

دراسة مستويات الحركيات الخلوية : انترليوكين $IL-1\beta$ وانترليوكين $IL-2$ وانترليوكين $IL-4$ وانترليوكين $IL-6$ والانترفيرون γ كما $INF-\gamma$ في مصول النساء

المطاببات بداء المقوسات

احمد محمد الموسوي

جامعة بابل - كلية طب الاسنان

ماهر علي القرشي

جامعة بابل - كلية العلوم

الخلاصة

تم جمع وفحص ١٥٠ عينة مصل موجبة للضداد IgG و IgM المتخصصة بطفيلي داء المقوسات *Toxoplasma gondii* للنساء الحوامل والمجهضات المصابات وغير المصابات بالسكري في محافظة بابل خلال المدة بين تموز ٢٠١٠ وآب ٢٠١١ وتم تقدير مستويات الحركيات الخلوية (الانترفيرون γ كما $INF-\gamma$ ، الانترليوكين ١ بيتا ، الانترليوكين ٢ الانترليوكين ٤ ، الانترليوكين ٦) في هذه المصول وظهرت زيادة معنوية بتركيزها عند مستوى الاحتمالية (٠,٠٥) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يؤكد دورها في الاستجابة المناعية ضد الطفيلي التي تتمثل بتنشيط الفعالية البلعمية ضد الطفيلي وانتاج الاجسام المضادة .

الكلمات المفتاحية: داء المقوسات، الاجسام امضادة.

Abstract :

150 serum samples positive for specific Toxoplasmosis IgG and IgM antibodies were collected and examined from pregnant and abortive diabetic and non diabetic women in Babylon province During period between July 2010 and August 2011. In this study cytokines levels were determined (Interferon gamma $INF-\gamma$, Inteleukin 1β , Inteleukin 2, Inteleukin 4 and Inteleukin 6) in sera . significant increasing showed up in their concentrations at probability (0.05) in compare with control group that ensure their role in immune response against parasite that represented macrophage activation for parasite and antibody production .

Keywords: *Toxoplasma gondii*, antibody production.

المقدمة

المقوس الكونيدي *Toxoplasma gondii* هو طفيلي ابتدائي سبوري يصيب الحيوانات ذات الدم الحار ومنها الإنسان وهو واسع الانتشار في العالم ويتطفل بشكل اجباري داخل الخلية (Joynson and Wreghitt , 2001) .

وعند حدوث إصابة للنساء بهذا الطفيلي في فترة الحمل وانتقاله إلى الجنين عن طريق المشيمة يسبب خطراً على الجنين يكمن بحدوث إسقاطه أو موته داخل الرحم ، كما ان إصابة المشيمة يعد سببا اساسيا في تسهيل عبوره إلى الجنين ويزداد انتقال المرض من الأم إلى الجنين مع تقدم عمر الحمل (Zhou *et al.*, 2011; Dubey, 2010) .

بدأ العالمان Sabin و Feldman بدراسة الاستجابة المناعية ضد طفيلي داء المقوسات عام ١٩٤٨م واكتشفا الاجسام المضادة لتثبيت المتمم Complement fixation antibodies التي تقاوم الطفيليات خارج الخلية واكتشفا طريقة لتشخيص الأجسام المضادة في المصل وهي اختبار صبغة Sabin- Feldman (Lambert, 2009).

في الاستجابة المناعية ضد الطفيلي هناك شبكة من الحركيات الخلوية Cytokines التي تشترك في تنظيم ونمو الخلايا المناعية وللخلايا للمفاوية التائية الدور السائد في هذه الشبكة إذ تعد المصدر الرئيس للعديد من هذه الحركيات (Abbam, 2009).

تقوم خلايا التائية للمفاوية الموجبة من نوع CD4 و CD8 بانتاج الانترفيرون كما (IFN- γ) بصورة طبيعية وكذلك تنتجها الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) التي تنشط عند بداية الاصابة من خلال تحفيز الخلايا الشجيرية (DC) والخلايا البيض العدلة للانتاج المبكر للانترليوكين ١٢ (IL-12) الذي يحث الخلايا القاتلة الطبيعية على انتاج الانترفيرون كما (IFN- γ) ويتم انتاجه بتركيز عالية من قبل الخلايا التائية للمفاوية خلال الاصابة المزمنة بالمقوسات لمنع اعادة تنشيط الكيس النسجي للطفيلي ويحفز خلايا البلعم الكبير لتقديم المستضد Antigen presentation ويزيد من فعالية الجسيمات الحالة في خلايا البلعم الكبير ويحفز فعالية الخلايا القاتلة الطبيعية ويثبط فعالية الخلايا للمفاوية التائية المساعدة نوع (Th2) وكذلك تنتج الانترليوكين ٢ (IL-2) الخلايا التائية للمفاوية الموجبة من نوع CD4 وهو يعمل على تحفيز انتاج الانترفيرون كما (IFN- γ) من الخلايا التائية للمفاوية الموجبة من نوع CD8 ولكلا من (IL-12) و (IFN- γ) اهمية اساسية في توليد مقاومة المضيف ضد طفيلي داء المقوسات وبذلك يكون للمناعة الخلوية دور في السيطرة على الاصابة (Abbam, 2009 ; Wille and Hunter, 2003).

هدفت الدراسة الحالية

الى تحديد تراكيز بعض الحركيات الخلوية في النساء الحوامل والمجهضات المصابات بداء المقوسات وفي النساء الحوامل والمجهضات المصابات بداء المقوسات والمصابات بالسكري .

المواد وطرائق العمل

تم جمع ١٥٠ عينة مصل من نساء حوامل وغير حوامل ومجهضات مصابات وغير مصابات بالسكري اللاتي راجعن مستشفى بابل للنسائية والأطفال ومستشفى الحلة التعليمي ومختبر الصحة العامة ومراكز الرعاية في محافظة بابل . تم تقدير مستويات الحركيات الخلوية : انترليوكين β ١ و 2 و 4 و 6 و الانترفيرون كما (INF- γ) بطريقة الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) اليزا للحالات الموجبة للاضداد المتخصصة بطفيلي داء المقوسات للانواع IgM و IgG و IgM & IgG معا بعد فحصها باستعمال عدتين فحص هما Foresight Toxoplasma IgM EIA و Foresight Toxoplasma IgG EIA للكشف عن الاضداد المتخصصة بطفيلي داء المقوسات نوع IgM و IgG وتم استعمال العدة المصنعة من شركة Enzo-Life Science لقياس تركيز β ١-IL والعدين المصنعة من شركة eBioscience لقياس تركيز كلا من IL-2 و IL-4 وباستعمال العدتين المصنعة من شركة Neogen تم قياس تركيز كلا من IL-6 و INF- γ وتم القياس حسب تعليمات الشركات المصنعة لهذه العدد .

أجريت التحليلات الاحصائية على النتائج باستعمال اختبار (t-test) للمقارنة مع النسب الطبيعية للمعدلات والانحرافات المعيارية (Mean \pm S.D.) عند مستوى معنوية (٠,٠٥) (Walker and Shostak, 2010).

النتائج

وكانت نتائج قياس تركيز الانترليوكين β 1-IL في الجدول (١) تؤكد وجود اعلى تركيز (12.31 \pm 1.2) بيكوغرام/مل عند النساء المجهضات من الحالات الموجبة للاضداد IgM&IgG معا

والارتفاع معنويًا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة غير المصابات بداء المقوسات عند مستوى الاحتمالية (0.05). وفي الحالات الموجبة للضد IgG للنساء الحوامل كان ادنى تركيز وهو (5.64 ± 0.7) بيكوغرام/مل.

جدول (١) : تراكيز الانترليوكين 1β- IL (بيكوغرام/مل) بحسب الإصابة بداء المقوسات .

العينات (n=5)	الحالات الموجبة IgG	الحالات الموجبة IgM	الحالات الموجبة IgM & IgG	مجموعة السيطرة (غير مصابات)
النساء الحوامل	5.64 ± 0.7	* 7.21 ± 1.2 P=0.0412	6.72 ± 4.4	5.7 ± 0.7
النساء الحوامل المصابات بالسكري	5.83 ± 1.6	* 6.73 ± 0.4 P=0.0001	* 6.23 ± 0.3 P=0.0001	4.93 ± 0.2
النساء المجهضات	11.1 ± 0.6	9.41 ± 0.5	* 12.31 ± 1.2 P=0.0494	10.24 ± 1.6
النساء المجهضات المصابات بالسكري	6.81 ± 0.4	* 8.35 ± 1.9 P=0.0444	* 7.92 ± 0.8 P=0.0099	6.11 ± 0.9

* فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة باستعمال اختبار t عند مستوى احتمالية (0.05).

من الجدول (٢) اتضح ان اعلى تركيز للانترليوكين 2-IL هو 8.12±3.4 بيكوغرام/مل لدى النساء المجهضات وادنى تركيز 4.32 ± 0.5 بيكوغرام/مل للنساء الحوامل المصابات بالسكري في الحالات الموجبة للضد IgG ولم يكن الارتفاع معنويًا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة غير المصابات بداء المقوسات عند مستوى الاحتمالية (0.05).

جدول (2) : تراكيز الانترليوكين 2- IL (بيكوغرام/مل) بحسب الإصابة بداء المقوسات .

العينات (n=5)	الحالات الموجبة IgG	الحالات الموجبة IgM	الحالات الموجبة IgM & IgG	مجموعة السيطرة (غير مصابات)
النساء الحوامل	4.82 ± 0.6	* 7.95 ± 1.8 P=0.0033	* 7.82 ± 2.2 P=0.0112	4.54 ± 0.4
النساء الحوامل المصابات بالسكري	4.32 ± 0.5	5.88 ± 1.2	5.35 ± 1.8	5.06 ± 0.8
النساء المجهضات	8.12 ± 3.4	7.68 ± 2.1	8.01 ± 3.3	7.9 ± 1.4
النساء المجهضات المصابات بالسكري	5.71 ± 1.5	8.1 ± 1.2	6.8 ± 2.7	6.67 ± 1.9

* فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة باستعمال اختبار t عند مستوى احتمالية (0.05).

يبين الجدول (3) ان اعلى تركيز للانترليوكين 4-IL هو 15.2±6.0 بيكوغرام/مل الحالات الموجبة للضد IgM&IgG معاً للنساء المجهضات والارتفاع معنويًا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة غير

المصابات بداء المقوسات عند مستوى الاحتمالية (0.05). وكان ادنى تركيز 5.88 ± 1.2 بيكوغرام/مل في الحالات الموجبة للضد IgM للنساء الحوامل المصابات بالسكري .

وتبين من نتائج الجدول (4) ارتفاع تركيز الانترليوكين IL-6 للأعلى مستوى له 188.42 ± 14.3 بيكوغرام/مل في الحالات الموجبة للضد IgM للنساء المجهضات وهذا الارتفاع معنوي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة غير المصابات بداء المقوسات عند مستوى الاحتمالية (0.05).

جدول (3) : تراكيز الانترليوكين 4 - IL (بيكوغرام/مل) بحسب الإصابة بداء المقوسات .

العينات (n=5)	الحالات الموجبة IgG	الحالات الموجبة IgM	الحالات الموجبة IgM & IgG	مجموعة السيطرة (غير مصابات)
النساء الحوامل	7.1 ± 0.5	9.9 ± 1.8 P=0.0085	8.82 ± 1.2 P=0.0152	6.91 ± 0.7
النساء الحوامل المصابات بالسكري	6.8 ± 3.1	5.88 ± 1.2	6.35 ± 1.8	7.13 ± 1.3
النساء المجهضات	13.91 ± 0.8	14.74 ± 9.3	15.2 ± 6.0 P=0.0274	13.03 ± 1.7
النساء المجهضات المصابات بالسكري	9.2 ± 1.2	8.74 ± 1.1	7.12 ± 3.1	7.84 ± 2.6

* فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة باستعمال اختبار t عند مستوى احتمالية (0.05).

جدول (4) : تراكيز الانترليوكين 6 - IL (بيكوغرام/مل) بحسب الإصابة بداء المقوسات .

العينات (n=5)	الحالات الموجبة IgG	الحالات الموجبة IgM	الحالات الموجبة IgM & IgG	مجموعة السيطرة (غير مصابات)
النساء الحوامل	125.84 ± 14.9 P=0.0112	145.16 ± 13.4 P=0.0002	137.33 ± 18.3 P=0.0036	101.64 ± 7.1
النساء الحوامل المصابات بالسكري	128.22 ± 12.7	143.68 ± 9.8 P=0.0399	138.73 ± 21.5	131.36 ± 5.5
النساء المجهضات	169.21 ± 13.6	188.42 ± 14.3 P=0.0395	173.54 ± 32.1	167.83 ± 12.1
النساء المجهضات المصابات بالسكري	168.54 ± 17.5 P=0.044	161.77 ± 10.2 P=0.0481	153.9 ± 15.1	147.38 ± 9.3

* فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة باستعمال اختبار t عند مستوى احتمالية (0.05).

بلغ اعلى تركيز للانترليوكين γ -INF (14.6 ± 1.1) بيكوغرام/مل لدى النساء الحوامل المصابات بداء المقوسات والموجبات للاضداد IgM&IgG معا وكان الارتفاع معنويا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

غير المصابات بداء المقوسات عند مستوى الاحتمالية (0.05). وكان اقل تركيز هو (7.12±3.1) بيكوغرام/مل للنساء الحوامل المصابات بالسكري والموجبات للضد IgG (الجدول 5).
 جدول (٥) : تراكيز الانترليوكين γ - INF (بيكوغرام/مل) بحسب الإصابة بداء المقوسات .

مجموعة السيطرة (غير مصابات)	الحالات الموجبة IgM & IgG	الحالات الموجبة IgM	الحالات الموجبة IgG	العينات (n=5)
7.77 ±0.8	* 14.6 ±1.1 P=0.0001	* 11.1 ±2.4 P=0.0186	8.16 ±0.5	النساء الحوامل
6.85 ±0.6	* 10.2 ±0.3 P=0.0001	* 7.93 ±0.4 P=0.0101	7.12 ±3.1	النساء الحوامل المصابات بالسكري
12.06 ±1.7	11.31 ±3.8	* 13.9 ±0.6 P=0.049	10.37 ±2.5	النساء المجهضات
9.22 ±0.4	10.13 ±4.1	9.65 ±3.9	* 8.31 ±0.7 P=0.0356	النساء المجهضات المصابات بالسكري

* فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة باستعمال اختبار t عند مستوى احتمالية (0.05).

المناقشة

ظهرت زيادة معنوية في تركيز الانترليوكين β 1-IL بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في الحالات الموجبة للضد IgM للنساء الحوامل والنساء الحوامل والمجهضات المصابات بالسكري وظهر في مصلى النساء الموجب للضداد IgG و IgM معا زيادة معنوية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للنساء المجهضات والنساء الحوامل والمجهضات المصابات بالسكري وازداد تركيزه في كل حالات النساء المجهضات ، وبعد الانترليوكين ١ بيتا من الساييتوكينات التي يتم افرازها في مراحل الالتهاب الاولى Proinflammatory في المصابين وغير المصابين بالسكري (Rich *et al.*, 2008; Navarro and Mora, 2005) .
 ولاحظ (Dimier and Bout (1993) وجود تأثير تآزري للانترليوكين ١ بيتا مع عامل النخر الورمي نوع الفا TNF- α في منع تكاثر ونمو طفيلي داء المقوسات خارج الجسم *In vitro* . ويزداد تركيزه عند النساء الحوامل المصابات بالسكري (Kaštelan *et al.*, 2010)
 وعند قياس تركيز الانترليوكين IL-2 كانت هناك زيادة معنوية في تركيزه في حالات الاصابة الحادة والمزمنة لدى النساء الحوامل بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ولم تكن الزيادة معنوية عند النساء المجهضات المصابات بالسكري وازداد تركيزه في كل حالات النساء المجهضات.
 وللانترليوكين ٢ دور في مراحل الالتهاب الاولى Proinflammatory فيعمل على تحفيز انتاج الانترفيرون كما γ - INF (Abbam, 2009; Wille and Hunter, 2003) . وقد اثبت Ahmed (2009) وجوده بتراكيز عالية لدى النساء المجهضات المصابات بطفيلي داء المقوسات.
 ازداد تركيز الانترليوكين IL-4 معنويا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في الحالات الموجبة للضد IgM للنساء الحوامل وللضداد IgG و IgM معا للنساء الحوامل والمجهضات وقد ازداد تركيزه في كل حالات النساء المجهضات. ويتم انتاجه بتاثير زيادة تركيز الانترليوكين ٥ (IL-5) نتيجة الاصابة بالطفيلي إذ

يعمل بدوره على تحفيز الخلايا للمفاوية المساعدة نوع Th2 على انتاج الانترليوكين ٤ ، ويعمل الانترليوكين ٤ بشكل تآزري مع الانترليوكين ٢ لتحفيز الخلايا للمفاوية البائية B-lymphocyte للانتاج الاجسام المضادة (Matowika-Karna *et al.*, 2009; Nickdel *et al.*, 2001). وقد اكد (Al-Greti, 2008) انخفاض تركيز الانترليوكين ٤ عند مرضى السكري بالمقارنة مع مجموعة السيطرة من الاصحاء . نلاحظ وجود زيادة معنوية في تركيز الانترليوكين ٦ (IL-6) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للحالات الموجبة للضد IgM عند النساء الحوامل والمجھضات المصابات وغير المصابات بالسكري وفي الحالات الموجبة للضد IgG للنساء الحوامل والنساء المجھضات المصابات بالسكري وازداد معنويا عند النساء الحوامل الموجبات للاضداد IgG و IgM معا ، وازداد تركيزه في كل حالات النساء المجھضات . ويعمل الانترليوكين ٦ على تحفيز انتاج الاجسام المضادة وبروتينات الطور الفعال ويزداد تركيزه بالاصابة بطفيلي داء المقوسات (Matowika-Karna *et al.*, 2009). ويزداد انتاجه عند مرضى السكري (Pickup,2004; Pradhan *et al.*, 2001) . نلاحظ ارتفاعا معنويا في تركيز الانترفيرون كما INF- γ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في الحالات الموجبة للضد IgM وللاضداد IgG و IgM معا للنساء الحوامل المصابات وغير المصابات بداء السكري وفي النساء المجھضات الموجبات للاضداد IgG و IgM معا وظهر ان هناك انخفاضا معنويا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة للنساء المجھضات المصابات بالسكري نوات المصل الموجب للضد IgG وازداد تركيزه في كل حالات النساء المجھضات ، ويعمل الانترفيرون كما على تحفيز خلايا البلعم الكبير لابتلاع وقتل الطفيلي ويتم انتاجه من الخلايا القاتلة الطبيعية NK والخلايا الشجرية DC وخلايا الدم البيض العذلة (Rich *et al.*, 2008). وينخفض تركيزه في مرضى السكري نتيجة اختلال وظائف الخلايا للمفاوية التي تقوم بافرازه (Al-Greti,2008; Plouffe *et al.*, 1978). وأكدت (Abdul Mohymen and Hussain (2008) زيادة تركيز الانترفيرون كاملا لدى النساء المجھضات .

المصادر

- Abbam, A. M. 2009** . Circulating levels of interferon – gamma and interleukin – 10 in HIV – infected patients undergoing herbal therapy. M.Sc. Thesis, Coll. Health Sci. Kwame Nkrumah University of Science and Technology 83 pp.
- Abdul Mohymen, N.and Hussien, A. 2008**. Detection of IL-10, INF- γ and IL-8 in sera of patients with recurrent spontaneous abortion . Iraqi, J. Med. Sci., 6(2) : 58-65.
- Ahmed, M. A. 2009**. Evaluation of IL-2, IL-8, IL-10 and VEGF mRNA expression in trophoblastic tissue of women with spontaneous miscarriage infected by *Toxoplasma gondii* . M.Sc. Thesis , Coll. Med. Al-Nahrain Univ.
- Al-Greti,S.H.H. 2008** Bacteriological and immunological study of bacteremia in diabetic patients at Kerbala city . M.Sc. Thesis , Coll. Med. Babylon Univ.
- Dimier, I. H. and Bout,D.T. 1993**. Co-operation of interleukin- β and tumour necrosis factor- α in the activation of human umbilical vein endothelial cells to inhibit *Toxoplasma gondii* replication . Immunol., 79:336-338.
- Dubey, J. P. 2010**. Toxoplasmosis of animals and humans 2nd edn., CRC Press , USA : 318 pp.

- Joynson, D. H. M. and Wreghitt, T. G. 2001.** Toxoplasmosis a comprehensive clinical guide, Cambridge Univ. Press, Edinburgh : 395 pp.
- Kaštelan, S.; Tomić, M.; Pavan, J. and Orešković, S. 2010** Maternal immune system adaptation to pregnancy - a potential influence on the course of diabetic retinopathy . *Reprod Biol Endocrin.*, 8:124.
- Lambert, H. 2009** . Immune evasion and dissemination of *Toxoplasma gondii*. Ph. D. Thesis, Karolinska Institute , Stockholm , Sweden.
- Matowicka-Karna, J.; Dymicka-Piekarska, V. and Kemon, H. 2009.** Does *Toxoplasma gondii* infection affect the levels of IgE and cytokines (IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, and TNF-alpha)? . *Clin. Dev. Immun.* Volume 2009, Article ID 374696, 4 pages.
- Navarro, J. F. and Mora, C. 2005.** Role of inflammation in diabetic complications . *Nephrol. Dial. Transplant* ., 20: 2601–2604 .
- Nickdel, M.B.; Roberts, F., Brombacher, F.; Alexander, J. and Roberts, C.W. 2001.** Counter-Protective role for interleukin-5 during acute *Toxoplasma gondii* infection. *Infect. Immun.*, 22; 117-23.
- Pickup, J. C. 2004.** Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes . *Diabetes Care* ., 27(3): 813-823.
- Plouffe, J. F.; Silva, J.; R. J.,; Fekety, R. and Alien, J. L. 1978** . Cell-Mediated Immunity in Diabetes Mellitus. *Infect. Immun.* , 21(2) : 425-429 .
- Pradhan, A. D. ; Manson, J. E. ; Rifai, N. ; Buring, J. E. and Ridker, P. M. (2001)** . C-Reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Am. Med. Asso.* , 286(3) : 327-334.
- Rich, R. R.; Fleisher, T. A. ; Shearer, W. T.; Schroeder Jr., H. W.; Frew, A. J. and Weyand, C. M. (2008)** . Clinical immunology principles and practice . 3rd edn. , Elsevier ., China : 1578 pp.
- Walker, G. A., and Shostak, J. 2010.** Common statistical methods for clinical research with SAS Examples, 3rd edn. , SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA. 539pp.
- Wille, U. and Hunter, C. A. 2003.** Cytokines in the regulation of innate and adaptive immunity to *Toxoplasma gondii* . In : Kotb, M. and Calandra, T. (Eds.) .Cytokines and chemokines in infectious diseases handbook. Humana Press ., New Jersey : 259-281 .
- Zhou, P.; Chen, Z.; Li, H.-L.; Zheng, H.; He, S.; Lin, R.-Q. and Zhu, X.-Q. 2011.** *Toxoplasma gondii* infection in humans in China . *Paras. & Vect.*, 4:56.