جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تأثير بعض المعلُمات الحيوية لدى المرضى المصابين بالفصال العظمي في الــركبـة

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ الأحياء المجهرية

من قبل الطالبة
إيمان عامر إسماعيل الجميلي

جامعة ديالى / كلية العلوم / بكالوريوس علوم الحياة 2012

بإشراف

أ.د عباس عبود فرحان الدليمي
١٤٣٩هـ

أ.م.د ولاءِ نجم عبود
٢٠١٨م

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education

and Scientific Research

University of Diyala

College of Education for Pure Science

Department of Biology

Effect of Some Biomarkers in Patients with Knee Osteoarthritis

A thesis submitted to

College of Education for pure Science as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

M.Sc.in Biology

(Microbiology)

By

Eman Amer Ismaeel AL-Jamily

B.Sc. Biology/College of Science /University of Diyala 2012

Supervised by

Dr. Abbas Abood Farhan
Prof.

Dr. Walaa Najm Abood
Assist Prof.

2018A.D **1439A.H**

الفصل الاول

المقدمة

INTRODUCTION

1-1 المقدمة Introduction :

الفصال العظمي في الركبة (التهاب المفاصل في الركبة) Knee (KOA) Osteoarthritis أو ما يعرف بالأسم الشائع السوفان يُعَد من أكثر أمراض التهابات المفاصل إنتشاراً ويسمى بمرض المفاصل التنكسية Degenerative joints disease، ينتشر هذا المرض تقريباً في جميع دول العالم بنسب متفاوتة و يُعَد العمر من المؤشرات الأساسية للإصابة بهذا المرض و بذلك يصاب به من هم فوق سن (45) سنة وفي حالات شاذة يصاب به من هم أصغر من هذا العمر عند إصابتهم بالتشوهات الخلقية للمفصل (Congenital infection) أو إصابة المفصل بالرض (Truma) (Burr and Gallant واخرون 2012)، تتعلق خطورة هذا المرض بعدة عوامل كالجنس والوزن وعوامل أخرى متنوعة (مثل المهن التي تخضع المفصل للإجهاد المتكرر وبالتالي يهيئ المفصل في نهاية المطاف نحو تطوير خشونة الركبة) (Brandt واخرون، 2009).

الفصال العظمي في الركبة (Knee Osteoarthritis) له تأثير سلبي على عدة جوانب من حياة المريض مثل التقيد بالحركة و وضعية الجلوس و تدني الكفاءة و المواصلة على العمل فيسبب إعاقة مزمنة ونقصان في حركة المفصل الزليلي مما يؤدي الى تطور الحالة و زيادة ألم وأنتفاخ المفصل وتراكم السائل الزليلي (Woolf and Pfleger،2003)، يُعَد الفصال العظمي من الامراض غير المتجانسة مسببةً مدى واسع من الأعراض تشمل أعراض مفصلية وأعراض سريرية: فالأعراض أو المظاهر المفصلية تتضمن تأكل الغضروف المفصلي (Erosion articular cartilage)، تضخم العظم (نمو نابتة عظمية osteophytes) والتصلب تحت الغضروف (Sclerosis under cartilage) والتهاب السائل الزليلي (Inflammation synovial fluid) حيث تُعد هذه التغيرات المرضية في المراحل المتأخرة و الحادة من المرض (Aaboe واخرون،

2011)، أما الأعراض السريرية تشمل تطور تدريجي للألم وحدوث تصلب للمفصل خاصة بعد ممارسة نشاط طويل وعجز المفصل عن الحركة و يكون هذا نتيجة لتدهور الغضروف فتشتد الأوتار والأربطة مسببةً الألم وكلما ساءت الحالة كلما أصبح احتكاك العظام مع بعضها أكبر (Pap واخرون ،2011).

يتم تشخيص المرض إعتماداً على تاريخ الإصابة به وعلى نتائج التصوير الشعاعي (X-Rays) ، وبينت الأدلة الشعاعية في دراسات لأعراض الفصال العظمي في الركبة أنه يكون أكثر شيوعاً في النساء من الرجال (Stannus واخرون، 2010)، وذكرت دراسات حديثة أن الفصال العظمي ينتج من فشل في المفصل وهو كمرض مزمن يؤثر على كل المفصل (العظم bone، الغضروف cartilage، الأوتار tendom، الغشاء الزليلي synovial membrane) (Hawker وآخرون، 2008)، صنف الفصال العظمي في الركبة الى الفصال العظمي الأولي والفصال العظمي الثانوي، يكون الأولي أسبابه غير واضحة بصورة عامة حيث يعتبر بداية بطيئة لتكون المرض وعلى خلاف ذلك فأن الفصال العظمي الثانوي تكون أسبابه إصابة بالرض (truma) أو أضطرابات في النمو أو تشوهات خلقية (congenital) ، وكذلك أمراض أخرى تساعد على الإصابة به مثل السمنة، أمراض الغدد الصماء (endocrine diseases)، وهو كمرض التهابي يحفز الحركيات الخلوية المؤيدة و المضادة للإلتهاب في الغشاء الزليلي والغضروف (Thorpe واخرون ،2013).

أثبتت دراسات أن للخلايا المناعية الطبيعية والمكتسبة (Adaptive and innate immune cells) دور في تطور ونشوء المرض، فعند تدهور الغضروف المفصلي (cartilage articular) يحدث تحفيز لكل فروع الجهاز المناعي (immune system) مما يؤدي الى تحرير محددات مستضدية ذاتية متخصصة للغضروف (specific auto-antigen) فيحدث تفعيل

الأستجابة المناعية لخلايا B-cells ، T-cells، الخلايا البلعمية macrophages، الحركيات الخلوية cytokines و chemokines وإنزيمات محطمة للغضروف مثل إنزيمات الميتالوبروتينيز MMPs والبروستاغلاندين prostaglandinE2 (Firestein and Kelley، 2013)، يقوم الجهاز المناعي الفطري (innate immune system) بتمييز الألتهاب (Inflammation) عن طريق خلاياه البلعمية (Macrophage) والخلايا متعددة النوى (polymorphonuclears) في الأنسجة فتقوم الخلايا البلعمية بإنتاج الوسائط الخلوية منها (IL-1،6 TNF-α، MMPS) وبسبب إنتاج الوسائط الألتهابية (inflammatory mediator) ؛ يحدث ألم وتورم في المفصل فتزداد نفاذية الغشاء الزليلي (Synovial membrane) عن طريق الأوعية اللمفاوية (Day ،2005).

تؤدي الحركيات الخلوية (Cytokines) دوراً مهماً في أمراضية الفصال العظمي في الركبة حيث تشارك على نطاق واسع من خلال تعزيز العمليات التهديمية (Catabolic processes) للمفصل، وأن فهم الأليات البيولوجية لهذه الحركيات الخلوية (Cytokines) المشاركة في المرض يؤدي الى أفضل النتائج في أيجاد العلاج لمرضى الفصال العظمي في الركبة (Knee Osteoarthritis) (Krenn واخرون، 2006).

السائل الزليلي (المفصلي) (Synovial Fluid) هو سائل هلامي موجود في الفراغات بين المفاصل، وظيفته يقلل من الأحتكاك داخل الغضروف المفصلي (Cartilage articular) ويحتوي على جميع بروتينات البلازما بأستثناء تلك العالية الوزن الجزيئي مثل الفيبرينوجين (Fibernogen) ، (Sowersواخرون،2011)، تكون الخلايا العدلى هي الخلايا المسيطرة في السائل الزليلي (المفصلي) الملتهب لأفرازها أنزيمات مثل الكولاجينيز(collagenases) ومن ضمنها (MMPs-1) الذي يسبب الأئتكال الغضروفي السطحي، ومما يزيد الإلتهاب وجود

الغلوبيولينات المناعية (Immunoglobulins) في السائل الزليلي (Synovial fluid) من النوع IgM و IgG التي تشكل معقدات مناعية تؤدي الى تفعيل نظام المتمم Complement system، Schumacher 2001).

2-1 أهداف الدراسة Aims of Study:

هدفت الدراسة الى تحديد الدور الإلتهابي لبعض المؤشرات المناعية المؤيدة والمضادة للإلتهاب في مصل الدم والسائل الزليلي للمرضى المصابين بالفصال العظمي في الركبة من خلال دراسة المؤشرات التالية :

١. تقييم أثر بروتينات المتمم الثالث C3 في مصل الدم والسائل الزليلي (المفصلي) لمجموعة المرضى المصابين بالفصال العظمي في الركبة ومجموعة السيطرة.
٢. التحري عن موجبية اضداد البين الأبيضاضي السادس IL-6 في مصل الدم والسائل الزليلي (المفصلي) لمجموعة المرضى المصابين بالفصال العظمي في الركبة ومجموعة السيطرة.
٣. التحري عن موجبية اضداد الميتالوبروتينيز الاول MMPS-1 في مصل الدم والسائل الزليلي (المفصلي) لمجموعة المرضى المصابين بالفصال العظمي في الركبة ومجموعة السيطرة.

Abstract:

Knee osteoarthritis is a joint disease that appears primarily in the elderly characterized by erosion articular cartilage, osteophyte, subchondral bone stiffness, synovitis inflammation , many causes of the disease such as age, sex, and obesity, the location of the joint injury and various other factors.

This study was conducted at Baquba Teaching Hospital and Specialized Clinics for Fractures and Joint Diseases in Diyala Governorate during the period from 2016/8/25 to 2017/5/1. The study aimed to by investigating the inflammatory role of certain immune and anti-inflammatory markers in serum and synovial fluid in patients with knee osteoarthritis.

The study included determination of the total and differential number of White blood cells, counting the number of platelets and erythrocyte sedimentation rate , determination of the positive C protein reactive, as well as the determination of (IL-6) and metalloproteinase type I (mmps-1) in ELISA ,also measured complement proteins C3 using single radial immunodiffusion assay.

The results of this study showed that the percentage of infection among females is higher than that of males (80% ,20%) respectively, with significant differences , And their the age groups (40-49,59-50,60-69) years recorded the highest percentage of infection (28%, 26%,32%), respectively,While the age groups (30-39) had the lowest percentage of infection (8%) respectively, and the difference between the two groups $P<0.05$.

This study showed that the percentage of people with knee osteoarthritis who suffer from diabetes mellitus (40%) , also who are suffer obesity (86%), and who suffer from excessive effort (100%) for

both sexes, the percentage of women who are menopausal (62.5%). And the total number of white blood cells in patients increased (8119.9 ± 3946.61) cell / mm3 compared with healthy persons (7397.18 ± 1372.56) cells / mm3, While the results of the differential number of white blood cells showed an increase in neutrophil cells and a decrease in lymphocytes and monocyte, where eosinophil and basophil were close in comparison to healthy persons with significant difference $P<0.05$.The study also showed a significant difference in the level of $P<0.05$ for the value of PLT, ESR, and CRP in the serum of patients who were infected compared to healthy persons.

The results of the present study also showed a significant difference at $P<0.05$ level for C3, MMPs-1, and IL-6 in both serum and synovial fluid in patients who were infected compared to healthy individuals.

A strong positive relationship between the increased concentration of (C3) in synovial fluid, C-reactive protein (C-RP) and platelet count (PLT) in patients with severe knee osteoarthritis ,A moderately positive relationship between (ESR) , (C3) in serum and lymphocytes with the severity of the disease , Results about the relationship between knee osteoarthritis and the following biomarkers: the total and differential number of white blood cells (neutrophils, monocytes, eosinophils, and basophile) showed a weak positive relationship between these biomarkers in the serum of patients and the severity of the disease compared to the other indicators, Others with a high positive.

This study was gave a new evidence to detect the osteoarthritis early by detection the level of C3 , MMPs-1, and IL-6 in both serum and synovial fluid in patients, that have a strong positive relationship between the severe knee osteoarthritis.