مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (3) 2017
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

دراسة تركيز هرمون اللبتين وعدد من المتغيرات المناعية في عدد من المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي في مدينة كركوك

مروة عبد السلام قادر ، وداد محمود لهمود العبيدي
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صمم هذا البحث لدراسة تاثير مرض التهاب المفاصل الرثوي على هرمون اللبتين (Leptin hormone) وبعض المتغيرات المناعية (الانترلوكينات) , حيث شملت الدراسة 65 عينة دم تعود الى 40 فردا مصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي تمت مقارنتهم مع 25 أفرادا أصحاء لا يعانون اي مشاكل مرضية باعتبارهم مجموعة السيطرة

تم تقدير الحركيات الخلوية المفرزة من قبل الخلايا المناعية الانترلوكينات (IL_1α و IL_6) بطريقة تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) (Enzyme LinkedImmuno-sorbent Assay) واظهرت نتائج الدراسة الحالية هناك ارتفاع معنوي عند مستوى معنوية ($p<0.05$) في تركيز الانترلوكينات المناعية الانترلوكين−1 الفا (IL-1α) والانترلوكين-6 (IL-6) في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي مقارنة بمجموعة السيطرة , وبينت النتائج ايضا ارتفاعا معنويا عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في تركيز هرمون اللبتين (Leptin) في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي مقارنة بمجموعة السيطرة.

الكلمات الدالة: التهاب المفاصل الرثوي , هرمون اللبتين , انترلوكين −1 α , انترلوكين − 6.

المقدمة

التهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis) مرض مناعي ذاتي (Autoimmune disease) عالمي الانتشار يشكل 1% من سكان العالم [1]. ويحدث هذا المرض نتيجة لاستجابة مناعية ذاتية جهازية تحفزها مستضدات غير معروفة لحد الان على وجه الدقة ينتج عن ذلك توليد اضداد ذاتية (Autoantibodies) ناتجة من تفاعل جهاز المناعة المتأصلة (Innate immune system) (الخلايا المقدمة للمستضدات) مع جهاز المناعة المتخصصة الخلايا التائية والخلايا البائية متبوعا بارتشاح مفصلي لخلايا الدم البيض وانقسام الخلايا الزلالية مؤديا الى تطور حالة التهابية مزمنة تتسبب بتحطيم المفصل والعظم المجاور له [2]

وتعد الحركيات الخلوية (cytokines) المنتجة موضعيا اساسية لتبدئ العملية الالتهابية وتحطيم الاسطح التمفصلية للمفصل واهمها الحركيات الخلوية IL-1β , IL-6 , IL-12 , IL-15 , IL- 18 , TNF-α والتي تقوم بتنشيط كلا من القتل الخلوي المبرمج (Apoptosis) للخلايا الغضروفية وبتحطيم القاعدة خارج خلوية للغضروف , وحدوث هذا المرض مرتبط بشكل كبير باستعداد وراثي متمثل بالمواقع الجينية DR-4 و DRB1 وعوامل قادحة له , قد تكون عوامل بيئية او عوامل هرمونية او عوامل العمر او التدخين [3,4] . ويتميز اعراض هذا المرض بالتهاب المفاصل المستمر وتورمها وتصلبها وهشاشة عظام موضعية والالم [5,6] ويصيب تشوه هذه المفاصل في الحالات المتقدمة بسبب تحطيمها وكذلك احيانا اعراض جهازية مثل التهاب البنكرياس , امراض الكلية , امراض الرئة , التهاب الاوعية الدموية وغيرها , ويعتبر تصلب الشرايين المتسارع (Accelerated Atheroseclarosis) السبب الرئيسي للوفيات بين مرضى التهاب المفاصل الرثوي كما تزداد الاصابة بورم الغدة اللمفاوية (Lymphoma) بمقدار الضعف بسبب شدة العملية الالتهابية [7].

واكثر المفاصل تاثرا بهذا المرض مفاصل العظم وبين سلاميات الاصابع وكذلك مفاصل الركبة والمرفق والكاحل , ويصيب هذا المرض الاناث بنسبة اكبر من الذكور (1:3) وقد تلعب العوامل الهورمونية دورا في ذلك [8,9] .

يفرز هرمون اللبتين بالدرجة الاساس من الخلايا الدهنية وهو هرمون ببتيدي يعود لعائلة الحركيات الخلوية النوع الاول [10] , ولقد لوحظ ما لهذا الهرمون من دور مهم في تنظيم الوظيفة المناعية للجسم , ويعمل هرمون اللبتين كحركي خلوي ممهد للالتهاب (Proinflammatory) بالاستجابات المناعية لحالات مرضية عديدة منها التهاب المفاصل الرثوي , ويعد هذا الهرمون جزء من شبكة حركيات خلوية تنظم الاستجابة المناعية الالتهابية والاليات الدفاعية للجسم [11,12] , و يرتفع هرمون اللبتين وبشكل معنوي لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي كما اكدته العديد من الدراسات سواءا بالمصل او بالسائل الزلالي لديهم [13 ,14 ,15 ,16 ,17, 18] , حيث يعمل هذا الهرمون دورا ممهدا للالتهاب خلال التهاب المفصل وبشكل تآزري مع الحركيات الخلوية الاخرى مثل INF-γ و IL-1 قادحا تحرير انزيم Nitric Oxide Synthase النوع الثاني (NOS2) من الخلايا الغضروفية [19 ,20 , 21 , 22 ,23].

ان هرمون اللبتين يزيد من خطورة تحطيم المفصل المتواصل (24) , ومن المحتمل ان يزيد انتاج الحركي الخلوي IL-6 في حالة التهاب المفاصل الرثوي عن طريق تحفيز JAK2/STAT3 كما انه مرتبط بشكل معنوي مع مستويات البروتين المتفاعلة كدوره الفعال كحركي خلوي ممهد لزيادة الالتهاب في المرض [25].

اضافة لدورهرمون اللبتين التآزري كحركي خلوي ممهد للالتهاب مع INF-ɣ وانزيم Nitric Oxide Synthase النوع الثاني فانه يلعب دورا مزدوجا في الاستجابة المناعية فهو لا يقوم بتثبيط فعالية الخلايا المولدة للعظم Osteoblasts عن طريق الجهاز العصبي المركزي فقط ولكنه يرتبط وبشكل مباشر عبر مستلماته على سطح الخلايا المولدة للعظم , كما انه يؤثر وبشكل مباشر على توليد الغضروف [26 , 27]

المواد وطرائق العمل

1. المرضى Patient

تم اجراء الدراسة للفترة مابين كانون الثاني 2015 ولغاية مايس 2015 حيث شملت الدراسة عينات دم تعود الى 40فردا رجلا يشكون من اعراض مرض التهاب المفاصل الرثوي تراوحت اعمارهم من 45 – 65 سنة في مستشفى ازادي في كركوك و 25 افرادا اصحاء لا يعانون اي مشاكل مرضية باعتبارهم مجموعة السيطرة [28].

2. جمع عينات الدم Collection of Blood Sample

حضر مصل الدم من الدم الوريدي في المرفق وذلك بسحب 5 مل من الدم بواسطة محقنة طبية نظيفة ومعقمة ووضعت في انابيب بلاستيكية نظيفة وجافة وخالية من المواد المانعة للتخثر وتركت لتتخثر في درجة حرارة الغرفة ووضعت بعدها في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق لغرض الحصول على مصل الدم والذي يجب ان يكون خالي من اي تحلل لكريات الدم الحمر.

3 . تقدير تركيز هرمون اللبتين والانترلوكينات المناعية Determination of Leptin hormone and Interleukines

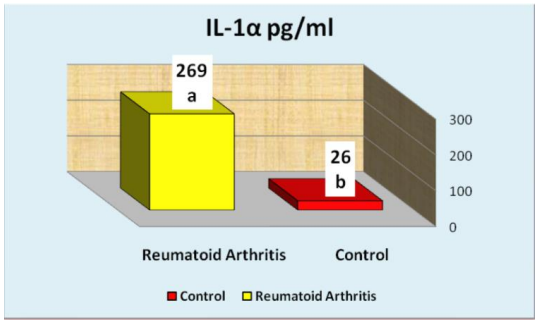
تم تقدير مستوى هرمون اللبتين و مستوى الحركيات الخلوية المفرزة من قبل الخلايا المناعية (Interleukin) IL_1α و IL_6 عن طريق تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA)(Enzyme LinkedImmuno-sorbent Assay) [29] .

التحليل الاحصائي :Statistical Analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي بالاعتماد على اختبار T (T – Test) لتحليل التباين وتم استخراج قيم المعنوية عند المستويات $p<0.05$ بعد حساب أقل فرق معنوي بين المعاملات، وحساب مقدار الخطأ القياسي (S.E) Standard Error. باستعمال نظام Ver. 10 SPSS، كذلك تم استخراج معامل الارتباط Correlation on Coefficient (r). [30] .

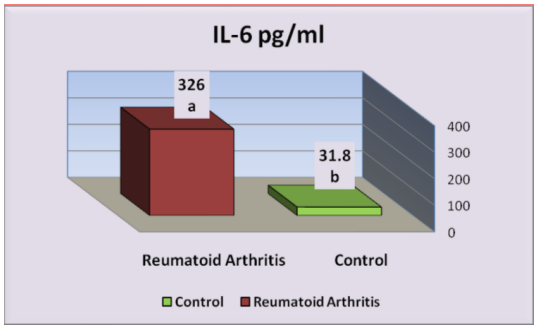
النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية في الشكل (1) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز الانترلوكين –1 الفا (IL-1α) في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي (269 pg/ml ± 34) مقارنة بمجموعة السيطرة (26.0 pg/ml ± 6.3) وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه الباحثان Jabbar R. و Shahlaa M.Saleh) (2009 , Zangor).



الشكل (1) يوضح تاثير التهاب المفاصل الرثوي في تركيز الانترلوكين– 1 الفا (IL-1α)

ان الانترلوكين – 1 الفا (IL-1 α) مسؤول عن الجوانب التحطيمية للالتهاب المفاصل الرثوي [31,32] , حيث يقوم الانترلوكين – 1 الفا (IL-1α) والانترلوكين–6 (IL-6) بزيادة التعبير (Over expression) لجزيئات الالتصاق الخلوية (Cell adhesion molecules) على الخلايا البطانية (endothelial cells) والتي هي مهمة لعملية جذب الخلايا الالتهابية الى موقع الالتهاب كما انه يحفز انواع عديدة من الخلايا الموجودة بالمفصل الملتهب مثل البلاعم الكبيرة (Macrophages) والخلايا الزلالية الشبيهة بالارومات الليفية (Fibroblast like–synoviocytes) والخلايا الغضروفية (Chondrocytes) والخلايا الناقضة للعظم (osteoclase) يحفزها على تحرير عوامل وسطية ممهدة للالتهاب (Proinflammatory Mediators) وتحرير الانزيمات المحطمة [34 , 33].

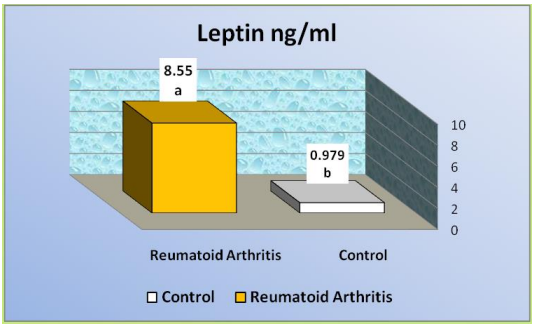


الشكل (2) يوضح تاثير التهاب المفاصل الرثوي في تركيز الانترلوكين– 6 (IL-6)

كما بينت الدراسة في الشكل (2) حدوث ارتفاعا معنويا عند مستوى معنوية ($P< 0.05$) في تركيز الانترلوكين – 6 (IL-6) في مجموعة المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي حيث بلغت (326 ± 39 pg/ml) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغت (31.8 ± 8.5 pg/ml) وتتفق نتائج هذا البحث مع ما اكدته الدراستان (Peter K. K. Wong وجماعته 2008) و(Falah S. Manhal , 2009). ان الانتاج الكبير للانترلوكين –1 الفا (IL-1α) والانترلوكين–6 (IL- 6) من قبل خلايا البلاعم الكبيرة داخل المفصل الملتهب يلعب دورا مهما بتطور المرض وتفاقمه حيث تزداد شدة الالتهاب وعملية تحطيم المفصل وتثبيط عمليات ترميم النسيج فيه [35]. كما ان الانترلوكين–6 (IL-6) له دور في انتاج اضداد ذاتية (Auto antibodies) عن طريق التاثير على الارومات البلازمية

(Plasmoblast) [36] ويرتفع تركيز IL-1α و IL-6 بشكل عالي وبدرجة معنوية لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي سواءا بالسائل الزلالي او في مصل الدم مقارنة بالاشخاص الاصحاء لما لدورهما المهم كحركيات خلوية مؤثرة لبدء هذا المرض وتطور شدته [37].

وهذا ما اثبتته دراستنا الحالية من ارتفاع معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.05$) بتراكيز IL-1α و IL-6 بمصل دم مرضى التهاب المفاصل الرثوي مقارنه بمجموعة السيطرة مؤشرا على دورهما في تطور المرض وتأثيراته.



الشكل (3) يوضح تاثير التهاب المفاصل الرثوي في تركيز هرمون اللبتين (Leptin ng/ml)

كما يوضح الشكل (3) ارتفاع معنوي عند مستوى معنوية ($P< 0.05$) في تركيزهرمون اللبتين (Leptin) في مجموعة المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي وبلغت (8.55ng/ml±0.59) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغت (0.979 ng/ml ± 0.20) واتفقت مع ما جاء به الباحث (Tian G M , 2014).

نلاحظ زيادة تركيز هرمون اللبتين (Leptin) وارتفاعه معنويا لدى مجموعة الاشخاص المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي سواءا بالسائل الزلالي او بمصل الدم مقارنه بالاشخاص الاصحاء وذلك لأن هرمون اللبتين يعمل هنا كحركي خلوي ممهد للالتهاب (Proinflammatory Cytokines) يزيد من تحطيم المفصل المصاب كما انه يرفع من مستوى تركيز IL-6 ويفاقم من تداعيات المرض [37] . وهذا ما توصل اليه هذا البحث من نتائج حيث ارتفع تركيز الهرمون وبدرجة معنوية ($P<0.05$) في مصل الاشخاص المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي وبشكل طردي مع شدة المرض, بالمقارنة مع الاشخاص السليمين باعتبارهم مجموعة سيطرة.

المصادر

1. **Gary S.** Firestein.Evolving concepts of rheumatoid arthritis. Nature Puplishing Group. 2003; vol 423.
2. **Gibofsky Allan**,. Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Am J Manag Care. 2012;18:S295-S302.
3. **McInnes Iain B., and Georg Schett.** The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. N Engl J Med 2011;365:2205-19.
4. **Wassreman Amy M.** Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. American Academy of Family Physicians.2011.
5. **Lili Magyari, Dalma Varszegi, Erzsebet Kovesdi, Patricia Sarlos, Bernadett Farago, Andras Javorhazy,Katalin Sumegi, Zsolt Banfai, Bela Melegh** . Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications. WJO 5th Anniversary Special Issues (10): Rheumatoid arthritis, 2014 September 18; 5(4): 516-6 ISSN 2218-5836.
6. **Rneste h. S Choy and Gabrial S. Panayi**. Cytokine Pathway and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis. N Engl J Med, 2001, Vol. 344, No. 12.
7. **Muraoka S, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S.** Leptinstimulates interleukin-6 production via janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in rheumatoid synovial fibroblasts. Clin Exp Rheumatol 2013; 31:589–95.
8. **Rhee DK, Marcelino J, Baker M.** The secreted glycoprotein lubricin protects cartilage surfaces and inhibits synovial cell overgrowth. J Clin Invest 2005; 115:622-31.
9. **Bokarewa M, Bokarew D, Hultgren O, Tarkowski A.** Leptin consumption in the inflamed joints of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2003; 62:952–6.
10. **Otero M, Lago R, Lago F.** Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. FEBS Lett 2005; 579:295– 301.
11. **MacDougald OA, Hwang CS, Fan H, Lane MD**. Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92:9034–7.
12. **Matarese G, Carrieri PB,Montella S, De Rosa V, La Cava A.** Leptin as a metabolic link to multiple sclerosis. Nat Rev Neurol 2010; 6:455–61.
13. **Rey LK, Wieczorek S, Akkad DA, Linker RA, Chan A, Hoffjan S**.Polymorphisms in genes encoding leptin, ghrelin and their receptors in German multiple sclerosis patients. Mol Cell Probes 2011; 25:255–9.
14. **Roth B, Manjer J, Ohlsson B.** Microscopic colitis is associated with several concomitant diseases. Drug Target Insights 2013; 7:19–25.
15. **Agata Burska, Marjorie Boissinot, and Frederique Ponchel**. Cytokines as Biomarkers in Rheumatoid Arthritis. Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation ,Volume 2014, Article ID 545493, 24 pages.
16. **Sugioka Y, Tada M, Okano T, Nakamura H, Koike T**. Acquired leptin resistance by high-fat feeding reduces inflammation from collagen antibody-induced arthritis in mice. Clin Exp Rheumato 2012; 30:707–13.

17. **Yoshino T, Kusunoki N, Tanaka N** *et al*. Elevated serum levels ofresistin, leptin, and adiponectin are associated with C-reactive protein and also other clinical conditions in rheumatoid arthritis. Intern Med 2011; 50:269–75.
18. **Xibille - Friedmann D, Bustos- Bahena C, Hernandez - Gongora S, Burgos - Vargas R, Montiel-Hernandez JL**. Two-year follow-up of plasma leptin and other cytokines in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2010; 69:930–1.
19. **Rho YH, Solus J, Sokka T.** Adipocytokines are associated withradiographic joint damage in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2009; 60:1906–14.
20. **Otero M, Lago R, Gomez R.** Changes in plasma levels of fatderived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2006; 65:1198–201.
21. **Anders HJ, Rihl M, Heufelder A, Loch O, Schattenkirchner M.** Leptin serum levels are not correlated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. Metabolism 1999; 48:745–8.
22. **Mohammad-Shahi M, Haidari F, Rashidi B, Saei AA, Mahboob S,Rashidi MR.** Comparison of the effects of genistein and daidzein with dexamethasone and soy protein on rheumatoid arthritis in rats. BioImpacts 2011; 1:161–70.
23. **Otero M, Lago R, Lago F, Reino JJ, Gualillo O.** Signalling pathwayinvolved in nitric oxide synthase type II activation in chondrocytes: synergistic effect of leptin with interleukin-1. Arthritis Res Ther 2005; 7:R581–91.
24. **Otero M, Gomez Reino JJ, Gualillo O.** Synergistic induction of nitric oxide synthase type II: *in vitro* effect of leptin and interferon-gamma in human chondrocytes and ATDC5 chondrogenic cells. Arthritis Rheum 2003; 48:404–9.
25. **Targonska - Stepniak B, Majdan M, Dryglewska** M. Leptin serum levels in rheumatoid arthritis patients: relation to disease duration and activity. Rheumatol Int 2008; 28:585–91.
26. **Figenschau Y, Knutsen G, Shahazeydi S, Johansen O, Sveinbjornsson B.** Human articular chondrocytes express functional leptin receptors. Biochem Biophys Res Commun 2001; 287:190–7.
27. **Tian G M, Liang J.-N, Wang Z.-Y,and Zhou D.** Emerging role of leptin in rheumatoid arthritis. British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology, 2014; 177: 557–570.
28. **Adewale, Adebago.** ABC of Rheumatology. fourth edition , wlley – blackwell .2010; : 85-89.
29. **Jhon R .Crewther**. The ELISA Guid book. Humana Press Inc. 2001 ; 26-28.
30. **Gerald Van Belle, Lloyd D. Fisher, Patrick J. Heagerty, Thomas Lumley.** Biostatistics A Methodology for the helth sciences . second edition , welley interscience ; 2004 .
31. **Shahlaa M. Saleh and Jabbar R. Zangor.** Proinflammatory cytokines profile in patients with Rheumatoid Arthritis. J Fac Med Baghdad , 2009; vol.51 ,No . 1.
32. **Yuji Yoshida, Toshio, and Tanaka**. Interleukin 6 and RheumatoidArthritis. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, Article ID 698313, 12 pages.
33. **Ernest Choy**. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Rheumatology 2012;51:v3_v11.
34. **Clifton O. Bingham.** The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Pivotal Cytokines Involved in Bone Degradation and Inflammation. J Rheumatol 2002;29 Suppl 65:3-9.
35. **Falah S. Manhal.** Cytokine Profile in Patients with Rheumatoid Arthritis. Fac Med Baghdad . 2009; Vol. 51, No. 4.
36. **Peter K. K. Wong, Ian K. Campbell, Paul J. Egan, Matthias Ernst, and Ian P. Wicks** . The Role of the Interleukin-6 Family of Cytokines in Inflammatory Arthritis and Bone Turnover. Arthritis & Rheumatism , Vol. 48, No. 5, May 2003, pp 1177–1189.
37. **Misato Hashizume and Masahiko Mihara .** The Roles of Interleukin-6 in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Hindawi Publishing Corporation Arthritis. 2011, Article ID 765624, 8 pages.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (3) 2017

Study of Leptin hormone concentration and other Immunological Parameters in Some People with Rheumatoid Arthritis in Kirkuk city

Marwa A. Kader , Wedad Mahmood L. Alobaidi
Department of Biology, College of Science , Tikrit University, Tikrit , Iraq .

Abstract

This research was designed for study the effect of rheumatoid arthritis diseases on Leptin hormone and some immunological parameters (Interleukins), This study involve 58 blood sample from 48 individual with rheumatoid arthritis compared with 10 healthy individual having no any health problems considered them as control group .

The estimation of secretes cytokines by leukocytes The interleukins (IL-1 α and IL- 6) was done using Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) and the result of this study showed significant increase at significancy level (P<o.o5) in concentration of Immunological Interleukins (IL-1 α and IL- 6) in rheumatoid arthritis patients group in comparism with control group .

Also the results revealed significant increase significancy level (P<o.o5) of Leptin hormone concentration in rheumatoid arthritis patients group in comparism with control group .

Key word: Rheumatoid arthritis, Leptin , Interleukin −1 α , Interlukin - 6