

قياس مستوى الاجسام المضادة نوع IgA ، IgM ، IgG وبروتينات المتمم C₃ ، C₄ في الاطفال الخمجين بطفيلي *Giardia lamblia*

اريج عطية حسين* ، وفاء حسن محمد** و شاهناز عبد القادر علي***

* فرع الاحياء المجهرية ، كلية الطب، جامعة ديالى.

** قسم علوم الحياة، كلية العلوم ، جامعة بغداد.

*** فرع الاحياء المجهرية ، كلية الطب، جامعة السليمانية.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى قياس مستوى الاجسام المضادة نوع IgG ، IgA ، IgM ، وعوامل المتمم C₃ ، C₄ ، في الاطفال الخمجين بطفيلي *G. lamblia* في محافظة بغداد، إذ اجري مسح ميداني للتحري عن الطفيلي في المراجعين الوافدين الى مختبرات مستشفى الكاظمية التعليمي في الكرخ ومستشفى القادسية العام في الرصافة وللمدة من (٢٠٠٤/٤/٢٤) ولغاية (٢٠٠٤/٩/٢٤) تم خلالها فحص و تشخيص اثنان وثلاثون عينه براز بطريقة الفحص المباشر وباستخدام محلول الملح الوظيفي وصبغة اللوكل . ايودين، جمعت ٣٢ عينة دم وبفئة عمرية ٦-١٢ سنة، فيما تم جمع ٢٠ عينة دم اخرى للاطفال الاصحاء من الفئة العمرية نفسها للخمجين، وذلك لغرض المقارنة والتعرف على التغيرات الحاصلة بالمكونات المصلية. اوضحت نتائج الدراسة ارتفاع في معدلات تركيز الاجسام المضادة نوع IgG و IgA بشكل معنوي في مصول دم الاطفال عند مقارنتها بمجموعة السيطرة. لوحظ حدوث ارتفاع غير معنوي في معدل تركيز الاجسام المضادة نوع IgM في مصول دم الاطفال والخمجين عند مقارنتها بمجموعة السيطرة. اظهرت النتائج حدوث زيادة معنوية في معدل تركيز المكونين الثالث والرابع للمتمم (C₃ ، C₄) عما سجل في مجموعة السيطرة.

الكلمات المفتاحية: *Giardia lamblia* ، بروتينات المتمم C₃ ، C₄ ، الاجسام المضادة IgA ، IgM ، IgG.

المقدمة

التي تساهم في تضاعف احتمالات الخمج بالطفيليات ولاحظ [٥] ان *G.lamblia* تصيب بشكل اساسي اللبائن كالانسان والقطط والكلاب والقندس والابقار [٦]. وتمتلك طورين، طور النشطة والطور المتكيس [٧]. تحدث الاصابه عن طريق تناول الاكياس مع الطعام والشراب الملوث أو بصورة غيرمباشرة عن طريق الايدي الملوثة بالغاائط [٨]. يتحررالطفيلي من الكيس بفعل حامضية المعدة والانزيمات المعدية، وينجم عن ذلك تكوين طور النشطة [9] وبعد مدة قصيرة تغادر النشطة معدة المضيف استجابة لانخفاض الاس الهيدروجيني [١٠]. وتلتصق بسطح الخلايا الطلائية للامعاء عن طريق استعمالها لقرص الالتصاق البطني، ثم تبدأ بالتكاثر بوساطة الانشطار الثنائي [١١]. اذ يبدأ اولاً انقسام النواتين يليها انقسام في الاجهزة الحركية ثم مصصات الالتصاق واخيراً السايبتوبلازم بعدها تتكيس النشطة في الجزء البعيد من تجويف الامعاء الدقيقة [١٢]. تتباين

يعد الاسهال احد الاسباب الرئيسية والمميتة في الاطفال في الدول النامية [١]. وإن أهم الممرضات المعوية الشائعة التي تسبب الاسهال الحاد هي البكتريا والفايروسات والطفيليات وهذه الممرضات قد تصيب المضيف بشكل منفرد أو مع بعضها في ان واحد [٢]. وتحظى الاصابه بالطفيليات باهتمام العاملين في مجال الصحة العامة، ويرجع ذلك الى انتشار الطفيليات بنسب عالية وتوطنها في اغلب انحاء العالم والى تأثيراتها المحتملة في الناحيتين الغذائية والمناعية للسكان وبخاصة الذين يعيشون في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية [٣].

ذكر [٤] أن *Giardia lamblia* و *Entamoeba*

histolytica هما الطفيليان الاكثر انتشاراً في العالم، ويسهمان في خمج عدد كبير من الاشخاص، لعدم السيطرة عليها بشكل فعال وتعد الكثافة السكانية من العوامل المهمة

(C4b) فانها ترتبط مع الهدف من اجل استمرار التفاعل التتابعي (Cascade)، ويتم هذا الارتباط بمساعدة ايون المغنسيوم Mg^{+} [٢٥].

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة ٣٢ طفل مخمجاً بطفيلي *G. lamblia* من كلا الجنسين ذكور (١٨) واناث (١٤) وبفئة عمرية تراوحت بين ٦-١٢ سنة، وقد تم التأكد من خمجهم من خلال الفحص المجهرى للبراز الذي اثبت وجود الطفيلي فضلا عن بعض الاعراض المرضية المرافقة للخمج. وتم اختيارمجموعة السيطرة المكونة من ٢٠ عينة دم لاطفال من الفئة العمرية نفسها لمجموعة المرضى، وقد تم التأكد من سلامتهم من خلال اجراء فحص البراز العام لهم.

تم سحب ٥ مليلتر من دم المرضى الذين ثبت خمجهم بالطفيلي ومجاميع السيطرة الاصحاء بوساطة محقنة نبيذة، معقمة، وتم وضع الدم المسحوب في انبوب بلاستيكي معقم سعة ١٠ مليلتر، ولا يحوي على المادة المانعة للتخثر لغرض فصل المصل حيث تركت بدرجة حرارة المختبر لمدة ٣٠ دقيقة، بعدها نبذت العينات باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة لمدة ١٠ دقائق، تم سحب مصل الدم باستخدام ماصة باستور معقمة ووضع في ابندروف لقياس مستوى الاجسام المضادة والمتمم.

استخدمت طريقة الانتشار المناعي Radial Immuno Diffusion (RID) او ما تسمى (Mancini method) مبدأ العمل كان يعتمد على اظهار علاقة كمية بين المستضد الموجود في الاكاروز والاجسام المضادة الموجودة في المصل وتم اجراء الاختبار حسب تعليمات الشركة المصنعة اذ جهزت اطباق معايرة لكل من IgG ، IgM ، IgA ، C_3 ، C_4 ، من شركة Biomaghreb بعدها فتحت الاطباق، وتركت بدرجة حرارة المختبر لمدة ٥ دقائق، ثم اضيف ٥ مايكروليتر من مصل المرضى والاصحاء قيد الدراسة في حفر كل من الاطباق الحاوية على اضداد IgG ، IgM ، IgA ، C_3 ، C_4 ، في الهلام باستخدام ماصة دقيقة. ثم تركت الاطباق لمدة ١٥ دقيقة في درجة حرارة المختبر من دون تحريك. بعدها وضعت الاطباق في الثلجة بدرجة ٤م° لمدة ٤٨ ساعة للاطباق المستخدمة لقياس كل من IgG ، IgA ، C_3 ، C_4 ، ولمدة ٧٢ ساعة للاطباق المستخدمة لقياس

العوامل المساهمة في اظهار العلامات السريرية اعتماداً على ضراوة سلالات الطفيلي [١٣] وعدد الاكياس الملتهمة وعمر المضيف وحالة الجهاز المناعي عند الخمج [١٠]. هناك طرائق عدة لتشخيص الخمج بـ *G. lamblia* منها، ملاحظة الاعراض والعلامات السريرية، وجود طور الناشطة المتحرك في مسحات الغائط الرطبة، وجود الطور المتكيس في الغائط من خلال استخدام طريقة التركيز [١٤]. يؤدي الخمج بداء الجيارديات الى تحفيز نوعين من الاستجابة المناعية، الخلطية والخلوية [١٠]. وتحرر *G. lamblia* ٧٠% من مستضداتها الموجودة على الخلايا السطحية كل ٢٤ ساعة [١٥]، وهذه المستضدات تعمل على تحفيز الخلايا التائية T-cell، لحدوث استجابة مناعية او تحاط من قبل الاجسام المضادة التي تم افرازها [١٦].

الكلوبيولينات المناعية (Immunoglobulins (Igs)، وهي نواتج الخلايا البائية الناضجة التي تنتج استجابة للتحفيز بالمستضدات. ان جزيئات الاضداد هي كلوبيولينات مناعية ذات خصوصية معروفة تنتج من خلايا البلازما [١٧]. وتوجد خمسة اصناف من الكلوبيولينات المناعية اعتماداً على الخصوصية المستضدية للسلسلة الثقيلة في الجزيئة (١٨). اكد [١٩] على ان الاجسام المضادة نوع IgA و IgM تلعبان دوراً رئيساً في اباداة الطفيليات.

المكون الثالث للمتمم C_3 هو احد مكونات نظام المتمم وهو بروتين سكري (Glycoprotein) يوجد بتركيز ١.٢ غرام/ لتر في بلازما الدم ويتكون من سلسلتين هما الفا (α chain) وبيتا (β chain) ذات اوزان جزيئية ١٢٠، ٧٥٠٠٠ كيلو دالتون على التوالي [٢٤] يصنع في الكبد والخلايا البلعمية والخلايا اللمفاوية والجلد، ويتصاحب مع نقص هذا البروتين حصول اخماج جرثومية متكررة [١٧].

المكون الرابع للمتمم، C_4 ، يتكون عادة من ثلاث سلاسل هي. الفا (α chain) وبيتا (β chain) وكاما (γ chain) وتعد السلسلة الفا من اكبر السلاسل المكونة وتكمن اهميته باعتباره جزء من المسلك التقليدي [٢٥]. يصاحب النقص في هذا المكون من المتمم عدداً من الاضطرابات المناعية الذاتية [٢٦]، ينشطر C_4 عند ارتباطه مع C_1 مؤدياً الى تكوين قطعتين صغيرة (C_4a) تتحرر. اما القطعة الكبيرة

وجد من نتائج الدراسة إنَّ هنالك زيادة ملحوظة في تركيز المكونيين الثالث والرابع للمتمم في مجموعة الاطفال الخمجين إذ بلغ معدل C_3 (٤٢.٧±١٥٢.٥) و C_4 (١١.٥±٣٣.٠) مقارنة بمعدلاتها في مجموعة السيطرة (٩٩.٠ ± ١٥.٠)، (٢.٠٨ ± ٢٠.٨) على التوالي. ولوحظت فروق معنوية ($P < 0.05$) بين كلا المجموعتين جدول (٢).

جدول (٢)

يبين تأثير الاصابه بـ *G. lamblia* في تركيز المكونيين الثالث والرابع للمتمم C_3, C_4 مقاسا بـ ملغم/ديسليتر.

مجموعة السيطرة	مجموعة الخمجين	نوع المتمم
١٥.٠±٩٩.٠	٤٢.٧±١٥٢.٥	تركيز المكون الثالث للمتمم C_3
٢.٠٨±٢٠.٨	١١.٥±٣٣.٠	تركيز المكون الرابع للمتمم C_4

المناقشة

اشارت دراسة [٢٠] الى ان الاصابه بـ *G. lamblia* و *E. histolytica* تؤدي الى حدوث استجابة مناعية نوعية Specific immune respons متمثلة بانتاج الاجسام المضادة وعند دراسة مستوى الاجسام المضادة نوع IgM, IgA, IgG في الخمجين بـ *G. lamblia* اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى IgA, IgG وغير معنوي في مستوى IgM مقارنة بمستوياتها في مجموعة السيطرة، وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [١٠] و [١٩] الذين اشاروا الى ارتفاع مستوى الاجسام المضادة نوع IgM, IgA, IgG في مصلى المصابين ومع ما سجلته [٢١] من ارتفاع مستوى الاجسام المضادة للانواع المذكورة في المصل اثناء مدة الاصابه لكن نتائج هذه الدراسة اختلفت مع الباحثين اعلاه في مستوى IgM الذي ارتفع بشكل غير معنوي، وربما يرجع ذلك الى ان المرضى قد تجاوزوا المراحل المبكرة من الاصابه، وجاءت مطابقة مع [٢٢] الذي قام بدراسة تجريبية في الحملان لوحظ خلالها زيادة في مستوى الاجسام المضادة نوع IgA, IgG في حين لم يسجل فروق معنوية في مستوى IgM.

IgM. تم قياس قطر حلقات الترسيب المتكونة حول الحفر نتيجة تفاعل المستضد النوعي (الذي هو مصل المرضى والاصحاء) مع المصل المضاد الخاص به الموجود في الهلام باستخدام منظار خاص لقياس التحاليل المناعية يدعى (Immunoviewer). اخيرا استخرجت قيمة التركيز وذلك بمقارنة قطر حلقة الترسيب مع القيم المثبتة بالجدول المرفق مع الاطباق المجهزة من قبل الشركة المصنعة. وتكون قراءة التركيز بـ ملغم/ديسليتر.

النتائج

تبين من نتائج قياس تركيز الاجسام المضادة نوع IgG، IgA حدوث ارتفاع كبير في معدلاتها في مجموعة الاطفال الخمجين إذ بلغ مستوى IgG (٩٤.٥±٩٨٨.٤) و IgA (٧١.٥±١٨٤.٤) مقارنة بمعدلاتها في مجموعة السيطرة (٢٢٦.٢±٦٤٠.٧)، (٣٥.٥±١٠٧.٠) على التوالي. كما وجدت فروق معنوية بمقدار ($P < 0.05$) بين مجموعة الخمجين ومجموعة السيطرة.

اوضحت نتائج الدراسة حدوث ارتفاع ملحوظ في معدل تركيز الاجسام المضادة نوع IgM في مجموعة الخمجين الاطفال (٤٧.٧±١٦٣.٩) مقارنة بالمعدل في مجموعة السيطرة (٢٣.٠±١٤١.٣)، إلا أنَّ نتائج التحليل الاحصائي اظهرت عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة الخمجين ومجموعة السيطرة جدول(١).

جدول (١)

يبين تأثير الاصابه بـ *G. lamblia* على معدل تركيز الاجسام المضادة نوع IgM, IgA, IgG مقاسا بـ ملغم/ديسليتر

مجموعة السيطرة	مجموعة الخمجين	نوع الاجسام المضادة
٢٢٦.٢ ± ٦٤٠.٧	٩٤.٥ ± ٩٨٨.٤	تركيز الاجسام المضادة نوع IgG
٣٥.٥ ± ١٠٧.٠	٧١.٥ ± ١٨٤.٤	تركيز الاجسام المضادة نوع IgA
٢٣.٠ ± ١٤١.٣	٤٧.٧ ± ١٦٣.٩	تركيز الاجسام المضادة نوع IgM

- [6] Ey, P. L.; Bruserer, T.; Wehrll, C.; Kohler P. "Comparison of Genetic Groups Determined by Molecular and Immunological Analysis of *Giardia* Isolated from Animals and Humans in Switzerland and Australia" *Parasitol. Res.*, 28:52-60, 1996.
- [7] Hill, D. R.; Theodore E. N. "Intestinal Flagellate and Ciliate Infections" In: *Tropical Infections Disease, Principle, Pathogens and Practice*, by: Generrant, Richard I.; David H. Walker and Peter F. Weller, 1(38):703-712, 1999.
- [8] Gardner, T. B.; David R. Hill "Treatment of Giardiasis" *Clin. Microbiol. Rev.*, 14(1):114-128, 2001.
- [9] Farthing, M. J. G. "*Giardia lamblia* In: Infections of the Gastrointestinal Tract" (ed.). Blaser, M. J.; P. P. Smith; J. I. Ravdin; H. B. Greenberg and R. L. Guerrant, Raven Press. Ltd., New York. Pp: 1088-1104, 1995.
- [10] Faubert, G. "Immune Response to *Giardia duodenalis*" *Clin. Microbiol. Rev.*, 13(1):35-54, 2000.
- [11] Furness, Bruce W.; Michael J. Beach; Jacquelin M. Roberts "Giardiasis Surveillance-United States, 1992-1997" *Mor. Mortal. Wkly. Rep. Edc. Surveill. Summ.*, 49(7):1-13, 2000.
- [12] Oberhuber, G.; Stolte M. "Histologic Detection of Trophozoites of *Giardia lamblia* in the Terminal Ileum" *J. Gastroentrol.*, 30:905-908, 1995.
- [13] Aggarwal, A.; Nash T. E. "Comparison of Two Antigenically Distinct *Giardia lamblia* Isolates in Gerbils" *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 36: 325-332, 1987.
- [14] Marquardt, W. C.; Richard S. D. ; Robert B. G." *Parasitology and Vector Biology*" 2nd Ed., Academic Press., U.S.A, Pp:89-96, 2000.
- [15] Nash, T. E.; Gillin F. D. ; Smith P. D. "Excretory Secretory Products of *Giardia lamblia*" *J. Immunol.*, 131:2004-2010, 1983.
- [16] Ebert, E. C. "*Giardia* Induces Proliferation and Interferon- γ Production by Intestinal Lymphocytes" *Gut.*, 44:342-346, 1999.

نظام المتمم يتكون من اكثر من ثلاثين بروتينا بعضها حرأ، والاخر مرتبط بالاعشوية لها القابلية على التفاعل مع بعضها ومع منشطاتها، ويكون الكبد المصدر الرئيس لتصنيع بروتينات المتمم [٢٣]. وهو يمثل احد اكبر الاجهزة الدفاعية في الجسم إذ يلعب دورا مهما في السيطرة على التفاعلات الالتهابية، والتخلص من المعقدات المناعية، فضلاً عن قيامه بتنشيط الخلايا لانتاج الاضداد والدفاع ضد الكائنات الدقيقة [١٨].

اظهرت نتائج دراسة مستويات بروتينات المتمم (C_4, C_3) وجود ارتفاع معنوي في مستوى تركيز C_4, C_3 في مصول المرضى الخمجين بـ *G. lamblia* مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع ما توصلت اليه [٢١]، وربما يعود ذلك الى الدور الذي يلعبه C_3 في المسلك البديل للمتمم في الشفاء من الطفيلي ولكن هذا يختلف مع [١٠] الذي اكد على ان مصل الانسان له تاثير قاتل للطفيلي *G. lamblia* ويظهر هذا التأثير معتمدا على المسلك التقليدي للمتمم Classical Complement pathway. إن مصل الانسان له تأثير قاتل لطفيلي *G. lamblia*، ويظهر هذا التأثير معتمدا على المسلك التقليدي للمتمم، كما لاحظ [٢٧] إن نظام المتمم يساهم في تحلل طور الناضجة من خلال تداخل المسلك التقليدي للمتمم مع الاجسام المضادة نوع IgM.

References

- [1] Haque, R.; Christopher D. H.; Molly H.; Eric H. and William A. P. "Amebiasis" *Med. J.*, 348(16):1565-1573, 2003.
- [2] Suwatano, O. "Acute Diarrhea in Under Five-year-old Children Admitted to King Mngkut Prachomkiao Hospital" *Petchaburi Province, J. Med. Assoc. Thai.*, 80(1): 26-33, 1997.
- [3] W.H.O. Prevention and Control of Intestinal Parasitic Infections: Technical Report Series, No. 749, Pp.8, 1987.
- [4] Cook, G. C. "*Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* Infections Current Diagnostic" Strategies, *J. Parasitol.*, 2(2):107-112, 1995.
- [5] Markell, E. K.; John D. T.; Krotoski W. A., Markell and Voge's "Medical Parasitology" 8th ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pp:501, 1999.

Abstract

This study designed to estimate levels of IgG, IgA, IgM, and complement components in sera of children infected with *Giardia lamblia*. Thirty two fecal samples were collected from children infected with *Giardia lamblia* admitted to Al-Kadhmiya Teaching Hospital at Al-Karkh district and Al-Qadisia General Hospital at Al-Rosafa during the period 24th/ April /2004 to 24th/ September/ 2004. They diagnosed by direct microscopic examination and Lugol's-iodine staining. Thirty two blood samples of the same age group were collected from children infected with *Giardia lamblia* and from 20 healthy of the same age group. Results revealed that the levels of IgG and IgA were significantly increased during the infection when compared with healthy control group. A moderate increase but not significant recorded in the level of IgM in infected children when compared with control group. Also there was a significant increase in the level of C₃, C₄ observed when compared with control group.

- [17] Cruse, J. M.; Lewis R. E. "Atlas of Immunology" CRC Press, N. Y., U.S.A, Pp: 185-206, 2000.
- [18] Roitt, I.; Brostoff J.; Male D. "Immunology" 6th Ed., Mosby, Spain, Pp:343-260, 2001.
- [19] Wolfe, M. S. "Giardiasis" Clin. Microbiol., 5(1):93-100, 1992.
- [20] Stewart, J. "Parasitic Infections Pathogenesis and Immunity" In: Medical Microbiology, by: Greenwood, David; Richard C. B. Slack and John F. Peutherer, 17th Ed., Printed in China by RDC Group Limited, Pp:154-160, 2002.
- [21] AL-Anbaki, K. A. "Study of immunological aspect during infection with *Giardia lamblia* " M.Sc., Thesis, Coll. Sci. Al-Mustansiriyya Univ. 2002.
- [22] Yanke, S. J.; Geri H.; McAllister T. A.; Orck D. W.; Olesn M. E. "Serum Immune Response to *Giardia duodenalis* in Experimentally Infected Lambs" Vet. Parasitol., 75(1):9-19, 1998.
- [23] Benjamini, E.; Coica R.; Sunshine G. "Immunology. A Short Course" 4th Ed., Wiley-Liss, Inc., U. S. A. Pp: 70-80, 2000.
- [24] Frank, M. M. "Complement and Kinin In: Medical Immunology" by: Stites, D. P.; A. F. Terr and T. Go. Parslow T. G., 9th Ed., Prentice-Hall International Inc., U.S.A., Pp:169-180, 1997.
- [25] Cunion, Kenji M.; Eric wagner; Michael M. Frank "Complement and Kinin In: Medical Immunology" by: Parslow, Tristram G.; Daniel P. Stites; Abba I-Terr and John B. Imboden, 10th Ed., Prentice. Hall International Inc., U.S.A., pp: 168-185, 2001.
- [26] Ad'hiahm, A. H. "Immunogenic Studies in Selected Human Disease". University of New Castle Upon Tynneg, U. K., 1990.
- [27] Deguchi, M.; Gillin F. D.; Gigt I. "Mechanism of Killing of *Giardia lamblia* Trophozoite by Complement" J. Clin. Investig., 79 :1296-1302, 1987.