جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية: العلوم –علوم الكيمياء

دور فيتامين D في تنظيم الاستجابة المناعية لمرضى التهاب المفاصل الروماتيدي

بحث تقدمت به الطالبتان

سهام شهيد عطب

سماح سالم حسين

الى مجلس كلية العلوم / قسم علوم الكيمياء

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الكيمياء

بإشراف الدكتور

م. د. عباس جواد كاظم

بسم اللّه الرحمن الرحيم

﴿ وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُنْ تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللهِ عَلَيْكَ عَظِيماً ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة النساء آية ١١٣

الاهداء

الى الرسول الاعظم محمد صل الله عليه واله وسلم

الى اهل بيت النبوة ومعدن العلم وموضع الرسالة ومختلف الملائكة

الى والدي العزيز . . . ووالدتي العزيزة . . .حباً واحتراماً

الى اخوتي ،واخواتي . . . فخراً واعتزازاً

والى اساتذتي نخص بالذكر الدكتور المرحوم (عباس جواد كاظم)

والى طلبة العلم . . . نهدي هذا الجهد المتواضع

شكر وتقدير

الحمد لله والشكر له بما من علينا به من نعمة والصلاة والسلام على خير خلقه الامين محمد وآله الاطهار واصحابه الغر الميامين

اتقدم بجزيل الشكر والتقدير والامتنان الى **استاذي (د. علي عبد الحسين غزاي)** على ما بذله من جهد ووقت لغرض الاشراف على بحثي ومتابعته لي بآرائه القيمة وافكاره الجميلة، فجزاه الله خير الجزاء

كما اتقدم بخالص الشكر والتقدير الى جميع الاساتذة المحترمين في كلية العلوم /قسم علوم الكيمياء جامعة القادسية واخيراً اشكر جميع اصدقائي الذين لم يبخلوا على بجهد او معلومة .

الموضوع	ارقام صفحات
المقدمة	8-7
فيتامين D	9
الهدف من البحث	9
عملية صنع جلد فيتامين D	10
المواد وطرق العمل	13
طرق العمل	15_14
المناقشة	17_16
الاستنتاجات	18
المصادر	21-19

الخلاصة Abstract

الهدف من هذه الدراسة هو تلخيص العلاقة بين فيتامين D وتطور ونتائج الإصابة بمرض التهاب المفاصل الروماتيدي وتأثير فيتامين Dعلى واعراض وعلامات هذه المرض.

الدراسات الوبائية أظهرت ان هنالك ارتباط ممكن بين التعرض القليل لأشعة الشمس

وخصوصا الاشعة فوق البنفسجية نوع B والنظام الغذائي الذي يحتوي على كمية قليلة من فيتامين D وفي مخاطر الإصابة بمرض التهاب المفاصل الروماتيدي.

وفي هذه الدراسة وجد ان هنالك علاقة بين تركيز فيتامين D في المصل واحتمالية الإصابة بالمرض حيث ان زيادة تركيز فيتامين D في المصل من خلال التعرض الكافي لأشعة الشمس واخذ مكملات غذائية تحتوي على فيتامين D يمنع الى حد كبير خطر الإصابة بمرض التهاب المفاصل الروماتيدي

المقدمة

التهاب المفاصل Rheumatoid Arthritis: مرض التهابي جهازي مزمن يتغير تأثيره ويتطور بسرعة ليصبح حاد ويسبب عجز عن الحركة في فترة قصيرة [1] .

المرض في البداية يؤثر على السوائل الزلالية الموجودة في الاربطة لينتج الم ثم انحراف او تشويه ثم عجز وظيفي مسبباً إمراضيه كبيرة قد تؤدي الى الوفاة [2]

الحالة او المرض يمكن ان ينتشر خارج المفصل ليأخذ مظاهر عدة تشمل التهاب الاوعية الدموية والتهاب في القلب والرئة والتهاب الاعصاب المحيطة.

هذا المرض يعطي فرصة للإصابة بأمراض اخرى مثل امراض القلب والاوعية الدموية، وامراض الرئة واضطرابات كلوية وامراض معوية مما يزيد احتمالية حدوث الموت المبكر[3]

من الناحية الاقتصادية التهاب المفاصل الروماتيدي هو مرض مكلف على المستوى الشخصي والاجتماعي هذا المرض يصل الى القمة للأشخاص الذين هم في منتصف العمر لذلك في الغالب يؤثر على الاشخاص الذين هم في عمر العمل [4]

الابحاث اكدت ان التأثيرات الشديدة للمرض ظهرت في عدم قدرة الاشخاص على العمل ل ٥٠% من الاشخاص الذين هم في منتصف العمر خلال ال ٥ سنوات الاخيرة [5]

كذلك يعتبر التهاب المفاصل الروماتيدي من الامراض المزمنة التي تسبب ضرر شديد في المفاصل والاربطة. ومتوقع ان يكون من الامراض الحديثة نسبياً لان هناك نقص كبير في الادلة التاريخية على وجودة [6]

المرض هو مرض جهازي يؤثر بشكل كبير على السوائل الزلالية الموجودة في الاربطة والمفاصل والتراكيب حول المفصل خاصة اغشية الاوتار

عادة ما يبدأ في العظام الصغرى لليدين والاقدام والاربطة في الحالات المتقدمة معظم الاربطة تصبح مصابة الطبيعة الجهازية للمرض تعني ان بقية الاعضاء بالنسبة لجسم المريض تصبح متأثرة عندما تتطور الحالة ومن الاعراض التي تدل على تأثر بقية اعضاء الجسم بمرض

التهاب المفاصل الروماتيدي هو وجود الاعراض والعلامات المرضية التالية هي (الحمى، وفقدان الوزن، الاعياء، انتفاخ العقد اللمفاوية، فقر الدم، جفاف العيون، تليف الرئتين، سوائل في الجوف الصدري، التهاب الاوعية الدموية، والتهاب الكلى).

مصدراً او بسبب المرض غير معروف. لكن يعتقد انه من امراض المناعة الذاتية التي تتوسطها التهاب اغشية المفاصل التي تصبح مخترقة من قبل الخلايا المصابة.

الحالة المرضية متغيرة في الظهور الاولى لها. الاعراض ممكن ان تبدأ بألم شديد في المفاصل ممكن ان ستمر لعدة أشهر وإذا تم تشخيص الحالة ممكن ات تؤدي الى الاعاقة الجسدية الشديدة. بالتحديد المرض ممكن ان يوجد في المفاصل بشكل للاتهاب مفصلي ثنائي.

الطبقة الغشائية المبطنة للمفصل سوف تنمو حول الغضروف وتسبب تأكل مفصل الغضروف وبمرور الوقت سوف يؤدي الى انحلال الغضروف والمفصل.

التهاب المفاصل الروماتيدي هو أحد امراض المناعة الذاتية الذي فيه الجهاز المناعي يهاجم بالخطأ اربطة الجسم ويسبب الضرر لها وهذا يسبب تورم مؤلم وتكزز العضلات. بمرور الوقت تصبح المفاصل مشوهة ولا تعمل بشكل صحيح كل هذا الاعراض تجعل الشخص المصاب بالتهاب المفاصل الروماتيدي في قادر على ممارسة حياته اليومية بشكل طبيعي.

التهاب المفاصل الروماتيدي ممكن ان يضر بقية اجزاء الجسم في بعض الاحيان تتأثر الرئتين بالتهاب المفاصل الروماتيدي مؤدياً الى صعوبة بالتنفس. كذلك الاشخاص المصابين بأمراض يكون أكثر عرضة للإصابة بأمراض القلب والاعياء العام وفقدان الشهية وفقدان الوزن.

فيتامين D:

فيتامين D هو أحد الفيتامينات الذائبة بالدهون المصدر الرئيسي لفيتامين D هو التخليق الحيوي لها من خلال عمله بواسطة التعرض لأشعة الشمس. وهذا يعتمد بدورة على عدة عوامل منها خط العرض، ومدة ووقت التعرض لأشعة الشمس، التلوث الجوي والملابس وتصبغ الجلد[7].

فيتامين D مرتبط بأيض العظام والكالسيوم ومرتبط بالتحديد بـ المحافظة على توازن الكالسيوم من خلال تنظيم امتصاص (الكالسيوم من الجهاز المعوي) [8]

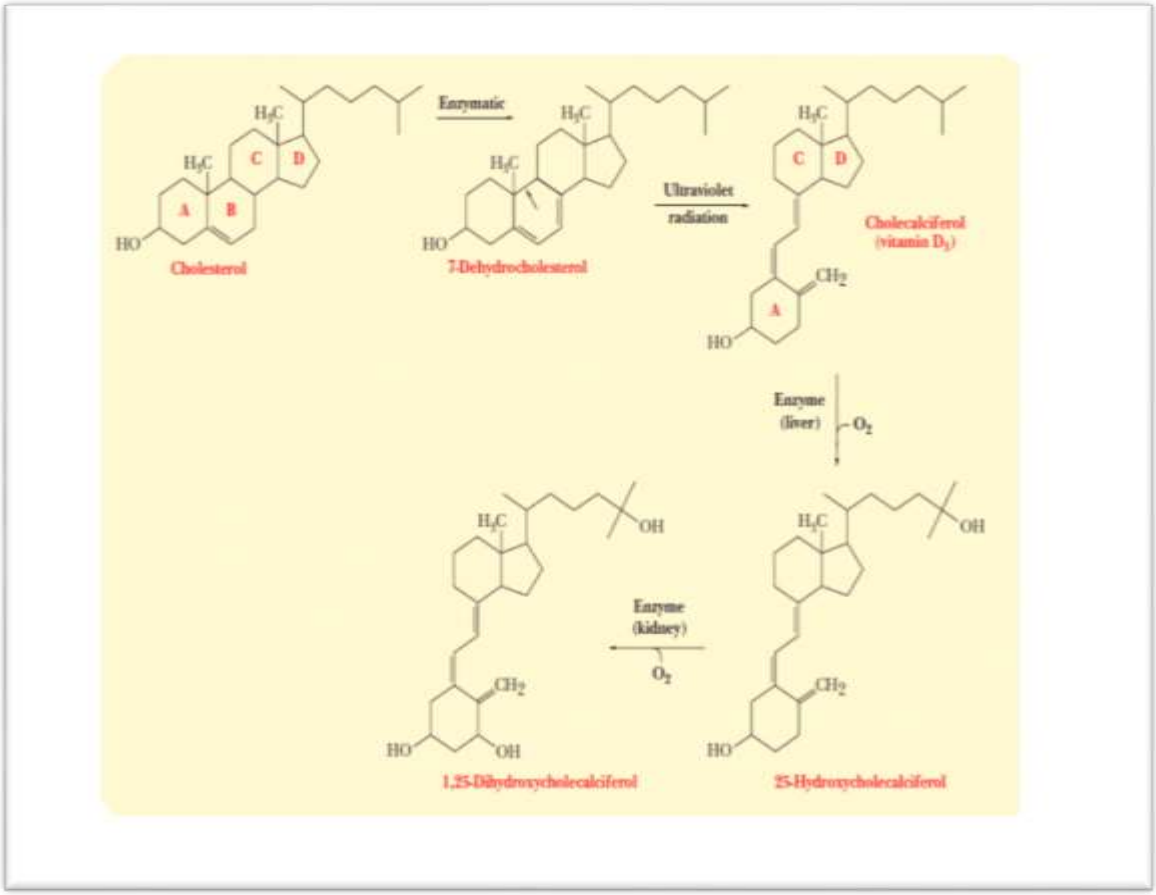
ويخلق عن طريق عمل الاشعة فوق البنفسجية القادمة من (اشعة الشمس). يساعد فيتامين D في التحكم بمستويات الكالسيوم في الدم ويساعد كذلك في الحفاظ على قوة العضلات ويقوم بتحفيز الامعاء لامتصاص المزيد من الكالسيوم من الغذاء الذي تتناوله.

فأذا لم تتناول ما يكفي من الكالسيوم يقوم فيتامين D يسمى الكالسيوم من العظام ويحتفظ الجسم بالكالسيوم في الدم في المستوى الطبيعي وذلك لان الكالسيوم مهم جداً في جعل الدماغ والرئتين العضلات والقلب تؤدي وظائفها بشكل طبيعي ويعتبر هذا الفيتامين من اهم الفيتامينات التي يحتاجها الجسم حيث له دور مهم في تكوين وكثافة العظام عند البالغين ويسبب الكساح او تقوس الساقين عند الاطفال كما يسبب اللام العظام والعضلات كما ان له دوراً في الوقاية من السرطان وبعض الامراض المرتبطة بالمناعة.

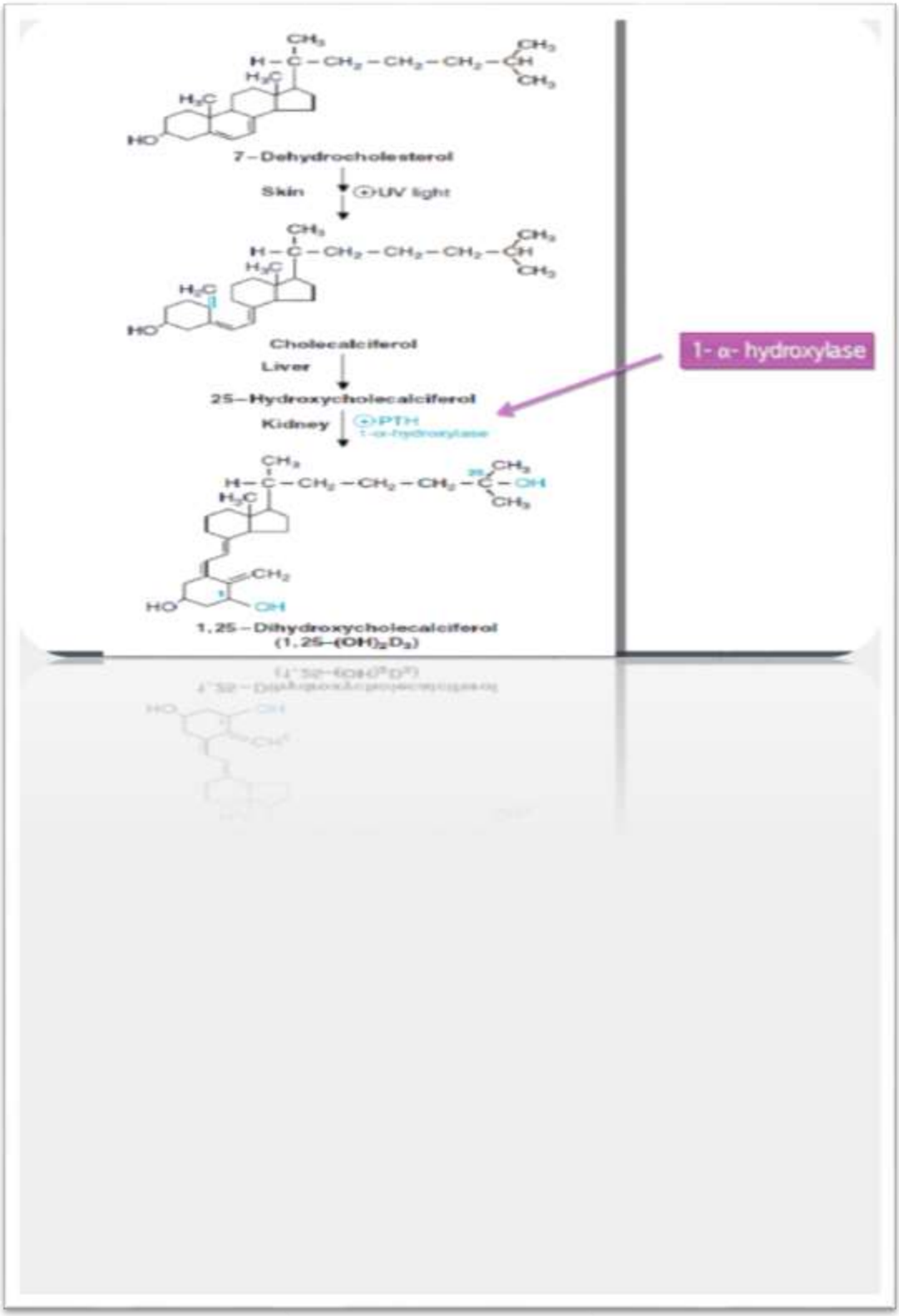
الهدف من البحث: الكشف عن مستوى فيتامين D في المرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الروماتيدي (RA) وإقامة علاقة. بين مستوى فيتامين D في الدم ونشاط المرض في RA.

عملية صنع الجلد الفيتامين D

يحتوي الجلد على العوامل فيتامين D الأولية ويطلق عليها (vitamin D precursor) يمتص الجلد الطاقة الموجودة في الاشعة فوق البنفسجية من النوع B [9] ويستخدمها في تحويل عوامل فيتامين D الأولية الى فيتامين D3 ينتقل فيتامين D3 الى الكبد حيث يخضع الى العملية كيميائية تتم فيها إضافة زوج من ذرات الاوكسجين والهيدروجين ليصبح hydroxyl vitamin D.25 ينتقل الفيتامين من الكبد الى الكلى حيث يتم هنالك إضافة زوج اخر من الاوكسجين والهيدروجين ليصبح di hydroxyl vitamin D1,25 وهذا الفيتامين النهائي الذي يحتاجه الجسم [10]



شكل رقم (١) التركيب الكيميائي لفيتامين D



شكل رقم (٢) الأشكال المختلفه لفيتامين D والازيمات المساهمه في التخليق الحيوي له

المواد وطرق العمل:

١. المرضى (The patient)

شملت هذه الدراسة متابعة (١٥) حالة من المرض التهاب المفاصل والذين يراجعون وبشكل دوري مستشفى الديوانية التعليمي والذين تراوحت أعمارهم (١٢_٧٧) سنة.

٢. جمع العينات الدم Collecting Of Blood Samples

اخذت العينات الدم صباحا بين الساعة ٨,٣٠ والساعة ١١:٣٠ حيث يقوم طبيب الاختصاص بفحص الشخص ويرسل الى وحدة المختبر التابعة لمركز وباستعمال محاقن طبية ثم سحب (٢٠) mL من الدم الوريدي الزندي ((Antecubital Vien)) اذ وضع الدم في انبوبة اختبار تحتوي على مانع تخثر EDTA لغرض اجراء الفحص.

بعد جمع العينات يتم قياس ما يأتي:

١.قياس ESR

٢.قياس WBC

٣.قياس RF

طريقة العمل:

قياس معدل الترسيب كريات الدم الحمر Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)

استعملت طريقة وستركرين لتقدير معدل ترسيب كريات الدم الحمر (okazaki et al 2002)

وضعت(٠،٥مل) من محلول التخفيف في انبوبة زجاجية ثم زيد فيها (٢مل) من الدم مزجت جيدا ثم سحب المحلول المنتج بواسطة ماصة وستركرين علقت بوضع عمودي قائم لمدة ساعة واحدة بعدها قرئت قيمة ESR وسجلت بواحدت (ملم /ساعة).

التعداد الكلي لخلايا الدم البيض White Blood Cell (WBC)

استعملت طريقة تعداد خلايا الدم والمحلول التخفيف Turkes fluidلحساب عدد خلايا الدم البيض الكلي (Tiffertet al ٢٠٠٠)

وضع (٠،٤مل) من الدم المسحوب ورج المزيج جيدا ثم نقلت قطرة من المزيج الى عدد خلايا وبعد وضع الغطاء الشريحة وتركها لمدة دقيقتين لكي تستقر الخلايا ونقل عداد الخلايا الى المجهر وفحصت تحت قوى التكبير الصغرى (10X) وثم حساب عدد خلايا الدم.

تحليل عامل الروماتيدي Rf ((Rheumatoid factor))

يتم اجراء هذا الفحص في المختبر عن طريق اخذ العينة من الدم من جسم الانسان من الوريد الموجود في الذراع تحديدا.

يتم وضع ٢٠ مايكرون من السيرم على الشريط او الشريحة اللاتكس ذات الدوائر السوداء ثم يوضع ٢٠ مايكرون من RF reagent .

ثم تقلب الشريحة لمدة ٢دقائق، إذا لم تظهر حبيبات فهذا يعني النتيجة سالبة والشخص غير مصاب اما إذا ظهرت حبيبات فان النتيجة موجبة والشخص مصاب.

فيتامين D	RF	WBC	ESR	**رقم العينة**
8.1	+	20000	143	1
8	+	3.7	65	2
24	+	11.3	5	3
8,1	+	25000	145	4
8,2	+	30000	141	5
7.1	+	30000	78	6
9.1	+	3,7	65	7
9	+	11,5	23	8
8	+	12000	25	9
10	+	15000	17	10
8.9	+	11000	29	11
7.3	+	16000	21	12
8.3	+	15000	27	13
8.7	+	17000	26	14
9.8	+	18000	24	15

النتائج والمناقشة:

التهاب المفاصل الروماتيدي من الامراض السريرية الشائعة لكن سبب المرض غير معروف بعد لان وان هنالك الكثير من العوامل البيئية والوراثية تلعب دور مهم في تطور المرض.
الكثير من الدراسات اجريت على مرض التهاب المفاصل الروماتيدي واكدت ان النقص في فيتامين D يزيد خطر الاصابة بامراض المناعة الذاتية مثل التصلب المتعددة ولاتهاب المعوي والسكري من النوع الاول والتهاب المفاصل الروماتيدي [11]

النقص في فيتامين D او عدم كفايته أصبح السبب الاكثر شيوعاً في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي بالمقارنة مع الاشخاص غير المصابين بمرض التهاب المفاصل الروماتيدي او الاشخاص الاصحاء كذلك ان مصل الاشخاص المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي يحتوي على مستوى اقل من فيتامين D بالمقارنة مع مصل الاشخاص الاصحاء [12]

فيتامين D له فعالية تنظيمية مناعية ومستقبلات فيتامين D موجودة على أسطح اغشية خلايا الجهاز المناعي وبالتالي فأن فيتامين D يحفز الخلايا اللمفاوية وينشطها للتعامل مع الجراثيم وسمومها التي تدخل الجسم [13]

دراسات سابقة اكدت تحسن الحالة الصحية لعديد من المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي بعد اخذهم مكملات غذائية تحتوي على فيتامين D بالمقارنة مع الاشخاص الذين لديهم نقص او عدم كفاية الفيتامين D او الذين كان مستوى فيتامين D في مصل الدم اقل من ٣٠ نانوغم /مل [14]

العديد من الدراسات السابقة وجدت علاقة بين مستوى فيتامين D في مصل الدم وبين زيادة فعالية مرض التهاب المفاصل الروماتيدي [15] في هذه الدراسة وجدنا ان المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي لديهم نقص كبير وواضح في مستوى فيتامينD في مصل الدم بالمقارنه مع الاشخاص الذين لديهم نشاط مرضى قليل او متوسط بالنسبة لالتهاب المفاصل الروماتيدي

ان النقص في فيتامين D هو السبب الاكثر شيوعاً في المرضى الذين لديهم فعالية مرضية مرضية كبيرة بالنسبة لالتهاب المفاصل الروماتيدي ما بينها عدم كفاية فيتامين D كان السبب

الاكثر شيوعاً في المرضى او الاشخاص الذين لديهم فعالية مرضية واطئة او متوسطة بالنسبة لالتهاب المفاصل الروماتيدي

دراسات اخرى اظهرت ارتباط عكسي بين نشاط المرض ونقص فيتامين D والشكل الفعال له حيث تزداد اعراض المرض مع نقصان مستوى فيتامين D [16]

وجدنا من خلال هذه الدراسة علاقة معنوية سالبة بين فعالية المرض ومستوى فيتامين D في مصل الدم، والذي يؤشر ان فعالية واعراض المرض تزداد في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي بينهما يقل مستوى فيتامين D في مصل الدم ونتائج هذه الدراسة كانت متوافقة مع دراسات سابقة التي اكدت العلاقة المعنوية السالبة او العكسية بين فعالية او نشاط المرض ومستوى فيتامين D [17]

النقص في فيتامين D ربما يكون مرتبطا بزيادة خطر الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتيدي. فيتامين D يعتقد انه يحفز التحمل المناعي لذلك فان النقص في فيتامين D ربما يقلل من التحمل المناعي ولاستجابة المناعية ويزيد من فرصة الإصابة بأمراض المناعة الذاتية.

فيتامين D يملك خواص مناعية من خلال التأثير في الجهاز المناعي للجسم. حيث ينظم الاستجابة المناعية من خلال او عبر مجموعة من الاليات مثل تقليل الفعالية السمية لكثير من الجراثيم من خلال التحفيز او تفعيل الخلايا المناعية (الخلايا اللمفاوية) لإفراز الاجسام المضادة لسموم هذه الجراثيم. هذه الدراسة والدراسات السابقة تؤكد ان نقص فيتامين D يزيد فرصة الإصابة بأمراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل الروماتيدي [18]

الاستنتاجات Conclusions

ان نقص فيتامين D هو شائع في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي كذلك ان نقص فيتامين D او عدم كفايته هو شائع في المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيدي بالمقارنة مع الأشخاص الاصحاء الذين يحتوي مصل الدم لديهم على كميات كافية من فيتامين D عندما تتناقص تراكيز او مستويات فيتامين D في المصل فهذا مرتبط بقلة او نقصان الاستجابة المناعية وبالتالي تزداد مخاطر الإصابة بمرض التهاب المفاصل الروماتيدي

Refferences

1. Van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol (*2005);97:93–101.
2. Turhanoglu AD, Güler H, Yönden Z et al. The relationship between vitamin D and disease activity and functional health status in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int (*2009);10:1393-6.
3. Steinman L. A brief history of TH17, the frst major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* (2007);13:139–45.
4. Rossini M, Maddali Bongi S, La Montagna G.et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Research and Therapy*(*2010*;12:R216.
5. Nielen MM, van Schaardenburg D, Lems WF et al. Vitamin D deficiency does not increase the risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*(*2006*);54:3719-20.
6. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Iowa Women's health study. *Arthritis Rheum (*2004);50:72–7.
7. Manolagas SC, Werntz DA, Tsoukas CD, Provvedini DM, Vaughan JH. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Lab Clin Med (*1986);108:596–600.
8. Liao KP, Alfredsson L, Karlson EW. Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol (*2009);21:279-83.

9. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS.Vitamin D defciency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev (*2006);5:114–7.

10. Hollick MF. Vitamin D defciency. *N Engl J Med (*2007);357:266-281.

11. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention
of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr (*2004);80:1678–88S.

12. Harinarayan CV, Joshi SR. Vitamin D status in India-Its implications and remedial measures. *J Assoc Physicians India (*2009);57:40-48.

13. Costenbader KH, Feskanich D, Holmes M, Karlson EW, Benito-Garcia E. Vitamin D intake and risks of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in women. *Ann Rheum Dis (*2008);67:530-5.

14. Adorini A, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol(* 2008); 4:404–12.

15. .Cherniack EP. A Ray of Hope for Tender Joints: Vitamin D and
Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol (*2011);38;5-7.

16. . Patel S, Farragher T, Berry J, Bunn D, Silman A, Symmons D.
Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum (*2007);56: 2143–9.

17. . Marwaha RK, Sripathy G. vitamin D and bone mineral density
of healthy school children in northern India. *Indian J Med Res* (2008);127:239-244.

18. . Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsin encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA (*1996);93:7861–4