التغيرات النسيجية للأرانب المصابة تجريباً بداء المقوسات القندية[+]

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF RABBET INDUCED EXPERIMENTAL WITH TOXOPLASMOSIS

[*]إحسان كوركيس زكريا

المستخلص

شملت الدراسة متابعة التغيرات النسيجية التي تحدث في الأعضاء المختلفة (الدماغ، الكبد، الكلية، الأمعاء الدقيقة) للأرانب التي خمجت مختبرياً بطفيلي Toxoplasama gondii حيث أظهرت النتائج وجود الحوينات سريعة التكاثر في نسيج الدماغ مع تكاثر للخلايا الدبقية في النوع البؤري والمنتشر، مع ملاحظة تنكس ووجود الحوينات سريعة التكاثر في خلايا الكبد وخلايا كوفر، أما الأمعاء الدقيقة فقد تميزت بوجود النخر الشديد مع ارتشاح إعداد هائلة من الخلايا الالتهابية مع ملاحظة الاحتقان والنزف في الأوعية الدموية المغذية للأمعاء فضلاً عن وجود الوذمة وفرط التنسج للخلايا الظهارية أما الكلية فقط وجد تغيرات تنكسية وأخرى نخرية في النبيبات الكلوية مع وجود احتقان شديد وارتشاح الخلايا الالتهابية.

Abstract

This study is including the histopathlogical change in brain, liver, kidney & small intestine that infected the rabbet by *Toxoplasma gondii.* tachyzoites & neourons with local & diffuse giosis was found in brain, & in the liver there was degeneration, sever coagulative necrosis with presence of tachyzoites in the hepatic cells & kuffer cells and in the small intestine the lesions were presence of sever necrosis with inflation of large number of inflammation cells, congestion and hemorrhagic of blood vessels and it's appear odema & hyperplasia of epithelial cells and infiltration of inflammatory cells.

المقدمة

داء المقوسات من الإصابات الطفيلية المشتركة الذي يسببه طفيلي **T. gondii** [١]، وتعتبر القطط والعائلة الشعورية المضائف النهائية الإجبارية وتعد القوارض والطيور وحيوانات المزرعة والحيوانات البرية فضلاً عن الإنسان من المضائف الوسطية لهذا الطفيلي [٢]، المراحل الجنسية في دورة حياة الطفيلي تحدث في الخلايا الطلائية للأمعاء في القطط والمراحل اللاجنسية تحدث في الإنسان وبقية الثديات والطيور[٣]، ويمر الطفيلي بثلاثة إشكال وهي طور سريع التكاثر والكيس النسيجي وكيس البيضة.

إن خمج النساء الحوامل في الأشهر الأولى من الحمل يؤدي إلى الإجهاض وحدوث تشوهات خلقية في الجنين [٤]، أما إذا حدث الخمج في الأشهر الوسطى من الحمل يؤدي إلى حدوث تشوهات خلقية وظهور أعراض اليرقان وتضخم الكبد والطحال [٥] ويعاني الجنين المصاب بالتهاب الدماغ والتهاب عضلة القلب [٦]، في حين يكون الخمج في الأشهر الثلاثة الأخيرة من الحمل غير مصحوب بأعراض سريرية مبكرة للجنين

[+] *تاريخ استلام البحث ٢٠٠٨/٧/٦ ، تاريخ قبول النشر ٣ / ٥ / ٢٠٠٩*

[*] *مدرس مساعد المعهد التقني في الموصل*

ولكن تتطور مع تقدم عمر الطفل[٧]. وان الهدف من البحث هو تتبع التغيرات النسيجية في الأرانب والمصابة تجريبياً بداء المقوسات.

طرائق العمل

I. عزل الطفيلي

تم عزل الطفيلي من عينات الأجنة الأغنام المصابة بالطفيلي واخذ أجزاء من الرئة والكبد والطحال من خلال:

١. استخدام إنزيم الببسين من خلال أخذ ٥٠ غرام من احد الأعضاء للأجنة المصابة بالطفيلي وسحقه باستخدام الخلاط الكهربائي بسرعة ١٠٠٠ دورة لكل دقيقة.
٢. إضافة ١٠ أضعاف من إنزيم الببسين الذي يتكون من (٢,٦غم من إنزيم الببسين + ٥غم من NaCl + ٧مل من HCl + ٥٠٠ مل من الماء المقطر).
٣. حضن الخليط بدرجة 37°م لمدة ٩٠ دقيقة ثم ترشيحه باستخدام الشاش الطبي.
٤. نبذ الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة/دقيقة لمدة ١٠ دقائق.
٥. علق الراسب في محلول الملح الفسلجي (PH=7.2) ونبذ بالجهاز الطرد المركزي.
٦. تعليق الراسب في ١٠ مل من محلول الملح الفسلجي مع إضافة ١٠٠٠ وحدة دولية من البنسلين و١٠٠مايكروغرام من الستربتومايسين لغرض الوقاية من التلوث الجرثومي.
٧. لتحضر جرعة 0.5 مل من المعلق وحقنه في التجويف البريتوني للأرانب التجربة [٨].

II. الحيوانات المختبرية

استخدمت **9** *أرانب محلية في التجربة وبأعمار وأوزان متقاربة ووضعت تحت ظروف صحية ملائمة من تغذية وحرارة ولمدة أسبوعان ومراقبتها للتأكد من خلوها من أي مرض سواء طفيلي أو جرثومي وقسمت إلى ثلاث مجاميع (كل مجموعة تضم ٣ أرانب) وحقنت الأرانب بـ* **0.5** *مل من المعلق المحضر في التجويف البريتوني للمجموعتين الأولى والثانية.*

III. أجراء الصفة التشريحية

تم أجراء الصفة التشريحية على الأرانب بعد ٣٠ يوماً من الحقن للمجموعة الأولى و بعد ٦٠ يوماً من الحقن للمجموعة الثانية وجمع الأعضاء الضرورية والتي شملت (الدماغ، الكبد، الكلية والأمعاء الدقيقة) وتم تثبيتها بمحلول الفرمالين الدارئ المتعادل وتم عمل الشرائح النسيجية وصبغها بصبغة الايوسين والهيماتوكلسين [٩]، وبعدها تم دراسة التغيرات المرضية النسيجية باستخدام المجهر الضوئي.

<u>النتائج</u>

١. المجموعة الأولى:

شملت المجموعة الأولى ثلاث أرانب حقنت بالطفيلي المعزول مختبرياً واجري عليها الصفة التشريحية بعد ٣٠ يوماً من حقن الطفيلي.

أ- الدماغ: أظهرت المقاطع النسيجية وجود احتقان شديد في الأوعية الدموية وتكاثر الخلايا البلعمية مع وجود تنكس فجوى في العصبات كما موضح في الصورة (١).

ب- الكبد: لوحظ وجود الحوينات سريعة التكاثر في هيولي خلايا كوفر والخلايا الكبدية مع توسع في الجيبانيات مع ملاحظة تنكس فجوي في هيولي الخلايا الكبدية كما موضح بالصورة (٢).

ت- الكلية: لوحظ وجود تنخر وتنكس في النبيبات الكلوية واحتقان شديد في الكبيبات وارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بخلايا وحيدة النواة والخلايا اللمفية كما في الصورة (٣).

ث- الأمعاء الدقيقة: لوحظ تنخر شديد في الخلايا الظهارية المبطنة للطبقة المخاطية مع ارتشاح الخلايا ألالتهابية مع وجود الأكياس النسيجية في الزغابات المعوية مع ملاحظة احتقان شديد ونزف في الأوعية الدموية المغذية للأمعاء فضلاً عن وجود الوذمة وفرط التنسج للخلايا الظهارية لبعض الغدد المعوية كما موضح بالصورة (٤).

٢. المجموعة الثانية:

أظهرت الدراسة تغيرات مركبة واضحة في المقاطع النسيجية لأرانب المجموعة الثانية التي جرى عليها الفحص بعد ٦٠ يوم من حقن طفيلي ***T. gondii*** .

أ- الدماغ: لوحظ وجود الحوينات سريعة الانتشار في نسيج الدماغ مع تكاثر الخلايا الدبقية من النوع المنتشر والبؤري، واحتقان شديد في الأوعية الدموية المغذية للدماغ كما موضح في الصورة (٥).

ب- الكبد: لوحظ وجود حوينات سريعة التكاثر في هيولي الخلايا الكبدية وخلايا كوفر مع تضخم في خلايا كوفر مع وجود تنخر تجلطي شديد كما في الصورة (٦).

ت- الكلية: لوحظ احتقان شديد في الكبيبات مع ارتشاح الخلايا ألالتهابية فضلا عن وجود التنخر والتنكس الشديد في النبيبات الكلوية كما في الصورة (٧).

ث- الأمعاء: لوحظ استطالة في الزغابات مع ارتشاح للخلايا الالتهابية وحيدة النواة فضلاً عن وجود تنكس فجوى في الطبقة تحت المخاطية كما في الصورة (٨).

٣. المجموعة الثالثة:

مجموعة السيطرة السالبة للمرض.

المناقشة

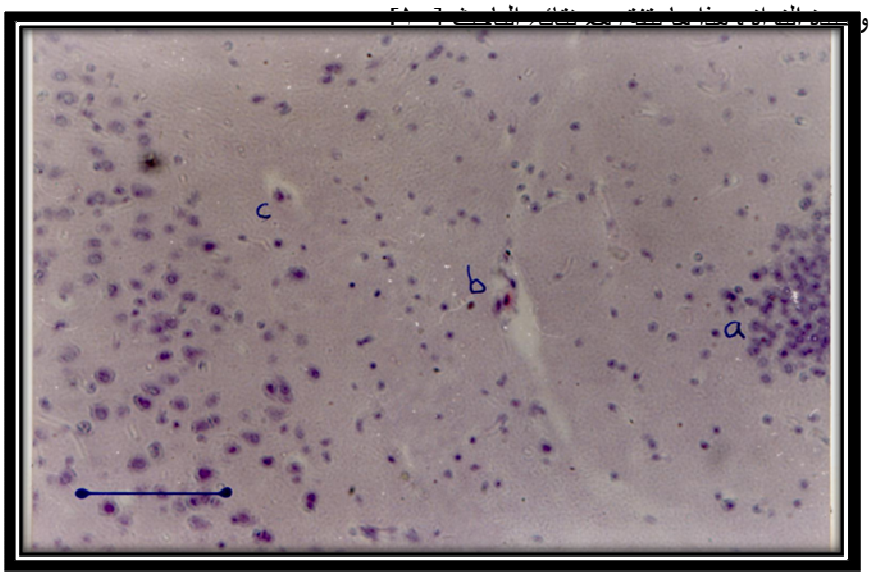
يعد الفحص النسيجي من الوسائل التشخيصية الأساسية للتعرف على المسببات المرضية من خلال ملاحظة التغيرات والآفات المرضية التي يحدثها طفيلي T. gondii في أنسجة الأعضاء المختلفة في جسم الأرانب، ويعد الدماغ من الأعضاء التي تُخمج بطفيلي T. gondii والتي تظهر أطوار الطفيلي في نسيج الدماغ من تكاثر الخلايا الدبقية من النوع المنتشر والبؤري والتي تمثل الوسيلة الدفاعية للنسيج ضد الطفيلي والتي تقوم بإفراز وتحرير بعض الوسائل الكيميائية التي تساعد في الاستجابة الالتهابية [١٠]، حيث أظهرت هذه الدراسة وجود تغيرات مرضية في نسيج الدماغ تمثلت بالتهاب السحايا من النوع اللمفي وتكاثر الخلايا الدبقية من النوع المنتشر فضلا عن وجود تنخر في العصبات واحتقان شديد للأوعية الدموية وهذا ما يطابق نتائج الباحثون [١٠، ١١] حيث إن الطفيلي T. gondii له القدرة على اخماج الدماغ وبسبب وجود بعض المواد المغذية التي يستفاد منها الطفيلي في عملية تكاثر الطفيلي، وان هذه التغيرات تحدث في نسيج الدماغ ما هي إلا وسيلة دفاعية للنسيج ضد الطفيلي، حيث إن وجود الخلايا البلعمية في نسيج الدماغ وتكاثرها يمثل الوسيلة الدفاعية للجسم ضد الطفيلي

والقضاء عليه، وان الطفيلي نتيجة ضغطه على الأوعية الدموية في الدماغ يسبب في إحداث تنكسات وتنخر الخلايا.

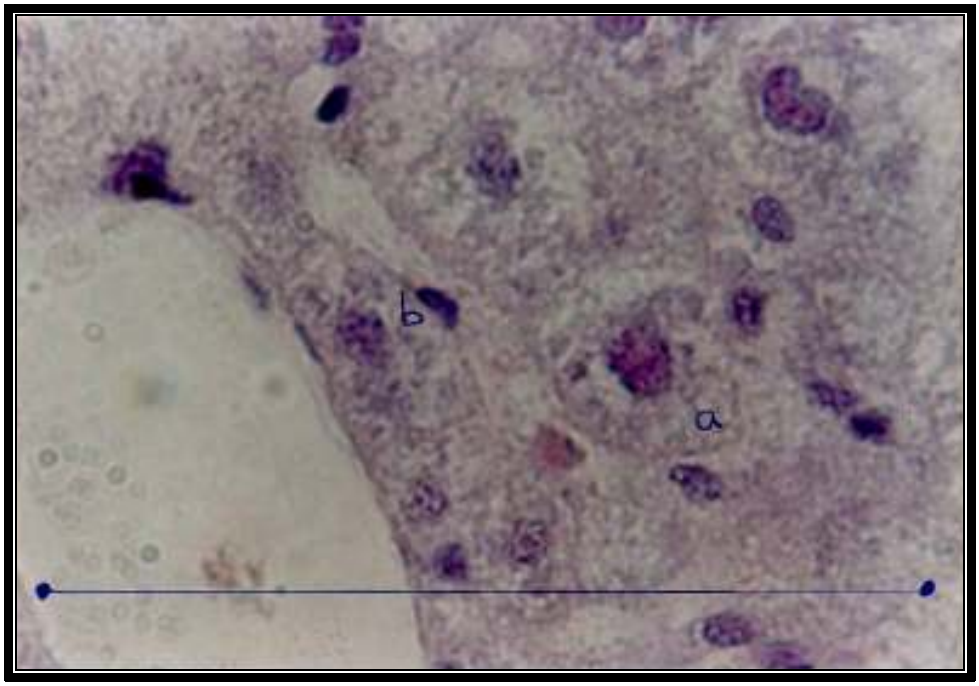
كما لوحظ وجود الآفات المرضية في نسيج الكبد التي تمثلت الحوينات سريعة التكاثر في هيولي خلايا كوفر التي أدت إلى تنكس فجوى في هيولي الخلايا الكبدية وتوسع في الجيبانيات مع حدوث تنخر تجلطي شديد في بعض الخلايا الكبدية [١٢]، وان ظهور الآفات المرضية في نسيج الكبد ما هو إلا دليل على حدوث التهاب الكبد التنخري وان هذه الخلايا تعد من الخلايا ذات الوظيفة الدفاعية البلعمية في الجهاز الشبكي المبطن للجسم [١٣، ١٤]. وان غزو الحويينات السريعة التكاثر عبر المجرى الدموي البابي إلى الكبد يحدث استجابة التهابية من خلال عوامل الجذب الكيميائية المتمثلة بعامل النخر الورمي والانتركولين والتي تساعد على حدوث النخر في النسيج ونقص الأوكسجين مسببا تغيرات تنكسية ونخرية في الخلايا الكبدية، وان التضخم في خلايا كوفر ما هو إلا دليل على غزو وتكاثر الحوينات داخل هيولي الخلايا وان هذه الخلايا تعد من الخلايا ذات الوظيفة البلعمية الدفاعية في الجهاز الشبكي البطاني للجسم [١٣].

أما بالنسبة إلى الكلية فقط لوحظ احتقان شديد في الكبيبات مع ارتشاح الخلايا الالتهابية فضلاً عن وجود التنخر والتنكس في النبيبات الكلوية وارتشاح الخلايا الالتهابية التي تسهم في إحداث الاستجابة الالتهابية في مكان تموضع الطفيلي [١٤] ونتيجة كبر حجم الطفيلي في الأوعية الدموية أدى إلى حدوث الأذى المباشر للخلايا البطانية مما يساعد في تحفيز الصفيحات الدموية [١٣].

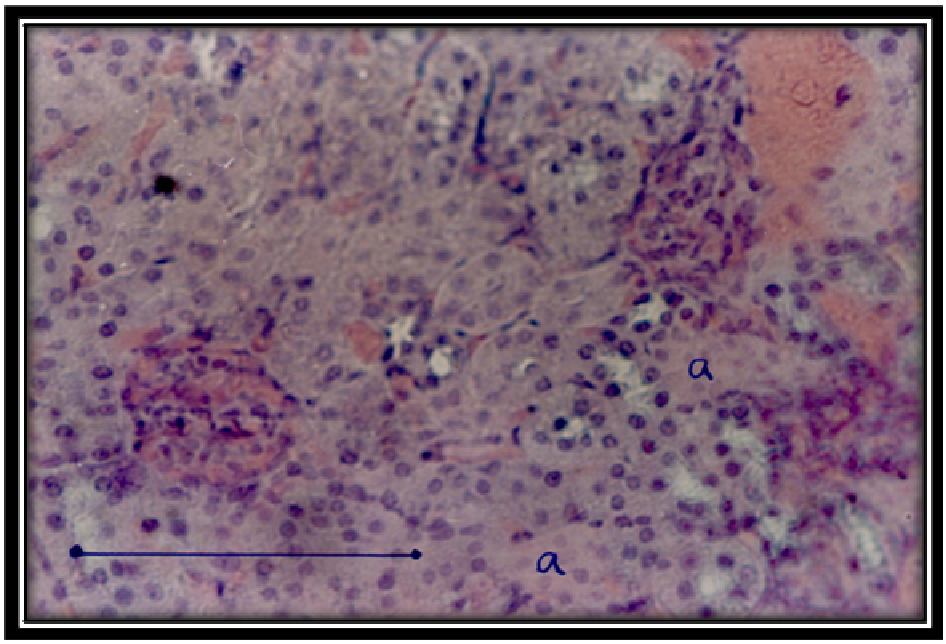
إن ظهور التنخر الشديد في الخلايا الظهارية المبطنة للطبقة المخاطية في الأمعاء الدقيقة نتيجة وجود الأكياس النسيجية للطفيلي والذي يسبب أيضا في ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية في الطبقة المخاطية والتي تمتد إلى الطبقة العضلية [١٣، ١٤]، ونتيجة خمج الأمعاء بالأكياس النسيجية يحدث تنكس الخلايا المعوية والتي تؤدي إلى حدوث تغيرات شكلية في هيولي هذه الخلايا وبمرور الزمن التي قد تسبب في حدوث تنخر من النوع التجلطي وموت الخلايا للطبقة المخاطية والتي تمتد إلى العضلة المخاطية نتيجة نقص لغذاء والأوكسجين ونتيجة لذلك تحدث استجابة مناعية موضعية تعمل على تحفيز الخلايا الظهارية لإفراز المواد المخاطية وكذلك تعمل على تحفيز المناعة الخلطية والتي تؤدي إلى زيادة الأضداد *IgA* وتحرير عوامل الجذب الكيميائي التي تجذب الخلايا و



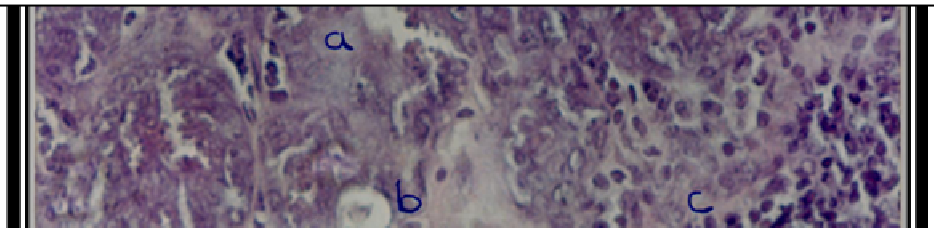
صورة (١) مقطع من نسيج الدماغ في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي **T. gondii** بعد ٣٠ يوماً من الخمج يوضح:
a. تكاثر الخلايا البلعمية المتمثلة بالخلايا الدبقية. **b.** احتقان شديد في الأوعية الدماغية
c. التنكس الفجوي في العصبات. الصبغة **H & E** مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون

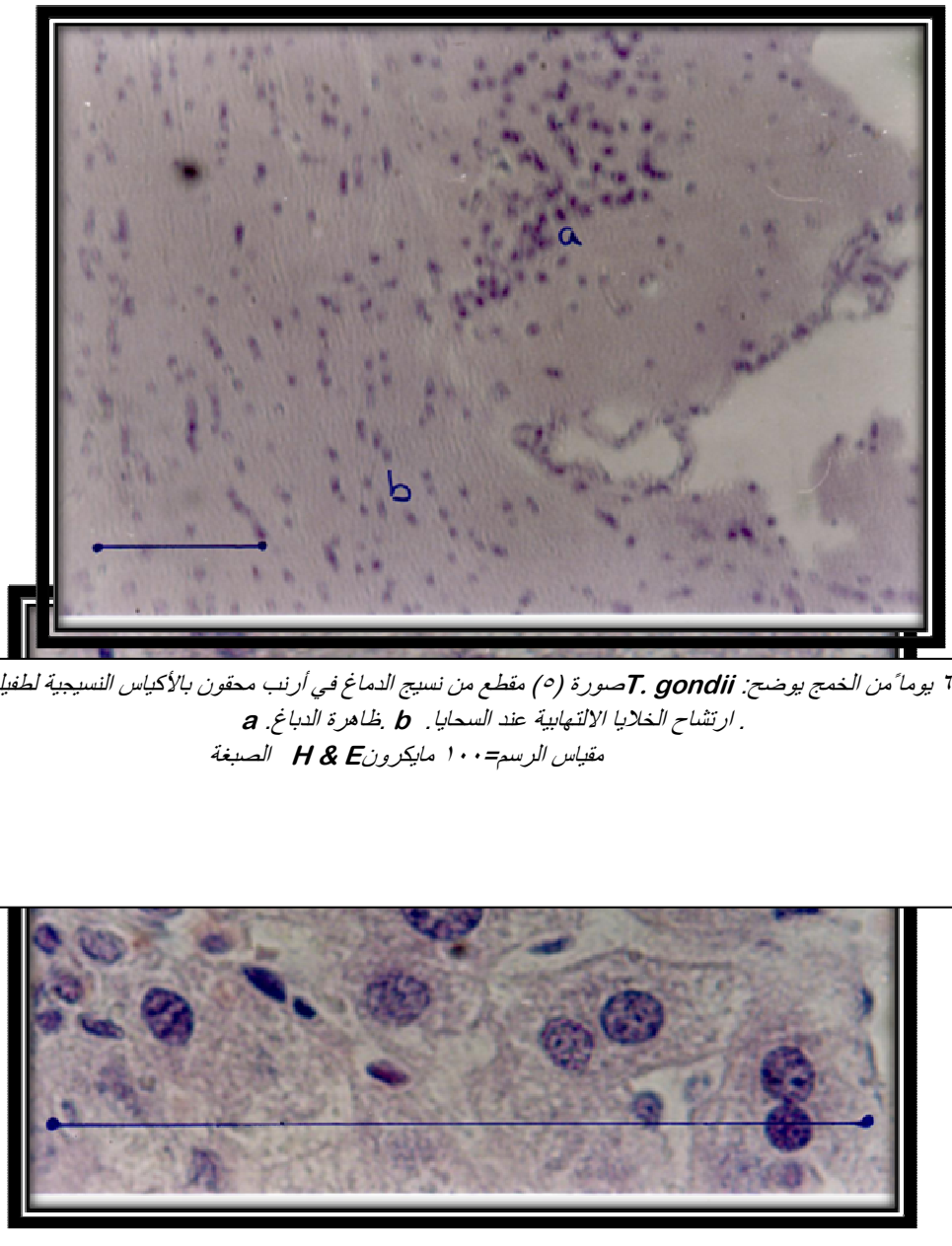


بعد ٣٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii***صورة (٢) مقطع من نسيج الكبد في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي
. توسع الجيبانيات. **b** . تورم الخلايا الكبدية مع وجود الخلايا السريعة التكاثر بجدار وهيولي الخلايا الكبدية . **a**
مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون**H & E** الصبغة

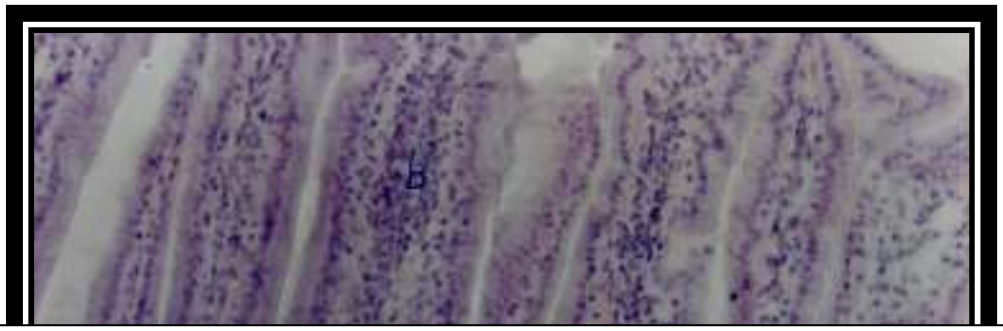


بعد ٣٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii***) مقطع من نسيج الكلية في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي 3صورة (
. النخر التجلطي في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية. **a**
مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون**H & E** الصبغة

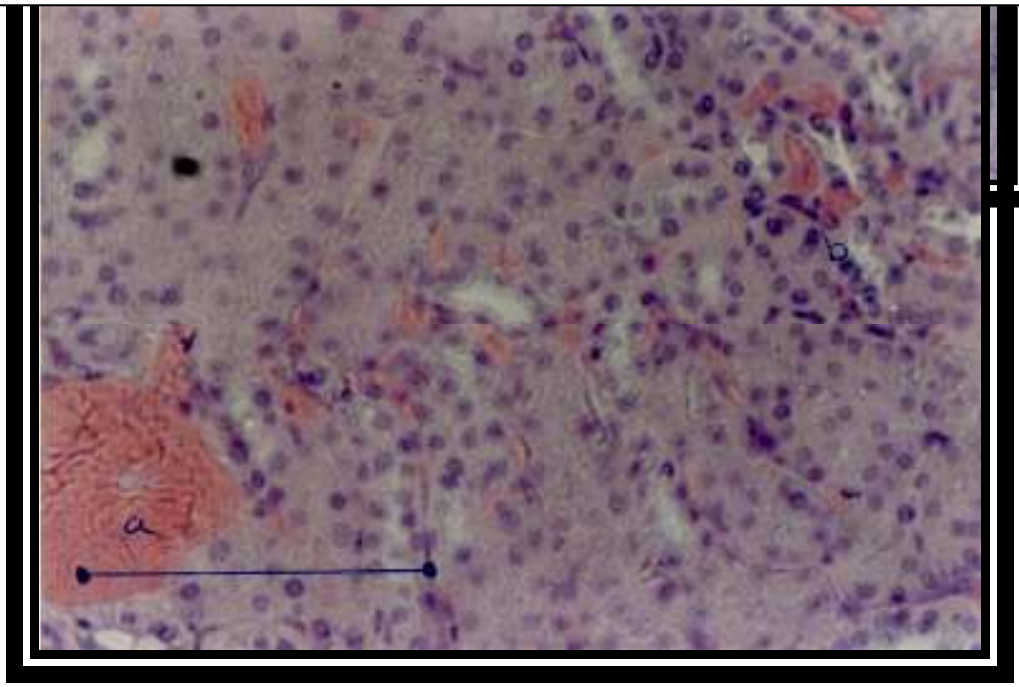




بعد ٦٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii*** صورة (٥) مقطع من نسيج الدماغ في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي
. ارتشاح الخلايا الالتهابية عند السحايا. **b** .ظاهرة الدباغ. **a**
مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون **H & E** الصبغة



بعد ٦٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii*** صورة (٦) مقطع من نسيج الكبد في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي
تجمع الخلايا السريعة التكاثر في هيولي الخلايا الكبدية وتضخم خلايا كوفر. **b**. النخر التجلطي الشديد . **a**
مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون **H & E** الصبغة



بعد ٦٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii*** صورة (٧) مقطع من نسيج الكلية في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي
. ارتشاح الخلايا الالتهابية في النسيج الخلالي **b**. احتقان شديد في اللمة الكبيبية . **a**
مقياس الرسم=١٠٠ مايكرون **H & E** الصبغة

بعد ٦٠ يوماً من الخمج يوضح: ***T. gondii*** صورة (٨) مقطع من نسيج الأمعاء الدقيقة في أرنب محقون بالأكياس النسيجية لطفيلي
. ارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة في الخباء يمتد ليشمل الصفيحة الأساسية. **b**. استطالة الزغابات المعوية. **a**
مقياس الرسم = ١٠٠ مايكرون **H & E** الصبغة

وجود التغيرات النسيجية بصورة واضحة وشديدة في الأعضاء المختلفة نتيجة ضراوة الطفيلي ومراحله التطورية على أنسجة الجسم.

التوصيات

١. إجراء دراسات نسيجية للتعرف على التغيرات المرضية بعد مرور ٦ أشهر أو سنة أو أكثر.

٢. استخدام التقنيات الحديثة لتحديد نوع العترات الموجودة في العراق من طفيلي ***T. gondii***.

المصادر

١. Dubey, J. P. *Toxoplasma gondii. Vet. parasitol 86: 235-248*. (2003).

٢. James, K. L. *Toxoplasmosis in Cats. Am. Vet. Med. Ass. 43: 122-138* (1998)..

٣. Brito, A.F., Souza, L.c., silva, A.v. & langoni, H. *Epidemiological & serological aspects in canine Toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. Mem. Inst. Oswaldo cruz 97 (1): 31-35*. (2002)

٤. Cisak, E. *Imunoperoxidase test in the diagnosis of Toxoplasmosis. Ann. Agric. Environ Med. 4: 243-247*. (1997).

٥. Zeibig, E. A. *Clinical parasitology. 1st ed. W. B. saunders company, Philadelphia. Pp. 115-123*. (1997).

٦. Bout, D. T., Mevelec, M. N., Velege-Roussel, F., Dimiex-Poisson, I. & Lebrun, M. *Prospects for a human Toxoplasma Vaccine Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders, 2: 227-234*. (2002).

٧. Bowie, W. R., King, A. S. & W erker, D. H.(1997). Out breat of Toxoplasmosis associated with municipal drinking water: Lancet, 350:173.

٨. Dubey, J. P. *Isolation on encysted Toxoplasma gondii from musculature of moose & pronghorn in Montana. Am. J. vet. Res. 42:126-127*. (1981).

٩. Luna, L. G. *Manual of Histological staining method, of the armed forces institute of pathology. 3rd ed. new York: Mc. Craw Hill Bock company*. 38-76. (1968).

١٠. Villard, O. C., Ferguson, J.P., Marcellin, L. & kien, T. *Loss of oral infectivity of tissue cysts of Toxoplasma gondii Rh stain to outbreed Swiss Webster mice. Int. J. Parasitd. 27(12): 1555-1559*. (1997).

١١. Dzbenski, T. H., Bittkowska, E. Gotab, E. & Waloch, M. *Experimental Toxoplasmosis of the central nervous system in rabbits as amodoel of human infection. Acta parasitol. 43(3):162-166*. (1998).

١٢. الدليمي، لقاء حسين. *دراسة وبائية ومرضية للطفيلي المسبب لداء المقوسات في إناث محافظة نينوى مع متابعة كفاءة تأثير بعض العقاقير في المصابات. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.* (٢٠٠٢)

١٣. Jones, T. C., Hunt, R.c. & king, N.w. *Veterinary pathology. 6th ed. Lippincott Williams & wilkins, Awolters Kluwer company, USA. PP. 555-560*. (1997).

١٤. Liesen feld, O. *Oral infection of CS7Bl /6mice with_Toxoplasma gondii. Anew model of inflammatory bowel disease. J. Infec. Bic 185(1): 596-601*. (2002).

١٥. Inoue, M. *Acute Toxoplasmosis in squirrel monkeys. J. vet. Med. 50. 59(7): 593-595*. (1997).