دارسات هستولوجية ومناعية
على التوكسوبلازما جوندى

مقدمة من

أيمن مصطفى عبد العزيز

(بكالوريوس العلوم قسم علم الحيوان 1988

ماجستير العلوم تخصص أنسجه 1998)

للحصول على درجة

(دكتور الفلسفة في علم الحيوان)

(تخصص الأنسجة وكيمياء الأنسجة)

قسم علم الحيوان

كلية العلوم - جامعة الفيوم

الملـخص العـربي

التوكسوبلازما جوندى من أكثر الطفيليات انتشار، حيث توجد في كل البيئات الحارة أو الباردة، و هى تعتبر المسبب المرضى للمرض المعروف بالتوكسوبلازموزس (القططيه، نظار للإرتباط الوثيق بعائلة القطط كعائل أساسي) ، وآثار هذا المرض تستدعى مزيدا من الاهتمام والدارسة لما يحدثه من الزيادة الشديدة لنسب الوفاة بين مرضى نقص جهاز المناعة المعروفين بمرضى الإيدز، وأيضا يسبب الإجهاض للنساء الحوامل وخاصة إذا حدثت الأصابه به في فترة بداية الحمل أو إذا نشطت الإصابة القديمة لحدوث خلل ما في جهاز المناعة لدى المأرة. و قد ينجو الجنين من الموت ولكنه أيضا معرض لإحتمال أن يكون به عيوب خلقيه نتيجة تأثير التوكسوبلازما ة أو يعانى مشاكل عده قد تكون في المخ أو العين أو بعض الأعضاء الأخرى. ومن الخطور بمكان أن يتم نقل الأعضاء وينسى عمل اختبار للمريض المستقبل أو المعطى للكشف عن الإصابه بالتوكسوبلازما، وحيث أنه فى مثل هذه الحالات يتم إعطاء جرعات من أدوية تثبيط جهاز المناعة بهدف تقبل الجسم للعضو المنقول مما قد يؤدى لتنشيط أي إصابة قديمه بالتوكسوبلازما لتسبب مشاكل كثيرة قد تنتهي بالوفاة. أيضا مما يؤثر على الإنسان بطريقه غير مباشره ماتحدثه التوكسو بلازما من أثار على الحيوانات حيث تؤدى للإجهاض بين بعض الحيوانات الهامة مثل الضأن والماعز وذلك يؤثر تأثيار سلبيا على الإقتصاد. وحيث أننا وجدنا إلى حد كبير قلة من الأبحاث التي تناولت موضوع التوكسوبلازما من حيث التأثيارت الهستوكيميائية كما أن الأد وية التى تستخدم لعلاج هذا المرض لها آثار ضاره ، فهذه محاولة لعمل لقاح لمنع أو تخفيف الآثار الضارة للتوكسوبلازما، وقد أردنا أن نلقى بعض الضوء على هذه التأثيارت بالإضافة لأن تكون دراستنا خطوه في طريق عمل لقاح قد يطبق على الحيوانات الكبيره. وقد أستخدمنا الأشعة فوق البنفسجية بجرعتين مختلفتين لعمل إضعاف للتاكيزويتات (الطور سريع التكاثر)، لسهولة استخدام هذه الأشعة وقلة أضاررها إذا روعيت الإحتياطات أثناء الإستخدام كما أنها ارخص بكثير من الوسائل الأخرى للإضعاف مثل أشعه جاما ...الخ

وقد استخدمت تقنيات مختلفة في هذا الدارسة، مثل الصباغة بمختلف أنواع الصبغات والتي توضح مدى التأثيارت الهستوباثولوجية أو الهستوكيميائية على أنسجة الحيوان، فالهيماتوكسيلين إيوسين توضح مدى الإصابة أو التحسن في الأنسجة، والجمسا تصبغ الطفيل بمارحله المختلفة وطريقة فولجين تجلى التأثيارت تبين مدى تأثر المواد عديدة التسكر التي حدثت للأنويه و تظهر تأثر البروتين الموجود في الأنسجة. أيضا تم DNA وطريقه PAS (الكربوهيدارت) كما أن Splenocytes γ المناعية مثل قياس السيتوكينات - و IFN صبغةBPB استخدام تقنيات عاليه لقياس الإستجابة توضح مدى تذكر الجهاز المناعى للطفيل مما يساعد على مكافحة الإصابه n والتى IL-2 إضافة إلى قياس proliferatio بالتوكسوبلازما إذا ماتعرض الكائن لها ة أخرى مر. وضحت هذه الدارسة التأثيارت المختلفة على أنسجة الفئارن غير

المحصنه نتيجة الإصابة بالتوكسوبلازما وتتمثل في كثير من التغيارت الهستوباثولوجية مثل النكرزه وتكسير الأنويه والفج وات المختلفة في سيتوبلازم الخلايا وانتهاء بم وت لتهابها ووجود بعض خلايا ا الخلايا ، كما لوحظ تمدد الأوعية الدموية و اختارقيه من الدم الأبيض كما شوهد تغلظ في جدار الأغشية المحيطة بالمخ والتي تحيط بالكبد. أما عن التأثيارت كبيره في DNA الهستوكيميائية فقد شوهد نقص حاد في كمية الكربوهيدارت في أنسجة الكبد، وقله فيها وهذا أيضا سجل في كمية البروتين داخل الخلايا والتأثر الشديد للأنويه متمثله بنقص أنسجة المخ مع الإختلاف في الكربوهيدرات حيث ان المخ ليس مخزن لها. وهذا أيضا كان منعكسا على الشكل العام للفئارن حيث سجلت الدارسه إرتفاع نسبه الوفيات لتصل % في الفئارن المصابة الغير محصنه في خلال أسبوعين على الأكثر وقبل ذلك يقل النشاط العام 100إلى للحيوانات ويتغير شكل ولون فرائها كما ينحنى الظهر وتقل كميه الطعام التي تأكلها مما يعكس التأثير العنيف للطفيل على خلايا وأنسجة الحيوان وتختلف RH والتى تتفاقم ومن ثم قد يحدث فشل فى بعض الأعضاء الحيوية مثل الكبد مما يؤدى للوفاة. العنيفة لايستطيع الإستجابة المناعية على حسب إختلاف سلالة الطفيل، فسلالة الجهاز المناعي التحكم أو السيطرة عليها بل إنه بزيادة إفارز السيتوكينات العشوائي يؤدى إلى تكسير الأنسجة، أما في حالة السلالة الضعيفة فإنه يستطيع التحكم والضغط على الطور سريع الإنقسام والتكاثر (التاكيزويت) ليتحول إلي الطور الكامن بطىء الإنقسام (الباراديزويت) الذي يتحوصل داخل الفجوة حاملة الطفيل مخزنا كميات وافره من الكربوهيدارت والبروتين ليظل في حالة حيوية ليكمل دورة الحياة مرة ثانية. قد أثبتت هذه الدارسة أهمية وأفضلية استخدام لقاح حي من لقاح ميت أو تام الإضعاف حيث إنعكس هذا على التحسن في الشفاء لأنسجة الحيوان وحالة الحيوان العامة وارتفاع نسبة وعدد الحيوانات

الناجية، كما لوحظ في التحسن الملحوظ في إعادة وزيادة المواد البيوكيميائيه الهامة في الأنسجة زيادة ملحوظة لتماثل تقريبا وهامه مثل البروتينات الكربوهيدارت و ومما تجدر الإشارة اليه فى نتائج لهذا البحث DNA .الحيوانات الطبيعية التي لم تصب لم تنشر بعد هو ت رك الفئارن لمدة تسعة أشهر مع عمل اصابه اخرى لها وقد اجتازتها مما يعكس نجاح هذا اللقاح. كما تركت الفئران لتتكاثر وقد انتجت ذريه لم يظهر عليها اثار المرض. في هذه الدراسة تم إضعاف التاكيزويتات بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية بجرعتين مختلفين ثم حقنت الفئارن بها و ة أخرى بعد يوم كجرعة تحفيزية للجهاز المناعي ثم حقنت الفئارن 14 تكررت هذه الخطوة مر 14بالجرعة المميتة بعد يوم اخرى. وقد لوحظ التحسن النسبي والتدريجي في حالة الشكل العام للأنسجة والزيادة الملحوظة في كيمياء الأنسجة من كربوهيدارت DNA الحيوان متمثلا في تحسن والتي وصلت وبروتين و تقريبا لنفس مستويات الحيوان الطبيعي، كما إجتازت الفئارن فترة الإصابة الحادة، وفى نهاية التجربة وصل % في المجموعة الأولي التى حقنت ب 80معدل الإعاشة للحيوانات الملقحة إلي نسبة وهذا معدل جيد جدا % ARHT في 93 و تم رصد ومتابعة الإستجابة المناعية IL المجموعة الثانية التى حقنت ب KRHT .بالمقارنة إلي صفر% للفئارن غير الملقحة وقد لوحظ أن الفئارن الملقحة أصبح لديها قدرة مناعية تحميها و 2 - وأيضا تكاثر خلايا - IFN للفئارن بقياس إفارز الذاكره من الطحال نتيجة التحفيز ب تدريجيا من الآثار الضارة للتوكسوبلا زما بإنتاج كميات متوازنة من السيتوكينات STAg

وخلاصة نتائج الدارسة UV .، ومن الأهمية بمكان تكون الخلايا التي لديها ذاكرة عن الطفيل أساسي في المناعة التحصينية الحالية أن الحيوانات المحصنة باللقاح من التاكيزويتات المضعف بـ أدى إلي زيادة نسبة إعاشة وبقاء الحيوانات والتخلص النهائي من الطفيل في مجموعة أو تحويله إلي طور كامن متلف. كما ان النتائج التى حصلنا عليها باستخدام طفيل مضعف جزئيا كانت افضل من استخدام طفيل مضعف بشده او ميت. وهذا مما يفتح مجال لمزيد من الدارسة حول تفعيل استخدام اللقاح والوصول لأقل نسبه من الأضارر فى الحيوانات الأخرى.