دراسة مستوى البين ابيضاض – ١٠ وبعض المتغيرات الدموية في الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica*

رغد خويطر مايح

الجامعة التكنلوجية/ قسم العلوم التطبيقية

الخلاصة:

شملت الدراسة٢٤ مريض مقارنة ب١٦ من الاصحاء اظهرت النتائج ارتفاع معنوي في مستوى البين ابيضاض ١٠ عند المصابين (148.75±13.14 بيكو غرام / مل) مقارنة بالاصحاء (96.68±4.14 بيكو غرام/ مل)كذلك لوحظ انخفاض في مستوى كريات الدم الحمراء RBC عند المصابين (10e6/ul 3.68±0. 21) مقارنة بالاصحاء (10e6/ul 4.64 ±0.17) وانخفاض نسبة الهيموكلوبين عند المصابين (g/dl 10.54 ±0.22) مقارنة بالاصحاء (11.34± 0.19 g/dl) وانخفاض مضغوط كريات الدم الحمراء PCV عند الاطفال المصابين(32.44± 0.49)مقارنة بالاصحاء (35.47± 0.17) . من هذا نستنتج ان البين ابيضاض ١٠ له دور كبير في الاستجابة المناعية ضد الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج كذلك ان الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج تؤثر على مستوى RBC,Hb,PCV .

المقدمة:

تنتشر الإصابة بالأميبا الحالة للنسج في جميع انحاء العالم وترتفع نسبة الإصابة في المناطق الأستوائية وشبه الأستوائية وكذلك في المناطق ذات المستوى الصحي والثقافي المتدني (1). يستوطن الطفيلي الأمعاء الغليظة ويظهر في الغائط بعدة أشكال هي الطور المتغذي او الناشطة trophozoite والطور المتكيس cyst أو المعدي infective stage تحدث الإصابة بالاميبا الحالة للنسيج عند التصاق الأطوار المتغذية بالطبقة الظهارية للأمعاء الغليظة اذ تمتلك هذه الأطوار عوامل الضراوة factors virulence مثل عامل الالتصاق Lectin الذي يساعد الطفيلي على الالتصاق بخلايا العائل وكذلك امتلاكه ألإنزيم المحلل للبروتينات الخارجية cystein proteinase الذي

يحلل الخلايا فضلا عن احتوائه على الثقوب الأميبية التي تنشئ ثقوبا في سطوح الخلايا والإنزيم المحلل للدهون phospholipase والإنزيم المحلل لكريات الدم الحمر hemoglobinase اللذين يعدان من عوامل الضراوة المهمة التي تنتجها الاميبا الحالة للنسج (2) .تحفز الإصابة بالطفيلي الاستجابة المناعية الطبيعية للعائل فالإنزيمات الحالة والمواد المخاطية التي تفرزها الاغشية المخاطية المبطنة للجهاز الهضمي وحركة الأمعاء والبيئة الحامضية للمعدة تعد من وسائل الدفاع الطبيعية التي يبديها الجسم ضد الطفيلي (٣) . إن اختراق الطور المتغذي للنسيج المعوي للعائل يحفز تكوين استجابة مناعية خلوية إذ ان محاولة الطفيلي الألتصاق بالخلايا الظهارية المبطنة للأمعاء الغليظة يحث عملية الالتهاب Inflammation ومن ثم تحفيز هذه الخلايا على إنتاج وتحرير حركيات خلوية cytokines مثل البين ابيضاض ١٠(IL-10) الذي يعمل بوصفه منظما والبين ابيضاض ٨ (IL-8) والبين ابيضاض ١(IL-1) وكذلك عامل النخر الورمي (TNF-α) Tumor Necrosis Factor وانترفيرون كاما(IFN-gamma) وهذه الحركيات تعمل بوصفها عوامل قبل التهابية proinflamatory , للخلايا المناعية للوصول إلى منطقة الألتهاب كالخلايا البلعمية والخلايا ألعدلة والخلايا وحيدة النواة اذ تقوم هذه الخلايا بمهاجمة الطفيلي وابتلاعه وهظمه (4). يعد IL-10 من الحركيات الخلوية المضادة للالتهابات (Anti-inflammatory). ينتج البين ابيضاض ١٠ من الخلايا التي لها دور في المناعة المكتسبة adaptive immune مثل Th1,Th2,Treg,CD8 and B Cells وكذلك ينتج من الخلايا التي لها دور في المناعة المتأصلة Innate immune مثل الخلايا الشجيرية DC والخلايا القاتلة الطبيعية NK والخلايا البلعمية Macrophage والخلايا البدينة mast cells والخلايا العدلة neutrophils والخلايا الحمضة eosinophils لذلك فأن انتاج البين ابيضاض ١٠ من خلايا مناعية مختلفة يوضح الدور التنظيمي المهم الذي يؤديه هذا الحركي اذ يؤدي دورا مهما في تحديد وتنظيم الاستجابة المناعية اذ اشارت بعض الدراسات الى ان البين ابيضاض -١٠ يعد متعددالاتجاهات pleiotropic و يعمل منظما يحافظ على التوازن في الاستجابة الالتهابية (٥،٦). صممت الدراسة الحالية بهدف تقييم مستوى البين ابيضاض ١٠ بطريقة ELISA ودراسة بعض التغيرات الدموية في المرضى الاطفال العراقيين المصابين بالاميبا الحالة للنسيج .

المواد وطرائق العمل :

١-جمع العينات المرضية

تم جمع ٢٤ عينة دم من المرضى الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج تتراوح اعمارهم بين (٢-٦) سنوات وتم اختيار ١٦ من الاطفال الاصحاء كعينات سيطرة . اعتمد التشخيص على الفحص العام للخروج الفحص العياني ويشمل لون البراز, القوام, وجود الدم او المخاط وكذلك الفحص المجهري بعمل مسحة من عينة الخروج والتعرف على طور trophozoit or cyst في عينة الخروج .

٢-الاختبارات المناعية

تم جمع ٣ مل عينة دم من كل طفل مصاب ووضعت في انابيب خالية من المادة المانعة للتخثروتركت ربع ساعة في درجة حرارة الغرفة ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي لغرض فصل المصل عن الدم تم فصل المصل وقسم الى قسمين ووضع كل قسم في انابيب ابندروف وتم خزنها بدرجة -٢٠ لحين الاستعمال لاجراء الاختبارات المناعية .

٣-الاختبارات الدموية

تم اخذ ٢ مل عينة دم من كل مريض ووضعت في انابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر وتم اجراء الاختبارات الدموية باستعمال جهاز روبي الخاص بالاختبارات الدموية حيث تم استخراج RBC,Hb,PCV .

٤-التحليل الاحصائي

تم قياس مستوى الانترلوكينات بطريقة ELISA KIT وتم التعبير عن النتائج احصائيا بطريقة (X±SE) mean± standard Error وباستخدام التحليل T- test.

النتائج :

بعد التحليل الاحصائي للنتائج اظهرت النتائج مايلي :

١-وجود زيادة معنوية في معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض IL-10 عند المصابين الاطفال(13.14±148.75 بيكو غرام/مل) مقارنة بالاصحاء (4.14±96.68 بيكو غرام/ مل) (الاحتمالية P<0.05). وكما موضح بالجدول(١)

٢- ظهر انخفاض معنوي في مستوى كريات الدم الحمر في فئة المصابين الاطفال (0. 21±3.68) 10e6/ul) مقارنة بالاصحاء(0.17 ±4.64 10e6/ul) الاحتمالية P<0.05

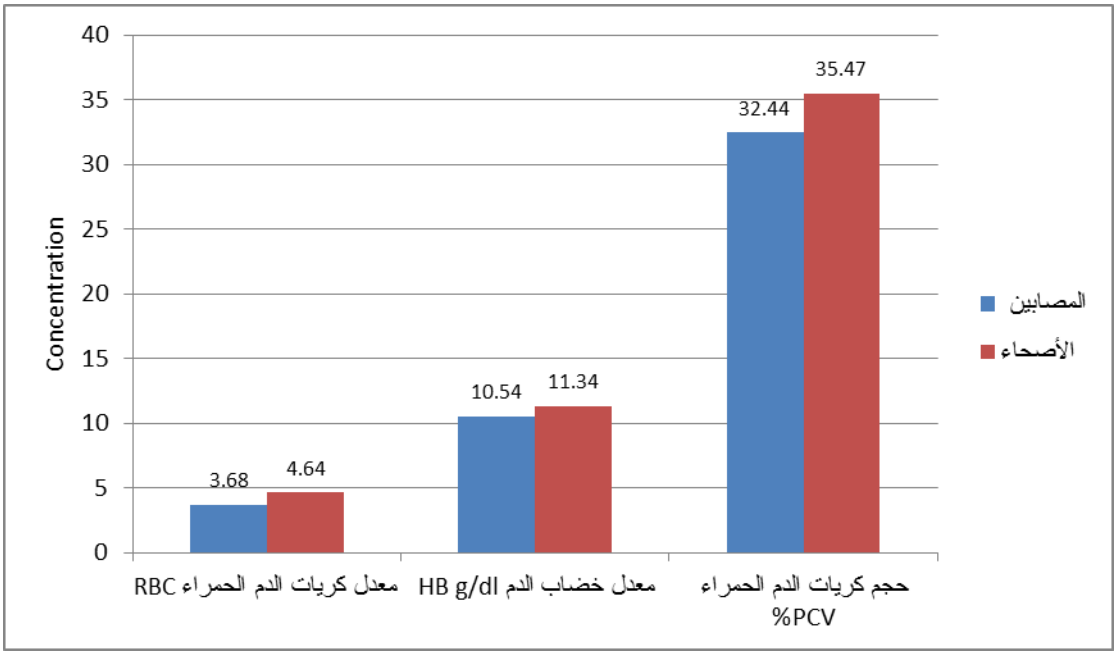
٣-ظهر انخفاض معنوي في مستوى خضاب الدم Hb في فئة المصابين الاطفال (g/dl 0.22 ±10.54) مقارنة بالاصحاء (0.19 ±11.34 g/dl) الاحتمالية P<0.05

٤-ظهر انخفاض معنوي في مضغوط كريات الدم الحمر PCV في فئة المصابين الاطفال (0.49 ±32.44)مقارنة بالاصحاء (0.17 ±35.47)الاحتمالية P<0.05 وكما موضح بالشكل (١) .

الجدول(١): معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض – ١٠ في المرضى المصابين بالاميبا الحالة للنسيج والاصحاء من فئة الاطفال .

الحركيات الخلوية	المعدل(بيكوغرام/ مل) ± الخطأ القياسي		قيمة T-test
	المصابين(٢٤)	الاصحاء (١٦)	
بين ابيضاض ١٠	13.14±148.75	4.14±96.68	*42.33

*الاحتمالية p<0.05 معنوي



شكل (١) تأثير الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج في بعض المعايير الدموية في فئة الاطفال

المناقشة:

١- البين ابيضاض- ١٠ (IL-10)

تشير النتائج التي تم التوصل اليها من خلال قياس معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض-١٠ (IL-10) لمجموعة الاطفال الى وجود ارتفاع واضح في معدل تركيز هذا العامل لمجموعة المصابين قياسا بما هو عليه في مجموعة السيطرة اتفقت النتيجة مع (٧) وتختلف مع (8) , اذ اشارت بعض الدراسات الى ان التوازن بين pro inflammatory cytokine وanti-inflammatory المنتجة بوساطة خلايا macrophage و Monocyte ينظم الاستجابة المناعية المتأصلة وهو مهم للاستقرار المناعي اذ اشارت بعض الدراسات الى ان قلة تنظيم الاستجابة المناعية المتأصلة يكون مؤذيا اوضارا للمضيف في حالة الاصابة بأي ممرض لذلك فأن IL-10 هو بين ابيضاض يحافظ على التوازن والاستقرار المناعي من خلال السيطرة على وظيفة خلية macrophage ومن خلال تثبيطه لنشاط NF-KB (العامل المسؤول عن التعبير الجيني للحركيات الخلوية cytokine)وتثبيطه لتصنيع TLR (مستقبلات على سطوح الخلايا) ويمنع نشاط خلايا البلعمة ويحدد تفاقم الاستجابة المناعية فيمنع تلف النسيج واستمرار الالتهاب (٩) كذلك يعمل IL-10 على التحفيزعلى انتاج المادة المخاطية Mucin بوساطة الخلايا الكأسية goblet cell في الطبقة الظهارية epithelium layer من الامعاء فيمنع بذلك من التصاق الطور الخضري trophzoite في الطبقة الظهارية اذ لوحظ في الفئران التي لديها نقص فيIL-10 ان الخلايا الظهاريةepithelium cell غير قادرة على انتاج mucin الذي هو مركب اساسي للحد من التصاق الاميبا بالامعاء (١٠) .

٢- الاختبارات الدموية:

تشير نتائج الدراسة الى انخفاض قيمة Hb,PCV,RBC عند الاطفال المرضى مقارنة بالسيطرة و هذه النتيجة تتفق مع ماتوصل اليه (١١) و (١٢) ويعزى ذلك الى كون الطفيلي يعتمد في تغذيته على التهام خلايا الدم الحمرTrouph Haematophogous مما يسبب نقص اعدادها عند المخمجين بداء الاميبات المعوي(١٣) .ان اغلب المخمجين هم من الطبقات الفقيرة التي تعيش في اسر كبيرة وذات مستوى معيشي متدني ومن ثم اعتمادهم بالتغذية على وجبات غذائية فقيرة بالبروتينات والحديد والفيتامينات اذ تؤدي هذه المواد دورا مهما في تصنيع مكونات الدم

(14,15) فضلا عن ذلك فأن الاسهال المتسبب من جراءالاصابة بالطفيلي يسبب فقدان السوائل فضلا عن خروج الدم مع الغائط المتسبب من جراء الاصابة بالطفيلي مما يؤدي حدوث فقر الدم.

الاستنتاجات:

اظهرت الدراسة زيادة معنوية في مستوى البين ابيضاض -١٠ عند المرضى المصابين بالاميبا الحالة للنسيج كذلك ظهر انخفاض معنوي في نسبة RBC,Hb.PCV من هذا نستنتج ان البين ابيضاض -١٠ يلعب دورا مهما في الاستجابة المناعية ضد الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج وان الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج عند الاطفال تسبب فقر الدم نتيجة انخفاض مستوى RBC,Hb.

المصادر:

1-Pham , P.; Nguyen, H.; Hattendorf, J.; Zinsstag, J.; Dac Cam, P.and Odermatt, P. (2011). Risk factors for *Entamoeba histolytica* infection in an agricultural community in Hanam province, Vietnam. Parasit Vectors, **4:102-110**

2-Devendra, B.; Patrick, A.; Sophie, K.; Pascal, F.; Olivier, B.and Anne, C. (2010). An ex-vivo Human Intestinal Model to Study *Entamoeba histolytica* Pathogenesis. PLoS .Dol : **10:1371**

3-Shannon, N.; Moonah, N.; and William, A. (2013). Host Immune Response to Intestinal Amebiasis. PLOS Pathoge. **(9) : ٧١- 85**

4-Mortimer, L. and Chadee, K. (2010). The immunopathogenesis of *Entamoeba histolytica*. Exp. Parasitol , **126 (3) : 336-380**

5-Saraiva,M. and O Garra , A. (2010).The regulation of IL-10 production by immune cells. Immunology,**10:1038-2711**

1- 6-Enoch,B. and Ashley,T.(2013).Interleukin 10 (IL-10) regulation cytokine and its clinical consequences. Clin & Cell Immunology, **(10):170-182**

7-Isabel, W.; Marcela, A.; Ismael, M.; Itzmel, R.; Lourdes, A.; Eduardo, F.; Constantino, L.; and Armando, I. (2010). The Role of Lipopeptido phosphoglycan in the Immune Response to *Entamoeba histolytica* Biomed & Biotechnol, Articale ID **254521,12 Page**

8-Garcia,Z.; Rojas,L.; Esquivel,V.; and Ostoa,S.(2007).Regulation of the inflammatory immune response by the cytokine/ chemokine network in amoebiasis.Parasite Immunol. Articale Dol : **10: 136-148**

9-Carey,A.;Tan,C. and Ulett,G.(2012).Infection-Induced IL-10 and JAK- STAT.Jak-Stat,1**(3):159-167**

10-Shinjiro,H.; Amon,A.; Suzanne, E.; Thomas,A.; Edward,H.; and Eric, H. (2006).Resistance of C57BL/6 mice to Amoebiasis is Mediated by nonhemopoietic cell but requires hemopoietic IL-10 production .American Association of Immunologists, **177: 1208-1213**

١١- **الموزان ،هناء دعاج خلف (٢٠١١)**. دراسة الاصابة بالطفيليات المعوية وعلاقتها ببعض معايير الدم لدى اطفال من محافظة ذي قار .رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات،جامعة بغداد. ص ٧٦

١٢- **العبادي ، اريج عطية حسين (٢٠٠٥)**. دراسة طفيلية و مناعية للأوالي - المعوية*Entamoeba histolytica Giardia lambila* في بغداد . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد . ص ٨٦

13-Ackers,J. (2002). The diagnostic implication of separation of *Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar.* Bio. Sci. **27(6):373-578**

14-Zakai, H. A. (2007). Level of Awareness about Parasitic Disease among Students , Jeddah , Saudi Arabia . J.K.A.U. Med. Sci. **14 (2) : 37 – 47**

15-Mondal, D.; Minak, J.; Alam ,M.; Liu ,Y.and Dai, J.; (2012). Contribution of enteric infection, altered intestinal barrier function, and maternal malnutrition to infant malnutrition in Bangladesh. Clin Infect Dis **54: 185–192**

Study of IL-10 level and some hematological changes in children infected with *Entamoeba histolytica*

Raghad kwater mieh

Abstracte:

This study enrolled 24 patients compaired with16 control . the result showed significantly increased levels of IL-10 in patients(148.75±13.14) pg/ml compared with control (96.68±4.14) and we observed there were decrease levels of RBC in patients (10e6/ul 3.68±0.21) compared with control(10e6/ul 4.64 ±0.17),and decrease level of Hb in patient (10.54 ±0.22 g/dl) compared with control (11.34 ±0.19 g/dl) and decrease level of PCV in patients 32.44 ±0.49 compared with control 35.47 ±0.17 . We conclude that IL-10 have a role in the defence against *Entamoeba histolytica* infection and infected with *Entamoeba histolytica* affecte on levels of RBC,Hb & PCV.