جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم عدد من المؤشرات الفسلجية والمناعية لدى بعض النساء اللاتي يعانين من قصور المبايض المبكر في محافظة ديالى

إطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من قبل الطالب

ناصر ياسين خضير البياتي

بكالوريوس علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى / 2009-2010

ماجستير علوم الحياة – علم الحيوان/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى/ 2019-2020

بإشراف

أ.م.د. مهى فالح نزال

1445 هـ **2024 م**

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

Evaluation of a number of physiological and immunological indicators in some women who suffer from premature ovarian insufficiency in Diyala Governorate

Thesis submitted to
Council of the College of Education for Pure Sciences - University of Diyala
It is part of the requirements for obtaining a doctoral degree
In Biology Philosophy

By
Naser Yaseen Khudhair

Bachelor of Biology\College of Education for Pure Sciences\University of Diyala\2009-2010

Master of Biology - Zoology\College of Education for Pure Sciences\University of Diyala\2020

Supervised by

Dr. Maha Falih Nazzal

Assistant Professor

2024 A.D **1445 A. H**

1.1 المقدمة Introduction

يعتبر قصور المبايض المبكر Primary ovarian insufficiency (POI) عيباً اساسياً في المبيض يؤدي إلى توقف وظيفته، يتميز إما بغياب الدورة الطمثية أي انقطاع الطمث الأولي Primary (PA) Amenorrhea وهو الشكل الأكثر خطورةً، أو بالنضوب المبكر لجريبات المبيض قبل عمر 40 عاما أي انقطاع الطمث الثانوي Secondary Amenorrhea (SA) ستة أشهر وهو الأكثر تواتراً (Torrealday وأخرون , 2017). من المعروف أن 90% من النساء يحدث لديهن انقطاع الطمث الطبيعي أو اليأس (Menopause) بين عمري 45 و 55 عاماً ويبلغ متوسط العمر لحدوث اليأس51 وتعاني النساء من عدة أعراض تسبق حدوث اليأس مثل الخفقان في القلب، القلق عند النوم، الانخفاض في الطاقة، الشعور بالومضات الحرارية، و ذلك بسبب الاضطراب في مستويات هرمونات المبيض (Paciuc , 2020) ، وبالمقابل لا تظهر معظم النساء المصابات بقصور المبيض المبكر علامات واضحة أو أعراض تسبق انقطاع الطمث الثانوي والغالبية لديهن دورة طمثية طبيعية وخصوبة محتملة (Wang وأخرون , 2020).

تعد الهرمونات العامل الاساسي في الجسم لما لها من تأثير في حياة الانسان وخاصة الهرمونات الجنسية حيث هي المسؤولة عن عملية التكاثر واستمرارها وبالتالي لها دور كبير في استمرار الحياة وانتاج افراد جديدة (El Sayed وآخرون 2022).

يعد هرموني FSH و LH هرمونات كلايكوبروتينية يفرزان من الجزء الأمامي للغدة النخامية وذلك استجابة لإفراز هرمون الانطلاق GnRH الذي ينطلق من تحت المهاد (Clavijo و Hsiao , 2018). يعمل هرمون محفز الجريبات FSH على نمو وتطور الجريبات المبيضية Ovarian follicles ، وهرمون LH مسؤول عن عملية التبويض من المبيض بعد نضج الحويصلات لذلك فانه احيانا يسمى بهرمون

الاباضة Luteinizing hormone (Santi وآخرون , 2020). اما الهرمون المضاد لمولر Anti-Mullerian hormone (AMH) له تأثير في تقليل حساسية الحويصلة المبيضية لهرمون FSH ومسؤول في مرحلة الجنين عن السيطرة على تحديد الجنس إذ في الذكر ينشط تكوين المسالك الذكرية ويثبط تكوين المسالك الانثوية وبالعكس ، أما هرمون الاستروجين يعمل على نمو الأعضاء التناسلية الاولية والثانوية نموا طبيعياً. هرمون البروجيستيرون يعمل على نمو وتطور خلايا بطانة الرحم ويقلل من حصول التقلصات الرحمية اثناء الحمل حيث يساهم في تهيئة الرحم لاستقبال الجنين (Clavijo و Hsiao , 2018).

يشارك هرمون الاستروجين Estrogen Hormone في التكاثر Reproduction، بالإضافة إلى دخولها في تكوين العديد من أجهزة الجسم الأخرى بما في ذلك الجهاز العصبي الغدد الصم العصبية ، والأوعية الدموية ، والهيكل العظمي ، والمناعة. لذلك فإنه يشارك أيضًا في العديد من الأمراض مثل العقم والسمنة وهشاشة العظام، وكذلك يسهل نمو الحويصلات داخل المبيض(Holesh وآخرون, 2022).

يؤدي الجهاز المناعي دوراً مهماً في اظهار مضاعفات POI مما يؤثر عليه السايتوكينات والتي تمثل بروتينات لنقل الإشارة المناعية لإحداث الاستجابة المناعية و من هذه المجموعة هي البين الابيضاضيات Interleukin و هي مجموعة من البروتينات التي تقع ضمن الحركيات الخوية Cytokine وهي بروتينات ذات اوزان جزيئية صغيرة تؤدي دوراً مهماً في الاستجابة المناعية و لها تأثيراً مهماً في التكاثر من خلال الجهاز العصبي و الغدد الصم Neuro-endocrine و كذلك تؤثر على المبايض Ovaries حيث تحفز على افراز المواد المرتبطة بالإباضة Ovulation (Donders وآخرون ، 2019).

البين الابيضاضي السادس Interleukin 6 (IL-6) ينتج من الخلايا الوحيدة والخلايا البلعمية وهو الوسيط الرئيسي لاستجابة المرحلة الحادة Acute Phase Response. وهو بروتين سكري يمتاز بوظائف متعددة كما يؤدي دوراً مركزياً ومهماً في دفاعات المضيف ضد العدوى والاصابة، بالإضافة الى قدرته في

تحفيز الاستجابة المناعية المتأصلة والمناعة المتكيفة (Mesquida , 2014). يعد IL-6 عاملاً مساهمًا رئيسيًا في POI حيث يؤثر على وظيفة المبيض (Yan و آخرون ، 2022). أن IL-6 مؤيد للالتهابات، يؤدي وظائف مهمة في فسيولوجيا الإنجاب مثل تنظيم إنتاج الستيرويد في المبيض، وتكوّن الجريبات، ووظيفة الرحم الطبيعية. بالإضافة إلى ذلك، وجد أن IL-6 منتشر على نطاق واسع في الجهاز التناسلي الأنثوي وأنسجة الحمل؛ ويساعد أيضًا في زرع الأجنة وتطور المشيمة

البين الابيضاضي الحادي عشر (IL-11) Interleukin 11 وهو سايتوكين ينتجه الجهاز المناعي، ينتمي إلى عائلة IL-6، والتي لها إمكانات مؤيدة ومضادة للالتهابات وعلاقتها بالمرض عن طريق القياس لمستوى تركيز (IL-11) (Abd AL-Ameer , 2022). تم اكتشاف (IL-11) Interleukin 11 في الأصل كعامل ينتج عن خط خلايا انسجة نخاع العظم المحفز بـ IL-1 (Effenberger وآخرون 2022 ,). أن المستويات المنخفضة من التعبير الجيني للبين الابيضاضي الحادي عشر ترتبط بحالات العقم الأولية المختلفة، بما في ذلك متلازمة تكيس المبايض POCS، وtubal factor ، والعقم غير المبرر unexplained infertility و قصور المبايض المبكر POI لأنها تؤدي دورًا أساسيًا في زرع الأجنة (Alzaidi وآخرون ، 2021).

البين الابيضاضي الثالث عشر (IL-13) Interleukin -13 وهو سايتوكين تركيبي ووظيفي لا يشارك فقط في وظيفة المناعة ولكن أيضًا في الحمل وتطور الجنين وتطور الثدي والرضاعة ، وكذلك في وظائف الدماغ العليا بما في ذلك الذاكرة والتعلم (Xiao وآخرون ، 2023). يتم التعبير عن IL-13 في بطانة الرحم طوال الدورة الشهرية، مع ارتفاع التعبير قبل وأثناء الحيض وكذلك خلال المراحل التكاثرية المتوسطة إلى المتأخرة والمراحل الإفرازية المبكرة إلى المتوسطة للدورة الشهرية، على التوالي (Rhoton-Vlasak وآخرون ، 2005).

البين الابيضاضي السادس عشر (IL-16) Interleukin - 16 هو سيتوكين مؤيد للالتهابات وعامل كيميائي للخلايا المناعية الأخرى إلى موقع الالتهاب (Richmond وآخرون ، 2014). يؤدي التعرض المتكرر لأنسجة المبيض العوامل الخارجية والداخلية (الممرضة/الاستقلابية) إلى زيادة التعبير عن IL-16 (O'Shea وآخرون ,2019).

فيتامين D هو فيتامين ستيرويدي، ينتج بشكل رئيسي عن طريق الجلد عند التعرض لأشعة الشمس. وهو مقدمة للعديد من الهرمونات الستيرويدية القابلة للذوبان في الدهون، وبالتالي قد ينظم الجهاز التناسلي الأنثوي. تشارك الفيتامينات التي تذوب في الدهون في العديد من الوظائف الفسيولوجية. هذه الفيتامينات لها تأثيرات مختلفة، وتعمل كعوامل مساعدة، وتعمل كمقدمات لهرمونات الستيروييد ونقص الفيتامينات التي تذوب في الدهون يسبب قصور المبيض المبكر(Dashti وآخرون ، 2023). أن فيتامين D قد يزيد من تخليق AMH وبالتالي ضبط نمو الجريبات من خلال تنظيم مسارات الإشارات داخل الخلايا (Grzesiak ، 2020). من ناحية أخرى، قد يؤدي نقص فيتامين D إلى انخفاض مستوى هرمون AMH في الدم وزيادة تركيز هرمون FSH، مما يؤدي إلى POI (Ersoy وآخرون ، 2016).

الكالسيوم عنصر غذائي أساسي ضروري للعديد من الوظائف في صحة الإنسان. الكالسيوم هو أكثر المعادن وفرة في الجسم حيث يوجد بنسبة 99٪ في الأسنان والعظام ، و 1٪ فقط في المصل. يتم مراقبة مستوى الكالسيوم في الدم بإحكام ليبقى ضمن المعدل الطبيعي من خلال عملية التمثيل الغذائي المعقدة (Yonei و Hadzaejva ، 2019) ،أن الكالسيوم له علاقة وثيقة بالوظيفة الإنجابية اذ يساعد في تنشيط مسارات الإشارات المتعلقة بالوظيفة الإنجابية من خلال وظيفته كرسول ثانوي، ويحفز الكالسيوم نضوج البويضات إما تلقائيًا أو عن طريق LH(Chen وآخرون ، 2020). الكالسيوم هو معدن له فوائد مختلفة في مجال التكاثر وقد يمنع POI (Sutrisno و Nuswantoro ، 2023).

المغنيسيوم هو ثاني أكثر العناصر وفرة داخل الخلايا في جسم الإنسان بعد البوتاسيوم، كونه ضروريًا في عدد كبير من العمليات الأنزيمية والتمثيل الغذائي. كما ان المغنيسيوم هو معدن غذائي أساسي ضروري لصحة والجسم العامل. قد يسبب نقص هرمون الاستروجين فقدان الأنسجة المغنيسيوم. خلال انقطاع الطمث، تبدأ مستويات هرمون الاستروجين في الانخفاض مما يعني انخفاض مستويات المغنيسيوم أيضًا (Abass و Abdulla ، 2014).

2.1 اهداف الدراسة

لندرة البحوث والدراسات حول مرض قصور المبايض المبكر في العراق وعلاقته مع الجهاز المناعي وبعض العوامل الفسلجية الأخرى جاءت هذه الدراسة لتحقيق الأهداف عن طريق:

1. معرفة مدى تأثير الاستجابة المناعية الخلوية للمرض من خلال دراسة مستوى بعض المؤشرات المناعية (IL-6 ، IL-11 ، IL-13 ، IL-16).
2. تأثير بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية على المرض من خلال دراسة مستوى الهرمونات و بعض المستويات الكيموحيوية لدى النساء المصابات.
3. مدى تأثير عوامل الخطر المحتملة بالنساء المصابات مثل الوزن والسكن او طبيعة المعيشة او التاريخ العائلي على المرض.

Summery

Primary ovarian insufficiency (POI) is a condition that arises from dysfunction or premature depletion of the ovarian follicle population accompanied by earlier than usual loss of fertility in young women (under the age of 40 years). In this study, 45 patients suffering from premature ovarian insufficiency participated and were compared to a control group that included 45 healthy women with ages ranging from (20-40) years. Samples were collected from the infertility and gynecology unit at Al-Batoul Teaching Hospital in Baqubah and from private women's clinics. December 2022 until May 2023. The current study aims to study some hormonal, immunological and physiological aspects and their relationship to demographic factors for 45 patients suffering from Premature Ovarian Insufficiency (POI) compared to the control group.

The study included three axes: the first included knowing the extent of the impact and influence of the cellular immune response to the disease by studying the level of some immune indicators (cellular kinetics), namely IL-6, IL-11, IL-13, IL-16 using ELISA technology, and the second dealt with Studying the effect of some physiological and biochemical parameters on the disease by studying the level of hormones in women suffering from premature ovarian insufficiency, including anti-Müllerian hormone (AMH), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), thyroid-stimulating hormone (TSH), progesterone, and estrogen, in addition to measuring The level of vitamin D, calcium, and magnesium Mg using the Cobas E-411 chemical and hormonal analyzes and tumor indicators device, and the last axis includes the extent of the influence of demographic factors surrounding women who suffer from POI, such as weight, age, or family history of the disease.

The results of the current study revealed that there were significant differences between the age groups and the two study groups (patients and healthy people). The age groups 31-35 and < 35 years recorded the highest percentages (33.3% and 31.1%) of female patients compared to the groups 20-

25 and 26-30 years, which recorded the lowest percentages (15.6% and 20.0%), respectively.

The results of the current study showed that there were no significant differences between the average age and body mass index of the two study groups. The results of the current study also showed that the body mass index of the female patient group had increased in mass for the female patient group, reaching (31.82), while the average body mass index for the healthy group ranged from (29.11).

While the percentage of women suffering from premature ovarian insufficiency who had a family history of the disease (first-degree relatives) was (91.1%), and the percentage of women who also suffered from premature ovarian insufficiency but had no family history of the disease (8.9%).

The study showed that there were significant differences between the levels of AMH, FSH, and LH hormones in the two study groups (patients and healthy people). The levels of the hormones TSH, E2, and Progesterone were not significantly different between the two study groups.

The study showed significant differences between the levels of IL-6, IL-11, IL-13 and IL-16 in the two study groups (patients and healthy people).

With regard to the physiological study that included measuring the concentration of magnesium, calcium, and vitamin D, the current study showed a significant decrease in the level of magnesium concentration, reaching (0.29 ± 0.75) for female patients, compared to healthy people (0.30 ± 2.07). There is also an increase in the level of calcium concentration in patients compared to healthy people. The calcium level in patients reached (0.45 ± 8.33), compared to healthy people (0.58 ± 8.02). As for vitamin D, there was a significant decrease between the two study groups (patients and healthy people). Vitamin D levels were low in patients (8.62 ± 18.88) compared to healthy people (11.53 ± 44.15).

Summery

The current study showed, based on the rocker curve, which is used to measure the sensitivity and specificity of variables in identifying patients suffering from premature ovarian insufficiency. It showed that the variables AMH, IL-11, IL-13, VD, Mg, FSH, LH, IL-6, IL-16 had the highest sensitivity (100%, 93%, 95%, 98%, 98%, 98%, 100%, 89%, and 98%) and specificity (92%, 74%, 100%, 98%, 100%, 94%, 100%, 100%, 75%, and 100%) at intersection points (0.83, 120.94, 42.335, 30.395, 1.625, 7.34, 6.15, 4.185, and 1003) respectively and with moral differences with statistical significance ($P<0.05$) in identifying patients with premature ovarian insufficiency compared to other variables that recorded lower sensitivity and specificity.

In addition to the Pearson correlation coefficient, which is used to measure the strength and type of correlations between quantitative variables, the results of the current study showed that there is an inverse significant correlation between AMH and FSH (R=-.378*), and AMH and LH (R=-.307*). , IL13 and IL16 (R=-.481**), and Ca with P4 (R=.315*).

The results of the current study demonstrated that there are no significant differences ($P>0.05$) between the levels of hormones, interleukins, vitamin D, magnesium and calcium with the age groups of patients, with the exception of IL-11, which recorded the highest level (125.84 ± 26.38) in the age group >35 years and the lowest level (85.18 ± 14.25) at $\leq$ 20-25 years, with significant differences ($P<0.05$).