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

دراسة مقارنة للترابط بين أليلات معقد التوافق النسيجي الصنف الثاني MHC-classII وقابلية الإصابة والاستجابة المناعية في داء المقوسات في محافظتي أربيل وديالى / العراق

إطروحة مقدمة الى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من قبل

زينة عبد المنعم عبد الرزاق الدوري

بكالوريوس علوم الحياة 2001/ جامعة بغداد
ماجستير علوم حياة 2014/ جامعة ديالى

بأشراف

أ.د. نغم ياسين البياتي — **أ.د. عبد اللطيف مولان**

ربيع الأول 1442هـ — **تشرين الثاني 2020م**

1- المقدمة : Introduction

1-1: داء المقوسات الكوندية Toxoplasmosis

يعد داء المقوسات (Toxoplasmosis) مرضاً ينتشر في جميع انحاء العالم وهو مرض خطير مشترك بين الانسان والحيوان (Zoonotic disease) يسببه طفيلي المقوسة الكوندية *(Toxoplasma gondii)* وهو طفيلي داخل خلوي اجباري التطفل (Obligate interacellular) يصيب تقريبا معظم الحيوانات ذات الدم الحار في حين تخدم القطط وغيرها من افراد عائلة السنوريات (Felidea) كمضائف نهائية (Nelson و Williams، 2014).

تحدث الإصابة البشرية عادة من خلال تناول الانسان الاكياس النسيجية (Tissue cysts) الحاوية على الاطوار بطيئة التكاثر (Bradyzoites) التي توجد في اللحوم غير المطبوخة بشكل جيد او تناول الاطعمة والاشربة التي تحتوي على اكياس البيض من البيئة الملوثة ببراز القطط المصابة (Hussein و Molan، 2019). كما اكدت بعض الدراسات الحديثة من احتمالية حدوث الإصابة عن طريق الاتصال الجنسي، إذ يكون أكثر تأثيراً على المرأة الحامل ويسبب لها الاجهاض او اصابة الجنين وحدوث تشوهات خلقية مثل استسقاء الرأس مع التخلف العقلي، تلف العين أو وفاة الجنين بعد الولادة بمدة قصيرة (Flegr واخرون، 2014). للمقوسة الكوندية دورة حياة معقدة تتضمن ثلاثة اطوار وهي الطور سريع التكاثر (Tachyzoite) ويتطور اثناء المرحلة الحادة من الإصابة إذ يغزو الخلايا ويتكاثر بداخلها، أما الطور الثاني فيعرف بالطور بطيء التكاثر (Bradyzoite) ويتواجد خلال الإصابة الكامنة في الاكياس النسيجية (Tissue cysts)، اما الطور الثالث فيعرف بالبويغ او الحيوان البوغي (Sporozoite) وهذا الطور يوجد في كيس البيض (Oocyst) والذي يعد مقاوماً للظروف البيئية. يمثل الطوران الاول والثاني المرحلة اللاجنسية من دورة الحياة والتي تحدث في المضائف الوسطية بضمنها الانسان، بينما يمثل الطور الثالث الشق الجنسي من دورة الحياة والذي يحدث في المضائف النهائية وخاصة القطط (Gilot-Fromont واخرون، 2012). لطفيلي المقوسة الكوندية ثلاث سلالات (Strains) هي: (Type I و Type II و Type III) اعتماداً على النمط الجيني للطفيلي والتي تختلف في الضراوة والوبائية إذ تنمو انواع السلالة الاولى بسرعة في المختبر وهي اشد ضراوة في الفئران، وترتبط في كثير من الاحيان مع داء المقوسات البصري Ocular Toxoplsmosis . اما انواع السلالة الثانية فهي عديمة الضراوة في الفئران ولكن تكون اكثر شيوعاً في إصابة الانسان. وجدير بالذكر، أن

معظم الأنواع المعزولة من مرضى الايدز تعود للسلالة من النوع الثاني وايضا تم العثور على انواع السلالات من النوع الاول والثاني في المرضى الذين يعانون من داء المقوسات الخلقي، بينما الانواع المعزولة من الحيوانات معظمها يعود للسلالات من النوع الثالث (Dalimi و Abdoli، 2012).

يلعب الجهاز المناعي للإنسان وبنوعيه الفطري (المتآصل) (Innate immune system) والمكتسب (Acquired Immune system) دورا كبيرا في السيطرة على الإصابة واكتساب الفرد مناعة ضد عودة الإصابة ولكن قد يعمل الجهاز المناعي على تحجيم الإصابة وتحول الطفيلي الى الطور بطيء التكاثر او الكامن الذي يتواجد داخل اكياس نسيجية (Tissue cysts) داخل الانسجة وهذا يشكل خطورة بسبب احتمال عودة الإصابة عند حدوث أي خلل في الجهاز المناعي فيسلك الطفيلي سلوكاً انتهازيا منتقلاً من الإصابة المزمنة (Chronic) الى الحادة (Acute) إذ يتحول من الطور بطيء التكاثر (Bradyzoite) الى الطور النشط او الطور سريع التكاثر(Tachyzoite) (Martins واخرون، 2019). ان الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية يسبب استجابة مناعية خلطية (Humoral immunity) متمثلة بإنتاج الاجسام المضادة إذ يلاحظ ارتفاع مستوى ألاضداد من نوع (IgM) بغضون اسبوع الى اسبوعين من بدء الإصابة وكذلك تعتبر المناعة الخلوية هي العامل الرئيسي المسؤول عن مقاومة الإصابة بالطفيلي إذ تلعب دوراً مهماً وفعالاً في تكيس الطفيلي (Melchor و Ewald، 2019). إذ تتضمن الاستجابة المناعية الخلوية أنتاج الخلايا التائية بنوعيها (CD4 و CD8) والتي يمكنها التعرف على الطفيلي من خلال معقد التوافق النسيجي من النوعين الاول والثاني (MHC II و MHC I) وتلعب الخلايا القاتلة (Natural killer cell) دوراً وقائياً خلال الإصابة الاولية بالطفيلي (Jin واخرون، 2017).

يعد طفيلي المقوسة الكوندية واحداً من أكثر الطفيليات المدروسة جيداً نظراً لأهميته الطبية والبيطرية ولكونه نموذجاً مثالياً للدراسات الخلوية والدراسات الجزيئية في الكائنات وحيدة الخلية، وتشير الدراسات الحديثة الى ان اكثر من ثلث سكان العالم مصابين بهذا الطفيلي (Galván-Ramirez واخرون، 2018).

1-2: اهداف الدراسة الحالية:

1- دراسة مقارنة بين محافظتي أربيل وديالى لأنتشار داء المقوسات.

2- دراسة الاستجابة المناعية

من خلال :-

أ- قياس تركيز الحركي الخلوي IFN-ϒ بأستخدام تقنية ELISA.

ب- قياس تركيز الحركي الخلوي TNF-α بأستخدام تقنية ELISA.

ج- قياس تركيز الحركي الخلوي IL-10 بأستخدام تقنية ELISA.

د- الكشف عن الكلوبيولينات المناعية IgM, IgG باستخدام جهاز Cobase E 411.

3- دراسة الانماط الجينية لمعقد التوافق النسيجي (HLA Class II) لتحديد خمس مواقع (DQA1, DQB1, DRB1, DPA1, DPB1) للكشف عن:

أ- وجود اليلات (Alleles) تعطي أنذاراً مبكراً حول قابلية الإصابة بالمرض.

ب- وجود اليلات (Alleles) تساهم في زيادة فعالية الاستجابة المناعية (المقاومة للمرض).

الخلاصـــــــة

أجريت هذه الدراسة لغرض الكشف عن بعض الجوانب الوبائية والمناعية والوراثية عند النساء الحوامل المجهضات والمصابات بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* ومقارنتها مع مجموعتي السيطرة الاولى (مجموعة النساء الحوامل غير المجهضات) ومجموعة السيطرة الثانية (مجموعة النساء غير حوامل وغير مجهضات) من سكنة محافظتي ديالى وأربيل خلال المدة من بداية شهر اذار سنة 2017 ولغاية ايلول 2018. جمعت عينات الدراسة من النساء المراجعات الى مستشفى البتول التعليمي للولادة في محافظة ديالى ومستشفى اربيل التعليمي للولادة والمختبر المركزي في أربيل وبعض المختبرات الأهلية، وتضمنت الدراسة جمع 800 عينة دم توزعت بواقع 400 عينة دم من النساء الحوامل المجهضات لكل محافظة. وكذلك استخدمت 200عينة دم من النساء الاصحاء 100 عينة دم قسمت ما بين نساء حوامل غير مجهضات ونساء غير حوامل وغير مجهضات لكلا المحافظتين، تم فصل المصول لغرض التحري عن الاجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية باستخدام جهاز Cobas e 411 لهذا الغرض. أما مستويات الحركيات الخلوية الثلاثة المختارة (انترفيرون كاما وعامل النخر الورمي ألفا فضلاً عن الانترلوكين العاشر) فقد تم قياسها باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA).

تُبين نتائج الدراسة الحالية ان النسبة المئوية للإيجابية المصلية للأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية من صنف (IgG) بين مجموعة النساء الحوامل المجهضات من سكنة محافظة أربيل قد بلغت 26.8% ، في حين بلغت 15.5% في النساء من سكنة محافظة ديالى، وأظهر التحليل الاحصائي فرقاً معنوياً بين المجموعتين (P=0.0001)، اما نسبة الارجحية فقد بلغت (1.99) (أي بمعنى ان النساء الحوامل المجهضات من سكنة محافظة اربيل هي اكثر استعداداً للإصابة الكامنة بطفيلي المقوسة الكوندية من نظيرتها من سكنة محافظة ديالى وبنسبة تقرب من الضعفين). أما عند المقارنة بصدد الايجابية المصلية للضد (IgM) فلم يظهر التحليل الاحصائي فرقاً معنوياً (P=0.0801) بين النساء الحوامل المجهضات من سكنة المحافظتين إذ بلغت النسبة المئوية لهذا الضد للنساء الحوامل المجهضات من سكنة محافظة اربيل 2.75% بينما بلغت 1.0% للنساء الحوامل المجهضات من سكنة محافظة ديالى.