالي ازدياد استقلاب البورينات(ادنين وارجنين) التي تعمل على انتاج حمض البول تحت تأثير الكزانتين اوكسيداز

٤- يسبب الاحتشاء أيضاًازدياد في إنتاج الكزانتين أوكسيداز XO وبالتالي ازدياد حمض البول والجذور الأكسجينية الحرة ROS

بالاضافة لما سبق تميل الدراسات الحديثة إلى اعتبار حمض البول يتدخل في العملية الإمراضية لماقبل الارجاج وذلك من خلال دوره في الاضطراب البطاني المرافق لما قبل الإرجاج[٨١][٨٢]:

- لوحظ أن حمض البول يثبط من تحرر NO البطاني استجابة للاسيتيل كولين وبالتالي نقص التوسع الوعائي وهذا مايفسر استخدام Allopurinol(مثبط للكزانتين أوكسيداز وبالتالي ينقص من إنتاج حمض البول) في قصور القلب والنمط الثاني من الداء السكري
- يترافق ارتفاع حمض البول مع ازدياد تفعيل الصفيحات

- اعتباره مشعر للشدة التأكسدية المرافقة لماقبل الإرجاج حيث لوحظ ترافقه مع تشكيل الجذورالأكسجينية الحرة وبيروكسيداز الهيدروجين hydrogen peroxide وخاصة عندما يكون الكزانتين اوكسيداز (الأنزيم المشكل له)بشكله المؤكسد ويعتقد أن العوامل التالية تزيد من فعالية الانزيم وتحوله الى الشكل المؤكسد منها :

نقص التروية ومايتلوه من نقص أكسجة السيتوكينات

علامات ازدياد الجذورالاكسجينية الحرة وتناقص مضادات الاكسدة مثل حمض الأسكوربيك[٨٣]

- بالإضافة لذلك فقد ذكرت إحدى الدراسات الحديثة دور حمض البول كعامل أساسي في الآلية الإمراضية لماقبل الإرجاج وذلك من خلال تأثيره على كل من VEGF و sFLT-١ حيث أظهرت هذه الدراسة أن حمض البول يؤدي إلى ازدياد sFLT-١ وهذا التأثير يمكن تثبيطه باستخدام probencid[٨٤]

حمض البول والالتهاب : URIC-ACID AND INFLAMMATION

يمكن اعتبار حمض البول من العلامات الحساسة للالتهاب الوعائي في الجدر الشريانية حيث لوحظ ترافقه مع CRP (C reactive protein)كأحد عوامل الخطورة للمتلازمة الاستقلابية MS وهذا غير مستغرب لترافق كل من الموت المبرمج والنخر و الالتهاب مع ازدياد منتجات تحطم DNA وRNA الى مكوناتهما الأساسية الغوانين والأرجنين وبالتالي إلى الناتج النهائي حمض البول

من ناحية أخرى من المعروف أن حمض البول يحدث نسخ للعامل النووي (NF-KappB)و(monocyte chemoattractant protein-١ MCP-١) وبالتالي لوحظ ترافقه مع TNF-α في قصور القلب الاحتقاني congestive heart failure كمشعر لسوء الوظيفة الانقباضية والحدثية الالتهابية

بالاضافة إلى ذلك ينبه حمض البول وحيدات النوى على إنتاج كل من:

TNF-α وIL-١b وIL-٦ [٧٩][٨٠].

الدراسة العملية

أهداف وأهمية الدراسة

مجموعة الدراسة:مجموعة الشاهد- مجموعة المرضى

المواد والطرق المستخدمة

التحليل الإحصائي

النتائج

مناقشة النتائج

مقارنة نتائج الدراسة مع دراسات سابقة

الخلاصة والتوصيات

المراجع

١- أهداف الدراسة:

- ❖ دراسة مستويات ال TNF-α و Uric acidعند مريضات ماقبل الارجاج ومقارنتها بحوامل طبيعيات
- ❖ دراسة العلاقة بين TNF-αو علامات خطورة ماقبل الارجاج
- ❖ دراسة العلاقة بين TNF-α وUric acid

٢- أهمية الدراسة:

الاستفادة من نتائج الدراسة في:

- فهم الآلية الإمراضية لماقبل الإرجاج
- تطوير استراتيجات علاجية جديدة قد تكون مفيدة لماقبل الإرجاج

٣- المواد والطرق: Material and Method

٣-١- تصميم الدراسة:DESIGN

هذه الدراسة من نمط دراسات الحالة - الشاهد الاستعادية

Retrospective case-control study

٣-٢-مكان وزمان الدراسة:

أجريت الدراسة في مشفى التوليد الجامعي والمواساة حيث تم جمع العينات من مشفى التوليد الجامعي بينما أجريت الاختبارات في مشفى المواساة قسم الطب المخبري
وذلك في الفترة الواقعة مابين ١/١/ ٢٠٠٨ وحتى تاريخ ٢٠٠٩/١/٣٠

٣-٣- المرضى عينة الدراسة:

شملت الدراسة مجموعتين:

المجموعة الأولى:مجموعة ماقبل الارجاج(PE)

تضمنت ٥٠ مريضة ماقبل إرجاج مشخصة حسب المعايير التالية المنصوص عليها من قبل NHBPEP والموافقة لتوصيات ACOG وهي:

١-ضغط شرياني ≤ ١٤٠/٩٠ ملم زئبقي في قرائتين منفصلتين بفارق على الأقل٦ ساعات ولكن ليس أكثرمن٧أيام

٢-بيلة بروتينية ≤ ٣٠ ملغ/دل في عينتين بوليتين مأخوذتين بفارق على الأقل ٤-٦ ساعات وذلك حسب[٨٥] حيث لوحظ وجود ٣٠٠ ملغ في بول ٢٤ ساعة عند ٣٠٪ من مريضات ماقبل الإرجاج اللواتي أظهرت العينة العشوائية لديهن وجود أثر للبروتين.

٣-حدوث١و٢ بعد الأسبوع٢٠ من انقطاع الطمث

وقد استبعدت الدراسة كل من لديها

١ - اضطرابات قلبية- كلوية – كبدية

٢- سكري

٣- اضطرابات شحمية بدئية أو ثانوية

٤- بداية مخاض

٥- استخدام أي دواء خلال الحمل

٦- وجود أي عرض للإنتان

٧- النقرس

٨- أمراض مناعة ذاتية كالداءالرثياني

المجموعة الثانية:الحمل الطبيعي(NP)واعتبرت مجموعة الشاهد

تضمنت ٤٠ حامل طبيعية حسب الشروط التالية:

١- ضغط طبيعي خلال فترة الحمل

٢- تطورالحمل و الجنين في الحدود الطبيعية

٣- لايوجد بداية مخاض

تم الحصول على المعلومات من قبل المريضة بعد أخذ موافقتها من خلال استبيان صمم خصيصاً لأغراض الدراسة ويظهر الملحق رقم(١) نسخة من الاستبيان المذكور

وقد شمل الاستبيان المعلومات التالية :

١-هوية المريضة

٢- القصة المرضية

٣-القصة العائلية

٤-معلومات تتعلق بالحمل :عدد الحمول gravity-عدد الوادات parity -عدد الإسقاطات-عمر الحمل الحالي

٥- الأدوية المستخدمة

٦- BMIمؤشر كتلة الجسم وهو نسبة الوزن إلى مربع الطول كغ/م^{٢}

الملحق(ا)

بطاقة استبيان المريضة

اسم المريضة: العمر:

العمل:

عدد الحمول:G

عدد الولادات:P

عدد الإسقاطات:

عمر الحمل الحالي:

مؤشر كتلة الجسم BMI(kg/m٢)

سوابق مرضية وجراحية:

سوابق ما قبل ارجاج:

الضغط الشرياني:

البيلة البروتينية:

الأدوية المستخدمة

٤-٣- طريقة العمل

من كل حالة في الدراسة تم أخذ ١٠ مل دم عن طريق الوريد في أنبوب دون إضافة مانع تخثر وترك ١٠ دقائق ليتخثر في درجة حرارة الغرفة وللحصول على المصل تم تثفيل العينة خلال ٣٠ دقيقة من الجمع في مثفلة بسرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة لمدة ١٥ دقيقة

ثم قسم المصل في ثلاثة كوفيتات وحفظ بالدرجة(-٨٠)حتى وقت إجراء الاختبار لتجنب التداخل في الاختبار الذي قد ينجم عن حلقة فك تفريز- إعادة تفريز

أ-معايرة TNF-α:

تم قياس TNF-α بطريقة الإمتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم السندويش "sandwich" ELISAباستخدام (K٩٦١٠) TNF-α ELISA KI

مبدأ الاختبار:principle

إن طريقة ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) تسمح بالتحديد الكمي للTNF-α كمايلي:

في مرحلة الحضن الأولى يرتبط TNF-α الموجود في العينة مع أضدادTNF-α فأرية وحيدة النسيلة مثبتة على سطح الصفيحة

بعد مرحلة الغسيل للتخلص من المواد الزائدة يتم تحديد كمية TNF-α التي ارتبطت في المرحلة الأولى بإضافة ضد مضادلأضداد TNF-α مرتبط بأنزيم بيروكسيداز فجل الخيل (Horseradish peroxidase) ثم تقاس الفعالية الأنزيمية بإضافة ركيزة الانزيم labeled conjugate وتقديرالتفاعل اللوني في مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة ٤٥٠nm حيث تكون كمية TNF-α المرتبطة متناسبة مع الفعالية الأنزيمية .

المواد الموجودة في الكيت

١-plate:صفيحة بلاستيكية تحوي ٩٦ بئرفيها اضداد معلومة لل TNF-α مثبتة في قعر الآبار

٢-WASHBUF:محلول غسيل

٣-AB:أضداد فأرية ثانيةللTNF-α

٤-CONJ:أنزيم بيروكسيداز فجل الخيل

٥-STD:عياري بتركيز(١٠٠٠ pg/ml)

٦-STDBUF:محول تمديد للعياري

٧-SUB:ركيزة انزيمية(تترامبتيل بنزيدين)

٨-STOP:محلول إيقاف للتفاعل

مواصفات الكيت

القيمة المتوقعة expected value حسب نشرة الكيت:TNF-α < ٢٠pg/ml

الدقة في قيمة الكيت لنفس اليوم مكررة ٢٠ مرة لكل عينة =٦,٣٪

Precision(intra-assay variation) =٦,٣٪

الدقة الكلية خلال ثلاثة أشهر في قيمة الكيت تم حسابها من خلال قياس ٢٠ عينة من قبل ثلاثة تقنيين باستخدام العديد من الكواشف

Total precision(inter-assay variation)=٨,٢٪

الحساسية sensitivity= ١٠ pg/ml

تفاعلات متصالبة cross reactivity : GM-CSF <٠,١
(granulocytes monocytes-colony stimulating factors)
M-CSF <٠,١
(monocyte- colony stimulating factors)
G-CSF <٠,١
(granulocytes- colony stimulating factors)

ب-معايرة Uric acid

تمت معايرة حمض البول بطريقة أنزيمية لونية باستخدام جهاز(Hitachi٧٠٤)

مبدأالاختبار:Principle

١-يتأكسد حمض البول بواسطة اليوريكاز بوسط مائي إلى ألانتوئين و بيروكسيداز الهيدروجين
٢- يعاير البيروكسيداز الناتج بإضافة مادة متقبلة للأكسجين هي ٤-أمينوفينازون التي تؤكسد بوجود أنزيم Peroxidase إلى مادة مولدة للون الأحمر يقاس امتصاصها عند طول موجة ٥٥٠ نانومتر حيث تكون شدة اللون الناتج متناسبة طرداً مع تركيز حمض البول في العينة كما هو موضح في المعادلات التالية:

$$\text{Uric acid} + ٢H_٢O + O_٢ \xrightarrow{\text{uricase}} \text{Allantoine} + Co_٢ + H_٢o_٢$$

$$٢H_٢o_٢ + ٤\text{-Aminophenazone} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Red quinine} + ٤H_٢o$$

مواصفات الكيت

الخطية حتى ٢٠ ملغ/ دل
سلبية كاذبة:بوجود تراكيز عالية لحمض الاسكوربيك
إيجابية كاذبة:العينة الشحمية وهيموغلوبين > ١٠٠ ملغ/ دل(العينة منحلة)
القيم المرجعية:نساء < ٥,٧ ملغ/ دل

٥- التحليل الإحصائي:

بعد الإنتهاء من إجراء الاختبارات تم إدخالها إلى الحاسوب باستخدام برنامج Excel وبعدها أجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS١٢ حيث تم التعبيرعن النتائج كمايلي:
المتغيرات الرقمية من خلال المتوسط ± الانحراف المعياري(mean ± SD)
الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار t (Student 't')
تقييم العلاقة بين متغيرين رقمين باستخدام معامل الارتباط
correlation-coefficient(Pearson idex,r) والذي تكون قيمته مابين ١- و١+
ولتوضيح العلاقة بين متغيرين أوأكثر استخدم مخطط التشتت scatter plots والذي يشير إلى وجود علاقة خطية عند إمكانية رسم خط انكفاء regression line بين عدد من النقاط
اعتبرت النتائج ذات قيمة إحصائية إذا كانت P value <٠,٠٥

٦-النتائج:RESULTS

٦-١تم توضيح الصفات السريرية لكل من مجموعتي الشاهد وماقبل الارجاج في الجدول رقم(١)

لم يلاحظ وجود فرق إحصائي بين المجموعتين حسب كل من العمر وعمر الحمل(P=٠,٢)

بينما أظهرت مريضات ماقبل الإرجاج ازدياد هام في الضغط الانقباضي والانبساطي مقارنة بالشاهد($p < ٠,٠٠٠١$).

لم يلاحظ وجود بيلة بروتينية عند أي حامل في مجموعة الشاهد بينما كل مريضات ماقبل الارجاج كان لديهن بيلة بروتينية $\geq +١$ dipstick

بالنسبة لل BMI لم يكن هناك فرق إحصائي هام بين الشاهد وماقبل الإرجاج (P=٠,٢)

المتغيرات	مجموعة الشاهد	مجموعة ماقبل الارجاج	P value
العمر (سنوات) متوسط±انحراف معياري	٢٦,٥±٥,٨	٢٥,٣±٥,٤	NS ٠,٣٢
عمر الحمل(أسابيع)	٣٦,٥±٤,٩	٣٥,١±٣,٥	NS ٠,١٣
خروس	٢٠	٣٤	
ولود	٢٠	١٦	
الضغط الانقباضي(ملم زئبقي)	١١١,٦٦±٣,٣	١٥٩,٧±١٢,٥٥	< ٠,٠٠٠١
الضغط الانبساطي(ملم زئبقي)	٧٠,٨٣±٢,٢٨	٩٨,٦٢±٨,٧٢	<٠,٠٠٠١
مؤشر كتلة الجسم(كغ/ م^{٢})	٢٧,٩٩±٥,٤٩	٢٩,٢٢±٤,٠٣	NS ٠,٢٣
البيلة البروتينية(ملغ/دل)	ـــــ	٢٤٥,٢±١٩٠,٣	

NS = not significant

P values were determined byT STUDENT

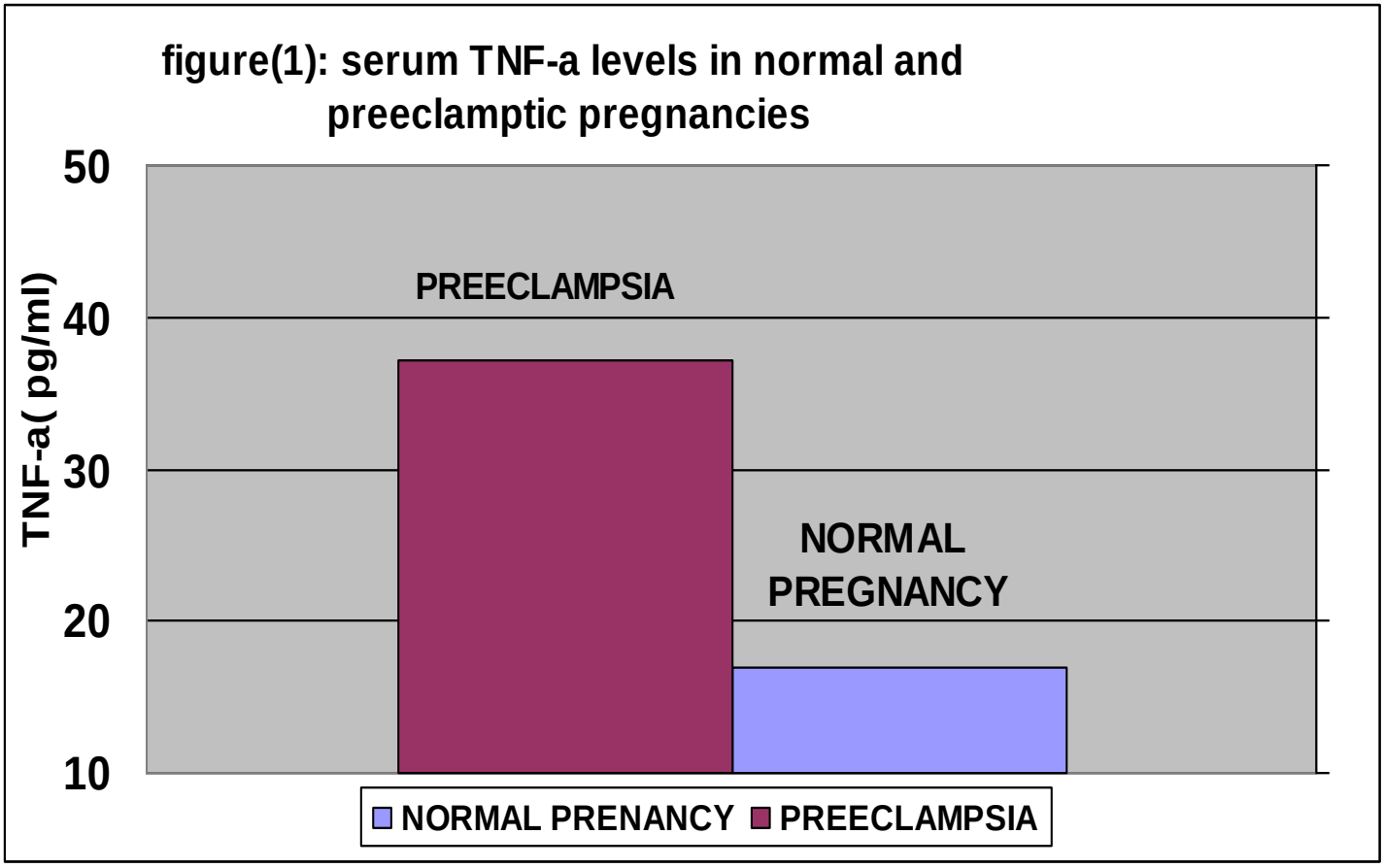
الجدول(١) الصفات السريرية للحالات المشاركة في الدراسة

٦-٢ -كانت نتيجة مقايسة TNF-α عند مجموعة الشاهد(١٧,٣٨±١٠,٣٣) حيث لوحظ وجود ارتفاع بنسبة ٪١٧,٥

بينما كانت في ماقبل الارجاج(٣١,١٥±٣٧,١١)حيث لوحظ وجود فرق إحصائي هام بين الشاهد وماقبل الارجاج(p=٠,٠٠٠١) وهذا موضح في الجدول (٢) والشكل(١)

	الشاهد	ماقبل الارجاج	P value
عدد الحالات	٤٠	٥٠	
TNF-α	١٠,٣٣±١٧,٣٨	٣١,١٥±٣٧,١١	٠,٠٠٠١

الجدول(٢)تركيز TNF-α في الحمل الطبيعي وماقبل الإرجاج



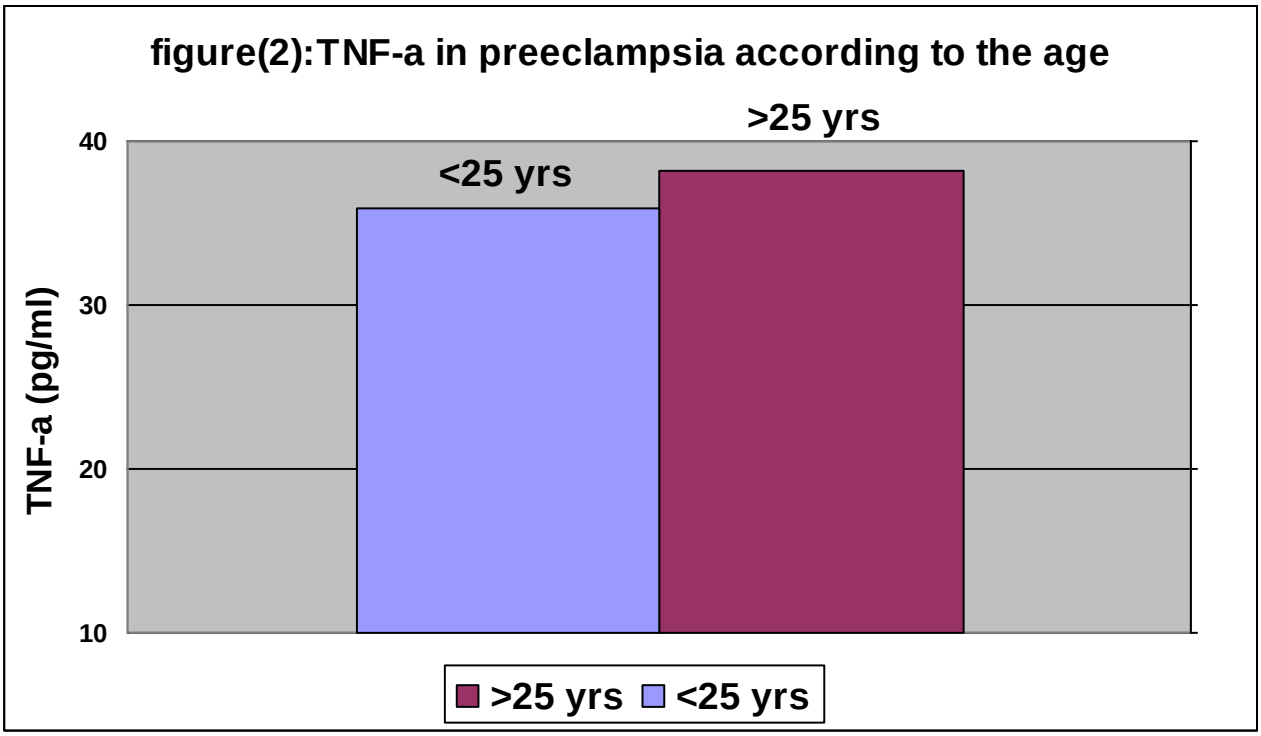
الشكل(١) تركيز TNF-α في الحمل الطبيعي وماقبل الإرجاج

٦- ٣ تم تقسيم الحالات في مجموعة الشاهد وماقبل الإرجاج إلى مجموعتين حسب العمر-عدد الولادات –الضغط الشرياني الوسطي (MAP)

حسب العمر:في مجموعة الشاهد كانت نسبة المرضى تحت ٢٥سنة ٧٥٪(العدد=٣٠) وأكثر من٢٥ سنة ٢٥%(العدد=١٠) بينما في ماقبل الإرجاج كان هناك ٢٥ في كل مجموعة لم يلاحظ فرق إحصائي في تركيز TNF-α حسب العمر في كل من مجموعتي الشاهد وماقبل الارجاج الجدول(٣) الشكل(٢)

	الشاهد		ماقبل الإرجاج	
	عدد الحالات	TNF-α	عدد الحالات	TNF-α
كل الحالات	٤٠	١٧,٣٨±١٠,٣٣	٥٠	٣٧,١١±٣١,١٥
<٢٥سنة	٣٠	١٧,٦٨±١٦,٨٩	٢٥	٣٥,٨٩±١٨,٧٢
≥٢٥سنة	١٠	١٧,٠٨±١٣,٠٧	٢٥	٣٨,٤٢±٤٠,٧
Pvalue	٠,٩٥		٠,٧٩	

الجدول(٣)تركيزTNF-α حسب العمر في الشاهد وماقبل الارجاج

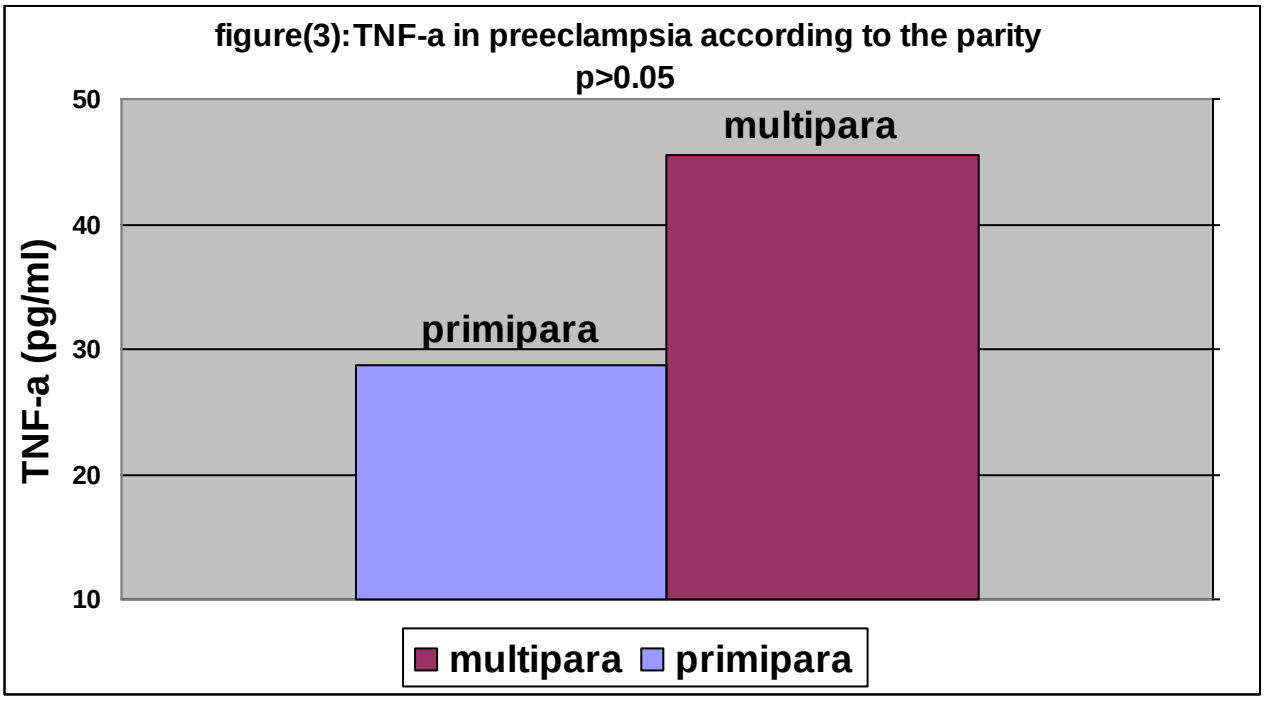


الشكل(٢)تركيزTNF-α في ماقبل الارجاج حسب العمر

حسب عدد الولادات:في ماقبل الارجاج كانت نسبة الخروس ٦٨٪(العدد=٣٤) والولود ٣٢٪ (العدد=١٦)وتركيز TNF-α للخروس (٢٨,٨±٢٨,٧٦) والولود(٣٤,٤٨±٤٥,٤٦)
عند الشاهد كانت نسبة الخروس ٥٠٪ والولود٥٠٪ وتركيز TNF-α للخروس(١٦,٨٩±١٧,٠٨) والولود(٢٢,٢١±١٧,٧٨)
لم يلاحظ فرق إحصائي في تركيز TNF-α لكل من مجموعتي الشاهد وماقبل الارجاج حسب عدد الولادات الجدول(٤) الشكل(٣)

	الشاهد		ماقبل الارجاج	
	عدد الحالات	TNF-α (Pg/ml)	عدد الحالات	TNF-α (Pg/ml)
كل الحالات	٤٠	١٧,٣٨±١٠,٣٣	٥٠	٣٧,١١±٣١,١٥
خروس	٢٠	١٧,٠٨±١٦,٨٩	٣٤	٢٨,٧٦±٢٨،٨
ولود	٢٠	١٧,٧٨±٢٢,٢١	١٦	٤٥,٤٦±٣٤,٤٨
Pvalue	٠,٩٢		٠,٠٩	

الجدول(٤)تركيزTNF-α حسب عدد الولادات في الشاهد وماقبل الإرجاج

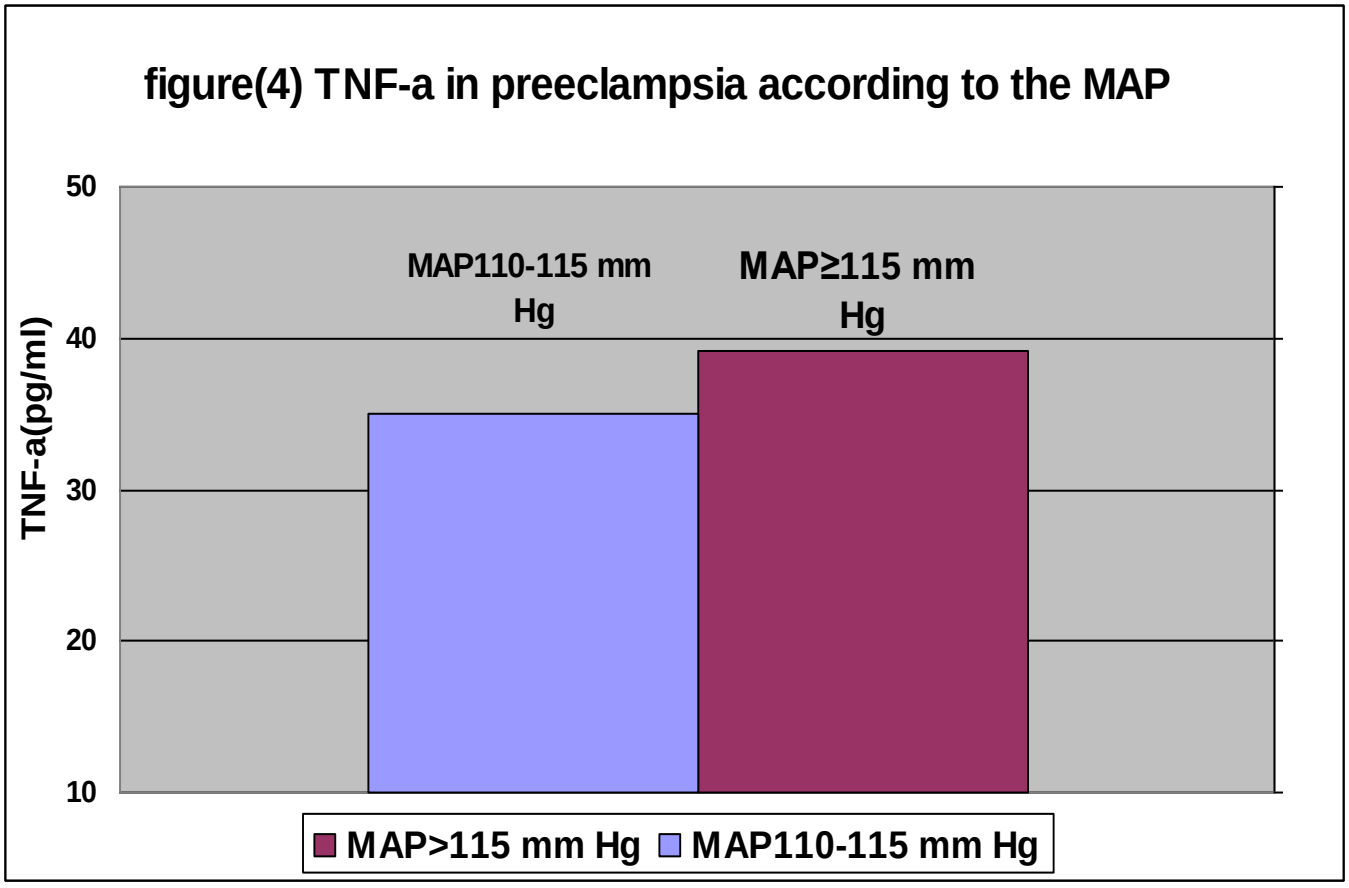


الشكل(٣)تركيز TNF-α في ماقبل الإرجاج حسب عدد الولادات

حسب الضغط الشرياني الوسطي : تم تقسيم ماقبل الارجاج حسب الضغط الشرياني الوسطيMAP (mean arterial pressure)والذي يعتبر الأفضل قي التنبؤ بماقبل الارجاج [٨٦] إلى مجموعتين الأولى (العدد =٣٠)بضغط شرياني وسطي ١١٥-١١٠ ملم زئبقي والثانية(العدد= ٢٠) بضغط شرياني وسطي≤ ١١٥ملم زئبقي حيث لم يلاحظ وجود فرق إحصائي في تركيز TNF-α مع ازدياد الضغط الشرياني الوسطي حيث كانتP>٠,٠٥الجدول(٥)الشكل(٤)

	الشاهد		ماقبل الارجاج	
	عدد الحالات	TNF-α Pg/ml	عدد الحالات	TNF-α Pg/ml
كل الحالات	٤٠	١٧,٣٨±١٠,٣٣	٥٠	٣٧,١١±٣١,١٥
MAP ١١٥-١١٠ ملم زئبقي	-	-	١٢	٣٥,٠٥±٣٨,٨٢
MAP≤١١٥ ملم زئبقي	-	-	٣٨	٣٩,١٧±٢٧,٤٤
PVALUE			٠,٧٤	

الجدول(٥) تركيز TNF-α حسب الضغط الشرياني الوسطي(MAP) في الشاهد وماقبل الارجاج



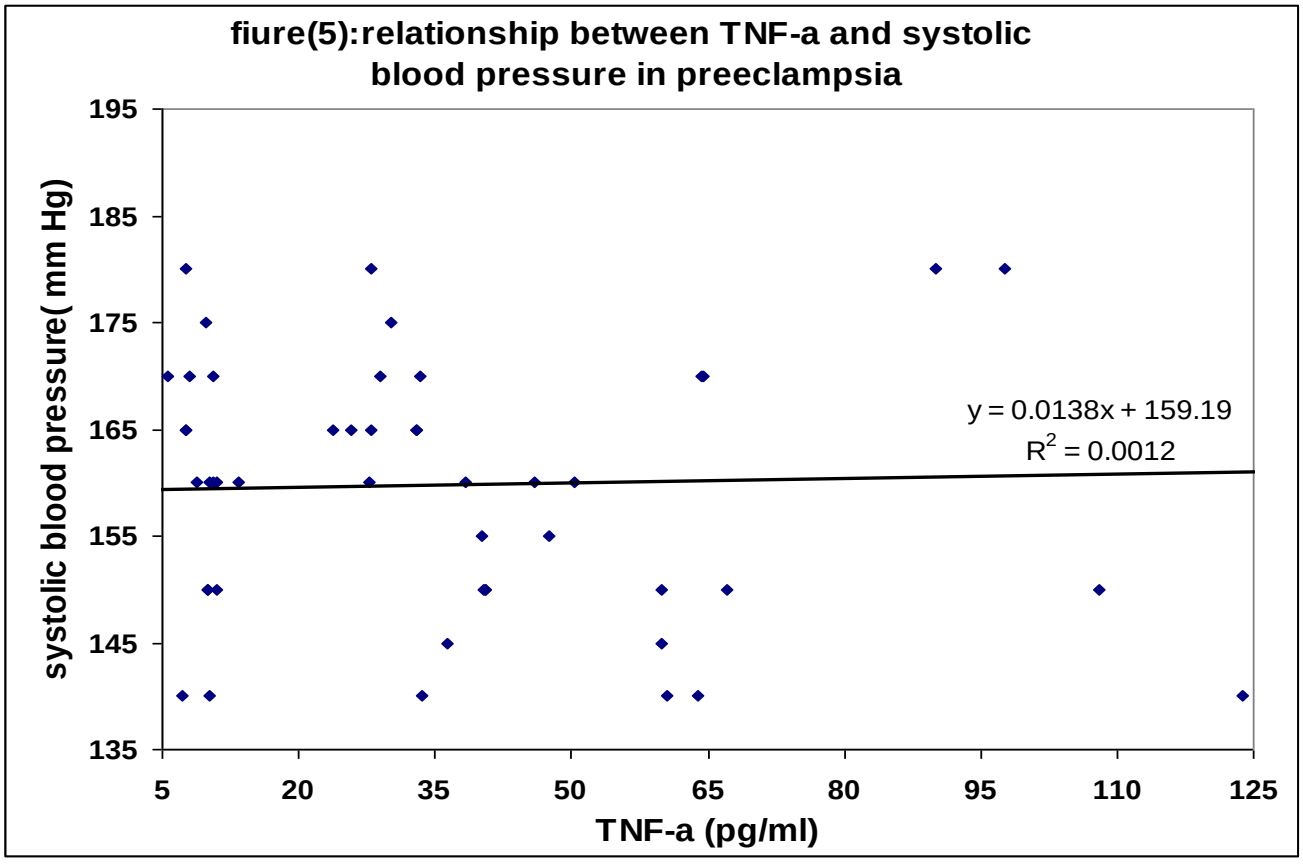
الشكل(٤)تركيز TNF-α في ماقبل الارجاج حسب الضغط الشرياني الوسطي(MAP)

٤-٦ دراسة العلاقة مابين تركيز TNF-α في مجموعة ماقبل الارجاج مع عوامل خطورة ماقبل الإرجاج

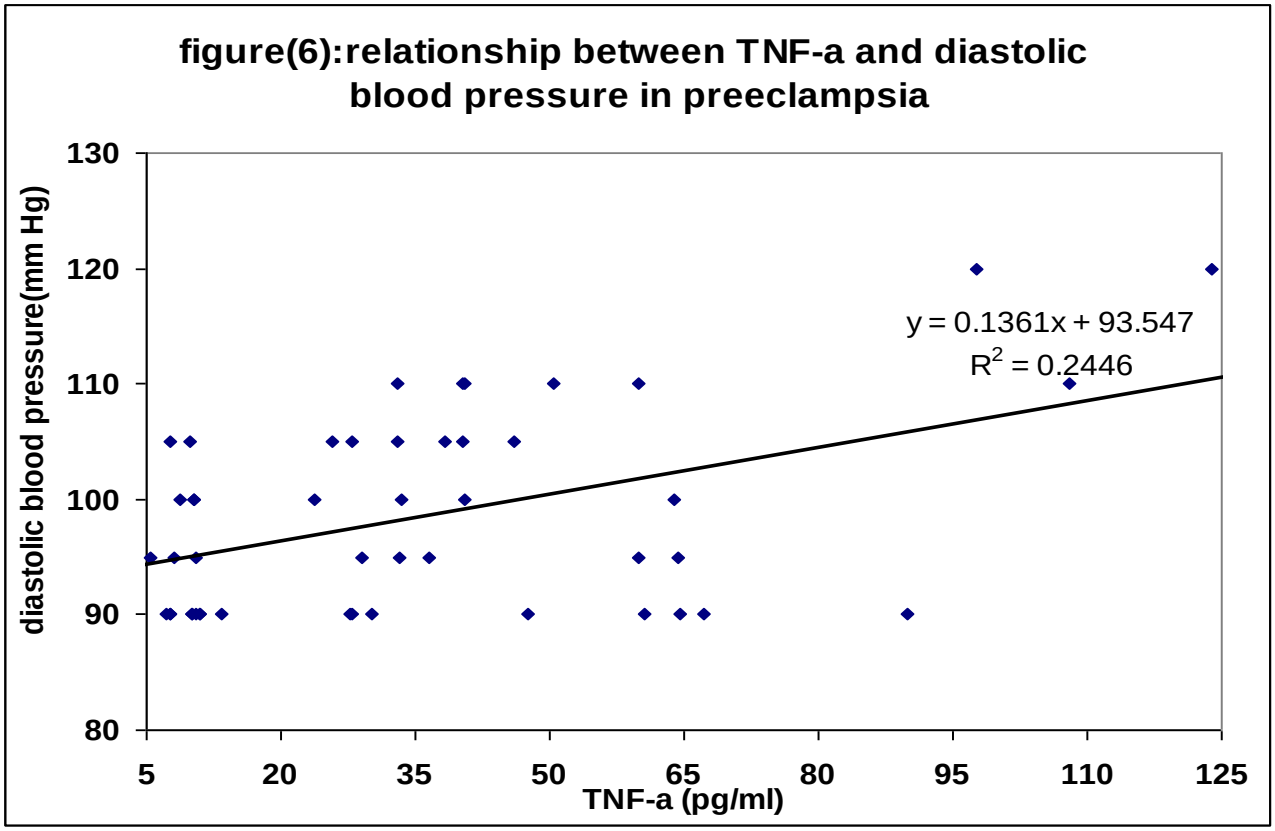
١- **مع الضغط الانبساطي والانقباضي:** بدراسة العلاقة مابين تركيز TNF-α والضغط الانقباضي لم يلاحظ وجود ارتباط إحصائي بينما كان الارتباط إيجابي وهام إحصائياً مابين تركيز TNF-α والضغط الانبساطي الجدول(٦) الشكل (٥)الشكل(٦)

المتغير	الضغط الانقباضي		الضغط الانبساطي	
TNF-α	P=٠,٤٠٦٩	r=٠,٠٣٤١٤	P=٠,٠٠٠٣٤	r=٠,٤٩٤٦

الجدول(٦)العلاقة مابين TNF-α والضغط الانقباضي والانبساطي



الشكل(٥)العلاقة مابين TNF-α والضغط الانقباضي في ماقبل الارجاج

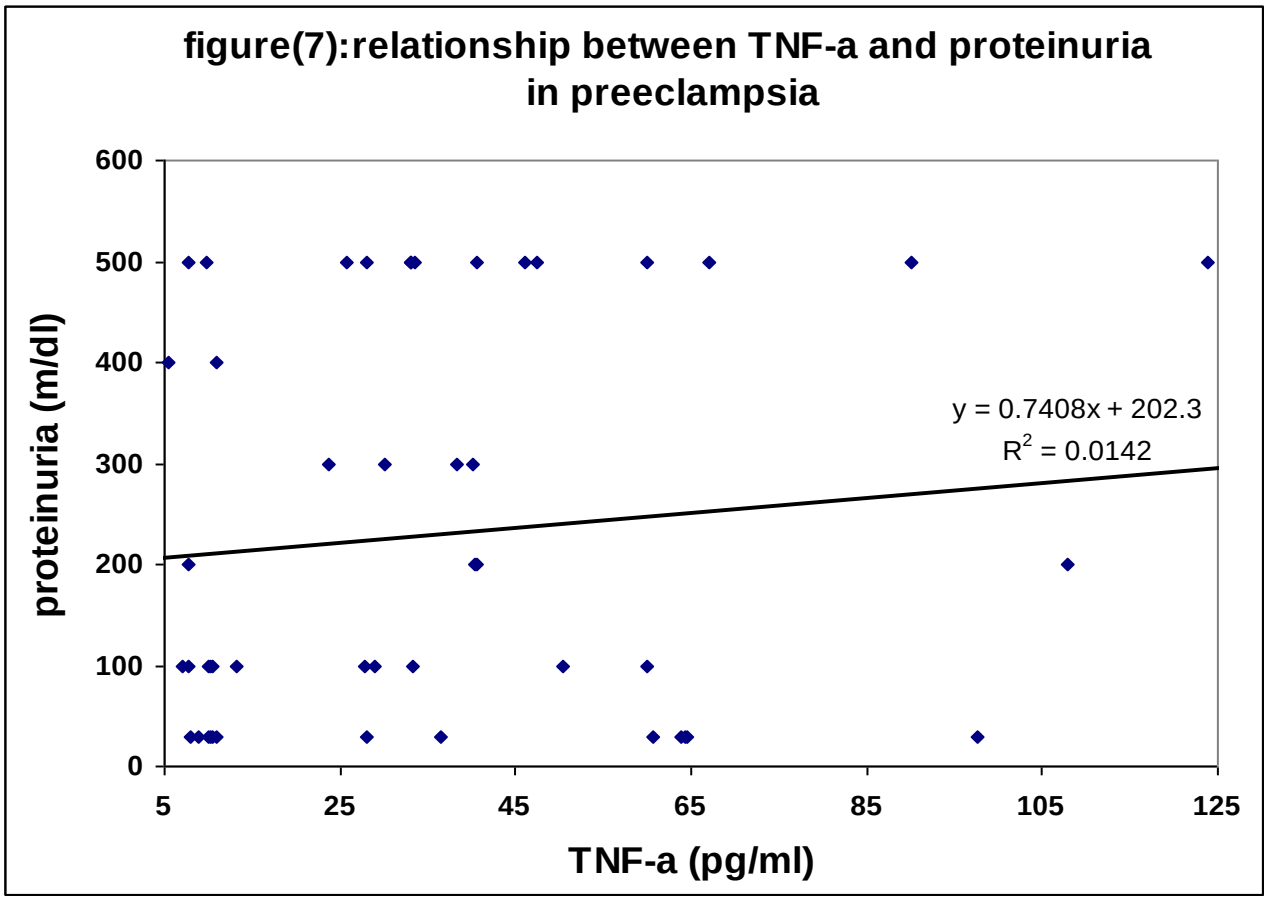


الشكل(٦)العلاقة بين TNF-α والضغط الانبساطي في ماقبل الارجاج

٢- مع البيلة البروتينية: لم يوجد ارتباط إحصائي مابين مستوى البيلة البروتينية وتركيز TNF-αفي ماقبل الارجاج الجدول(٨) الشكل(٧)

المتغير	البيلة البروتينية(ملغ/دل)	
TNF-α	r=٠,١١٩٠	P=٠,٢

الجدول(٨):العلاقة بين TNF-α والبيلة البروتينية في ماقبل الإرجاج

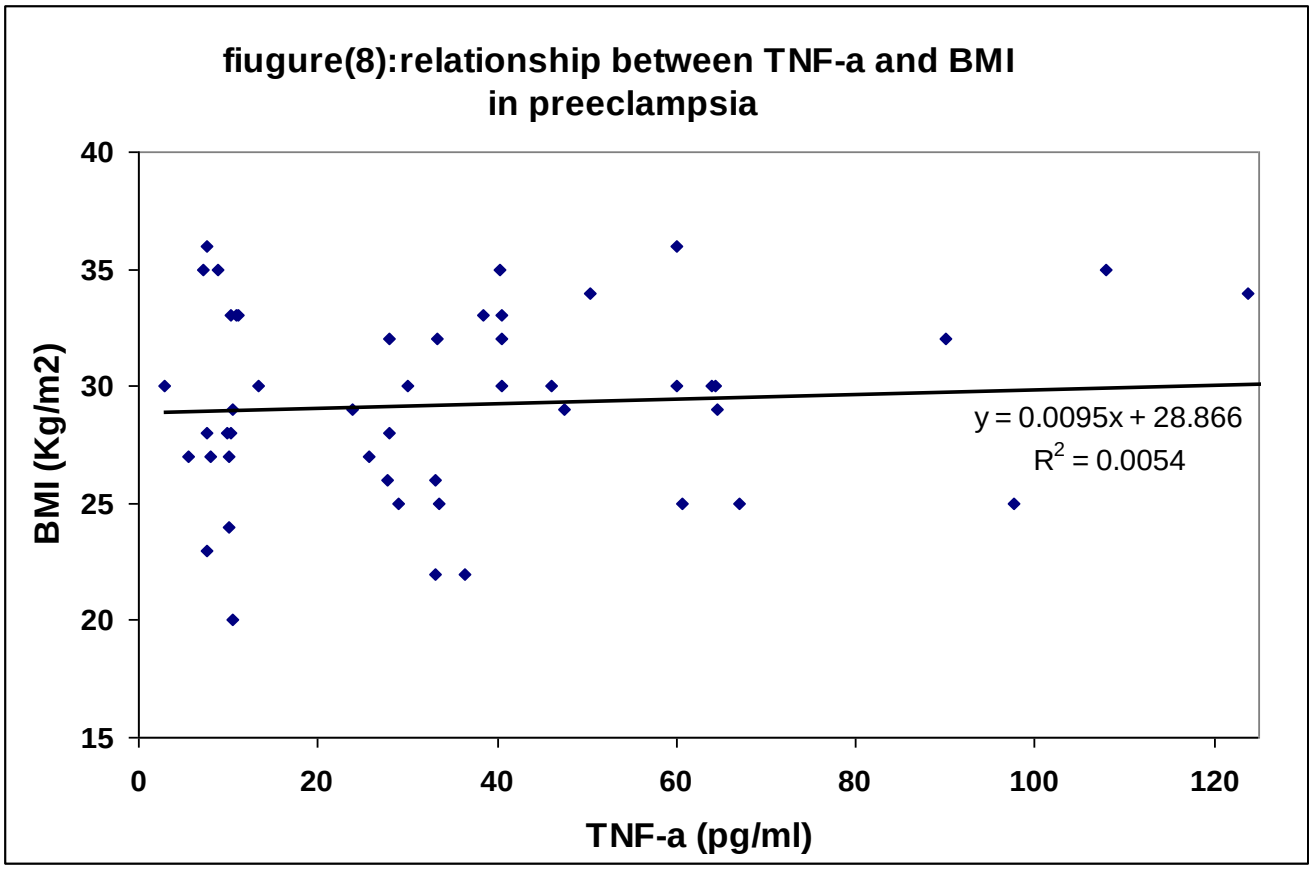


الشكل(٧):العلاقة بين TNF-α والبيلة البروتينية في ماقبل الارجاج

٣- مع مؤشر كتة الجسم BMI: لم يلاحظ وجود ارتباط إحصائي مابينBMI الحامل وتركيز TNF-α في ماقبل الارجاج الجدول(٩) الشكل (٨)

المتغير	BMI(kg/m٢)	
TNF-α	r=٠,٠٧٣٦	P=٠,٣

الجدول(٩)العلاقة مابينTNF-α وBMI في ماقبل الارجاج

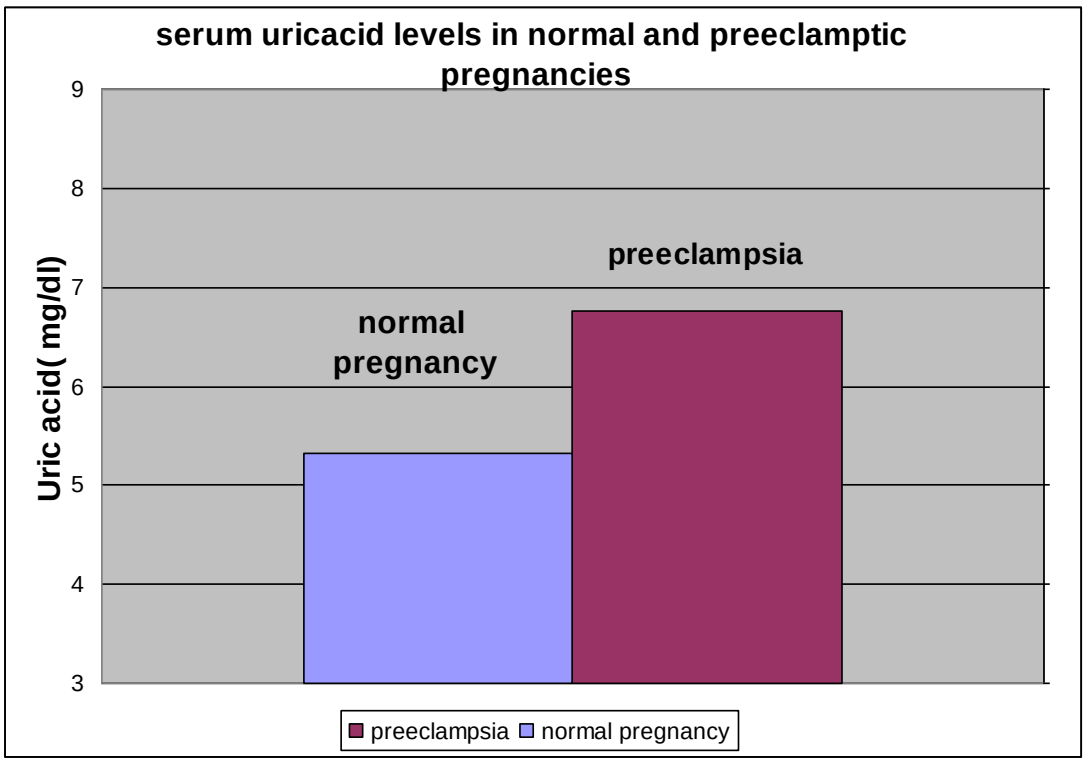


الشكل(٨)العلاقة بين TNF-α وBMI في ماقبل الارجاج

٦-٥ بالنسبة لحمض البول كانت نتيجة مقايسة حمض البول عند مجموعة الشاهد(١,٢٣±٥,٣٣) بينما في ماقبل الارجاج(١,٠٧±٦,٧٦) حيث نلاحظ ازدياداً هاماً إحصائياً في تركيز حمض البول في ماقبل الارجاج مقارنة بالشاهد ٠,٠٠١> p
الجدول(١٠)الشكل(٩)

	الشاهد	ماقبل الارجاج	P value
حمض البول (ملغ/ دل)	١,٢٣±٥,٣٣	١,٠٧±٦,٧٦	٠,٠٠١ >

الجدول (١٠) تركيزUric-acid (mg/dl) في مجموعتي الشاهد وماقبل الإرجاج



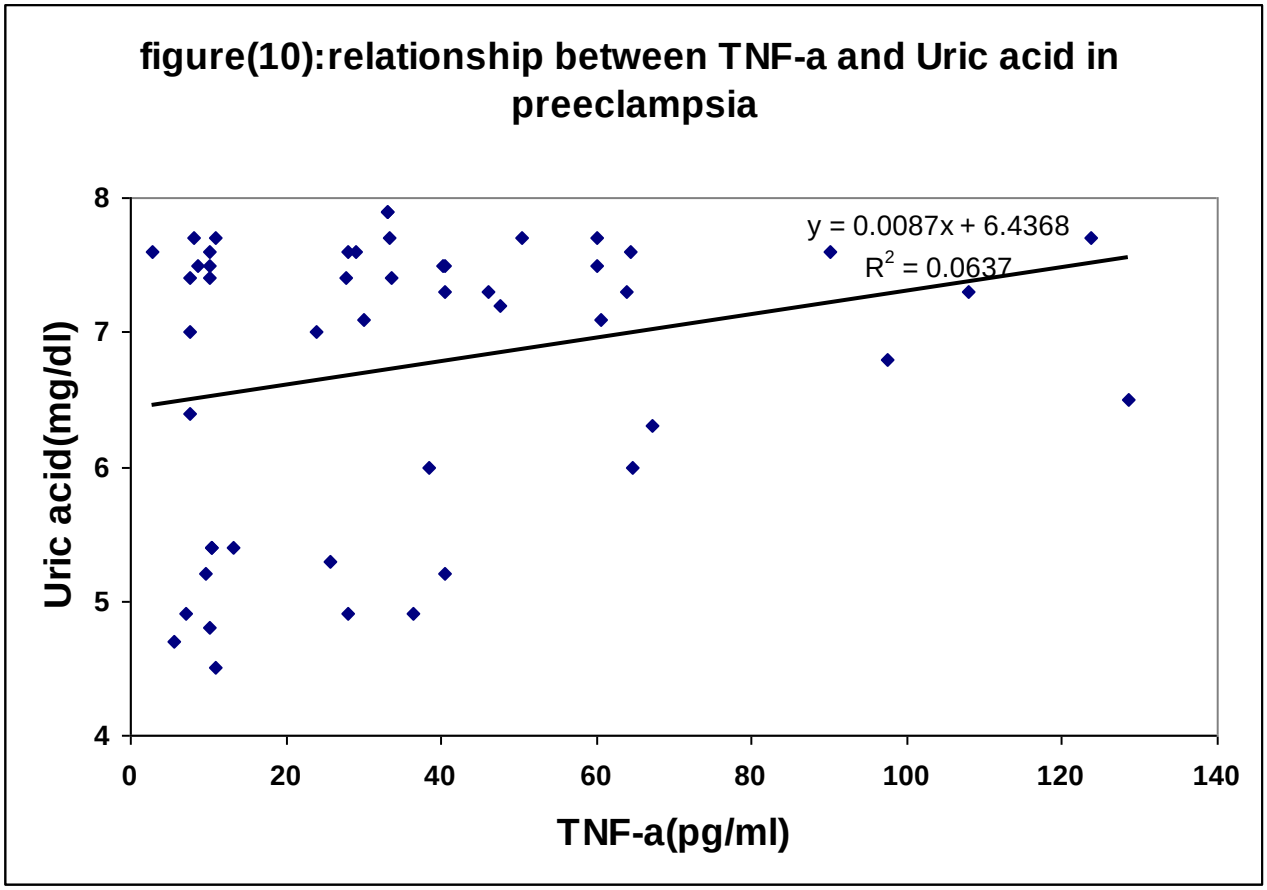
الشكل(٩)تركيز حمض البول في الحمل الطبيعي وماقبل الارجاج

٦-٦- دراسة العلاقة مابين TNF-α وUric-acid في ماقبل الارجاج

لقد أظهرت دراسة العلاقة بين TNF-α وحمض البول وجود درجة من الارتباط الإحصائي (p<٠,٠٥)الجدول(١١) الشكل(١٠)

المتغير	Uric acid	
TNF-α (pg/ml)	r=٠,٢٥٢٣	P=٠,٠٣

الجدول(١١) العلاقة بين TNF-α وUric acid في ماقبل الإرجاج



الشكل(١٠) العلاقة بين TNF-α وحمض البول في ماقبل الارجاح

٧- مناقشة النتائج:DISCUSSION

أظهرت الدراسة الحالية ازدياد تركيز TNF-α عند الحوامل الطبيعيات بنسبة ١٧,٥٪ في الثلث الأخير من الحمل وهذا قد يشير إلى التنبيه المناعي الحادث كجزء من تكيف الجهاز المناعي الوالدي تجاه الحمل ويتوافق مع كل من Anim-Nyame et a[٨٧] وTeran et al[٨٨] حيث سجل كل منهما وجود ارتفاع في تركيز TNF-α عند نساء حوامل مقارنة مع غير الحوامل.
سجلت الدراسة أيضاً ازدياد هام في تركيز TNF-α (P<٠.٠٠١) عند مريضات ماقبل الإرجاج مقارنة مع حوامل طبيعيات من نفس عمر الحمل(P=٠.١) وهذا ما يرجح النظرية التي تعتبر ماقبل الارجاج ناجم عن ازدياد الاستجابة الالتهابية الوالدية تجاه الحمل MSIR **maternal systemic inflammatory response)** وبالتالي تفعيل الجهاز المناعي تجاه الطعم الجنيني مما يساهم في إضعاف عملية غزو الأرومة الغاذية للشرايين الحلزونية الوالدية[٨٩]
وقبل الإسهاب في تفسير النتائج يجب الأخذ بعين الاعتبار مايلي:
١- إن نصف عمر TNF-α في الدوران هو بضع دقائق فقط وبالتالي فإن عينة دم وحيدة (وهي الطريقة المتبعة في هذه الدراسة)قد تفشل في تحديد الارتفاع الدوري وحتى الانخفاض في تركيزه

٢- قد تفشل طرق المقايسة المناعية والحيوية في تحديد الجزء من TNF-α المرتبط بمستقبلاته بالعودة إلى نتائج الدراسة فإن ارتفاع TNF-α في الدوران الوالدي قد يكون سبب أونتيجة لماقبل الارجاج وهذا ما لم تتمكن الدراسة الحالية من معرفته لأنها أجريت على حوامل مشخص لديهن ماقبل الارجاج في الثلث الأخير من الحمل

من ناحية أخرى فإنه لايمكن الحديث عن TNF-α دون الإشارة إلى دور مستقبلاته فمن المعروف أن الفعاليات الحيوية لل TNF-α تبدأ بعد ارتباطه مع أحد مستقبليه وخاصة R١ حيث تبين أنه خلال ماقبل الارجاج يزداد مستقبل TNF-α بشكل مكافئ لازدياد TNF-α حيث سجلت العديد من الدراسات تراكيز مرتفعة لمستقبلات TNF-α في ماقبل الارجاج[٩٠][٩١]

حتى أن بعض الدراسات أظهرت وجود قيمة تنبؤية لمستقبلات TNF-α في تطور ماقبل الارجاج [٩٢]

إن الآليات التي يمكن أن تفسر دور TNF-α في ماقبل الارجاج قد تم ذكرها بالتفصيل في القسم النظري(الفصل الثالث)

من جهة أخرى فإن مصدر التركيز العالي لل TNF-α في الدوران لمريضات ماقبل الارجاج لم يحدد بعد فمن المعروف أن TNF-α يتوضع في المشيمة في الزغابات- الأرومة الغاذية الخلوية والمخلوية حيث اقترحت إحدى الدراسات المشيمة كمصدر للإنتاج المتزايد لل TNF-α في ماقبل الارجاج نتيجة لنقص الأكسجة[٩٣]

مصدر آخر محتمل لل TNF-α في ماقبل الارجاج الكريات البيض الوالدية حيث تعتبر البالعات/الوحيدات المستودع الأساسي للسيتوكينات الالتهابية وأول الخلايا استجابة في المناعة غيرالنوعية وبهذا يمكن أن تكون مرشح جيد لازدياد تركيب TNF-α في ماقبل الارجاج[٩٤][٩٥]

العدلات المفعلة يمكن أن تكون مصدر أخر لل TNF-α في الحمل الطبيعي والمرضي [٩٦] الساقط أيضاً يمكن أن يكون مصدر للTNF-α حيث وجدت البالعات والوحيدات الساقطية بأعداد عالية في ماقبل الارجاج [٩٧]

النسيج الشحمي قد يكون مصدر للTNF-α حيث يعرف النسيج الشحمي الآن على أنه عضو صماوي يفرز العديد من المواد الفعالة بمافيها السيتوكينات مثل TNF-α و IL-٦ مؤدياً إلى إحداث مقاومة للأنسولين وبالتالي خلل تنسج شحمي وكلاهما من المظاهر المعروفة لماقبل الارجاج[٩٨]

إن الدراسة الحالية لم تحدد مصدر TNF-α ولكنها استبعدت أن يكون النسيج الشحمي مصدراً له حيث أظهرت عدم وجود ارتباط مابينTNF-α ومؤشر كتلة الجسمBMI وتوافق ذلك مع[٩٩]

بالإضافة لماسبق فقد ذكرت إحدى الدراسات ان انخفاض التصفية والإطراح الكلوي قد يكون سبب هام لارتفاع تركيز TNF-α في ماقبل الإرجاج رغم وجود البيلة البروتينية[١٠٠]

لم تظهر الدراسة وجود ارتباط مابين TNF-α وكل من الضغط الشرياني الانقباضي والبيلة البروتينية بينمااظهرت وجود ارتباط ايجابي هام إحصائياً مع الضغط الانبساطي وبالتالي يمكن استخدام TNF-α كمعيار لشدة ماقبل الارجاج

بالنسبة **لحمض البولURIC-ACID**

فقد سجلت الدراسة ازدياد ملحوظ P<٠,٠١ في ماقبل الارجاج مقارنة بالحمل الطبيعي وهذا ماتوافق مع كل من[١٠١][١٠٢]
بشكل عام يعزى ارتفاع حمض البول إلى تناقص الإطراح الكلوي للبولات وهذا مايشاهد بشكل شائع في ماقبل الارجاج
ولكن تبين حديثاً أن حمض البول يثبط من إفراز حمض النيتريك nitric oxide في الخلايا البطانية وهذا مادعا للاعتقاد بدور حمض البول كعامل سببي للاضطراب البطاني المرافق لماقبل الارجاج بالاضافة إلى آليات أخرى ذكرت في القسم النظري (الفصل الخامس)
مع الأخذ بعين الاعتبار تناقض نتائج الدراسة مع بعض الدراسات التي أظهرت عدم اختلاف في تركيز حمض البول في ماقبل الارجاج مقارنة مع الحمل الطبيعي[١٠٣]
إن دراسة العلاقة مابين TNF-α وUric acid قد اظهرت وجود درجة من الارتباط الإيجابي(P=٠,٠٣) وهذاقد يبين دور حمض البول كعلامة للالتهاب الوعائي المرافق لماقبل الارجاج

٨-المقارنة مع دراسات محلية وعالمية سابقة

محلياً:لم نجد دراسة مشابهة
عالمياً: نظراً للتأثيرات الجهازية المتعددة(pleiotropic)للTNF-α فقد درس هذا السيتوكين بشكل واسع في ماقبل الارجاج كوسيط للمظاهر المناعية والمرضية المرافقة لماقبل الارجاج وكانت النتائج متناقضة بشكل كبيرمزدادة- غيرمتغيرة- أكثر من ذلك فقد سجلت بعض الدراسات انخفاض TNF-α في ماقبل الارجاج مقارنة مع الحمل الطبيعي في الثلث الأخير من الحمل
ومن الجدير ذكره أن العوامل التالية قد تساهم في هذه الاختلافات
١- طريقة تصميم الدراسة
٢- حجم العينة
٣- طريقة المقايسة وحساسيتها
٤- عمر الحمل عند جمع العينة
٥- نصف العمر القصير للTNF-α
٦- استخدام بعض الدراسات المصل ودراسات أخرى البلاسما
٧- تراكيز مستقبلات TNF-α
ولذلك سنعتمد في المقارنة على الدراسات التي استخدمت نفس طريقة المقايسة المناعية ELISA ونفس عمر الحمل (الثلث الأخير من الحمل)

٨-١الدراسات التي توافقت نتائجها مع الدراسة الحالية

إن الدراسات التي أظهرت قيم مزدادة للTNF-α وUric acid وتوافقت بالتالي مع نتائج الدراسة الحالية موضحة في الجدول(١٢)

الدراسة	حجم العينة		Uric acid (mg/dl)		P value	TNF-α (pg/ml)		P value
	NP	PE	NP	PE		NP	PE	
Conrad USA ١٩٩٨[١٠٤]							Increased by twofold	<٠,٠٠١
E. Terana INDID ٢٠٠١[١٠٥]	٢٦	٢٥				٨,٣١±١,٥٥	١٥,٧٤±٥,٠٩	
SAZINA MUZAMMI INDIA ٢٠٠٥[١٠٦]	١٠	٣٠				٩,٣±٠,٥٦	٦٧,٦٦±٦١,٨٣	<٠,٠٠١
Gulati R INDIA ٢٠٠٥[١٠٧]	١٠	٣٠	٣,٢٥ +/- ٠,٩٥	٦,٠+/ -١,٦٤	< ٠,٠٠١	٩,٩٣±٩,٥٦	٦٧,٦٦±٦١,٨٣	<٠,٠٠١
Naime CANORUÇ Turkiye (٢٠٠٦)[١٠٨]	٥٠	٥٠				٤,٤ ± ١,٦	٦,٦ ± ٢,٥	٠,٠٠١ <
Sharma A INDIA ٢٠٠٧[١٠٩]	٥٠	٥٤					increased significantly	<٠,٠٠٠
Founds SA USA ٢٠٠٨[٩٩]	١٢٣					٠,٩٦±٠,١	١,٢٩±٠,١١	
Dan MIHU ROMANIA ٢٠٠٨[٤٠]	٤٠	٤٠				٥,٧١±٣,٣٨.	١٤,١٥±٨,٣٧	<٠,٠٠١

الجدول(١٢)الدراسات الموافقة للدراسة الحالية

٢-٨ الدراسات التي اختلفت نتائجها مع الدراسة الحالية

يوضح الجدول(١٣) الدراسات التي أظهرت عدم وجود تبدل إحصائي في تركيزTNF-α بين الحمل الطبيعي وماقبل الارجاج وبالتالي اختلفت مع الدراسة الحالية

الدراسة	حجم العينة		TNF-α Pg/ml		P VALUE
	NP	PE	NP	PE	
Bowen R.S South Africa ٢٠٠١[١١٠]	٢٩	٢١			not significantly different
JTavakkol Iran ٢٠٠٥[١١١]	١٨	٢٤	٥١,٩±٣٣,٨	٥٣,٨±٣٠	>٠,١
Joy Ellis Sweden ٢٠٠٥[١١٢]	١٤	٢٥			not significantly altered
JonssonY Sweden ٢٠٠٦[١١٣]	١٥	١٥			/
TevfikNOYAN Turkey ٢٠٠٦ [١١٤]	٢٥	٢٥	١٧,٢±٢,٢	١٤,٥٣±٢,٧	٠,٤٦
MontagnanaM Italy ٢٠٠٨[١١٥]	١٧	١٤			lower than

الجدول(١٣) الدراسات المخالفة للدراسة الحالية

٩- الخلاصة : conclusion

- ✓ ازدياد تركيز TNF-α في الثلث الأخير من الحمل في ماقبل الارجاج مقارنة بالحمل الطبيعي
- ✓ إن الارتباط الايجابي والهام إحصائياً لل TNF-α مع الضغط الانبساطي يفيد في اعتبار هذا السيتوكين علامة محتملة لشدة ماقبل الارجاج
- ✓ وجود درجة من الارتباط بين TNF-α و حمض البول يجعل من حمض البول علامة للالتهاب الوعائي المرافق لماقبل الارجاج
- ✓ يمكن تفسير ماقبل الارجاج على أنه ازدياد للاستجابة الالتهابية الموجودة بشكل طبيعي في الثلث الاخير من الحمل

١٠-التوصيات والمقترحات

- ❖ نظراً لصغر حجم العينة في الدراسة الحالية واستخدام عينة دم وحيدة مع حقيقة وجود خمس حالات لم يرتفع فيها تركيز TNF-α يوصى بإجراء دراسة تتضمن حجم عينة أكبر
- ❖ بسبب نصف العمر القصير للTNF-α حيث يرتبط سريعاً مع مستقبلاته قد يكون من المفيد إجراء دراسة لقياس تركيز مستقبلاتTNF-α في ماقبل الارجاج
- ❖ على اعتبار أن الدراسة الحالية كانت على حوامل مشخص لديهن ماقبل الارجاج في الثلث الاخير من الحمل كان من غير الممكن تحديد فيما إذاكان ارتفاع TNF-α نتيجة أوسبب لماقبل الارجاج وبالتالي يوصى بإجراء دراسات لقياس تركيز TNF-α في الثلث الأول والثاني من الحمل ومعرفة إمكانية استخدامه كمعيار للتنبؤ بماقبل الارجاج قبل ظهور الأعراض السريرية
- ❖ لم تستطع الدراسة الحالية معرفة مصدر ارتفاع TNF-α في الدوران الوالدي (المشيمة-الساقط - الخلايا المناعية في الدوران الوالدي) لذلك يوصى بإجراء دراسات أعمق لمعرفة مصدرTNF-α
- ❖ لإثبات الدور المرضي للTNF-α في ماقبل الإرجاج يوصى بإجراء دراسة موازية لقياس تركيز جزيئة الالتصاق E-selectin والتي تعتبر افضل مؤشر للآلية الإمراضية المتواسطة بالTNF-α

الملخص

أساس الدراسة: يعتبر ماقبل الإرجاج سبب هام للمراضة والوفيات الوالدية والجنينية .
ويعتقد أن السبتوكينات بالإضافة إلى حمض البول تلعب دور أساسي في العملية المرضية لما قبل الإرجاج
الهدف:دراسة مستويات TNF-α وUric acid عند مريضات ماقبل الإرجاج مقارنة بالحمل الطبيعي
الطرق والمواد:تم قياس تركيز TNF-α عند ٤٠حامل طبيعية و٥٠ مريضة ماقبل إرجاج باستخدام طريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم(السندويش)
تم قياس حمض البول أيضاًبطريقة أنزيمية باستخدام جهاز هيتاشي (٧٠٤)
النتائج: أظهرت مريضات ماقبل لإرجاج ازدياد هام إحصائياً في تركيز TNF-α و Uric acid مقارنة بالحمل الطبيعي
لم يكن هناك تغير في تركيز TNF-α في ماقبل الإرجاج حسب العمر-عدد الولادات-الضغط الشرياني الوسطي
لوحظ أيضا ارتباط إيجابي هام إحصائياً للTNF-α مع الضغط الانبساطي بينما لم تظهر الدراسة وجود ارتباط مع كل من الضغط الانقباضي-البيلة البروتينية-مؤشر كتلة الجسم
أظهرت الدراسة أيضاً وجود درجة من الارتباط بين TNF-α وUric acid
الخلاصة:تشيرالدراسة إلى ترافق ماقبل الإرجاج مع ازدياد تركيز TNF-α وUric acid وإمكانية اعتبار TNF-α مشعر لشدة ماقبل الإرجاج
كلمات مفتاحية:ماقبل الإرجاج-TNF-a- السيتوكينات

Abstract

Background: Preeclampsia is a major cause of mortality and morbidity and is also a leading cause of preterm birth and intrauterine growth retardation.
Cytokines and Uric acid are major contributors in pathogenesis of preeclampsia.
Objectives: To detect serum levels of TNF-α and Uric acid in pregnant women with and without preeclampsia in the third trimester of pregnancy
Material and Methods:fifty patient with preeclampsia and fourty normal pregnant women were enrolled in the study. Blood samples were taken and serum levels of TNF-α were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).and Uric acid by Enzymatic colorimetric method.
Results: Preeclamptic women had significantly increased levels of circulating TNF-α ($p<٠,٠٠١$) and Uric acid($p<٠,٠١$)
There was no significant changes in serum TNF-α with respect to age, parity and mean arterial pressure in both normal and pre-eclamptic pregnancies.
There was significant correlation of TNF-α with diastolic BP and uric acid
No significant correlation was found between systolic blood pressure proteinuria,BMI and serum TNF-α concentration in preeclampsia
Conclusions: These findings suggest that preeclampsia is associated with increased TNF-α and Uric acid
The positive and significant correlation of TNF-α with diastolic BP and uric acid levels makes this cytokine a potential marker of the severity of the preeclamptic syndrome
Keywords: Preeclampsia, Cytokines, ELISA,TNF-α

المراجع

References

١- Marshall D. Lindheimer, Sandra J. Taler, F. Gary Cunningham. **American Society of Hypertension Presents New Position Paper on Hypertension and Pregnancy.** The American Society of Hypertension. Mon ٠٨-Dec-٢٠٠٨, ٠٩:٠٠ ET .

٢- **Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood in Pregnancy**.Am J Obstet Gynecol ٢٠٠٠;١٨٣:S١–٢٢.

٣- Marshall D. Lindheimer, MDa, Sandra J. Taler, MDb, and F. Gary Cunningham, MDc. **Hypertension in pregnancy .**Journal of the American Society of Hypertension. ٢(٦) (٢٠٠٨) ٤٨٤–٤٩٤.

٤- Duckitt K; Harrington D**. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies**. BMJ ٢٠٠٥ Mar ١٢;٣٣٠(٧٤٩١):٥٦٥. Epub ٢٠٠٥ Mar ٢.

٥-Hladunewich M, Karumanch SA, Lafayette R. **Pathophysiology of the clinical manifestations of preeclampsia**. Clin J Am Soc Nephrol ٢٠٠٧;٢:٥٤٣–٩.

٦- Wilson ML, Goodwin TM, Pan VL, Ingles SA. **Molecular epidemiology of preeclampsia**. Obstet Gynecol Surv ٢٠٠٣; ٥٨:٣٩-٦٦.

٧- Lindheimer MD, Conrad KP, Karumanchi SA**. Renal physiology and disease in pregnancy. In: Alpern RJ Hebert SC, editors. Seldin and Giebisch's The Kidney Physiology and Pathophysiology,** ٤th ed. San Diego California: Academic Press, Elsevier, ٢٠٠٨:٢٣٣٩ –٩٨

٨- Cheng, Ming-Huei١; Wang, Peng-Hui. P**lacentation abnormalities in the pathophysiology of preeclampsia Expert Review of Molecular Diagnostics, Volume ٩, Number** ١, January ٢٠٠٩ , pp. ٣٧-٤٩(١٣).

٩-Li Z, Zhang Y, Ying Ma J, Kapoun AM, Shao Q, Kerr I, et al. **Recombinant vascular endothelial growth factor ١٢١ attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of preeclampsia**. Hypertension ٢٠٠٧;

١٠- Shivalingappa Venkatesha , Mourad Toporsian , Chun Lam , Jun-ichi Hanai , Tadanori Mammoto , Yeon M Kim , Yuval Bdolah , Kee-Hak Lim

, Hai-Tao Yuan , **Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Nature Medicine** ١٢, ٦٤٢-٦٤٩ (١ June ٢٠٠٦) | doi:١٠,١٠٣٨/nm١٤٢٩;
١١-Leszczy?ska-Gorzelak B; Darmochwa?-Kolarz D. **Immunological aspects of preeclampsia**. Ginekol Pol. ٢٠٠٠; ٧١(٦):٤٤٨-٦٣ (ISSN: ٠٠١٧-٠٠١١)
١٢- Stennett, Amanda K.; Khalil, Raouf A. **Interactions of Biologically Active Factors and Vascular Mediators During Hypertension in Pregnancy. Current Hypertension Reviews,** Volume ٣, Number ٤, November ٢٠٠٧ , pp. ٢٣١-٢٤١(١١)
١٣- LaMarca, Babbette D.١; Ryan, Michael J.١; Granger, Joey P.١. **Pathophysiology of Hypertension During Preeclampsia: Role of Inflammatory Cytokines**. Current Hypertension Reviews, Volume ٣, Number ١, February ٢٠٠٧ , pp. ٦٩-٧٤(٦).
١٤-Dechend R, Homuth V, Wallukat G, Müller DN،Krause M,Dudenhausen J, et al. **Agonistic antibodies directed at the angiotensin II, AT١ receptor in preeclampsia.**J Soc Gynecol Invest ٢٠٠٦;١٣:٧٩–٨٦ ٥٠:٦٨٦ –٩٢.
١٥-Hladunewich M, Karumanch SA, Lafayette R. **Pathophysiology of the clinical manifestations of preeclampsia**.Clin J Am Soc Nephrol ٢٠٠٧;٢:٥٤٣–٩.
١٦- Aashit K Shah, MD. Preeclampsia and Eclampsia. eMedicine Updated: Oct ٣٠, ٢٠٠٨ ١١- Xia Y, Ramin SM, Kellems RE. **Potential roles of angiotensin receptor-activating autoantibody in the pathophysiology of preeclampsia**. Hypertension ٢٠٠٧;٥٠:٢٦٩ –٧٥.
١٧- Kee-Hak Lim, MD**. Preeclampsia. eMedicine Updated:** Sep ٤, ٢٠٠٨
١٨- Sibai BM. **Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia.** Obstet Gynecol ٢٠٠٣ Jul;١٠٢(١):١٨١-٩٢.
١٩- Stephen C Morris, MDMichael B Brooks, MD. **Pregnancy, Eclampsia: Differential Diagnoses & Workup**. Updated: Sep ٢٨, ٢٠٠٦.
٢٠- Mert Erogul, MD**. Pregnancy, Preeclampsia: Differential Diagnoses & Workup**. Updated: May ١٢, ٢٠٠٨.MEDLINE
٢١-١٢-Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer MD. **WHO systematic review of screening tests for prediction ofpreeclampsia**. Obstet Gynecol ٢٠٠٤;١٠٤:١٣٦٧–٩١٤.

٢٢- Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A Karumanchi SA, Lindheimer M. **Mapping the theoriesof preeclampsia and the role of angiogenic factors.** Obstet Gynecol ٢٠٠٧:١٠٩:١٦٨–٨٠.
٢٣-- Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA PARIS Collaborative Group**. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individua patient data.** Lancet ٢٠٠٧;٣٦٩:١٧٦٥– ٦
٢٤- Villar J, Abdel-Aleem H, Merialdi M, Mathai M, Ali MM, Zavaleta N, et al**. World Health Organization randomized trial of calcium supplementation among low calcium intake pregnant women.** Am J Obstet Gynecol ٢٠٠٦;١٩٤:٦٣٩–٤٩.
٢٥- Reuters Health By Martha Kerr. **Preeclampsia requires rapid hospitalization.** Journal of the American Society of Hypertension, ٢٠٠٨
٢٦- Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA PARIS Collaborative Group**. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data.** Lancet ٢٠٠٧;٣٦٩:١٧٦٥– ٦.
٢٧- Harskamp RE, Zeeman GG. **Preeclampsia: at risk for remote cardiovascular disease**. Am J Med Sci ٢٠٠٧; ٣٣٤:٢٩١–٥.
٢٨- Fitzgerald,K.A., et al. ٢٠٠١**. The Cytokine Facts Book,** second edition. Academic Press.
٢٩- Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A (١٩٨٥). **"Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin".** Nature ٣١٦ (٦٠٢٨): ٥٥٢–٤. doi:١٠,١٠٣٨/٣١٦٥٥٢a٠. PMID ٢٩٩٣٨٩٧
٣٠- Chen F **. TNF (tumor necrosis factor (TNF superfamily, member ٢)).** Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. June ٢٠٠٤
٣١- Korobowicz A. **[Biology of tumor necrosis factor type alpha (TNF-α lpha)].** Pol Merkur Lekarski ٢٠٠٦; ٢١:٣٥٨-٦١
٣٢-Julius M. Cruse, B.A., B.S., D.Med.Sc., M.D., Ph.D., Dr. h.c F.A.A.M., F.R.S.H., F.R.S.M ATLAS OF **immunology second edition cytokines and chemokines** copyright(٢٠٠٤).
٣٣- Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P**. "Tumor necrosis factor signaling".** Cell Death Differ.(٢٠٠٣) ١٠ (١): ٤٥–٦٥
٣٤- Chen G, Goeddel DV**. "TNF-R١ signaling: a beautiful pathway".** Science(٢٠٠٢) ٢٩٦ (٥٥٧٣): ١٦٣٤–٥.

٣٥- Gaur U, Aggarwal BB. **"Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily".** Biochem. Pharmacol.(٢٠٠٣) ٦٦ (٨): ١٤٠٣–٨
٣٦- J. Singh, A. Suruchi **AntiTNF-α strategy: Present status of this therapeutic paradigm** Indian Journal of Pharmacology, Vol. ٣٦, No. ١, Feb, ٢٠٠٤, pp. ١٠-١٤.
٣٧-Gabriel Virella and Jean-Michel Goust **Introduction to Medical Fourth Edition Diagnostic Evaluation of Lymphocyte Immunology Functions and Cell-Mediated Immunity** Page ٣١٧.
٣٨-AyßegŸl Y† CEL, cemalettin aybay**Development of ELISA Systems for Measurement of Human**
Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF-α Turk J Med Sci ٣٥ (٢٠٠٥) ٣٨٥-٣٩٣
٣٩-Cui g. ; olsen t. ; christiansen i. ; vonen b. ; florholmen j. ; goll r**. Improvement of real-time polymerase chain reaction for quantifying TNF-α mRNA expression in inflamed colorectal mucosa : An approach to optimize procedures for clinical use** Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation ٢٠٠٦, vol. ٦٦, no٣, pp. ٢٤٩-٢٥٩
٤٠- Dan MIHU, Nicolae COSTIN, Ligia Daniela BLAGA, Septimiu CIUCHINĂ, Raluca Bogdana POP . **Implication of Tumor Necrosis Factor - Alpha in Preeclampsia**. Vol. ٢٣, No. ٣-٤/٢٠٠٨, pp: ١١ – ١٨.
٤١- Vikki M. Abrahams , Yeon Mee Kim , Shawn L. Straszewski , Roberto Romero , Gil Mor **Macrophages and Apoptotic Cell Clearance During Pregnancy** AJRI Volume ٥١ Issue ٤, Pages ٢٧٥ - ٢٨٢١٦ Mar ٢٠٠٤.
٤٢- James M. Roberts; Hilary S. Gammill. **Preeclampsia Recent Insights**. Hypertension. ٢٠٠٥;٤٦:١٢٤٣.
٤٣-Orsi NM **Cytokine networks in the establishment and maintenance of pregnancy.** Hum Fertil (Camb). ٢٠٠٨ Dec;١١(٤):٢٢٢-٣٠.
٤٤-Orsi NM, Tribe RM **Cytokine networks and the regulation of uterine function in pregnancy and parturition**. Neuroendocrinol. ٢٠٠٨ Apr;٢٠(٤):٤٦٢-٩.
٤٥-Bowen JM, Chamley L, Mitchell MD, Keelan JA. **Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women Placenta**. ٢٠٠٢ Apr;٢٣(٤):٢٣٩-٥٦

٤٦- S. Ananth Karumanchi, M.D., **PREECLAMPSIA: A SYNDROME OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION**. Society for Pediatric Pathology Annual Perinatal Symposium. Sunday, October ١٩, ٢٠٠٣, ٨:٠٠ am -١٢:٣٠ pm.
٤٧- Di Paolo S, Volpe P, Grandaliano G, et al. **Increased placentale xpression of tissue factor is associated with abnormal uterineand umbilical Doppler waveforms in severe preeclampsiawith fetal growth restriction.** J Nephrol ٢٠٠٣;١٦:٦٥٠–٦٥٧.
٤٨ - Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, et al**. Secretion of tumor necrosis factor-alpha from human placental tissues induced by hypoxia–reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia.** Am J Pathol ٢٠٠٤;١٦٤:١٠٤٩–١٠٦١.
٤٩- Wang Y, Gu Y, Zhang Y, et al. Evidence of endothelial dysfunction **in preeclampsia: decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia.** Am J Obstet Gynecol ٢٠٠٤;١٩٠:٨١٧–٨٢٤.
٥٠- Beckmann I, Efraim SB, Vervoort M, et al. **Tumor necrosis factor-alpha in whole blood cultures of preeclamptic patients and healthy pregnant and nonpregnant women.** Hypertens Pregnancy ٢٠٠٤;٢٣:٣١٩–٣٢٩.
٥١-Redman CW, Sargent IL**. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review.** Placenta. ٢٠٠٣ Apr;٢٤ Suppl A:S٢١-٧.
٥٢- Benyo, DF; Smarason, A; Redman, CW; Sims, C; Conrad, KP**. Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia.** J Clin Endocrinol Metab. ٢٠٠١;٨٦:٢٥٠٥–٢٥١٢ .
٥٣- Jonsson, Y; Rubèr, M; Matthiesen, L; Berg, G; Nieminen, K; Sharma, S; Ernerudh, J; Ekerfelt, **C. Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies**. J Reprod Immunol. ٢٠٠٦;٧٠:٨٣–٩١.
٥٤-Jonsson Y, Rubèr M, Matthiesen L, Berg G, Nieminen K, Sharma S, Ernerudh J, Ekerfelt C**. Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies.** J Reprod Immunol. ٢٠٠٦ Jun;٧٠(١-٢):٨٣-٩١.

٥٥- Darmochwal-Kolarz D, Rolinski J, Leszczynska-Goarzelak B, Oleszczuk J**. The expressions of intracellular cytokines in the lymphocytes of preeclamptic patientsAm** J Reprod Immunol. ٢٠٠٢ Dec;٤٨(٦):٣٨١-٦.
٥٦- Renaud SJ, Postovit LM, Macdonald-Goodfellow SK, McDonald GT, Caldwell JD, Graham CH. **Activated macrophages inhibit human cytotrophoblast invasiveness in vitro.** Biol Reprod. ٢٠٠٥ Aug;٧٣(٢):٢٣٧-٤٣.
٥٧- Guy St. J. Whitley*, Philip R. Dash*, Laura-Jo Ayling*, Federico Prefumo, Baskaran Thilaganathan and Judith E. Cartwright***Increased Apoptosis in First Trimester Extravillous Trophoblasts from Pregnancies at Higher Risk of Developing Preeclampsia** American Journal of Pathology. ٢٠٠٧;١٧٠:١٩٠٣-١٩٠٩.)
٥٨- Andreasen PA, Egelund R, Petersen HH**. The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis. Cell** Mol Life Sci ٢٠٠٠ ٥٧:٢٥-٤٠.
٥٩- Beckmann I., Visser W., Struijk P.C., van Dooren M., Glavimans J., Wallenburg H.C. **Circulating bioactive tumor necrosis factor-alpha, tumor necrosis factor-alpha receptors, fibronectin, and tumor necrosis factor-alpha inducible cell adhesion molecule VCAM-١ in uncomplicated pregnancy**. Am J Obstet Gynecol (١٩٩٧) ١٧٧(١):١٢٤٧–١٢٥٢.
٦٠- Joey P. Granger; Barbara T. Alexander; Maria T. Llinas; William A. Bennett; Raouf A. Khalil **Pathophysiology of Hypertension During Preeclampsia Linking Placental Ischemia With Endothelial Dysfunction** Hypertension. ٢٠٠١;٣٨:٧١٨.
٦١- Charles J. Lockwood, Ceyda Oner, Yesim H. Uz ٣ ٤, Umit A. Kayisli, S. Joseph Huang, Lynn F. Buchwalder, William Murk, Edmund F. Funai ٣, and Frederick Schatz **Matrix Metalloproteinase ٩ (MMP٩) Expression in Preeclamptic Decidua and MMP٩ Induction by Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin ١ Beta in Human First Trimester Decidual** Cells BIOLOGY OF REPRODUCTION ٧٨, ١٠٦٤–١٠٧٢ (٢٠٠٨
٦٢- S.J. Renauda, R. Sullivana and C.H. Graham **Tumour Necrosis Factor Alpha Stimulates the Production of Monocyte Chemoattractants by Extravillous Trophoblast Cells via Differential Activation of MAPK** Pathways doi:١٠,١٠١٦/j.placenta.٢٠٠٩,٠١,٠٠١.

٦٣- Charles J. Lockwood,* Chih-Feng Yen,† Murat Basar,‡ Umit A. Kayisli,* Maritza Martel,§ Irina Buhimschi,* Catalin Buhimschi,* S. Joseph Huang,* Graciela Krikun,* and Frederick Schatz* **Preeclampsia-Related Inflammatory Cytokines Regulate Interleukin-٦ Expression in Human Decidual** Cells Am J Pathol. ٢٠٠٨ June; ١٧٢(٦): ١٥٧١–١٥٧٩.
٦٤-Yang Xia; Susan M. Ramin; Rodney E. Kellems **Potential Roles of Angiotensin Receptor-Activating Autoantibody in the Pathophysiology of Preeclampsia** Hypertension. ٢٠٠٧;٥٠:٢٦٩.
٦٥- Yang Xia; Susan M. Ramin; Rodney E. Kellems **Potential Roles of Angiotensin Receptor-Activating Autoantibody in the Pathophysiology of PreeclampsiaHypertension**. ٢٠٠٧;٥٠:٢٦٩.
٦٦-Pazarbaşi A, Kasap M, Güzel AI, Kasap H, Onbaşioğlu M, Ozbakir B, Demirkazik A, Ozgünen FT, Gürtunç E**. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene in Turkish women with pre-eclampsia and eclampsia.** Acta Med Okayama. ٢٠٠٧ Jun;٦١(٣):١٥٣-٦٠ .
٦٧- Tanja Saarela, Mikko Hiltunen, Seppo Helisalmi, Seppo Heinonen, and Markku Laakso**Tumour necrosis factor- gene haplotype is associated with pre-eclampsiaMolecular** Human Reproduction ٢٠٠٥ ١١(٦):٤٣٧-٤٤٠
٦٨- Hediger MA**. [Physiology and biochemistry of uric acid]** Ther Umsch. ٢٠٠٤ Sep;٦١(٩):٥٤١-٥. PMID: ١٥٤٩٣١١٢.
٦٩- Richard J. Johnson, M.D., Eric A. Gaucher, Ph.D., Yuri Y. Sautin, Ph.D., George N. Henderson, Ph.D., Alex J. Angerhofer, Ph.D., and Steven A. Benner, Ph.D**. The Planetary Biology of Ascorbate and Uric acid and their Relationship with the Epidemic of Obesity and Cardiovascular Disease** Med Hypotheses. ٢٠٠٨; ٧١(١): ٧٢–٣١ Published online ٢٠٠٨ March ١٠. doi: ١٠,١٠١٦/j.mehy.٢٠٠٨,٠١,٠١٧.
٧٠- Roch-Ramel, F, Diezi, J**. Renal transport of organic ions and uric acid. In:** Diseases of the Kidney, ٦th ed, Schrier, RW, Gottschalk, CE, (Eds), Little, Brown, Boston ١٩٩٦. p.٢٣١
٧١- Aringer M, Graessler J (٢٠٠٨)**. "Understanding deficient elimination of uric acid**". Lancet ٣٧٢ (٩٦٥٤): ١٩٢٩–١٩٣٠. doi:١٠,١٠١٦/S٠١٤٠-٦٧٣٦(٠٨)٦١٣٤٤-٦
٧٢- Enomoto A; Kimura H; Chairoungdua A; Shigeta Y; Jutabha P; Cha SH; Hosoyamada M; Takeda M; Sekine T; Igarashi T; Matsuo H; Kikuchi Y; Oda T; Ichida K; Hosoya T; Shimokata K; Niwa T; Kanai Y; Endou H **Molecular identification of a renal urate anion exchanger**

that regulates blood urate levels. Nature ٢٠٠٢ May ٢٣;٤١٧(٦٨٨٧):٤٤٧-٥٢. Epub ٢٠٠٢ Apr ١٤
٧٣- Perez-Ruiz F; Calabozo M; Erauskin GG; Ruibal A; Herrero-Beites AM **Renal underexcretion of uric acid is present in patients with apparent high urinary uric acid output.** Arthritis Rheum ٢٠٠٢ Dec ١٥;٤٧(٦):٦١٠-٣
٧٤- Ichida K; Hosoyamada M; Hisatome I; Enomoto A; Hikita M; Endou H; Hosoya T. **Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of URAT١ gene on urinary urate excretion.** J Am Soc Nephrol ٢٠٠٤ Jan;١٥(١):١٦٤-٧٣
٧٥-Jeyabalan A, Conrad KP**. Renal function during normal pregnancy and preeclampsia.** Front Biosci. ٢٠٠٧ Jan ١;١٢:٢٤٢٥-٣٧
٧٦- Moran P, Lindheimer MD, Davison JM**. The renal response to preeclampsia.** Semin Nephrol. ٢٠٠٤ Nov;٢٤(٦):٥٨٨-٩٥
٧٧- Stillman IE, Karumanchi SA**. The glomerular injury of preeclampsia** J Am Soc Nephrol. ٢٠٠٧ Aug;١٨(٨):٢٢٨١-٤. Epub ٢٠٠٧ Jul ١٨
٧٨- Germany Paula, Leticia; Ercilia Pinheir da Costa, Bartira; Eduardo Poli-de-Figueiredo, Carlos; Carlos Ferreira Antonello, Ivan**. Does Uric Acid Provide Information About Maternal Condition and Fetal Outcome in Pregnant Women with Hypertension?** Hypertension in Pregnancy, Volume ٢٧, Number ٤, November ٢٠٠٨ , pp. ٤١٣-٤٢٠(٨
٧٩- Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M**: Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease**. Hypertension ٢٠٠٣, ٤١(٦):١١٨٣-١١٩٠
٨٠- Melvin R Hayden and Suresh C Tyagi. **Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type ٢ diabetes mellitus: The urate redox shuttle.** Nutrition & Metabolism ٢٠٠٤, ١:١٠doi:١٠,١١٨٦/١٧٤٣-٧٠٧٥-١-١٠
٨١- KANG Duk-Hee; FINCH Jennifer; NAKAGAWATakahiko ; KARUMANCHI S. Ananth ; KANELLIS John; GRANGER Joey ; JOHNSON Richard **J. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia: searching for a pathogenetic link. Journal of hypertension** ISSN ٠٢٦٣-٦٣٥٢ ٢٠٠٤, vol. ٢٢, no٢, pp. ٢٢٩-٢٣٥ [٧ page(s) (article)] (٨٠ ref

٨٢- Bainbridge SA, Roberts JM. **Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia.** Placenta. ٢٠٠٨ Mar;٢٩ Suppl A:S٦٧-٧٢. Epub ٢٠٠٨ Feb ٢١

٨٣- Kiyomi Tsukimori, Tomoyuki Yoshitomi١, Seiichi Morokuma, Kotaro Fukushima and Norio Wake **Serum Uric Acid Levels Correlate With Plasma Hydrogen Peroxide and Protein Carbonyl Levels in PreeclampsiaAmerican Journal of Hypertension (٢٠٠٨); ٢١, ١٢, ١٣٤٣–١٣٤٦. doi:١٠,١٠٣٨/ajh.٢٠٠٨,٢٨٩**

٨٤- Ey park.Es Yu.Ys lee.My kim.GB choi.KI yoon .DH Kang **effect of Uric Acid ٠n the expression of endothelial growth factor (VEGF) and sFlt-١ in human trophoblast cells:possible implication for the development of preeclampsia**

٨٥-Waugh JJ, Clark TJ, Divakaran TG, et al**. Accuracy of urinalysis dipstick techniques in predicting significant proteinuria in pregnancy.** Obstet Gynecol. Apr ٢٠٠٤;١٠٣(٤):٧٦٩-٧٧. [Medline]**.**

٨٦-Cnossen JS, Vollebregt KC, de Vrieze N, ter Riet G, Mol BW, Franx A, Khan KS, vam der Post JA **Accuracy of mean arterial pressure and blood pressure measurements in predicting pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis**. BMJ. ٢٠٠٨ May. ١٧;٣٣٦(٧٦٥٣):١٠٧٩-٨٠

٨٧-Anim-Nyame N, Gamble J, Sooranna S.R, Johnson MR, Steer PJ. **Microvascular permeability is related to circulating levels of tumour necrosis factor-alpha in pre-eclampsia. Cardiovascular** Research ٢٠٠٣;٥٨:١٦٢-١٦٩

٨٨-Teran E, Escudero C, Moyaw, Flores M, Vallance P, Lopez Jaramillo P**. Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with preeclampsia**. Int J Gynecol Obstet ٢٠٠١;٧٥:٢٤٣-٢٤٩

٨٩-Redman CW, Sargent IL. **Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review.** Placenta. ٢٠٠٣ Apr;٢٤ Suppl A:S٢١-٧

٩٠-Nunez-Gonzalez JR, Sanabria-Vera CJ, Romero-Adrian T. **Serum measurements of TNF-α and TNFa-soluble receptors in normal pregnancies and preeclampsia**. Invest Clin ٢٠٠١;٤٢:١٧١-١٨٢

٩١-Madazli R, Aydin S, Uludag S, Vildan O, Tolun N. **Maternal plasma levels of cytokines in normal and preeclamptic pregnancies and their relationship with diastolic blood pressure and**

fibronectin levels. Ada Obstet Gynecol Scand ٢٠٠٣;٨٢:٧٩٧-٨٠٢.
٩٢-Serin YS, Ozcelik B, Bapbud M, Kylyc H, Okur D, Erez R. **Predictive value of tumor necrosis factor alpha in preeclampsia**. Euro J Obstet Gynecol Reprod Biol ٢٠٠٢;١٠٠: ١٤٣-١٤٥.
٩٣-Benyo DF, Miles TM, Conrad KP. **Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta**. J Clin Endocrinol Metab ١٩٩٧;٨٢:١٥٨٢-١٥٨٨.
٩٤-Luppi P, DeLoia JA. **Monocytes of preeclamptic women spontaneously synthesize proinflammatory cytokines**. Clinical Immunology ٢٠٠٦; ١١٨:٢٦٨-٢٧
٩٥-Azizieh F, Raghupathy R, Makhseed M. **Maternal cytokine production patterns in women with pre-eclampsia.** AJRI ٢٠٠٥; ٥٤:٣٠-٣٧
٩٦-Vaughan JE, Walsh SW. **Neutrophils from pregnant women produce thromboxane and tumor necrosis factor-a in response to linoleic acid and oxidative stress**. Am J Obstet Gynecol ٢٠٠٥;١٩٣:٨٣٠-٥.
٩٧-Peracoli JC, Rudge MVC, Perac, Oli MTS. **Tumor necrosis factor-alpha in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia**. Am J Reprod Immunol ٢٠٠٧;٥٧:١٧٧-١٨٥
٩٨-Bartha JL, Romero-Carmona R, Escobar-Llompart M, Comino-Delgado R. **The relationships between leptin and inflammatory cytokines in women with preeclampsia**. BJOG. ٢٠٠١; ١٠٨: ١٢٧٢–١٢٧٦
٩٩- Founds SA, Powers RW, Patrick TE, Ren D, Harger GF, Markovic N, Roberts JM A **comparison of circulating TNF-α lpha in obese and lean women with and without preeclampsia.** Hypertens Pregnancy. ٢٠٠٨;٢٧(١):٣٩-٤٨
١٠٠- Cackovic M, Buhimschi CS, Zhao G, Funai EF, Norwitz ER, Kuczynski E, Lockwood CJ, Buhimschi IA. **Fractional excretion of tumor necrosis factor-alpha in women with severe preeclampsia.** Obstet Gynecol. ٢٠٠٨ Jul;١١٢(١):٩٣-١٠٠
١٠١-Williams KP, Galerneau F. **The role of serum uric acid as a prognostic indicator of the severity of maternal and fetal complications in hypertensive pregnancies** ٣٢-٦٢٨ . J Obstet Gynaecol Can ٢٠٠٢; ٢٤:

١٠٢-Gulati R. **Raised serum TNF-α lpha, blood sugar and uric acid in preeclampsia in third trimesterof pregnancy.** J Nepal Med Assoc ٢٠٠٥; ٤٤: ٣٦-٨
١٠٣-Weerasekera DS, Peiris H. **The significance of serum uric acid, creatinine and urinary microprotein levels in predicting pre-eclampsia**. J Obstet Gynaecol ٢٠٠٣; ٢٣: ١٧-٩.
١٠٤- Conrad KP, Miles TM, Benyo DF **Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia**. Am J Reprod Immunol. ١٩٩٨ Aug;٤٠(٢):١٠٢-١١.
١٠٥- E. Terana, C. Escuderob, W. Moyab, M. Floresb, P. Vallancec, P. Lopez-Jaramillobd **Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pre-eclampsia**Volume ٧٥, Issue ٣, Pages ٢٤٣-٢٤٩ (December ٢٠٠١
١٠٦- SAZINA MUZAMMIL, USHA SINGHAL*, RAJIV GULA AND IMAM BANO **SERUM TUMOR NECROSIS FACTOR–α IN PRE ECLAMPSIA** I٢n٣d٦ianM Ju zPahmymsiioll Peht ar malacol ٢٠٠٥; ٤٩ (٢) : ٢٣٦–٢٤٠
١٠٧- Gulati RRaised serum **TNF-α lpha, blood sugar and uric acid in preeclampsia in third trimester of pregnancy** JNMA J Nepal Med Assoc. ٢٠٠٥ Apr-Jun;٤٤(١٥٨):٣٦-٨
١٠٨- Naime CANORUÇ, MD,a Ahmet KALE, MD,b Dr. Ebru KALE, MD,a Nurten AKDEN_Z, MD,b Dr. Ahmet YALINKAYA, MDb **Serum Interleukins (١□, ٦, ٨, ١٠), Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-٢ Receptor Levels in Patients with Severe Preeclampsia and Normotensive Pregnant Women**Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst ٢٠٠٦, ١٦:١٣٢-١٣٦
١٠٩- Sharma A, Satyam A, Sharma JB **Leptin, IL-١٠ and inflammatory markers (TNF-α lpha, IL-٦ and IL-٨) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women**. Am J Reprod Immunol. ٢٠٠٧ Jul;٥٨(١):٢١-٣٠
١١٠- Bowen R.S.١; Moodley J.; Dutton M.F.; Fickl H. **Systemic inflammatory indices in pre-eclampsia and eclampsia.** Journal of Obstetrics & Gynaecology, Volume ٢١, Number ٦, ١ November ٢٠٠١ , pp. ٥٦٣-٥٦٩(٧).
١١١- J Tavakkol Afshari, N Ghomian. A Shameli, MT Shakeri, MA Fahmidehkar. E Mahajer, R Khoshnavaz, and M Emadzadeh **Determination of Interleukin-٦ and Tumor Necrosis Factor-alpha**

concentrations in Iranian-Khorasanian patients with preeclampsia BMC Pregnancy Childbirth٢٠٠٥ November ١. doi: ١٠,١١٨٦/١٤٧١-٢٣٩٣-٥-١٤

١١٢- Tevfik NOYAN١, Ercan BURSAL١, Mehmet Ramazan fiEKERO⁄LU١, Haluk DÜLGER١, Mansur KAMACI٢.**The Serum Interleukin-٦ and Tumor Necrosis Factor-a Levels and Their Relationship With Antithrombin-III and von Willebrand Factor In Preeclampsia**. JJ TURKIISH--GERMAN GYNECOL ASSOC,, Voll.. ٧((١));; ٢٠٠٦

١١٣-Jonsson Y, Rubèr M, Matthiesen L, Berg G, Nieminen K, Sharma S, Ernerudh J, Ekerfelt C. **Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies..** J Reprod Immunol. ٢٠٠٦ Jun;٧٠(١-٢):٨٣-٩١

١١٤- Joy Ellis, Ulla-Britt Wennerholm, Anders Bengtsson, Håkan Lilja, Anders Pettersson, Bo Sultan, Margareta Wennergren and Henrik Hagberg **Levels of dimethylarginines and cytokines in mild and severe preeclampsia** Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica Volume ٨٠ Issue ٧, Pages ٦٠٢ – ٦٠٨ ٢٠٠٥

١١٥- Montagnana M, Lippi G, Albiero A, Salvagno GL, Franchi M, Guidi GCSerum **pro-inflammatory cytokines in physiological and pre-eclamptic pregnancies**. Gynecol Endocrinol. ٢٠٠٨ Mar;٢٤(٣):١١٣-٦