

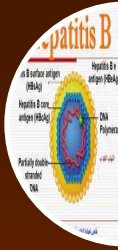


تقييم عملية موت الخلايا المبرمج لدى بعض المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع B



تأريخ المناقشة الخميس 20 / 6 / 2013

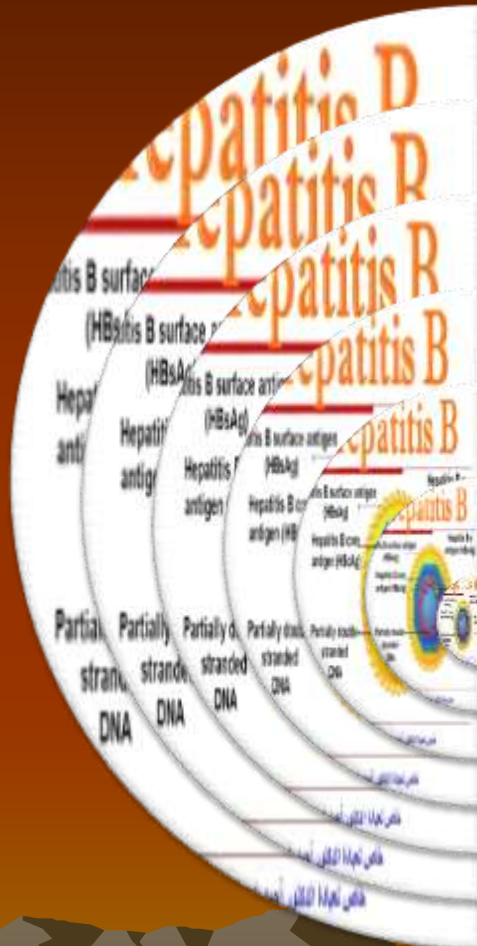
الساعة 9:00 صباحا



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَنْزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُنْ تَعْلَمُ
وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا .

صدق الله العظيم
(سورة النساء: 113)



Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

Hepatitis B e antigen (HBeAg)

المقدمة





المقدمة



- يتميز التهاب الكبد الفيروسي بقابليته الوبائية على إصابة العديد من أفراد المجتمع وهو احد المشاكل الصحية في جميع أنحاء العالم ولاسيما الدول النامية ، ويعد من المشاكل الصحية الخطيرة في العراق والدول المجاورة. ويقصد بمصطلح التهاب الكبد الفيروسي الأنواع الخمسة الرئيسة والمسماة حسب اكتشافها (A,B,C,D,E) فضلا عن النوعين الآخرين G وهو اقل أهمية و F المكتشف حديثاً والذي لا يعرف مدى تأثيره في الإنسان .



المقدمة



- هذه الأنواع المذكورة أعلاه تستهدف أساساً الكبد مسببة التهاب خلاياه وتدميرها بدرجات متفاوتة من الشدة والضرارة لتتراوح الإصابة من الإصابة بدون أعراض مرضية أو أعراض خفيفة إلى إصابة شديدة قد تؤدي إلى الوفاة , ويقدر عدد المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي النوع B بثلاث سكان العالم منهم 350 مليون مصاب بالحالة المزمنة للمرض ويتوفى بسبب هذا المرض ما بين 500000 - 700000 شخص سنوياً.



المقدمة



- أما الإصابات المزمنة بفيروس التهاب الكبدى النوع C فتقدر بـ 130 – 170 مليون إصابة حول العالم , ينتشر HBV خلال الالتماس مع سوائل الشخص المصاب ويعد الدم ومنتجاته المسبب الرئيسي لانتشار أمراض الكبد المزمنة وسرطان الكبد فضلا عن اللعاب والسائل المنوي و ينتقل أيضاً من الأم الى الطفل أو بالاتصال الجنسي.



المقدمة



إن الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) هو من المظاهر الشكلية والكيميائية الحيوية للموت المبرمج والذي يهدف الى إزالة الخلايا التي لا حاجة لها. كما يؤدي دوراً مركزياً في تحديد العمر الوسطي للخلايا في العديد من الأنسجة الطبيعية فضلاً عن دوره في التطور الطبيعي للجنين ويعد حدثاً متزامناً في الأورام الخبيثة غير المعالجة . يتم تنظيم الموت الخلوي على المستوى الجزيئي للخلية وتسمى المورثات التي تؤدي دوراً في هذا الخصوص مورثات مولدة للورم البدئي proto-oncogen .



المقدمة



- إن مستقبلات الموت على أسطح الخلايا ترسل أشارات للبدء بعملية الموت الخلوي المبرمج مثل Fas (FasL or CD95L) وهي عبارة عن مواضع خاصة سائدة على سطح خلايا الكبد . تتم الفعالية من خلال اندماج Fas مع المستقبلات اللمفاوية Fas Ligand لتحفيز الموت المبرمج . يرتفع تركيز Fas معنوياً في المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي البائي والسييني (HBV,HCV) المزمن فضلاً عن تناقص في فعالية تنشيط الموت المبرمج ولهذا استعمل تركيز Fas و Fas Ligand في المصل بوصفه مؤشراً خلال فترة العلاج



المقدمة



بيتا 2- ميكروغلوبولين هو عبارة عن بروتين غشائي صغير الحجم يبلغ وزنه 11.800 دالتون وهو يصاحب السلسلة الثقيلة من الصف الأول من بروتينات معقد التوافق النسيجي Major Histocompatibility Complex وهو لذلك يوجد على الغشاء الخلوي لمعظم الخلايا ذات الأنوية . ولقد لوحظ ارتفاع مستوى بيتا 2- ميكروغلوبولين في مصل المرضى المصابين بالتهاب الكبد الحاد والمزمن والحاملين HBV وتشمع الكبد .



المقدمة



فضلا عن ارتفاعه في حالات السرطان وأمراض الكلى . أن مستوى بيتا -2 ميكروغلوبولين يزداد في المصل مع تطور المرض للمصابين بالتهاب الكبد.

أن هذه الدراسة تهدف الى :

- تقييم عملية موت الخلايا المبرمج Apoptosis للمرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نمط B من خلال قياس مستوى Fas , Fas Ligand بواسطة استخدام تقنية الاليزا.



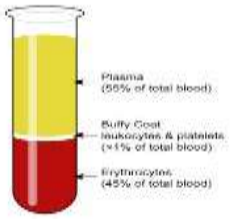
المقدمة



- قياس مستويات Beta 2-microglobulin في مصل المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع B ومدى علاقته في تطور الحالة المرضية للمرضى المصابين باستخدام تقنية الاليزا .
- التحري عن بعض الواسمات الفيروسية (core IgM ,core IgG) المتعلقة بالإصابة المزمنة والحادة .
- تقييم وظائف الكبد للمرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نمط B .

المواد وطرائق العمل





المواد وطرائق العمل



- **جمع النماذج :** تم جمع 103 عينة من مرضى مصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نمط B للمدة الممتدة من منتصف شهر آب ولغاية منتصف شهر كانون الأول 2012 وتضمنت الدراسة 66 ذكراً و37 أنثى وبأعمار متفاوتة ضمن مدى عمري يتراوح بين (20-60) سنة من عدة مستشفيات تضمنت (المركز الوطني لنقل الدم ، مستشفى الشهيد غازي الحريري و مستشفى بغداد التعليمي) في محافظة بغداد . تم سحب 10 مليلتر من الدم الوريدي من كل مريض بوساطة محاقن نبيذة ثم وضع الدم المسحوب في أنابيب بلاستيكية وذات غطاء محكم ومن ثم ترك في درجة حرارة الغرفة (20-25 م°).



المواد وطرائق العمل



- وترك حتى يتخثر لمدة (10-15) دقيقة . وضعت الأنابيب البلاستيكية في جهاز الطرد المركزي الدوار لمدة 5 دقائق وبسرعة 10000 دورة بالدقيقة بعدها اخذ المصل ونقل إلى أنابيب اختبار جديدة باستخدام ماصة أوتوماتيكية وحفظت بالمجمدة (-20) م° لحين إجراء الاختبارات عليها . أعدت استمارة خاصة لهذه الدراسة تضمنت جمع معلومات بشكل مباشر من المشمولين بالدراسة ، هذه المعلومات تضمنت العمر ، الجنس ، السكن والمحافظة .



Spectrophotometer

الاختبارات الكيموحيوية



- تضمنت الفحوص الكيموحيوية فحص وظائف الكبد التي شملت على :
 - 1 - تقدير مستوى الانزيم الناقل لمجموعة أمين الالانين .
 - 2 - تقدير مستوى الانزيم الناقل لمجموعة امين الاسبارتات .
 - 3 - تقدير مستوى الفوسفاتيز القاعدي .
 - 4 - تقدير مستوى البيروبلين الكلي في المصل .



تشخيص الفيروس

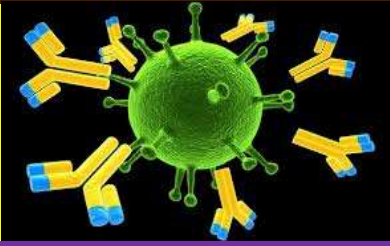
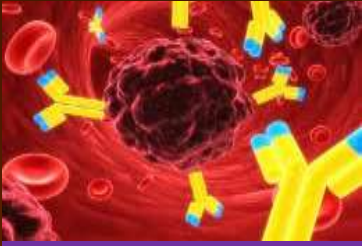


التحري عن المستضدات السطحية HBsAg

يعتمد مبدأ الاختبار على ارتباط المستضدات المتوافرة في العينة مع الأضداد المقترنة بالأنزيم لتكوين معقد مناعي , وعند إضافة المادة الأساس الى الحفر يتكون لون ازرق بعدها يتغير الى اللون الأصفر بعد إضافة محلول التوقف حامض الكبريتيك .

الاختبارات المناعية : تضمنت الفحوصات المناعية الكشف عن الاختبارات الآتية باستخدام طريقة الفحص بواسطة
Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) مبدأ
الشطيرة sandwich ELISA.

الأختبارات المناعية



التحري عن الضدات النوعية anti-HBc IgM
التحري عن الضدات النوعية anti-HBc IgG

التحري عن الموت الخلوي المبرمج : وتضمن عدة فحوصات

- 1-الكشف عن sFas : تم قياس مستوى sFas كميًا في مصل المرضى المصابين بـ HBV بواسطة استخدام تقنية ELISA من خلال استخدام عدة الاليزا حسب الشركة المصنعة .
- 2-الكشف عن مستقبلات الموت الخلوي sFas Ligand
- 3-التحري عن بيتا 2-ميكروغلوبولين .

التحليل الإحصائي

- حلت البيانات باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS Statistical package of social sciences-Version 18 لأجراء التحليلات الإحصائية الآتية :
 - 1- حساب الاختلاف في المعدلات (المتوسط الحسابي , والانحراف المعياري , والخطأ المعياري) .
 - 2 - تحليل البيانات باستخدام اختبار F, T-test لمعرفة معنوية المعاملات .
 - 3 - إيجاد قيمة P value الأقل من 0.05% عدت ذات فارق إحصائي لكل الاختبارات الإحصائية المستخدمة في الدراسة .

النتائج والمناقشة



جدول 1 : توزيع مجاميع الدراسة بالنسبة للعمر

Age groups	Patients		Control	
	No.	%	No.	%
(<20-29)	22	21.4	6	15
(30-39)	36	35.0	14	35
(40-49)	24	23.3	9	22.5
(50-60+)	21	20.4	11	27.5
Total	103	100.0	40	100.0

جدول 2 : توزيع مجموعات الدراسة بالنسبة للجنس

Sex	Patients		Control	
	No.	%	No.	%
Female	37	35.9	14	35
Male	66	64.1	26	65
Total	103	100.0	40	100

جول 3 : علاقة أنزيمات الكبد مع مجموعة الدراسة

Study group	Factors	N	Mean	Std. $\pm$ Deviation	Std. Error of Mean
Patients	GOT	103	10.0291	3.39104 $\pm$	0.33413
	GPT	103	15.8097	5.25658 $\pm$	0.51795
	ALP	103	8.0680	3.19930 $\pm$	0.31524
	TSB	103	1.6738	0.95599 $\pm$	0.09420
Control	GOT	40	8.6250	1.87682 $\pm$	0.29675
	GPT	40	8.2750	2.08766 $\pm$	0.33009
	ALP	40	6.0325	1.90470 $\pm$	0.30116
	TSB	40	0.7775	0.24230 $\pm$	0.03831

جول 4 : المقارنة بين وظائف أنزيمات الكبد بالنسبة لمجموعة الدراسة

Factors	T	P-Value	C.s
GOT \Patients - GOT\co	1.344	P>0.05	NS
GPT \Patients - GPT\co	9.130	P<0.01	HS
TSB \Patients - TSB\co	8.512	P<0.01	HS
ALP \Patients - ALP\co	4.312	P<0.01	HS

جدول 5 : توزيع Core-IgG بالنسبة لمجموعة المرضى

Core-IgG	Frequency	Percent
(-ve)	49	47.6
(+ve)	54	52.4
Total	103	100.0

جدول 6 : توزيع Core-IgM بالنسبة لمجموعة المرضى

Core-IgM	Frequency	Percent
(-ve)	74	71.8
(+ve)	29	28.2
Total	103	100.0

جدول 7 : مقارنة بين مجموعة المرضى والسيطرة بالنسبة لعوامل موت الخلايا المبرمج (Fas and Fas Ligand)

Study group	Factors	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error of Mean
Patients	Fas	103	251.512	72.243±	7.118
	Fas Ligand	103	65.753	24.679±	2.4317
Control	Fas	40	136.01	37.641±	5.951
	Fas Ligand	40	31.210	7.783±	1.230

**جدول 8 : الفروق المعنوية لعوامل موت الخلايا المبرمج
(Fas and Fas Ligand) بالنسبة لمجاميع الدراسة**

Factors	T	P-Value	C.s
Fas \Patients - Fas \Co	10.088	P<0.01	HS
Fas ligand\ Patients – Fas ligand\ Co	9.970	P<0.01	HS

جدول 9 : مقارنة بين مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة بالنسبة بيتا - 2 ميكرو غلوبولين

Study group	Factors	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error of Mean
Patients	B2 microglobulin	103	2.1776	0.5954±	0.5867
Control	B2 microglobulin	40	1.17503	0.25930±	0.41000

جدول 10 : الفروق المغنوية بيتا - 2 ميكرو غلوبولين لمجاميع الدراسة

Factors	T	P-Value	C.s
B2 microglobulin \co -B2 patients	7.009	$P < 0.01$	HS

جول 11 : الفروق المعنوية لعوامل موت الخلايا المبرمج وبيتا-2 ميكرو غلوبولين مع الجنس

Factors	F	P-Value	C.s
Fas pg/ml\Patients * Sex/Patients	0.751	0.388	NS
Fas ligand pg/ml Patients * Sex/Patients	17.840	0.000	HS
B2 microglobulin µg/ml\Patients * Sex/Patients	0.007	0.934	NS

جدول 12: علاقة Fas و Fas ligand و B2 microglobulin مع وظائف الكبد

Factors	T	P-Value	C.s
Fas \Patients - GOT \Patients	33.489	P<0.001	HS
Fas \Patients - GPT \Patients	32.742	P<0.001	HS
Fas \Patients - TSB \Patients	35.073	P<0.001	HS
Fas \Patients - ALP \Patients	33.908	P<0.001	HS
Fas ligand\ Patients - GOT \Patients	22.285	P<0.001	HS
Fas ligand \Patients - GPT \Patients	19.954	P<0.001	HS
Fas ligand \Patients - TSB \Patients	26.428	P<0.001	HS
Fas ligand \Patients - ALP \Patients	22.946	P<0.001	HS
B2 microglobulin \Patients - GOT \Patients	-22.914-	P<0.001	HS
B2 microglobulin \Patients - GPT \Patients	-26.306-	P<0.001	HS
B2 microglobulin\Patients - TSB \Patients	4.528	P<0.001	HS
B2 microglobulin \Patients - ALP \Patients	-18.014-	P<0.001	HS

جدول 13 : العلاقة بين العوامل المناعية

	T	P-Value	C.s
Fas \Patients - Fas ligand \Patients	24.976	P<0.001	HS
Fas \Patients - B2 microglobulin \Patients	35.088	P<0.001	HS
Fas ligand\ Patients - B2 microglobulin \Patients	26.139	P<0.001	HS

جدول 14 : علاقة Core-IgG مع العمر

Core-IgG\L\Patients	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error of Mean
(-ve)	49	38.1837	12.20429	1.74347
(+ve)	54	40.3889	11.39085	1.55010
Total	103	39.3398	11.77864	1.16058

جدول 15 : العلاقة المعنوية بين Core-IgG مع العمر

	Mean Square	F	C.s
Age\Patients * Core-IgG \Patients	124.927 138.873	0.900	0.345

جدول 16 : علاقة Core-IgM مع العمر

Core-IgM\L\Patients	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error of Mean
(-ve)	74	39.432	12.682	1.474
(+ve)	29	39.103	9.275	1.722
Total	103	39.340	11.779	1.161

جدول 17 : العلاقة المعنوية بين Core-IgG مع العمر

	Mean Square	F	C.s
Age\Patients * Core-IgM\Patients	2.255	0.016	0.899
	140.088		

الاستنتاجات والتوصيات



الأستنتاجات

- من خلال الدراسة الحالية يمكن وضع الاستنتاجات الآتية :

- 1 - ارتفاع معنوي لعوامل موت الخلايا المبرمج Fas and Fas Ligand في مصل المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع ب .
- 2 - ارتفاع معنوي للـ β_2 -microglobulin في المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع ب .
- 3- نسبة إصابة الذكور أعلى من نسبة إصابة الإناث بمرض التهاب الكبد HBV .

الأستنتاجات

- 4 - زيادة في مستوى أنزيمات الكبد (ALP, GPT, GOT, TSB) في المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع ب .
- 5 - عدم توافر علاقة معنوية بين لب الفيروسي IgG و HBV Core IgM وعمر المرضى المصابين HBV.
- 6 - توافر علاقة معنوية بين Fas ligand وجنس المرضى المصابين بالتهاب الكبد B إذ يرتفع في الإناث أعلى من الذكور .
- 7 - توافر علاقة معنوية بين Fas و Fas ligand وكذلك توافر علاقة معنوية بين عوامل موت الخلايا (Fas و Fas ligand) مع عامل B2 microglobulin في المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع ب .

التوصيات

- 1 - استخدام عوامل موت الخلايا المبرمج Fas و Fas ligand في تقييم وضع الكبد المصاب بفيروسات التهاب الكبد وبالتحديد نوع (B,C) .
- 2 - استخدام beta2- microglobulin بوصفه مؤشراً لتقييم الحالة الصحية للمريض المصاب بالتهاب الكبد الفيروسي البائي وادخاله ضمن الفحوصات الروتينية في المختبرات .
- 3 - تطبيق استخدام عوامل موت الخلايا المبرمج Fas و Fas ligand و beta2- microglobulin بالنسبة للمرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي (C) .

الخلاصة

شكرًا لأصدقائكم

