جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم المستويات المصلية لبعض الحركيات الخلوية وتعدد الشكل الوراثي لها في مرضى اللشمانيا الجلدية

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء

من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من الطالبة

إيمان سلمان خميس محمود

بكلوريوس علوم حياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى/2012-2013

ماجستير علوم حياة/ حيوان/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى 2016م

أشراف

أ.د. نغم ياسين البياتي **أ.م.د. علي حافظ عباس**

1444 هـ 2022م

1: المقدمة Introduction

1-1: داء اللشمانيا الجلدية Cutaneous Leishmaniasis

يعد داء اللشمانيا الجلدية Leishmaniasis مرض طفيلي يتسبب عن إبتدائيات طفيلية وهو سائد في مناطق كثيرة في العالم (Benallal وآخرون، 2022). اذ يسود المرض في أربع قارات وينتشر اكثر من 88 بلد ويعد واحدا من أكبر ستة امراض طفيلية التي تصيب الانسان (Rossi و Fasel ،2018 ؛ Serafim وآخرون ،2020) ويعد داء اللشمانيا من الامراض المنتقلة بواسطة المضيف الناقل Vector-Borne Diseases ؛ إذ ينتقل عن طريق لسعة انثى ذبابة الرمل *Sand fly* المصابة بطفيليات اللشمانيا اذ يصاب نحو 30 نوعاً من حشرة ذبابة الرمل عندما تأخذ وجبتها من الدم من المضاف المصابة بالطفيليات كالإنسان او المضائف الخازنة مثل الحيوانات البرية كالقوارض والحيوانات الاليفة مثل الكلاب والقطط، أما المسبب لهذا فهو طفيلي وحيد الخلية Unicellular يعود إلى جنس اللشمانيا *Leishmania* . وهناك أنماط عدة من هذا المرض لكل منها مظاهر سريرية مختلفة: النمط الجلدي Cutaneous والنمط الجلدي المخاطي Mucocutaneous والنمط الاحشائي Visceral (Ghasemian وآخرون، 2019 ؛ Daga وآخرون ، 2021؛ Zhang وآخرون،2022).

إن تحديد مواصفات شكل اللشمانيا الجلدية يعد أمر ضروري جداً في استراتيجيات السيطرة والوقاية والعلاج ، إذ يظهر المرض بشكل قرح جلدية في مكان لسعة ذبابة الرمل في الأماكن المكشوفة من الجسم كالساق والوجه والذراعين وفي قليل من الأحيان يظهر في الأماكن غير المكشوفة (كالفخذ والظهر) (Abdulla وآخرون، 2018)، إذ يغزو الطفيلي على الانسجة الجلدية في مكان اللسعة ويعتمد مدى الضرر و الإمراضية لهذا الطفيلي على السلالة للطفيلي وأيضا تداخل العوامل المناعية في أحداث الضرر او تقليله (Mubarak و Alnomani ،2020). إذا أن هذه الآفات تتكون نتيجة التفاعلات التهابية الناتجة عن ارتشاح الخلايا بشكل كثيف الى موضع الإصابة بما في ذلك وجود الخلايا اللمفاوية T و B والخلايا

البلعمية آحادية النواة وخلايا البلازما . ومن المعروف ان كلا النوعين من الخلايا التائية CD^{+4} و CD^{+8} لها أدوار مهمة في السيطرة على الإصابة وقد وجد عن طريق الإصابة بطفيلي *L. braziliensis* إن هذه الخلايا تنشط كل من TNF و IFN ويتم انتاجهما بمستويات عالية بواسطة الخلايا المحيطية أحادية النواة في الدم . وفي موقع الافة في المرضى المصابين بـ CL ويمكن أن تؤدي الاستجابة أيضا الى تلف الانسجة وتطور القرحة (Muxel وآخرون، 2018؛ Taraghian وآخرون ،2021).

يعد عامل نخر الورم الفا TNF-α عبارة عن سيتوكين التهابي يشارك في تنظيم المناعة ومقاومة الكائنات الحية الدقيقة وينتج بمستويات عالية عند الإصابة باللشمانيا الجلدية (Esboei وآخرون،2018)، كما أن TNF-α له مدى واسع من الفعاليات البيولوجية بما في ذلك تحريض انتاج أوكسيد النتريك (NO) والتكاثر والتمايز للخلايا المناعية والموت المبرمج والسمية الخلوية والألتهاب والتعديل المناعي وإنتاج الكيموكينات وإنتاج البروتينات المعدنية (MMPs). إذ يعد TNF-α محفزا قويا لـ MMP-9 (Compas وآخرون ، 2014 ؛ pandey وآخرون، 2015).

يعد الـ MMP-9 من البروتينات الحاوية على الزنك والتي تساهم في الالتهابات المزمنة، إذ يساهم في تحلل البروتينات خارج الخلية ويتم انتاجه بواسطة العديد من أنواع الخلايا (Asgari وآخرون،2021)، بما في ذلك الخلايا الليمفاوية والخلايا المحببة، ولكن بشكل خاص عن طريق الخلايا البلعمية. و يتم إفراز MMPs على أنها انزيمات والتي يتم تنشيطها عن طريق مسار التحلل البروتيني ويتم تنظيم افرازها بواسطة مثبطات الأنسجة الخاصة بالبروتينات المعدنية (TIMP)، التي يتم إنتاجها بشكل أساسي من قبل مجموعة متنوعة من الخلايا والمعروف أن لها دور محتمل في الأمراض الطفيلية مثل الملاريا (Brunner وآخرون، 2010؛ Mackawy وآخرون،2017)، ولقد وجد أن الإصابة بطفيلي اللشمانيا يؤدي الى تحفيز انتاج MMPs وذلك عن طريق الخلايا البلعمية المصابة مؤدية إلى تحطيم المادة الأساس للخلية وانتقال الطفيلي لخلايا جديدة . لقد درس دور MMPS في أمراضية اللشمانيا الحشوية في الكلاب ودوره في تفاقم

الإصابة، ان الإنتاج غير المتوازن من MMP-9 يتم تنظميه بوساطة TIMPs، الذي يعد TIMPs عامل مثبط طبيعي لإنتاج MMPs لذا فأن التوازن بين هذين العاملين يعد عاملاً حاسماً في تفاقم او شفاء الإصابة (Aoki وآخرون،2007 ؛ Hassanzadeh-Makoui وآخرون، 2020).

وبسبب الإنتشار الواسع لطفيلي اللشمانيا الجلدية في الآونة الاخيرة في العراق بصورة عامة وفي محافظة ديالى بصورة خاصة لذلك جاءت هذه الدراسة في محاولة لفهم أسباب إنتشار وارتفاع نسب الإصابة بالمرض وتسليط الضوء على بعض الجوانب المتعلقة به كالجوانب الوبائية وتداخل بعض العوامل في تفاقم الإصابة عند بعض المرضى وتأخر الشفاء.

1-2: أهداف الدراسة الحالية Aim of the present study

هدفت الدراسة الحالية الى :-

1. التعرف على بعض الجوانب الوبائية للمرض (العوامل الديموغرافية والعوامل المظهرية) كالجنس والمهنة والعمر والسكن وعدد الآفات ونوع القرحة جاف أم رطب في مركز محافظة ديالى.
2. تقييم اهم التغيرات المناعية المصاحبة للإصابة عن طريق قياس تركيز البروتينات وهي TNF-α ، MMP-9 وTIMP-1 في المصل في مجموعة المرضى المصابين (قبل واثناء العلاج) باللشمانيا الجلدية ومجموعة السيطرة ودورهما في مدى تفاقم الإصابة باستخدام تقنية ELISA.
3. دراسة التغاير الوراثي لمنطقة محددة للجين المشفر لبروتينات الـ TNF-α، MMP-9 و TIMP-1 في مجموعة المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية ومجموعة السيطرة باستخدام تقنية بؤادى الاليلات المحددة Allele specific-primers.
4. ربط التغاير الوراثي لجينات هذه البروتينات الثلاثة مع مستوياتهم في امصال مجموعة المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية ومجموعة السيطرة

الخلاصة

يعد داء اللشمانيا الجلدية أحد مشاكل الصحة العامة في جميع أنحاء العالم. يزداد خطر الإصابة عند التعرض للدغة ذبابة الرمل الماصة للدم التي تسهل نقل الطفيلي بين مضائف الثدييات، بما فيها الإنسان في حالات قليلة، التي تحمل الشكل أمامي السوط أثناء العدوى. في هذه الدراسة، شارك 75 مريضًا بداء اللشمانيا الجلدية من بينهم 39 ذكرًا و36 أنثى، وكان متوسط أعمارهم 23.91± 13.14 سنة، مقارنةً بالعمر والجنس وعدد المجموعة السيطرة التي تتمتع بصحة جيدة التي اشتملت على 38 من الذكور و37 من الاناث، كان متوسط أعمارهم 22.84 ± 4.35 سنة. تهدف الدراسة الحالية إلى دراسة العوامل الديموغرافية والوبائية لـ75 مريضاً مصابين باللشمانيا الجلدية مقارنة بمجموعة السيطرة متوافقة مع مجموعة المرضى بالعمر والجنس والعدد. إذ أشارت النتائج الحالية إلى وجود ارتفاع غير معنوي في النسبة المئوية للمرضى الموظفين مقارنة بالمرضى المصابين بالليشمانيا الجلدية الغير الموظفين (92.0% مقابل 8.0%على التوالي)، وكذلك لوحظ ارتفاع غير معنوي في النسبة المئوية للإناث مقارنة مع الذكور (97.2% مقابل 87.2% على التوالي)، بينما نتائج مرضى داء اللشمانيا الجلدية الغير الموظفين اظهرت وجود ارتفاع غير معنوي في الذكور مقارنة مع الإناث (12.8% مقابل 2.8% على التوالي). بالإضافة إلى ذلك ففي المناطق الحضرية، لم تكن نسبة الإصابة بداء اللشمانيا الجلدية أعلى بكثير في الذكور مقارنة بالإناث (53.8 % مقابل 47.2% على التوالي). بينما في المناطق الريفية، كانت النتائج مختلفة. أيضا، كانت النسبة المئوية لداء اللشمانيا الجلدية أعلى بكثير في منطقة خان بني سعد في محافظة ديالى (25.33 %) مقارنة مع المناطق الأخرى التي تراوحت ما بين 0.0% - 7.78%، وكانت النسبة المئوية لتكرار ظهور الإصابة عند الإناث أعلى بكثير من الذكور في هذه المنطقة (27.8 % مقابل23.1% على التوالي).