



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

تقييم دور الاستجابة المناعية وتعدد الأشكال الوراثية لأنزيمي تحلل البروتين  
المعدني التاسع ومثبط بروتين الانسجة المعدني الاول وعامل النخر الورمي  
ألفا لدى المصابين بداء الاكياس المائية في محافظة ديالى

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى وهي جزء  
من متطلبات نيل درجة الدكتوراة فلسفة في علوم الحياة

من قبل الطالب

حارث برع حسن علي

بكلوريوس علوم حياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى/2004

ماجستير علوم حياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى/ 2015

بإشراف

أ. د. دنيا فريد سلوم

أ. د. نغم ياسين البياتي

2024 م

1446 هـ

## 1 : المقدمة Introduction

تعد الامراض الحيوانية المنشأ والمشاركة بين الانسان والحيوان Zoonoses ذات اهمية صحية واقتصادية عالميا ، ولعل داء المشوكات العدرية (المائية) Echinococcosis الناجم عن أصابة الكلاب بالدودة الشريطية المشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* وداء Hydatidosis الذي يصيب المضائف الوسطية كالماشى والعديد من الحيوانات وايضا الانسان و الناجم عن الاصابة بالطور اليرقي Metacestoda لنفس الدودة اعلاه من تلك الامراض ( Ali واخرون ، 2020 ; Khan ، واخرون ، 2021).

يؤثر هذا النوع من الأمراض في الذين يكونون بتماس مع الحيوانات المصابة تأثيرا كبيرا في العديد من النواحي فهو يمثل مشكلة صحية عامة لا سيما بين أفراد المجتمعات ، كونهم على اتصال وثيق بالكلاب المرافقة لتربية المواشي السائدة في هذه المجتمعات.أذ يسبب هذا المرض خسارة اقتصادية كبيرة في الثروة الحيوانية جراء أتلافه لبعض الاعضاء الحيوية وخصوصاً الكبد مما يفقدها قيمتها الغذائية وبالتالي تنتج خسائر اقتصادية تقدر بملايين الدولارات سنوياً . أما في الانسان فقد سجلت أصابات مميتة بسبب داء الاكياس العدرية ناجمة عن انفجار هذه الاكياس في الأعضاء الحيوية(الكبد، الرئتين، الدماغ والتي تكون مهددة للحياة وقد تكون مميتة (Al-Khalidi و اخرون 2020).

ذكر Motran واخرون (2018) ان الاصابة بالطور اليرقي يبقى في مضائفها لفترات طويلة نتيجة التكيف بينها وبين مضائفها، ومع ذلك وعلى الرغم من هذا التكيف ،الا ان الاصابة بالديدان تسبب ضررا لانسجة مضائفها مؤديا ذلك لاستحثاث عوامل مناعية تشمل تحفيز الاستجابة الفطرية الخلوية كالخلايا البلعمية و الحمضات والقعدات والخلايا البدينة وخلال هذا التحفيز تكون

هذه الخلايا قادرة على افراز مواد تنظم الاستجابة المناعية تعتمد على البيئات المختلفة (المضائف) التي تقطنها هذه الديدان .

يعد عامل نخر الورم الفا (Tumor Necrosis Factor- Alpha (TNF- $\alpha$ ) من الحركيات الخلوية الالتهابية وهو من الحركيات المشاركة في تنظيم المناعة ومقاومة الإصابة بالعوامل الممرضة ، وقد وجد أنه ينتج بمستويات عالية عند الإصابة بداء الأكياس العدرية (Beyhan وآخرون، 2022)، كما أن TNF- $\alpha$  يشارك في مدى واسع من الفعاليات البيولوجية منها انتاج وتكاثر وتمايز الخلايا المناعية والموت المبرمج للخلايا وله دور في السمية الخلوية وهو الى جانب كونه من الحركيات الالتهابية فهو يعمل على التعديل المناعي للكيموكينات ويحفز أنتاج البروتينات المعدنية (MMPs). فهو محفزا قويا لإنتاج الـ MMP-9 (Rohani وآخرون ، 2015).

يعد الانزيم الحال للبروتين المعدني التاسع Matrix metalloproteinase-9 ,MMP-9 من الانزيمات الحالة للبروتين التي يحتوي على معدن الزنك ، وهو يساهم في تحلل البروتينات خارج الخلية ويتم انتاجه بواسطة العديد من أنواع الخلايا (Asgari وآخرون، 2021)، مثل الخلايا الليمفاوية والخلايا المحببة و 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 المسماة انزيمات مثبط الأنسجة للبروتينات المعدنية Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) الأخيرة يتم إنتاجها بشكل أساسي من قبل مجموعة متنوعة من الخلايا والمعروف أن لها دور محتمل في الأمراض الطفيلية مثل الملاريا (Brenner وآخرون، 2015) ، وتعد عاملاً حاسماً في تفاقم او شفاء الإصابة (Hasanzadeh وآخرون، 2022).

## أهداف الدراسة الحالية -: Aims of the study

1. التعرف على بعض العوامل الديموغرافية المرتبطة بالمرض كالجنس والمهنة والعمر والسكن وموقع الإصابة في المرضى المصابين بهذا الداء في محافظة ديالى.
2. تقييم بعض المتغيرات المناعية المصاحبة للإصابة عن طريق مستويات بعض العوامل المناعية منها  $TNF-\alpha$  ، MMP-9 و TIMP-1 في مصول مجموعة المرضى المصابين بداء الاكياس العدرية ومجموعة السيطرة باستخدام تقنية ELISA.
3. تحديد عوامل الخطر الوراثية وذلك من خلال دراسة تعدد الاشكال الوراثية المفردة لجينات الـ ( $TNF-\alpha$  ، MMP-9 و TIMP-1) في مجموعة المرضى المصابين بداء الاكياس العدرية ومجموعة السيطرة باستخدام تقنية PCR لبادئات الاليلات المحددة Allele specific-primers.
4. تحديد مدى ارتباط العوامل الوراثية والمناعية عن طريق ربط التغاير الوراثي لجينات هذه البروتينات الثلاثة مع مستوياتهم في أمصال مجموعة المرضى المصابين بداء الاكياس العدرية ومجموعة السيطرة.

## Summary

---

### Summary :

Hydatid Cyst Disease (Echinococcosis) and Its Genetic and Immunological Aspects Hydatid cyst disease (echinococcosis) is a parasitic disease caused by the encysted larvae of the tapeworm *Echinococcus granulosus*. It represents a significant public health problem worldwide and is a zoonotic disease requiring two hosts to complete its life cycle. The definitive hosts belong to the Caninae family, including dogs, wolves, and foxes, while the intermediate hosts comprise livestock such as sheep, goats, and cattle. Humans can also act as accidental hosts.

This study included 62 patients diagnosed with hydatid cyst disease (18 males and 44 females) with a mean age of  $36.67 \pm 1.27$  years, compared to a control group of 75 healthy individuals (29 males and 46 females) with a mean age of  $34.20 \pm 1.20$  years. The samples were collected from various hospitals in Diyala Governorate between January and June 2023.

The results of this study revealed that the prevalence of infection was higher in females (71%) than in males (29%). The infection rate was evenly distributed between urban and rural areas. Additionally, a statistically significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in infection rates was observed among non-employed individuals compared to employed individuals (64.5% vs. 35.5%, respectively). Furthermore, hepatic infections were significantly more common than pulmonary infections (85.5% vs. 14.5%, respectively). Serum cytokine analysis demonstrated a significant increase in TNF- $\alpha$  levels in hydatid cyst patients compared to the control group ( $409.54 \pm 126.37$  vs.  $20.95 \pm 0.93$  pg/mL, respectively). In contrast, MMP-9 levels showed a non-significant elevation in patients compared to controls ( $20.40 \pm 1.52$  vs.  $19.49 \pm 1.62$  pg/mL, respectively). TIMP-1 concentrations, however, were

## Summary

---

significantly higher ( $p \leq 0.001$ ) in the control group compared to patients ( $320.47 \pm 43.81$  vs.  $518.05 \pm 32.56$  pg/mL, respectively).

A molecular analysis was conducted to investigate the genetic polymorphisms of TNF- $\alpha$ , MMP-9, and TIMP-1 genes. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the TNF- $\alpha$  gene, rs41297589 and rs1800629, were analyzed. The rs41297589 polymorphism showed a non-significant increase in the TT genotype and *T* allele frequencies in hydatid cyst patients compared to controls (52.0% vs. 50.5%, odds ratio [OR] = 1.07, and 3.2% vs. 0.0%, OR = 6.24, respectively). Meanwhile, the TA genotype and *A* allele exhibited a non-significant decrease in patients compared to controls (96.8% vs. 100.0% and 48.0% vs. 50.0%, OR = 0.94, respectively), with no occurrence of the AA genotype in either group.

For the rs1800629 polymorphism, the GG and AA genotypes and the *G* allele showed a non-significant increase in patients compared to controls (35.5% vs. 24.0%, OR = 1.74; 16.1% vs. 16.0%, OR = 1.01; and 60.0% vs. 54.0%, OR = 1.26, respectively). Conversely, the GA genotype and *A* allele demonstrated a non-significant decrease in patients compared to controls (48.4% vs. 60.0%, OR = 0.63; and 40.0% vs. 46.0%, OR = 0.79, respectively). These findings suggest that the GG and AA genotypes and the *G* allele may serve as risk factors for hydatid cyst disease, while the GA genotype and *A* allele may have a protective role.

Regarding MMP-9 gene polymorphisms (rs17576 and rs760670157), the rs17576 polymorphism exhibited a significant increase in the TT genotype and *T* allele frequencies in patients compared to controls (98.4% vs. 0.0%, OR = 619.0; and 99.0% vs. 0.0%, OR = 24,782.33, respectively). A non-significant increase was noted for the TG genotype in patients compared to

## Summary

---

controls (1.6% vs. 0.0%, OR = 3.86). However, a significant reduction was observed in the GG genotype and *G* allele frequencies in patients compared to controls (0.0% vs. 100.0%, OR = 0.00005).

For the rs760670157 polymorphism, a significant decrease was observed in the GG genotype frequency in patients compared to controls (1.6% vs. 26.67%, OR = 0.05), while the *G* allele frequency showed a non-significant reduction (49.0% vs. 57.0%, OR = 0.74). The GA genotype exhibited a highly significant increase in patients compared to controls (95.2% vs. 60.0%, OR = 13.11). Conversely, the AA genotype showed a non-significant decrease in patients compared to controls (3.2% vs. 23.33%, OR = 0.22), while the *A* allele demonstrated a non-significant increase in patients (51.0% vs. 43.0%, OR = 1.35). The GA genotype and *A* allele were associated with high odds ratios.

TIMP-1 is an inhibitor of MMP-9 and serves as a marker of tissue degradation in hydatid cyst disease. Two SNPs in the TIMP-1 gene (rs1043428 and rs41454248) were analyzed. The rs1043428 polymorphism showed a significant reduction in the CC and GG genotype frequencies in patients compared to controls (1.6% vs. 25.3%, OR = 0.05; and 1.6% vs. 14.67%, OR = 0.10, respectively). The *C* allele frequency was non-significantly lower in patients than in controls (50.0% vs. 55.0%, OR = 0.81). The CG genotype showed a significant increase in patients compared to controls (96.8% vs. 60.0%, OR = 20), while the *G* allele frequency was non-significantly elevated in patients.

## Summary

---

Similarly, the rs41454248 polymorphism demonstrated a significant increase in the GA genotype frequency in patients compared to controls (90.3% vs. 60.0%, OR = 6.22) and a non-significant increase in the A allele frequency (45.0% vs. 43.0%, OR = 1.08). The GG genotype frequency was lower in patients than in controls (9.7% vs. 26.7%, OR = 0.29).