دراسة مستوى عامل التنخر الورمي الفا والبين ابيضاض 17 في الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج Entamoeba histolytica

رغد خويطر مايح

الجامعة التكنلوجية/ قسم العلوم التطبيقية

الخلاصة :

شملت الدراسة24 مريض مقارنة ب16 من الاصحاء. اظهرت النتائج ارتفاع معنوي في تركيز عامل التنخر الورمي –الفا TNF-αعند الاطفال المصابين (101.71±3.91 بيكوغرام /مل) مقارنة بالاصحاء (83.94±1.60 بيكوغرام /مل) بينما ظهرت زيادة غير معنوية في مستوى IL-17 عند المصابين (164.06± 5.56بيكو غرام / مل) مقارنة بالاصحاء (161.79±4.42 بيكوغرام / مل) كذلك لوحظ وجود ارتباط غير معنوي بين عامل التنخر الورمي –الفا والبين ابيضاضي 17. من هذا نستنتج ان عامل التنخر الورمي –الفا له دور كبير في الدفاع عن الجسم ضد الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج ولايوجد ارتباط معنوي بين الحركيات الخلوية المدروسة .

المقدمة:

يعد طفيلي الأميبا الحالة للنسيج من الاوالي الطفيلية الحقيقية النواة الشائعة الانتشار في العالم , يسبب الطفيلي داء المتحولات الأميبي أو الزحار ألأميبي المعوي والتهاب الكبد ألأميبي وتحتل الإصابة بطفيلي الأميبا الحالة للنسيج المرتبة الثالثة بعد الملاريا والبلهارزيا و بينت الإحصائيات مليون حالة وفاة سنويا (1). 50 الف حالة إصابة منها 100

تنتشر الإصابة بالأميبا الحالة للنسيج في جميع انحاء العالم وترتفع نسبة الإصابة في المناطق الأستوائية وشبه الأستوائية وكذلك في المناطق ذات المستوى الصحي والثقافي المتدني يستوطن الطفيلي الأمعاء الغليظة ويظهر في الغائط بعدة أشكال هي الطور المتغذي او الناشطة او الطور المتكيس يسبب اعراض مرضية كالإسهال الدموي والمغص المعوي ,وصداع وحمى وقد لايسبب اعراض مرضية فيسمى الاشخاص المصابين بحاملين المرض , تنتقل الاصابة عن طريق تلوث الماء والطعام ببراز الأشخاص المصابين الحاوي على الطور المتكيس المعدي للطفيلي(2) .

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 17 (IL-17) وكذلك عامل التنخر 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 (3,4,5).يعد TNF-α من الحركيات الخلوية البادئة للالتهاب Pro-inflammatory ينتج من خلايا macrophage , monocyte يؤدي دورامهما في الامراض المعدية المعوي Intestinal Bowel Disease (IBD) (5).

صممت الدراسة الحالية بهدف تقييم مستوى عامل التنخر الورمي الفا(TNF-α) والبين ابيضاض 17 بطريقة ELISA في المرضى الاطفال العراقيين المصابين بالاميبا الحالة للنسيج

المواد وطرائق العمل :

1- جمع العينات المرضية

تم جمع 24 عينة دم من المرضى الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج تتراوح اعمارهم بين (2-6) سنوات وتم اختيار 16 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 .

2- تحضير مصل الدم

تم جمع 3 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 -20 لحين الاستعمال .

3-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:

1-اظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في معدل المستوى المصلي لعامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α) عند المصابين بالاميبا الحالة للنسيج الاطفال (101.71±3.91 بيكوغرام /مل) مقارنة بالاصحاء (83.94±1.60 بيكوغرام / مل) (الاحتمالية $P< 0.05$).

2-ظهرت زيادة غير معنوية في معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض 17 (IL-17) عند المصابين الاطفال (164.06± 5.56بيكو غرام / مل) مقارنة

بالاصحاء (161.79±4.42 بيكوغرام / مل) (الاحتمالية P>0.05) وكما موضح بالجدول (1) .

3-وجدت علاقة ايجابية غير معنوي في مستوى عامل التنخر الورمي –الفا والبين ابيضاض 17 جدول (2) .

الجدول(1): معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض 17وعامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α,IL-17) في المرضى المصابين بالاميبا الحالة للنسيج والاصحاء من فئة الاطفال .

الحركيات الخلوية	المعدل(بيكوغرام/ مل) ± الخطأ القياسي		قيمة T-test
	المصابين(24)	الاصحاء (16)	
عامل التنخر الورمي –الفا	3.91±101.71	1.60±83.94	* 10.095
بين ابيضاض 17أ	5.56 ±164.06	4.42±161.79	NS 14.31

*الاحتمالية p<0.05 معنوي :NS p>0.05 غير معنوي

جدول (1): الارتباط بين البين ابيضاض17وعامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α , IL-17) في فئة الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج

الصفات المرتبطة	معامل الارتباط	الاحتمالية
TNF-α و IL-17	0.05	NS

NS: غير معنوي P>0.05.

المناقشة:

1- عامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α)

تشير النتائج التي تم التوصل اليها من خلال قياس معدل المستوى المصلي لعامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α) في فئة الاطفال الى وجود ارتفاع واضح في معدل تركيز هذا العامل لمجموعة المصابين قياسا بما هو عليه في مجموعة السيطرة وهذا يتفق مع (6,7) . اذ اشارت الدراسات الى ان TNF-α يحث على زيادة اوكسيد النايتروجين (NO) بوساطة خلية Macrophage الذي يكون ساما وقاتلا للاميبا الحالة للنسيج(7) .

2- البين ابيضاض17 أ (IL-17A)

ينتج البين ابيضاض–17أ من الخلايا التائية المساعدة النوع 17 (T-helper 17) ويعمل على التحفيز على انتاج اوكسيد النايروجين NO كما ان التركيز العالي لهذا الحركي يمكن ملاحظته في الحالات المزمنة من المرض مثل الالتهابات المزمنة في مرض rheumatoid arthritis (8) .لوحظ انخفاض نسبة IL-17 في اصابات طفيلية مختلفة منها *Fasciola hepatica* و *Schistosoma mansonis* (9). تشير النتائج التي تم التوصل اليها من خلال قياس معدل المستوى المصلي للبين ابيضاض 17أ (IL-17) لمجموعة الاطفال الى وجود ارتفاع غير معنوي في معدل تركيز هذا العامل لمجموعة المصابين قياسا بما هو عليه في مجموعة السيطرة .نود الاشارة الى ان البحوث التي تناولت علاقة البين ابيضاض 17 أ مع الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج قليلة جدا وتناولت دراسة مستوى هذا الحركي في الفئران .هذه النتيجة اختلفت مع (10) ونعتقد ان البين ابيضاض 17أ يزداد بشكل واضح في المراحل المزمنة من المرض (8)وعلى الرغم من عدم تحديد مرحلة المرض الاان ارتفاع تركيز عامل التنخر الورمي –الفا (TNF-α)يعطي مؤشرا ان المرضى هم في المرحلة الحادة اذ اشارت بعض

المصادر الى ان عامل التنخر الورمي –الفا يزداد بشكل واضح في المرحلة الحـــادة من المرض يتبعها تحفيز انتاج بروتينات الطور الحاد بوساطة الخلايا الكبدية(11)

3- معامل الارتباط بين الحركيات الخلوية المدروسة

اظهرت النتائج ان هناك علاقة ايجابية غير معنوية بين عامل التنخر الورمي – الفا والبين ابيضاض 17 عند المرضى الاطفال المصابين بالاميبا الحالة للنسيج من هذا نستنتج ان افراز هذين الحركيين (عامل التنخر الورمي –الفا والبين ابيضـــاض 17) لايعتمد على بعضهما الاخر .

الاستنتاجات:

اظهرت الدراسة زيادة معنوية في مستوى عامل التنخر الورمي –الفا عنـــد المرضى المصابين بالاميبا الحالة للنسيج بينما ظهرت زيـــادة غيـــر معنويـــة فـــي مستوى البين ابيضاض 17 كذلك ظهرت علاقة ايجابية غير معنويـــة بـــين عامـــل التنخر الورمي الفا والبين ابيضاض 17 من هذا نستنتج ان عامل التنخر الـــورمي الفا يلعب دورا مهما في الاستجابة المناعية ضد الاصابة بالاميبـــا الحالـــة للنســـيج ولايوجد ارتباط معنوي بين الحركيات الخلوية المدروسة.

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- Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J (2007). Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species. Clin. Microbiol. Rev., 20 (3): 511-532

3- Pritt, BS. and Clark, CG.(2008). Amebiasis. Mayo Clinic Proceedings. 83(10):1154-1160

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

5- 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

6- 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

7- Kristine, M.; Jianfen ,S.; Priya, D.; Rashidul, H.; Dinesh, M.; and William, A. (2010). Association between TNF-α and *Entamoeba histolytica* Diarrhea. Am J Trop Med Hyg, 82(4): 620–625

8- Homo, S. (2013). IL-17A interleukin 17A . Gene ID:(11) 33-38

9- Christian, J.; Christian, J.; Beate, G.; Xiangsheng, H.; Wolfgang, Peter, K.; and Peter, T.(2012) Parasite-Specific IL-17Type Cytokine Responses and Soluble IL-17 Receptor Levels in Echinococcosis Patients. Clin & Develop. Immunol,Article ID 735342, 9 Page

10 - Xiaoti, G.; Lisa, B.; David,M.; William,A.; and Eric, R. (2011).CD4+ CD8 T cell- and IL-17-mediated protection against *Entamoeba histolytica* induced by a recombinant Vaccine. Vaccine, 29(4): 772-777

11- Richard, C. (2009). Immunology.6th ed.United states of America. 179-198

Study of TNF-α and IL-17 level 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 TNF-α in patients 101.71±3.9 pg/ml compared with control 83.94±1.60 pg/ml while there is no significantly increase in level of IL-17 in patients 164.06 ±5.56 pg/ml compared with control 161.79±4.42 pg/ml and we observed there were no significant correlation between these cytokines. We conclude that TNF-α have a role in the defence against *Entamoeba histolytica* infection and there is no correlation between two cytokine.