



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة التغيرات النسجية والأستجابة المناعية الخلوية للمرضى المصابين بداء الشمانيا الجلدي في محافظة ديالى/العراق

رسالة مقدمة الى

مجلس عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

صبا داود سلمان

بكالوريوس علوم حياة 2012 _ 2013/جامعة ديالى

بإشراف

د. ذكرى عطا ابراهيم

أستاذ مساعد

د. نغم ياسين البياتي

أستاذ

كانون الثاني 2019م

ربيع الثاني 1440هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿لَوْ أَنزَلْنَاهَا هَذَا الْقُرْآنَ عَلَى جَبَلٍ لَّرَأَيْتَهُ خَاشِعًا
مُّتَصَدِّعًا مِّنْ خَشْيَةِ اللَّهِ وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا
لِلنَّاسِ لَعَلَّهُمْ يَتَفَكَّرُونَ﴾

صدق الله العظيم

سورة الحشر - آية (٢١)

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة، أننا اطعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة التغيرات النسجية والاستجابة المناعية الخلوية للمرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدي في محافظة ديالى /العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (صبا داود سلمان ذياب) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ (3 / 1 / 2019) ونعتقد إنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة وبتقدير () .

رئيس اللجنة

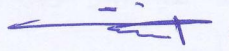
التوقيع : 

الاسم: د. عباس عبود فرحان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / /

عضو اللجنة

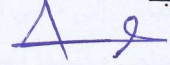
التوقيع : 

الاسم: د. أنتظار محمد مناتي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

عضو اللجنة

التوقيع : 

الاسم : د. بشير عبدالله نصرالله

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

عضو اللجنة المشرف

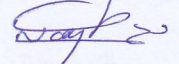
التوقيع : 

الاسم: د. ذكرى عطا ابراهيم

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

عضو اللجنة المشرف

التوقيع : 

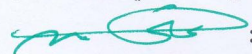
الاسم: د. نغم ياسين البياتي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / /

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ماجاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع : 

الاسم : د. غالب إدريس عطيه

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : ٢٠١٩ / ٤ / ٢٤

إقرار المقوم العلمي

أشُهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة التغيرات النسجية والاستجابة المناعية الخلوية للمرضى المصابين بداء الثُمانيا الجلدي في محافظة ديالى /العراق) التي قدمتها طالب الماجستير (صبا داود سلمان ذياب) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع : 

الاسم : د.خنساء سلمان فرمان

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : 2019 / /

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة التغيرات النسجية والاستجابة المناعية الخلوية للمرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدي في محافظة ديالى /العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (صبا داود سلمان ذياب) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية، وصُحِّحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية ، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.



التوقيع :

الاسم : د. شيماء حاتم عبود

اللقب العلمي : استاذ مساعد

التاريخ : 2019 / /

إقرار لجنة المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة التغيرات النسجية والاستجابة المناعية الخلوية للمرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدي في محافظة ديالى /العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (صبا داود سلمان ذياب) قد جرت تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع: 

المشرف: أ.م. د. ذكري عطا ابراهيم

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ / / 2019

التوقيع: 

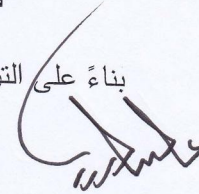
المشرف: أ.د. نغم ياسين البياتي

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ / / 2019

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع: 

الأسم: د.عمار أحمد سلطان

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

رئيس لجنة الدراسات العليا - رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ / / 2019

الإهداء

(وَقُلْ اَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَىٰ عَالَمِ الْغَيْبِ

وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ) التوبة ﴿١٠٥﴾

صدق الله العظيم

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك.. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك.. ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك.. ولا تطيب الجنة إلا برويتك " الله جل جلاله "

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة.. ونصح الأمة.. إلى نبي الرحمة ونور العالمين

"سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم"

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار إلى من علمني العطاء بدون انتظار.. إلى من أحمل أسمه بكل افتخار
ستبقى كلماتك نجوم أهدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد.... والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة.. إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني.. إلى بسملة الحياة وسر الوجود إلى من
كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب.... أُمي الحبيبة

مَنْ أبصرتُ نور الحياة بين يديه وأشرقت شمسك في سماء حياتي. إلى من بوجوده أكتسب قوة ومحبة لا
حدود لها .. إلى من عرفت معه معنى الحياة حفظك الله لي زوجي الغالي

إلى اليد الطاهرة التي أزالَت من أماننا أشواك الطريق ورسمت المستقبل بخطوط من الأمل والثقة إلى الذي لا
تفيه الكلمات والشكر والعرفان بالجميل.... والد ووالدة زوجي

إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي الى ضحكتي عند البكاء وراحتي عند الشقاء وطمأنينتي عند البلاء إلى
النور الذي ينير لي دربي.... ايلاف ورُبي

إلى من رافقوني منذ أن حملنا حقائب صغيرة ومعكم سرت الدرب خطوة بخطوة وما زالوا يرافقوني حتى الآن إلى
من بهم أكبر وعليهم أعتمد.... اخوتي

الباحثة

الشكر والتقدير

الحَمْدُ لله الذي جعلَ الحمدُ ثَمَنًا لنعمائه ومعاذًا من بلائه، وسببًا لزيادة إحسانه، حمدًا يفوقُ حمدَ الحامدين، وشكرًا يفوقُ شكرَ الشاكرين، والصلاة على رسوله سيدنا مُحَمَّدٍ نبيِّ الرحمة وعلى آله الطيبين الطاهرين، وبعد فَإِنَّهُ يطيب لي وأنا أنهى كتابة رسالتي هذه بعون الله تعالى أَنْ أتقدم بجزيل الشكر، والامتنان، والاحترام للأستاذ المساعد الدكتورة نغم ياسين كاظم، والأستاذ المساعد الدكتورة ذكرى عطا ابراهيم لما تفضلا به من إشراف متميز، ومتابعة مستمرة، ورعاية وسعة صدر، ومساندة علمية لإنجاز هذه الرسالة، فلهما مني كُلَّ الاحترام والعرفان، وأسأل الله تعالى أَنْ يمدّهما بالصحة والعافية، ودوام العطاء والتوفيق.

وأنتقدم بفائق الشكر إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى ورئاسة قسم علوم الحياة، لمنحهم لي فرصة اكمال دراستي ولما قدموه من دعم ومساندة، كما واتقدم بالشكر للأطباء والملاك الطبي في العيادة الاستشارية في مستشفى بعقوبة التعليمي، وأخص بالذكر الدكتور علاء خورشيد، والدكتور ياسر فريد سليمان، والدكتور خالد الحسني لما قدموه لي من مساعدة في الحصول على العينات والاستشارات الطبية والتشخيص السريري.

والله ولي التوفيق

الباحثة

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى بيان الاستجابة المناعية الموضعية في المرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدية المراجعين لوحدة الأمراض الجلدية في مستشفى بعقوبة التعليمي، للمدة من آب 2017 ولغاية نهاية تشرين الثاني 2017. وتم جمع 45 خزعة نسيجية (بواقع 50 ذكر و60 أنثى) من أصل 110 مريض وتشخيصهم بالإصابة بداء اللشمانيا الجلدية وبمراحل عمرية مختلفة (قسمت العينات إلى ثلاث مجاميع هي قبل العلاج، أثناء العلاج، بعد العلاج والشفاء) وأظهرت النتائج أن النساء أكثر تعرضاً للإصابة (54.54%) من الذكور (45.45%). وكانت الفئة العمرية 21-30 الأكثر تعرضاً للإصابة (29.09%) أما الفئتين أقل من سنة-10 سنوات و41 سنة- فأكثر فقد كانت أقل الفئات العمرية تعرضاً للإصابة (10.90%) مع وجود فروق معنوية ($P\text{-Value}=0.001$). انتشرت القرحة الجلدية على مناطق مختلفة من الجسم وكانت الإصابة في الذراع هي الأكثر نسبة (40%) فيما كان الوجه (5.45%) هو الأقل تعرضاً للإصابة بين المرضى وكانت الآفات المتعددة أعلى (78.18%) من الآفات المفردة (21.81%)، وتبين أن المصابين بالآفة الجافة كانوا أكثر (56.36%) من أولئك المصابين بالآفة الرطبة (43.65%). وسجلت الإصابة باللشمانيا الجلدية ارتفاعاً بين سكان المدن بنسبة (55.5%) مقابل نسبة الإصابة منها بين سكان الريف (44.5%). فيما بلغت نسبة إصابة الأشخاص الذين كانت القوارض موجودة في مناطقهم 62.72% مقارنة بـ 37.27% كانوا يعيشون في مناطق لم تكن فيها قوارض مع وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية من $P \leq 0.05$. كما أجريت دراسة على التغيرات النسيجية المرضية بمراحل مختلفة من داء اللشمانيا الجلدية (قبل وأثناء العلاج). شملت التغيرات المرضية في البشرة Epidermis على فرط التقرن Hyperkeratosis و

II

تضخم البشرة Hyperepidermis أذ ظهرت هذه التغيرات في 85% و 90% في المرضى قبل العلاج وانخفضت النسبة اثناء العلاج الى 52.38% و 80.95%، على التوالي . وتكون وذمة في طبقة البشرة Oedema in Epidermis في 60% من المرضى قبل العلاج وقلت اثناء العلاج الى 52.38%، وقد ظهر التخر في طبقتي البشرة والادمة قبل العلاج في 60% وانخفضت اثناء العلاج في 42.85% منهم مع وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\text{-Value} = 0.05$. كما ظهرت الاورام الحليمية في 30% من المرضى المصابين وانخفضت الى 28.85% اثناء العلاج وكذلك ظهور الحروف الشبكية Rete ridges الممتدة من نهاية الطبقة الداخلية للبشرة الى الادمة وقد ظهرت في 65% من المرضى قبل العلاج وقلت في المرضى اثناء العلاج الى 42.85% منهم . ظهرت التغيرات النسجية في طبقة الادمة فشملت أرتشاح خلايا التهابية مختلفة مثل الخلايا البلعمية والخلايا اللمفية وخلايا البلازمية وتتجمع السوائل مكونة وذمة الادمة (75% قبل العلاج و تقل الى 66.66% اثناء العلاج)، و نتيجة تقاوم الأصابة تتجمع الخلايا الالتهابية لتكون الاورام الحبيبية (50% قبل العلاج وتقل اثناء العلاج 38.09%). تظهر الألياف الكولاجينية في 75% كدليل على عملية الشفاء.

وبينت الدراسة الكيميائية النسجية المناعية في منطقة الخزع المأخوذة من منطقة الافات القرع (لمرحل قبل العلاج وأثناء العلاج ومرحلة الشفاء) إرتفاع معدل التعبير للمؤشر المناعي الانترفيرون كما $IFN-\gamma$ في النسيج المصاب قبل العلاج (57.35 ± 18.34) وإنخفض اثناء العلاج وفي مرحلة الشفاء (51.9 ± 18.34 و 27.5 ± 15 على التوالي)، وأظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين مرحلتي قبل العلاج والشفاء ($P\text{-Value}=0.003$). أزداد معدل الواسم الخلوي CD20 قبل وأثناء العلاج وبدون وجود فروق معنوية (60 ± 16.22 خلية موجبة و 46.19 ± 18.84 ، على التوالي).

III

ولكن تبين وجود فروق معنوية بين مرحلة الشفاء وقبل العلاج ($P\text{-Value}=0.01$) وكذلك بين مرحلة الشفاء وأثناء العلاج ($P\text{-Value}=0.056$) كما أن الحركي الخلوي الأنترليوكين-4 إنخفض في مجموعة قبل العلاج و فترة الشفاء (16.09 ± 58 و 15 ± 27.5)، وبين التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين مرحلتي قبل العلاج ومرحلة الشفاء عند مستوى احتمالية 0.05. وبينت النتائج ان الاستجابة المناعية في الآفات الجافة والرطبة أظهرت نمط أستجابة مناعية متشابه لكلا النوعين من الآفات أذ لم تظهر فروقات معنوية في معدلات التعبير للحركيات المدروسة بين النوعين من الحبات على الرغم من أن الاستجابة المناعية في الحبات للحركيين الخلويين $IFN-\gamma$ و $IL-4$ كان أكثر وضوحاً في حالة $IFN-\gamma$. وقد ظهر أن هناك ارتباط معنوي متوسط المعنوية بين $IFN-\gamma$ و $CD20$ ($r=0.360$) ($P\text{-Value}= 0.015$) فترة ثقة (0.07-0.59) كما قد وجد ارتباط إيجابي عالي المعنوية بين $IL-4$ و $CD20$ ($r=0.688$ و $P<0.001$) فترة ثقة (0.44-0.82).

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة.	I
	قائمة المحتويات.	IV
	قائمة الجداول.	VI
	قائمة الأشكال.	VII
الفصل الأول: المقدمة.		
1	المقدمة.	1
الفصل الثاني: استعراض المراجع.		
2	استعراض المراجع.	5
1-2	نظرة تاريخية .	5
2-2	تصنيف اللشمانيا.	7
3-2	المظهر الخارجي للشماني.	8
1-3-2	الطور اللاسوطي	8
2-3-2	الطور امامي السوط	9
4-2	دورة الحياة للشماني.	9
5-2	المظاهر السريرية.	11
1-5-2	داء اللشمانيا الجلدي	12
2-5-2	داء اللشمانيا الاحشائية	12
3-5-2	داء اللشمانيا الجلدي المخاطي	12
6-2	المضيف الناقل.	13

15	المضائف الخازنة.	7-2
18	الوبائية	8-2
19	الاستجابة المناعية للمرض	9-2
23	الاستجابة المناعية الخلطية	10-2
24	الحركات الخلوية	11-2
25	الانترفيرون كاما	1-11-2
26	الواسم الخلوي CD20	2-11-2
28	الانترليوكين-4	3-11-2
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل.		
29	المواد وطرائق العمل.	3
29	الأجهزة والمواد والعدد المختبرية المستعملة.	1-3
29	الأجهزة المستعملة	1-1-3
30	المستلزمات المختبرية الطبية المستعملة.	2-1-3
30	المواد الكيميائية المستعملة.	3-1-3
31	العدد المختبرية والشركات المستعملة.	4-1-3
32	موقع الدراسة.	2-3
32	جمع المعلومات.	3-3
32	جمع العينات.	4-3
33	الخزعة النسجية	1-4-3
33	الدراسة النسجية.	2-4-3
36	الدراسة الكيميائية المناعية النسجية	5-3

36	مبدأ الاختبار	1-5-3
36	طريقة العمل	2-5-3
38	التحليل الاحصائي.	6-3
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة.		
39	النتائج والمناقشة.	4
39	توزيع الاصابة بداء اللشمانيا الجلدية	1-4
45	الدراسة النسجية	2-4
45	الوصف الشكليائي	1-2-4
47	التغيرات النسجية	2-2-4
54	الدراسة الكيميائية المناعية النسجية	3-4
54	مستويات التعبير الجيني للحركات الخلوية حسب مراحل المرض	1-3-4
54	الانترفيرون كاما	1-1-3-4
58	الحركي الخلوي الانترليوكين 4	2-1-3-4
62	الواسم الخلوي CD20	3-1-3-4
66	مقارنة تعبير الحركات الخلوية اعتمادا على نوع الحبة (جافة، رطبة)	2-3-4
69	الارتباط بين كل من الانترفيرون كاما والانترليوكين 4 والواسم الخلوي CD20	3-3-4
الاستنتاجات والتوصيات		
72	الاستنتاجات والتوصيات.	
72	الاستنتاجات.	
72	التوصيات.	
المصادر		

VII

74	المصادر العربية.	
76	المصادر الأجنبية.	
الملاحق		
73	الملحق (1)	
A-C	الخلاصة باللغة الانكليزية.	

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
29	الأجهزة المستخدمة والشركات والدول المنتجة لها.	1-3
30	المستلزمات المختبرية والشركات والدول المنتجة لها.	2-3
30	المواد الكيميائية المستخدمة والشركات والدول المنتجة لها.	3-3
31	العدد المختبرية المستخدمة والشركات والدول المنتجة لها.	4-3
44	توزيع نسب الإصابة باللشمانيا الجلدية بين افراد عينة الدراسة.	1-4
46	نسبة التغير في الآفات المرضية المختلفة المرافقة لداء اللشمانيا قبل واثناء العلاج.	2-4
70	العلاقة بين انترفيرون كاما وانتربلوكين 4 و الواسم الخلوي CD20	3-4

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
8	الطور الالاسوطي لطفيلي اللشمانيا الجلدية	a1 -2
9	الطور امامي السوط لطفيلي اللشمانيا الجلدية	b1-2

VIII

11	دورة حياة طفيلي اللشمانيا الجلدية والاحشائية	c1-2
45	الاففة الجلدية لمرض اللشمانيا الجلدية يظهر في اماكن متعددة من الجسم .	1-4
48	مقطع طولي في جلد مريض مصاب بداء اللشمانيا الجلدية قبل العلاج يوضح فرط التقرن K ، تضخم طبقة البشرة H ، تنخر في طبقة البشرة NE ، تنخر في طبقة الادمة ND، و ذمة في طبقة البشرة OE، و ظهور وذمة في طبقة الادمة OD ، ورم حليمي P (H&E20x) .	2-4
49	مقطع عمودي لجلد مريض مصاب بداء اللشمانيا الجلدية اثناء العلاج يظهر انفصال الطبقة المتقرنة عن البشرة K خلايا بلعمية حاوية على الطور اللاسوطي للطفيلي A وذمة البشرة OE الحروف الشبكية Rتنخرالخلايا في طبقة الادمة N وذمة الادمة OD تضخم طبقة البشرة (H&E20x)H .	3-4
50	مقطع نسجي لمريض مصاب باللشمانيا قبل العلاج حروف شبكية R ورم حبيبي Gالياف F (H&E 20x).	4-4
51	مقطع نسجي في جلد مصاب باللشمانيا اثناء العلاج ورم حليمي P أرتشاح خلايا التهابية CIالياف الكولاجين F ورم حبيبي G (H&E20x) .	5-4
52	مقطع عمودي من جلد مصاب بداء اللشمانيا الجلدية يوضح الخلايا العملاقة GCالخلية البلازمية PCالخلية اللمفاوية Lالخلية العدلة NP (H&E40x) .	6-4
53	مقطع نسجي في الجلد يظهر ارتشاح الخلايا القعدة Bp و ظهور مايسمى باللالئ المتقرنة P Co قبل العلاج (H&E 20x)	7-4
54	مقطع عمودي في جلد مريض مصاب بداء اللشمانيا الجلدية في فترة الشفاء اختفاء الطبقة المتقرنة Kتضخم طبقة البشرة H الورم الحليمي P	8-4

IX

	كثافة الياف الكولاجينFارتشاح خلوي CIورم حبيبي G (H&E20x)	
55	معدل مستوى التعبيرالانتفيريون كما في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي	9-4
57	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير عالي الانتفيريون كما قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).	a9 -4
57	مقطع نسجي يوضح معدل تعبيرمتوسط الانتفيريون كما اثناء العلاج وارتشاح مكثف للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).	b9-4
58	مقطع نسجي يوضح معدل تعبيرواطي الانتفيريون كما في مرحلة الشفاء وارتشاح قليل للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).	c9 -4
60	معدل مستوى التعبير للانترلوكين-4 في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي	10-4
60	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير عالي الانترليوكين -4 قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا Th-2في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).	a10-4
61	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير متوسط الانترليوكين -4 اثناء العلاج وارتشاح للخلايا Th-2 في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا	b10-4

	الجلدية (40x).	
61	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير واطئ الانتريوكين -4 في مرحلة الشفاء وارتشاح للخلايا Th-2 في منطقة الادمة لمريض مصاب بالشمانيا الجلدية (40x) .	c10-4
64	مستوى التعبير CD20 في المراحل المختلفة لداء الشمانيا الجلدي	11-4
64	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير عالي CD20 قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب بالشمانيا الجلدية (40x).	a11-4
65	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير متوسط CD20 اثناء العلاج وارتشاح للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب بالشمانيا الجلدية (40x).	b11-4
65	مقطع نسجي يوضح معدل تعبير CD20 واطئ في مرحلة الشفاء وارتشاح قليل للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب بالشمانيا الجلدية	c11-4
66	مستوى التعبير الجيني للانترفيرون كاما في الحبات الجافة والرطبة في المراحل المختلفة لداء الشمانيا الجلدي	12-4
67	مستوى التعبير الجيني للانترلوكين 4 كاما في الحبات الجافة والرطبة في المراحل المختلفة لداء الشمانيا الجلدي	13-4
70	مستوى التعبير الجيني للواسم الخلوي في الحبات الجافة والرطبة في المراحل المختلفة لداء الشمانيا الجلدي	14-4

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
ANOVA	Analysis of Variance.
C ₃	Complement Component3.

XI

CD⁺4	Cluster of differentiation4.
DAB	Diaminobenzidine.
H&E	Hematoxylin and Eosin.
IFN-α	Interferon – alpha.
IFN-γ	Interferon – Gama.
IFN-β	Interferon – Beta.
IgG	Immunoglobulin G.
IgM	Immunoglobulin M.
IL-10	Interleukine-10.
IL-4	Interleukine-4.
<i>L. braziliensis</i>	<i>Leishmania braziliensis</i>
<i>L.aethiopica</i>	<i>Leishmania aethiopica</i>
<i>L.amazonensis</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>
<i>L.chagasi</i>	<i>Leishmania chagasi</i>
<i>L.donovania</i>	<i>Leishmania donovania</i>
<i>L.guyanensis</i>	<i>Leishmania guyanensis</i>
<i>L.infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
NK	Natural Killer Cell.
NO	Nitric Oxide.
PBS	Phosphate Buffer Saline.
Th₀	T Helper Cell. (Naiev)
CD20	Cluster of differentiation 20
Th₁	T Helper Type-1.
Th₂	T Helper Type-2.
VL	Visceral leishmaniasis
W.H.O.	World Health Organization.
ZCL	Zoonotic cutaneous leishmaniasis

المختصر	المصطلح	المعنى
R	Rete ridges	الحروف الشبكية
PCO	Pearl Cornea	الالئ القرنية
IFN- γ	Interferon – Gama.	الانترفيرون كاما
IL-4	Interleukine-4	الانترليوكين-4
H	HyperEpidermis	تضخم طبقة البشرة
K	Keratosi	التقرن
F	Fibrosis	تليف
ND	Nicrosis in Dermis	تنخر في طبقة الادمة
NE	Nicrosis in Epidermis	تنخر في طبقة البشرة
A	Amastigote	خلايا بلعمية حاوية على الطور اللاسوطي للطفيلي
PC	Plasms Cell	الخلية البلازمية
NP	Neutrophil	الخلية العدلة
GC	Giant Cell	الخلية العملاقة
L	Lymphocyte	الخلية اللمفاوية
CD20	Cluster of differentiation 20	الواسم الخلوي
OD	Oedema in Dermis	وذمة في طبقة الادمة
OE	Oedema in Epidermis	وذمة في طبقة البشرة
P	Papilloma	ورم حليمي

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة : Introduction

يعد داء اللشمانيا من الأمراض الطفيلية ذات الانتشار العالمي الواسع، إذ أنه ينتشر في أربع قارات مختلفة تشمل قارة آسيا وأوروبا وإفريقيا وأمريكا (WHO، 2010). يستوطن المرض في 88 دولة من ضمنها العراق وهناك أزيد من أعداد المعرضين لخطر الإصابة، وقد يعود سبب ذلك لتواجدهم في مناطق إنتشار المرض فضلا عن إمكانية التعرض للإصابة أثناء السفر الى البلدان التي يتوطن فيها الطفيلي (سكريبه و اخرون، 2012).

يعد داء اللشمانيا من الامراض المنقولة بواسطة المضيف الناقل Vector-Borne Diseases ، اذ ينتقل عن طريق لسعة انثى ذبابة الرمل Sand Fly أما المسبب لهذا المرض فهو طفيلي وحيد الخلية Unicellular يعود الى جنس اللشمانيا *Leishmania* (Kumer، 2013).

توجد ثلاثة أشكال سريرية مختلفة من داء اللشمانيا والتي تختلف فيما بينها اعتماداً على المضيف الخازن، المظهر السريري والتوزيع الجغرافي للمرض وتشمل هذه الأنواع داء اللشمانيا الجلدي Cutaneous Leishmaniasis او ما يسمى بالبترة الشرقية Oriental Sore او حبة بغداد Baghdad Boil او حبة حلب Aleppo Sore وداء اللشمانيا الاحشائي Visceral Leishmaniasis او ما يسمى بالحمى السوداء Black Fever او كالا آزار Kala_Azar وداء اللشمانيا الجلدي المخاطي Mucocutaneous Leishmaniasis (Faraj Molan، 2010).

مازال داء اللشمانيا الجلدي من الأمراض المهملة في العالم، ولا سيما في البلدان النامية مقارنة بالأنواع الأخرى من الأمراض الطفيلية، على الرغم من وجود 350 مليون شخص معرضين لخطر الإصابة بداء اللشمانيا و مايقارب 2 مليون حالة إصابة جديدة تحدث سنويا (WHO، 2014).

يعتمد تشخيص داء اللشمانيا الجلدية على العلامات السريرية وطرائق التشخيص المختبرية كالمسحات Smear والطرائق المزرعية Culture Methods، فضلاً عن الإختبارات المصلية و الطرائق الجزيئية الحديثة (Rahi وآخرون ،2013).

يمر الطفيلي بطورين أحدهما طور أمامي السوط Promastigote الذي يتواجد في المضيف اللاقري، والآخر طور عديم السوط Amastigote الذي يتواجد في المضيفات الفقيرة ومنها الإنسان (الميلي،2014). وهناك عدة أنواع تعود إلى جنس اللشمانيا *Leishmania* المسبب لداء اللشمانيا الجلدي منها *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. infantum* أما في العراق فقد تبين أن هناك نوعين لهذا الطفيلي هما :-

1. طفيلي اللشمانيا الكبرى *L. major* إذ يسبب هذا الطفيلي داء اللشمانيا الجلدي الجاف ويتواجد في المناطق الصحراوية ذات الجو الحار وينتقل عن طريق لسعة أنثى ذبابة الرمل من نوع *Phlebotomus papatasi* (العزاوي ، 2015).

2. طفيلي اللشمانيا الصغرى أو المدارية *L. tropica* الذي يسبب داء اللشمانيا الجلدي الرطب ويتواجد في المناطق ذات الجو المعتدل وينتقل عن طريق أنثى ذبابة الرمل من نوع *Ph. sergenti* (شعبان والنحاس ،2003).

تعد القوارض المستودع الرئيسي للشمانيا الكبرى إما المستودع الرئيسي للشمانيا المدارية فهو الإنسان، ومن يصاب بهذا المرض يكتسب مناعة تدوم طيلة الحياة بعد الإصابة والشفاء من العدوى باللشمانيا (WHO ،2010). تظهر الإصابة على شكل حطاطة في موقع لدغة الحشرة و تتطور الإصابة لتشكّل عقيدة يرافقها ارتشاح عميق ثم تتقرح العقيدة لانقطاع التروية الدموية عنها وتكون العقيدة مغطاة بقشرة سميكة (علي ، 2014). تنتشر آلاف في المناطق المكشوفة من الجسم منها

اليدين والساقين والوجه ويمكن أن توجد في الأماكن غير المكشوفة من الجسم كالظهر والفخذ (Kedzeiski وآخرون، 2006) .

يعد داء اللشمانيا من الأمراض التي تحفز الاستجابة المناعية وبشكل ملحوظ نظرا لأن الطفيلي يتواجد داخل الخلايا البلعمية Macrophage التي تعد أحد خلايا الجهاز المناعي ، وبما أن للجهاز المناعي دوراً مهماً في الحماية والدفاع عن الجسم من العوامل الممرضة سواء كانت خارج خلوية Extracellular او داخل خلوية Intracellular ، لذا نجد أن هذا الجهاز يستحث عند دخول طفيلي اللشمانيا الى الجسم (نجرس، 2013).

تتحفز الاستجابة المناعية بكلا نوعيها الخلوي Cellular والخلطي Humoral عند دخول الطفيلي الى داخل جسم الانسان (Carroll وآخرون ، 2013). وتعد الاستجابة المناعية الخلوية خط الدفاع الاول والرئيسي ضد طفيلي اللشمانيا إذ تبدأ الخلايا التائية المساعدة T helper أو ما يسمى بخلايا CD4 (Cluser Differentiation4) بالتمايز الى نوعين من الخلايا حسب وظيفة كل خلية وتشمل الخلايا التائية من النوع الأول Th-1 والخلايا التائية النوع الثاني Th-2، إذ تقوم الخلايا التائية من النوع الاول Th-1 بإفراز الحركيات الخلوية Cytokines والتي تقوم بمقاومة الإصابة وتحفز إنتاج الانترفيرون كما Interferon gamma (IFN- γ) الذي بدوره يقوم بتنشيط الخلايا البلعمية التي تساعد على قتل الطفيلي ، أما الخلايا التائية المساعدة النوع الثاني Th-2 والتي تعمل على إفراز حركيات خلوية أخرى والتي تشمل IL-4 (Interleukin -4) ، IL-5 (Interleukin -5) ، IL-10 (Interleukin -10) فهي تعمل على تثبيط عمل الخلايا البلعمية (Carroll وآخرون ، 2013). كما تعمل خلايا القتل الطبيعي (NK) Natural Killer Cells ، و التي تترشح إلى مكان تواجد الطفيلي ، على قتل الطفيلي بصورة مباشرة بينما تقوم الاستجابة المناعية الخلوية على إنتاج الأضداد (الاجسام المضادة) Antibodies (الميلي ، 2014).

ان لكل من العلاقة المتبادلة بين الطفيلي ومضيفه ، لأنواع الخلايا الالتهابية المختلفة المترشحة في منطقة الإصابة و للعلاقة بين الخلايا الالتهابية فيما بينها دوراً قد يؤثر على أعداد الطفيلي والتغيرات النسجية للآفة والاستجابة المناعية ضد الطفيلي (Taheri وآخرون ، 2017).

شهد العراق في السنوات الأخيرة انتشاراً كبيراً لمرض اللشمانيا الجلدية ، إذ وجد إن المرض ينتشر في مناطق عديدة من العراق وخصوصاً في المدن التي عاشت اوضاع صحية وأمنية صعبة وخصوصاً في المخيمات ، وقد ساعدت عوامل عديدة أخرى في إنتشاره منها نزوح السكان من مناطق الى اخرى وكذلك قطع الاشجار وتحول الاراضي الزراعية الى مناطق سكنية فضلاً عن إنتشار الحيوانات السائبة (الكلاب) والقوارض (WHO، 2014) .

ونظراً لأهمية المرض وإرتفاع الإصابة به خلال السنوات الاخيرة في العراق عموماً وفي محافظة ديالى خصوصاً فقد توجهت الدراسات نحو هذا المرض في محاولة لفهم أسباب أنتشاره وإرتفاع نسب الإصابة به ومن هنا جاءت هذه الدراسة .

هدف الدراسة

ومن ما ذكر في اعلاه جاءت هذه الدراسة لغرض :

1- دراسة بعض الجوانب الوبائية للمرض بين المصابين به في مركز محافظة ديالى (مدينة بعقوبة).

2- دراسة التغيرات النسجية التي تحدث في الجزء المصاب بالآفة قبل العلاج وأثناءه.

3- دراسة الاستجابة المناعية الموضعية لمنطقة الآفة قبل واثناء وبعد العلاج لمحاولة فهم

آلية الاستجابة المناعية.

الفصل الثاني
استعراض المراجع

Literature review

Literature Review

2: استعراض المراجع

1-2: نظرة تاريخية A Historical View

يعد داء اللشمانيا الجلدية Cutaneous Leishmaniasis والذي يعرف محلياً بحبة بغداد Baghdad Boil من الامراض المتوطنة في العراق منذ زمن بعيد وسببه طفيليات إبتدائية Protozoa من جنس اللشمانيا *Leishmania* الذي يظهر بطورين أحدهما المسوط Promastigote ويتواجد في المضيف اللاقري (ذبابة الرمل Sand Fly) والطور الآخر عديم السوط Amastigote الذي يوجد في المضيف الفقري ومنها الإنسان (Paniker ، 2007).

ينتشر داء اللشمانيا في انحاء كثيرة من العالم وخاصة في المناطق المدارية والمعتدلة الحرارة، إذ تكون اللشمانيا الجلدية أكثر انتشاراً بالمقارنة مع الأنواع السريرية الاخرى من اللشمانيا كاللشمانيا الاحشائية والجلدية المخاطية (Al-Bajalan وآخرون ، 2018 ؛ Al-Khayat وآخرون ، 2018). لقد عدت منظمة الصحة العالمية (WHO) World Health Organization داء اللشمانيا الجلدية مشكلة صحية كبيرة في منطقة شرق البحر الأبيض المتوسط (Al-Samarai وآخرون ، 2016). وقد بينت WHO (2003) أن هذا المرض أما ان يكون حيواني المنشأ Zooanthroposis إذ إنه ينتقل إلى الإنسان من الحيوانات أو بشري المنشأ Anthroponotic الذي ينتقل من الإنسان إلى الإنسان عن طريق الحشرات الناقلة (Schwartz وآخرون، 2006؛ Reithinger وآخرون ، 2010).

ولداء اللشمانيا تاريخ قديم إذ إنه ذكر عند الإغريق فقد وصفت الندبة الناتجة عن الإصابة بهذا الداء منذ القرن الثامن عشر وأستخدم حينها مصطلح الندبة Stigma وقد ارتبط المرض مع الفقر في حين وصف عالم الاجتماع الفرنسي Emile Durkheim عام 1895 هذا المرض على انه

ظاهرة إجتماعية كونه يتسبب في أحداث تشوه على شكل ندبة، وإن من يحمل هذه الندبة لم يكن مقبولا اجتماعياً (Toun وآخرون ، 2008).

أول وصف لمرض شبيه بمرض اللشمانيا الجلدية كان في عام 1500-2500 ق.م وهناك أدلة على وصف هذا المرض من خلال رسوم لأشخاص مشوهين يحملون ندب في وجوههم على أواني فخارية في الأمريكيتين يعود تاريخها إلى 400-900 بعد الميلاد وفي القرن العاشر ووصف الأطباء هذا المرض ولم يكن يعرف مسببه (Al-Kamel ، 2016).

أما في عام 1756 وبعد فحص مريض تركي، فقد ذكر الكسندر راسل المرض على انه يترك ندبة وقد اطلق عليه حبة حلب ، فيما عرف مسبب المرض في عام 1901 بعد ان سجل كل من لشمان و دونوفان ملاحظتهما عن مرضى مصابين بحمى Dum Dum (اللشمانيا الأحشائية)، إذ نشرنا ملاحظتهما عام 1903 واكدا على وجود كائن وحيد الخلية داخل خلايا طحال المصابين وقد أشارا إلى انه السبب في أحداث ما يسمى بالحمى السوداء أو حمى دم دم (Paniker ، 2007) . وفي العراق ذكر المرض في بعض اوراق البردي عام 650 ق.م من خلال الاشارة الى تشوهات جلدية شبيهة للندب التي يصاب بها المرضى و المعروفة في الوقت الحاضر والناجمة عن الإصابة. كما ذكره العالم ابن سينا في القرن العاشر بعد الميلاد وقد عرف المرض باسم حبة حلب او حبة بغداد في القرن الثامن عشر (Bray ، 1987). وفي ذلك الحين عرف المرض بالأخت او حبة بلح او البلغية او الآكلة (العمري وآخرون ، 1999؛ العزاوي 2017).

وقد توالى الدراسات في العراق عن هذا المرض، ففي القرن الماضي كانت هناك موجات ظهور للمرض وحالات إنحسار ثم عودة للمرض في السنوات الأخيرة، فقد سُجلت اللشمانيا شرق محافظة ديالى وواسط وميسان والبصرة عام 1992 اذ تم تسجيل 8779 حالة في حين سجلت 955 في عام

2000 و 625 حالة في عام 2001 (Al-Warid وآخرون ، 2017). وسجلت 1655 حالة بين عامي 2004 - 2008 (Al-Samarai وآخرون ، 2016) ، فيما سجلت منظمة الصحة العالمية ظهور حالات كبيرة في عام 2018 وتركزت الحالات في مدينة الموصل/ محافظة نينوى (WHO ، 2018).

2-2: تصنيف اللشمانيا Classification of *Leishmania*

يعود جنس اللشمانيا إلى عائلة المتقبيات Trypanosomatidae ضمن رتبة ذات الجسيمات الحركية Kinetoplastida والتي تنتمي إلى صنف السواط الحوانية Zoomastigophora والتي تعود إلى شعبة السواط اللحمية Sarcomastigophora المنتمية إلى تحت مملكة الحيوانات الابتدائية Protozoa والتي بدورها تعود إلى مملكة الطليعات Protista (Bari و Rahman ، 2008). وتم تصنيف جنس اللشمانيا وفقا الى Dawit و اخرون (2012) :

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Class: Zoomastigophora

Order: Kinetoplastida

Family: Trypanosomatidae

Section: Salivaria

Genus: *Leishmania*

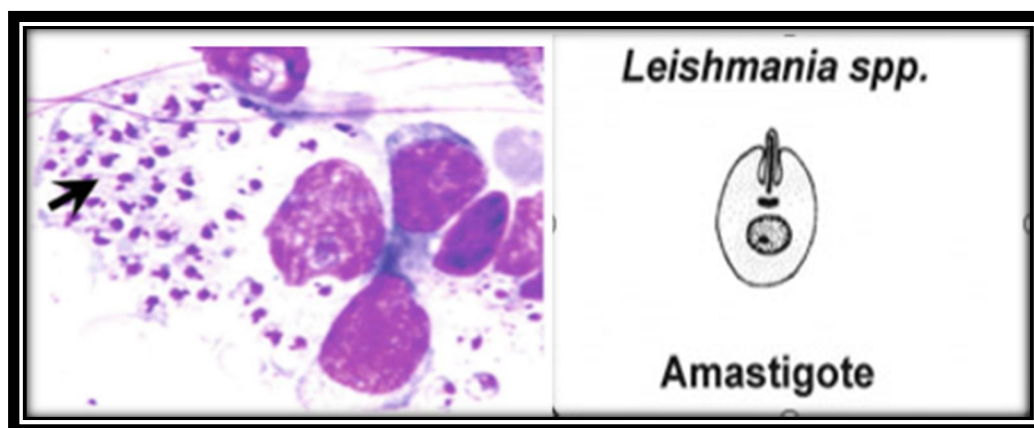
Species : *donovani* , *tropica* , *braziliensi*

3-2: المظهر الخارجي للشمانيا Morphology of *Leishmania*

طفيلي للشمانيا يمر بطورين خلال فترة حياته احدهما داخل الخلايا Intracellular والذي يسمى الطور الالاسوتي Amastigote والذي يتواجد في المضيفات الفقيرة، والآخر خارج الخلايا Extracellular والذي يسمى الطور امامي السوط Promastigote والذي يتواجد في المضيفات اللافقيرة (Ambi وآخرون ، 2011).

1-3-2: الطور الالاسوتي Amastigote

يتواجد الطور الالاسوتي داخل الخلايا البلعمية Macrophage للمضيف الفقري و الانسان (Paniker ، 2007 ؛ Molan و Faraj ، 2010). يظهر هذا الطور بشكل دائري أو بيضوي ولا يحتوي على سوط كما في شكل (a1-2) ، ويتراوح حجمه بين 3-5 مايكرون ويحتوي على نواة دائرية أو بيضوية أما مولد الحركة فيكون أما دائري أو بيضوي أو قضبي يقع بالقرب من النواة (الحديثي وعود ، 2000؛ Mahshwari ، 2008).



شكل (a1-2) الطور الالاسوتي لطفيلي للشمانيا الجلدية (Kumer ، 2013)

2-3-2: الطور امامي السوط Promastigote

يوجد هذا الطور في الأمعاء الوسطى للمضيف اللافقري الناقل وهي حشرة *Phlebotomus* أو ما تعرف بذبابة الرمل Sand fly (Molan و Faraj ، 2010). يظهر بشكل كمثري أو مغزلي

كما في شكل (b1-2) ، ويبلغ طوله تقريبا 10-15 مايكرون ويحتوي على سوط مفرد يصل طوله بمقدار طول الجسم وقد يصل إلى طول 22 مايكرون ويحتوي على نواة وسطية الموقع وكذلك يحتوي على مولد حركة الذي يقع في النهاية الأمامية (Lawyer و اخرون ، 1987، Maheshwari ، 2008) .



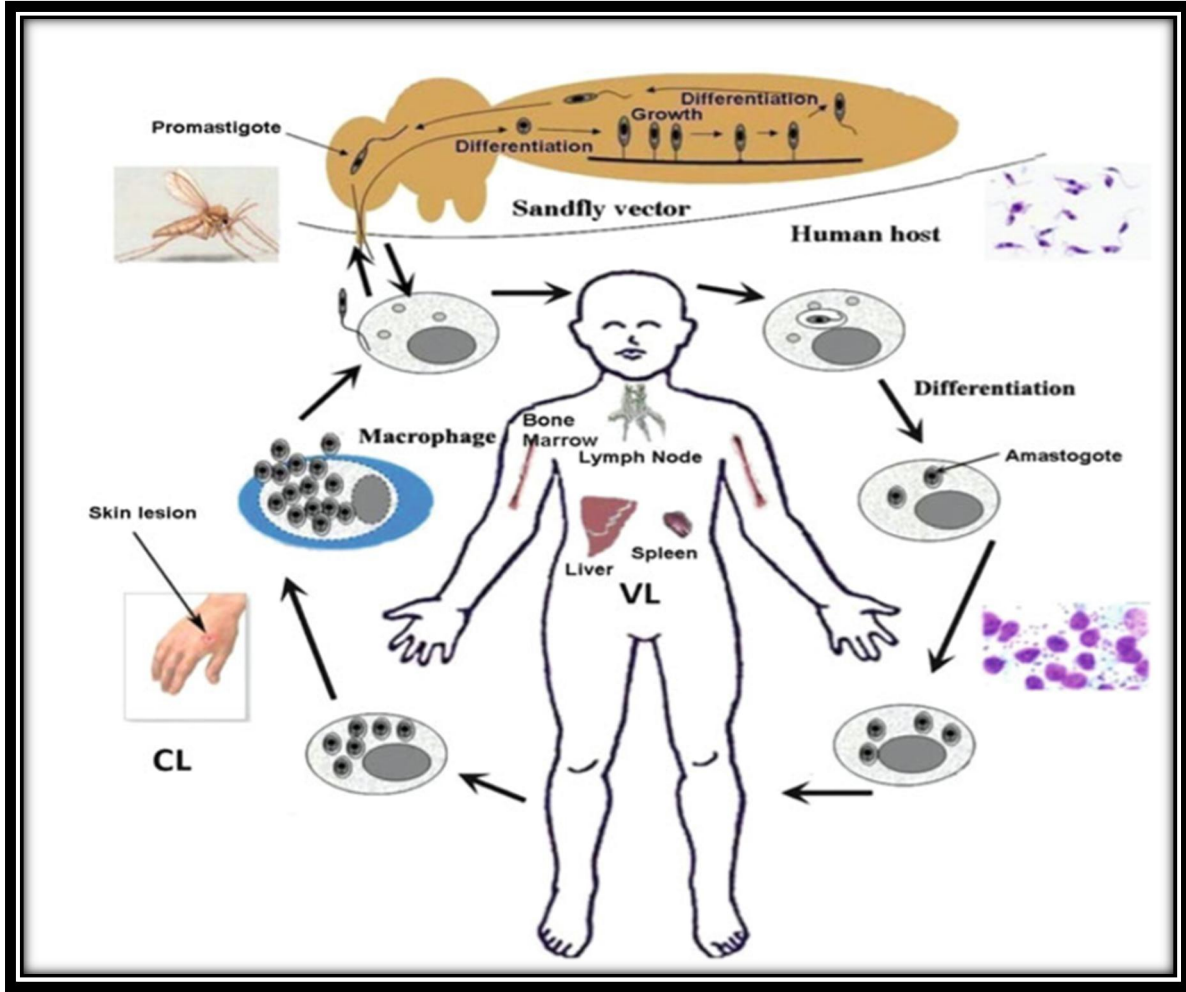
شكل (b1-2) الطور امامي السوط لطيفلي اللشمانيا الجلدية (Kumer ، 2013).

2-4: دورة حياة اللشمانيا : Life Cycle of *Leishmania*

تبدأ دورة حياة طفيلي اللشمانيا عندما تصاب أنثى ذبابة الرمل بالطفيلي عن طريق امتصاص الدم الملوث (الذي يحتوي على الطور اللاسوطي) من المضيف البشري أو احدى الثدييات الأخرى وخلال فترة 4-25 يوم يستمر نمو الطفيلي داخل ذبابة الرمل ، اذ يتحول الطور اللاسوطي Amastigote إلى الطور الأمامي السوط Promastigote وتتكاثر السوطيات بالانقسام لحين وصولها إلى أعداد كبيرة ويستمر التكاثر في المعى المتوسط للذبابة ثم ينتقل إلى البلعوم ويبقى هناك لحين انتقاله من الحشرة إلى المضيف الفقري اثناء تناول الحشرة لوجبة الدم كما في شكل (2-2) ، اذ ينتقل الطفيلي إلى المضيف الفقري عن طريق اللعاب الحاوي على الطفيلي (Wheeler واخرون، 2011). يدخل الطور السوطي Promastigote المضيف الفقري عن طريق لسعة الحشرة الناقلة ولا يتجاوز عدد السوطيات المحقونة في اغلب الاحيان عن 600 طفيلي (Kimblin وآخرون، 2009).

وعند دخول الطفيلي للجسم تصل العدلات Neutrophil إلى مكان اللدغة أولاً فتبتلع السوطيات ولكن لا تتغير هذه السوطيات داخل العدلات ولا تتكاثر وعندما تصل العدلات إلى مرحلة الموت تقوم خلايا البلاعم Macrophages بالتهام الطفيلي بعملية البلعمة (Van Zandbergen ، 2006).

يفقد الطفيلي داخل الخلايا البلعمية سوطه ويتحول إلى عديم السوط خلال مدة قصيرة، إذ تستغرق عملية التحول تقريبا 12-24 ساعة ، وبعد ذلك يتكاثر الطور اللاسوتي داخل الخلايا البلعمية بالانقسام وعند إمتلاء الخلايا البلعمية بأعداد كبيرة تنفجر الخلية البلعمية وتحرر الأطوار اللاسوطية لتصيب خلايا بلعمية أخرى مجاورة لها وعندما تتغذى الحشرة الناقلة على دم المضيف الفقري المصاب ينتقل الطور العديم السوط Amastigote مع الخلايا البلعمية في الدم إلى الحشرة وهكذا تستمر دورة الحياة (Assafa وآخرون ، 2006). ويمكن ان تبقى الخلايا البلعمية المصابة في الجهاز الشبكي البطاني للجلد مسببة داء اللشمانيا الجلدي أو تنتشر عبر الدم الى أعضاء أخرى في الجسم كالکبد والطحال والعقد اللمفاوية ونقي العظم مسببة داء اللشمانيا الحشوي(الاحشائي)او تنتشر الخلايا المصابة من الجلد الى الاغشية المخاطية للأنف والفم والبلعوم مسببة داء اللشمانيا الجلدي المخاطي (Janovy و Roberts ، 2009)



شكل(2-2): دورة حياة طفيلي اللشمانيا الجلدية والاحشائية (Kumer، 2013) .

2-5: المظاهر السريرية Clinical Features :

توجد أنواع عدة من داء اللشمانيا Leishmaniasis التي تؤدي إلى ظهور أشكال مرضية تتراوح ما بين إصابات موضعية تترك أثراً لا تزول طول العمر والتي تعرف بداء اللشمانيا الجلدي Cutaneous Leishmaniasis أو إصابات تصل إلى أعضاء مختلفة و تصيب الأحشاء الداخلية وتؤدي إلى الموت أحياناً وتعرف بداء اللشمانيا الاحشائي Visceral Leishmaniasis (Marquardt و آخرون، 2000؛ Sundar و Rai، 2002) ومن هنا فأن داء اللشمانيا يصنف إلى ثلاثة أنواع :-

2-5-1: داء اللشمانيا الجلدي Cutaneous Leishmaniasis :

يظهر هذا المرض بشكل قرح جلدية في مكان لسعة ذبابة الرمل في الاماكن المكشوفة من الجسم كالساق والوجه والذراعين وفي قليل من الاحيان يظهر في الاماكن غير المكشوفة (كالفخذ والظهر) ، إذ يغزو الطفيلي الأنسجة الجلدية في مكان اللسعة وتتراوح فترة الحضانة للمرض ما بين شهرين إلى سنة وتعد الحيوانات البرية والداجنة والانسان مضائف خازنة للمرض (Jacobson ، 2003) .

2-5-2: داء اللشمانيا الاحشائية Visceral Leishmaniasis :

يطلق على هذا النوع من داء اللشمانيا عدة مسميات منها الحمى السوداء Black Fever والكالازار Kala-Azar ، إذ يغزو الطفيلي الاحشاء الداخلية و منها الكبد Liver والطحال Spleen ونخاع العظم Bone Marrow ومن أعراضه الحمى Fever وتضخم الكبد والطحال Hepatosplenomegaly وفقر الدم Anaemia (اسماعيل واسعد ، 2015) . تعد الكلاب والقوارض المضائف الخازنة لهذا النوع من اللشمانيا (McCall و اخرون ، 2013) .

2-5-3: داء اللشمانيا الجلدي المخاطي Mucocutaneous Leishmaniasis :

تحدث الإصابة في هذا النوع من داء اللشمانيا في الاغشية المخاطية للأنف والفم والبلعوم اذا تظهر آفات متعددة ومتفرجة تؤدي إلى تتخر الفم والأنف مما يسبب تشوهات حادة ويمكن ان تنشأ الإصابة من الآفات الجلدية المزمنة و تبقى لفترة طويلة ويعرف هذا النوع بعدة أسماء منها داء اللشمانيا الانفي البلعومي Nasopharyngeal Leishmaniasis ، وداء اللشمانيا الامريكي American Leishmaniasis و Uta (Shirian وآخرون ، 2012) .

2-6: المضيف الناقل Vector :

يعد داء اللشمانيات المتسبب عن الإصابة بطفيلي إبتدائي يعود إلى أكثر من عشرين نوع من جنس *Leishmania* أحد الأمراض التي تنتقل عن طريق مضيف ناقل. وفي هذا المرض تعد انثى ذبابة الرمل المصابة ، و التي تعود إلى تحت العائلة Phlebotominae، المضيف الناقل لهذا الطفيلي وذلك عند لسعها للإنسان غير المصاب (WHO، 2010). لذا فان داء اللشمانيا الجلدي واحد من الامراض التي تنتشر في مناطق تواجد هذه الحشرة سواء في العراق أو بقية بلدان العالم الاخرى التي ينتشر بها هذا المرض(Lawyer واخرون، 1987؛ Akhoundi وآخرون ، 2013).

تعد الحشرة *Phlebotomus* (التي تعود إلى رتبة ثنائية الاجنحة Dipetra ومن عائلة Psychodidae وتحت العائلة Phlebotominae) المضيف الناقل الرئيسي لطفيلي *Leishmania*، كما أن هناك حشرة تعود إلى جنس اخر بالإمكان ان يعد ناقلًا لهذا المرض والذي يعود إلى نفس العائلة ونفس تحت العائلة هو الجنس *Sergentomyia* ، والذي يعد من نواقل طفيلي اللشمانيا في مناطق عديدة من العالم (Campino وآخرون، 2013) .

يبلغ طول الحشرة حوالي 2.5 - 3 ملم وهي حشرة ذات لون يميل إلى الاصفر الفاتح ، اذ تعيش في الجدران الرطبة وجحور الحيوانات المهجورة (Trigg ، 1996 ، بكداش وآخرون ، 2012). من الناحية التصنيفية تم التعرف على أكثر من 700 نوع وتحت النوع من الذباب الرمل *Sand Flies (Phlebotomus)* و تم تشخيص 30 نوع منها كنواقل مؤكدة لـ 20 نوع من الطفيليات (Emami و Yazdi ، 2008).

تنتشر هذه الحشرات على نطاق واسع ، وفي بيئات مختلفة ، اذ تتواجد عند مستوى سطح البحر وقد تتواجد على إرتفاعات تصل الى 2800 متر فوق مستوى سطح البحر وتتركز بشكل اساسي في

المناطق المدارية وشبه المدارية فضلا عن تواجدها في المناطق الصحراوية (Palit وآخرون ، 2005؛ Andrade وآخرون ، 2006) .

تعد حشرة *Ph. papatasi* المضيف الناقل لطفيلي اللشمانيا الجلدية *L. tropica* في حين تعد *Ph. alexandri* المضيف الناقل للشمانيا الاحشائية (Campino وآخرون ، 2013) . ويتوجه الشك على إعتبار إن الأنواع *Ph. papatasi* ، *Ph. alexandri* ، *Ph. sergenti* ، *Ph. clydi* ، *Sergentomagia baghdadis* ، *S. sintoni* ، *S. squamiplearis* ، *S. palestinensis* هي من الحشرات التي تنقل المرض من الانسان إلى الانسان (وليس من الانسان إلى الحيوان أو العكس) ويعد النوع *Ph. papatasi* النوع الشائع في وسط العراق (Sucker وآخرون ، 1985) . وقد تم تسجيل 14 نوع من ذباب الرمل في العراق من قبل ابو الحب و احمد كان ستة انواع منها لجنس *Phlebotomus* و ثمانية لجنس *Sergentomyia* . و اشار نفس الباحثين الى اعتبار النوع *Ph. papatasi* والنوع *Ph. sergenti* ، *Ph. alexandri* من الانواع الناقلة لداء اللشمانيا في العراق، اذ يعد هذان النوعان *Ph. sergenti* ، *Ph. Papatasi* ، ناقلان للطفيليين *L. major* و *L. tropica*، على التوالي ، في حين عد النوع *Ph. alexandri* النوع الناقل للشمانيا الاحشائية في العراق (Al-Obaidi وآخرون ، 2013) .

تظهر الحشرة تغايرات في مواقع ومواسم الانتشار ولكن بصورة عامة تعيش هذه الحشرة بدرجة حرارة تتراوح بين 16-44 م وعادةً ما تظهر بين شهري ايار وتشيرين الثاني وتكون ذروة فعاليتها في الليالي الدافئة وذات الرياح الخفيفة السرعة (Mirhossieni وآخرون، 2017). ويتغذى كل من الذكر والانثى على الافرازات السكرية للنباتات الا ان الانثى تحتاج الى وجبات الدم لنمو البيوض

وتتنشط الاناث في الليل وفي الصباح الباكر في اخذ وجبات الدم وتضع بيوضها في مناطق دافئة ورطبة وبالقرب من مصادر الغذاء لليرقات (Ready, 2013 ; Salam و اخرون ، 2014) .

2-7: المضائف الخازنة The Reservior Host :

تعد الحيوانات مضيفات خازنة مهمة لاستمرارية دورة حياة طفيلي اللشمانيا، و تأتي أهميتها من كونها مصدرا للإصابة خصوصاً في الإصابات ذات المنشأ الحيواني ، كما يعد الإنسان مضيف خازن في حالات أخرى ويكون مصدرا للإصابة في الإصابات ذات المنشأ البشري (Gramiccia و Gradoni ، 2005) .

هناك نوعان من المضيفات الخازنة الاول يشمل الحيوانات البرية والداجنة والنوع الآخر الانسان وبالرغم من ان لكل نوع من أنواع جنس اللشمانيا مضيفه الخازن الخاص إلا ان هناك استثناءات بحيث يكون لبعض الأنواع البشرية المنشأ مضيفات حيوانية خازنة (Jansen و Roque، 2014) .

فهناك العديد من الثدييات البرية والداجنة سجلت كمضيفات و/او مضيفات خازنة لأنواع من اللشمانيا في مناطق مختلفة من العالم (Jansen و Roque، 2014). وتعد أرانب الصخور والقوارض والنمس والكلاب والقطط والثعالب وابن آوى والذئب والوطايط والقروود و المدرع فضلا عن انواع من الحيوانات الأليفة التي تعد من بين المضيفات الخازنة للشمانيا (Courtenay و Qainnell، 2009) .

المضيفات الخازنة للشمانيا معقدة من حيث انها تظهر تغيرات واختلافات اعتماداً على الموقع الجغرافي والتغيرات الزمني اذ وحدها الدراسات المحلية (التي تتضمن دراسات بيئية وطفيلية) قادرة على

التحديد فيما إذا كانت إحدى تلك الحيوانات المذكورة في اعلاه تعد مضيفات خازنة في تلك البيئة المعنية في حين أنها لا تعد مضائف خازنة في مناطق أخرى (Oryan و Akbari ، 2016) .

إن إنتشار داء اللشمانيا في بيئة الغابات وأصابة الانسان بها يتم نتيجة وجود مضيفات خازنة ملائمة للمرض تحيط بمستوطنات الانسان (Calborn ، 2010) . و تكون الكلاب والقطط مضيفات خازنة في المناطق الحضرية ، إذ تلعب دوراً مهماً في نشر المرض في هذه البيئات (المناطق الحضرية وشبه الحضرية)، وذلك لان وتيرة التماس بين هذه الحيوانات والانسان تزداد في هذه المناطق مما يزيد فرص انتقال المرض الى الإنسان (Alemayehu و Alemayehu ، 2017) .

يشكل الانسان وبصورة رئيسية مضيفاً خازناً للشمانيا الجلدية والاحشائية فضلاً عن وجود أدلة عن مشاركة الكلاب والحيوانات الداجنة والقوارض كمضيفات خازنة للشمانيا الاحشائية في العالم القديم والحديث (Roque و Jansen ، 2014) . كما إن هناك أنواعاً كثيرةً من القوارض مسجلة كمضيفات خازنة لأنواع عديدة من اللشمانيا مثل القوارض الصغيرة ، و بالإمكان الإشارة الى المضيفات الخازنة لداء اللشمانيا بصورة مختصرة اعتماداً على المناطق المتوطن فيها المرض وذلك من خلال الجدول (1-2) والذي ذكر من قبل الباحثين Alemayehu و Alemayehu (2017) .

جدول (1-2) : المضيفات الخازنة لطفيلي الشمانيا المسبب لداء الشمانيا الجلدي اعتمادا على مناطق توزيعها الجغرافي

المنطقة	البلد او المنطقة	المضيف الخازن
العالم القديم	شمال افريقيا وغرب ووسط اسيا	الكلاب ، الانسان ، القوارض
	اثيوبيا وكينيا	القوارض ، الكلاب ، الحيوانات الداجنة ، الطوايط ، ارانب الصخور ، الانسان
	الهند، النيبال ، شرق افريقيا و بنغلادش	الكلاب ، الانسان ، القوارض ، ارانب الصخور
	البحر المتوسط ووسط وغرب اسيا وغرب افريقيا	الكلاب ، الثعالب ، القوارض ، الانسان
	اوربا	الكلاب والثعالب
العالم الجديد	الارجنتين ، بوليفيا ، البرازيل ، كولومبيا ، كوستاريكا ، اكوادور ، السلفادور، غينيا الفرنسية ، كواتيمالا ، هندوراس ، المكسيك ، نيكاراغوا ، USA، وفزويلا ، البرغواي ، سورانام ، بنما .	الكلاب ، القطط ، القوارض ، الجرابيات ، اكل النمل ، الثعالب ، القروود ، المدرع ، الراكون ، السناجب ، الكسلان ، النيص (الشيهم)

من الجدول أعلاه نجد تعدد المضائف الخازنة لمرض الشمانيا الجلدية ومن الملاحظ ان الانسان واحدا من اهم المضيفات الخازنة لهذا المرض فضلاً عن مضائف اخرى كالكلاب و الثعالب و القوارض البرية و يتكيف الخازن الحيواني بشكل جيد مع الطفيلي مما يؤدي الى تطور شكل المرض وانتشاره وبتاثر انتشاره بعدد من العوامل منها كيفية وسهولة وصول هذه المضائف الى مناطق تجمع السكان والتي تزيد من فرص التعرض للإصابة بالمرض، فضلا عن توسع المشاريع الزراعية ومخططات الري والتوسع العمراني وحركة البناء (WHO، 2003) .

2-8: وبائية المرض Epidemiology of Disease :

تزداد حالات داء اللشمانيا الجلدية بإزدياد الإنتشار الموسمي للحشرة الناقلة وقد أشار بكداش وآخرون (2013) و Mirhossieni وآخرون (2017) الى زيادة حالات اللشمانيا الى حدها الأقصى في شهر تشرين الاول وتصل الى أعلى حد في شهر كانون الثاني وشباط ولكن تبدأ بالإنخفاض وقد تصل الى الحد الأدنى في نيسان وقد أشار الباحث نفسه الى ان النشاط اليومي للحشرة يبدأ من الساعة 5:30 – 7:30 مساءً ويستمر حتى الفجر .

ينتشر داء اللشمانيا الجلدية بنوعيه (داء اللشمانيا حيواني المنشأ و البشري المنشأ) في العراق فضلا عن الدول المجاورة له ، إذ يتواجد المرض في كل من ايران ، السعودية ، سوريا ، الأردن و الكويت (Al-Samari و Al-Obaidi ، 2009). كما وتنتشر اللشمانيا الجلدية بشكل كبير في الشرق الاوسط والهند و مناطق البحر المتوسط و افريقيا ويمكن ان تنتشر حسب وجود العامل المسبب لها و وجود المضيف الخازن والمضيف الناقل والعوامل البيئية المرتبطة بهذه المضيفات (Rohousova و آخرون ، 2012 ؛ Masmoudi وآخرون ، 2013) .

ويزداد معدل إنتشار المرض لاسباب عدة منها تواجد السكان في البنايات القديمة الرديئة وعدم وجود صرف صحي ، وتراكم القمامة قرب المناطق السكنية (اذ توفر هذه الظروف بيئة مناسبة للحشرة الناقلة) وانتشار المضائف الخازنة كالكلاب السائبة والقوارض في المساكن والقرى ، وكذلك تسهم عملية ضعف وإهمال السيطرة على المضائف الناقلة و الخازنة في زيادة خطر إنتشار المرض ، وهناك عوامل مثل عدم توفر اللقاح ضد المرض وتوفر القليل من العلاج الطبي لاسيما في المناطق الفقيرة ، إذ تعد جميع هذه العوامل من اسباب انتشار وبقاء المرض (WHO , 2014) .

وقد أشار Oryan و Akbari (2016) إلى إن العوامل المهمة لظهور داء الليشمانيات وانتشاره تشمل عوامل بيئية مثل التغيرات في درجة الحرارة وتخزين المياه وعادات الري وإزالة الغابات والتغيرات المناخية كما تشمل عوامل متعلقة بالمضيف مثل نقص المناعة نتيجة لعوامل عديدة كالإصابة بأمراض نقص المناعة وتناول الأدوية المثبطة للمناعة أو زرع الأعضاء ، فضلا عن ذلك فان ظهور مقاومة الأدوية و زيادة السفر إلى المناطق الموبوءة واستيراد الكلاب التي قد تكون مصابة تشكل عوامل أخرى تزيد من فرص انتشار المرض .

تحدث حوالي 95% من حالات داء الليشمانيات الجلدي في الأمريكتين وحوض البحر المتوسط والشرق الأوسط ووسط آسيا. ويحدث ما يفوق ثلثي حالات داء الليشمانيات الجلدي في 6 بلدان، وهي: أفغانستان والجزائر والبرازيل وكولومبيا وجمهورية إيران الإسلامية والجمهورية العربية السورية. ويحدث ما يقدر بنحو من 0.6 إلى مليون حالة جديدة سنوياً على صعيد العالم (Mubayi و اخرون ، 2018) .

2-9: الاستجابة المناعية للمرض Immune Response to The Disease :

يعد الجلد أول وسيلة دفاعية ضد الإصابة بالعوامل المرضية و بعض الامراض الاخرى وبذلك تؤثر إصابة الجلد على الاستجابات المناعية التحسسية والتهاب الجروح والعمليات الدفاعية ضد جميع الميكروبات (Gimblet-Ochieng،2017)، ويتركب الجلد من طبقتين هما الطبقة العليا التي تدعى البشرة Epidermis وطبقة سفلى التي تدعى الأدمة Dermis ويقع تحت الأدمة طبقة مكونة من نسيج رابط مفكك ونسيج شحمي تسمى بطبقة تحت الأدمة Hypodermis او ما تحت الجلد Subcutaneous (العبدالله، 2012).

تتكون البشرة من نسيج ظهاري طبقي حرشفي متقن Keratinized Stratified Squamous Epithelium tissue، هناك أربعة أنواع من الخلايا الموجودة في النسيج المكون للبشرة تتمثل بالخلايا الكيراتينية Keratinocytes، خلايا الميلانين Melanocytes، وخلايا لانكرهانز Langerhans cells، وخلايا ميركل Merkel cells وبشكل طبقات تتكون بشرة الجلد سميكة مرتبة من الداخل الى الخارج وعلى النحو الآتي (المختار والراوي، 2000):

أ-الطبقة القاعدية Stratum Basal:

مكونة من صف واحد من الخلايا المكعبة التي تتركز عليها الصفائح القاعدية وتتميز بالنشاط للتعويض عن الخلايا المفقودة.

ب-الطبقة الشائكة Stratum Spinosum:

وتتشكل من عدة صفوف من الخلايا التي تتفاوت من الشكل الحرشفي الى المكعبي.

ج-الطبقة الحبيبية Stratum Granulosum:

وتتنظم بشكل خلايا متعددة الاضلاع في 3-5 صفوف ويحتوي سايتوبلازم هذه الخلايا على حبيبات خشنة وتدعى بالحبيبات الكيراتينية الشفافة keratinohyalin granules وانويتها مركزية.

د-الطبقة الشفافة Stratum Lucidum:

تتكون من 3-5 صفوف من الخلايا رقيقة مسطحة ميتة او في طريقها الى الموت تتصل مع بعضها باجسام رابطة وتعاني نوى وعضيات الخلايا الأضحلال ولذا لا تتميز بوضوح في هذه الخلايا.

هـ-الطبقة المتقرنة Stratum Conerum:

تتركب من 15-20 صف من الخلايا الميتة، اذ تفقد نواتها ويمتلا الساييتوبلازم بالكيراتين لذا تسمى بالخلايا الكيراتينية المتقرنة وتعوض دائما من الطبقات التي تحتها.

Papillary Layer فيما تتركب الأدمة من نسيج ضام متمايز الى طبقتين هما الطبقة الحليمية التي تتكون من نسيج ضام فجوي يحتوي أرومات وخلايا دم وخلايا بلعمية والطبقة الشبكية Reticular Layer التي تتكون من نسيج ضام كثيف ليفي يتصف بوفرة الياف الكولاجين وقلة الأرومات (المختار والراوي، 2000) ، اما طبقة تحت الجلد فتتكون من نسيج ضام واوعية دموية وخلايا تختزن الدهن وتعمل هذه الطبقة على حفظ درجة حرارة الجسم والحماية من الاصابات كما تربط الجلد مع الأعضاء المجاورة (العزاوي، 2015) . وفي حالات الإصابة باللشمانيا الجلدية لوحظ ارتشاح الخلايا الدفاعية خلال طبقة الجلد وبشكل أساسي الخلايا البلعمية Macrophage المحتوية على اشكال الطفيلي اللاسوطية والقليل من الخلايا للمفاوية Lymphocyte ومع تطور المرض تصاب أعداد أكبر من الخلايا إذ تصبح الطبقة السطحية من البشرة أكثر تقرباً ثم تتفكك مشكلة بذلك قرحة (Ameral وآخرون، 2000 ؛ دعبول، 2009 ؛ Gimblet-Ochieng، 2017).

يدخل طفيلي اللشمانيا الى الجلد السليم إذ إن الحشرة تحقق الطور أمامي السوط الى الجلد مما يؤدي الى إفراز العديد من المواد التي تعمل على الحث السريع لجذب العدلات Neutrophils وخلايا لانكرهانس Langerhans cell والخلايا الليفية Fibrocyte وخلايا البلعمة الكبيرة في الجلد الى مكان الإصابة (Peters وآخرون ، 2008). يلتهم الطفيلي من قبل الخلايا البلعمية إذ يرتبط الطور الأمامي السوط مع مستقبلات الخلايا البلعمية ومن هذه المستقبلات (البروتين السكري-63 ، Glycoprotien-63 العامل المستقبل الطبيعي Factor Natural Receptor ، العامل المستقبل للخلايا وحيدة الانوية Mononeoclear Cells Factor Receptor ، Lipophosphoglycan (إذ يساعد هذا الارتباط على حدوث عملية الاستساغة Opsonization ثم البلعمة و عند دخول الطفيلي داخل الخلايا البلعمية يبدأ بالتكاثر عن طريق الإنشطار البسيط حتى تمتلئ الخلية البلعمية وتتفجر وبذلك يستطيع الطفيلي أن يصيب خلايا أخرى وينتقل إلى

الخلايا المجاورة في الجلد (في حالة اللشمانيا الجلدية) أو ينتقل مع الدورة الدموية إلى انحاء الجسم (في حالة اللشمانيا الاحشائية) ويصيب الاعضاء المختلفة (Soares و اخرون، 2004 ؛ Teixeira و اخرون ، 2013) .

يحمي طفيلي اللشمانيا نفسه من الانزيمات الهاضمة التي تفرزها الخلايا البلعمية عن طريق عدد من الاليات ومنها تجمع الطور الالاسوتي معا ليشكل مجموعة تسمى خلايا العش (cell nest) وهي محاطة بتركيب يشبه الحقيبة يدعى المصفوفة المحيطة peritrophic matrix التي تحيط بالطفيلي وتحميه من الانزيمات الهاضمة وكذلك احتواءه على بعض الانزيمات منها انزيم الاوكسيد الفائق Super Oxidase وأنزيم الفوسفاتيز السطحي Surface Phosphatase اللذان يعملان على تثبيط الانزيمات الحالة Lysozymes (Secundino و اخرون، 2005 ؛ Donovan ، 2010) .

تتحفز الاستجابة المناعية بنوعيتها (الخلوي و الخلطي) ضد الطفيلي اذ تتحفز الاستجابة المناعية الخلوية أولاً والتي تمثل خط الدفاع الرئيسي في جسم الانسان ضد الاجسام الغريبة والتي تتمثل بالخلايا التائية المساعدة T helper(CD4+) والتي بدورها تنقسم الى نوعين بحسب الوظيفة التي يقوم بها كل نوع من الخلايا التائية المساعدة وتشمل الخلايا التائية من النوع الاول T (Th-1) helper-1 التي تفرز بعض الحركات الخلوية Cytokines مثل الانترفيرون كما (INF- γ) و الذي يكون له الاهمية البالغة في مقاومة الاصابة وكذلك تعد هذه الخلايا (Th-1) المفتاح لتوليد الحماية من خلال انتاج أنترفيرون كما الذي ينشط الخلايا البلعمية والتي تفرز خلال عملية الاحتراق التنفسي ثلاث أنواع من الانزيمات أو المسارات وأحدى هذه الانزيمات أو المسارات أنزيمية ألقائلة السمية هو مسار Inducible Nitric Oxide Synthesis 2 (iNOS2) هذا الأنزيم ينتج جذور حرة سامة تتمثل بأوكسيد النتريك No الذي ينتج بفعل هذا الأنزيم ويعمل على قتل الطفيلي في

طوره اللاسوتي داخل الخلايا (El-Hajj واخرون، 2008؛ Kaye و Scott، 2011؛ Nasrabadi واخرون، 2011). اما الخلايا التائية المساعدة من النوع الثاني T helper-2 (Th-2) التي تنتج الحركيات الخلوية المختلفة منها IL-10 , IL-5 , IL-4 فهي تعمل على تثبيط الخلايا البلعمية مما تسمح للطفيلي بالنمو والتكاثر (Castellano واخرون ، 2009) .

تعد خلايا القاتلة الطبيعية (Natural Killer Cell (NKc من الخلايا المناعية التي لها أهمية في مقاومة الإصابة في وقت مبكر بإنتاجها لإنترفيرون كما $IFN-\gamma$ و قدرتها على إحداث Cytotoxicity للطفيلي داخل الخلايا البلعمية بوجود أو عدم وجود الأجسام المضادة (Awasthi واخرون ، 2004) . وتعد الخلايا التائية للمفاوية السمية Cytotoxic T-Cells والتي يرمز لها بالرمز $CD8+$ من الخلايا التي لها الأثر في الوقاية ضد اللشمانيا الجلدية بسبب قابليتها على إنتاج لإنترفيرون كما $IFN-\gamma$ ، و لها دور في شفاء القرح الجلدية من خلال السيطرة على الطفيليات المتبقية في الانسجة (Roberts ، 2006 ؛ Peters واخرون، 2008).

10-2: الاستجابة المناعية الخلوية Humoral Immune response :

تفرز الأجسام المضادة Antibodies عند حدوث الاستجابة المناعية الخلوية ويعتمد إفرازها على نوع الإصابة ومدتها ، إذ تكون ضعيفة عند الإصابة بداء اللشمانيا الجلدية على الرغم من إمكانية تكوين الاجسام المضادة النوعية كما و لها دور ثانوي في حماية المضيف (Bullen و اخرون، 2003).

تتحفز الاستجابة المناعية الخلوية بعد حدوث الإصابة بشكل مباشر إذ تحفز الخلايا التائية الناضجة على تكوين الخلايا البلازمية التي بدورها تنتج الأضداد النوعية و خصوصا الضدين الامينوكلوبيولين و الامينوكلوبيولين M (IgM) و Immunoglobulin G

(IgG) (Bullen وآخرون، 2003؛ Al-Musawi، 2014 و Sharquie وآخرون، 2016).
 ويكون IgM مسؤول عن الاستجابة المناعية بالمراحل الاولى Primary Immune Response
 من الإصابة اما IgG يكون مسؤول عن الاستجابة المناعية الثانوية Secondary Immune
 Response كما يفرز عند حدوث الاستجابة المناعية المزمنة (Bullen وآخرون، 2003؛
 Sharquie وآخرون، 2016).

يعد نظام المتمم Complement System أحد أكثر الاجهزة الدفاعية للجسم فعالية والتي
 تتعاون مع الاجسام المضادة في أغلب إلاستجابات المناعية ضد المسببات المرضية ومنها مرض
 اللشمانيا ، إذ يعمل هذا النظام على زيادة النظام اللمفاوي البلعمي خلال فترة الإصابة ويختزل مستواه
 في المراحل النهائية مما يؤدي الى ترسبه في الانسجة ، وللمتمم القدرة على قتل الطفيلي بواسطة
 التحلل التنافي اذ يعمل على تكوين ثقب في الجدران المحيطة بجسم طفيلي بواسطة المعقد المتكون
 الذي يسمى (Membrane Attach Complex (MAC ، كما يعمل المتمم C1 على تحلل اغشية
 الطفيلي بعد إرتباطه بالأضداد IgG أو IgM (Bullen وآخرون، 2003). وقد أشار Laurenti
 وآخرون (2004) إلى أهمية هذا النظام في السيطرة على أعداد الطفيليات في منطقة الآفة وذلك في
 خلال المراحل الأولى من الإصابة المختبرية.

2-11: الحركيات الخلوية Cytokines :

هي وسائط متعددة الببتيد Polypeptide Mediators وزنها الجزيئي واطئ (10-23 كيلو
 دالتون) ويتم افرازها من انواع مختلفة من الخلايا المناعية و تمثل نوع من الاستجابة لأي حافز داخلي
 او خارجي (Chapel وآخرون، 1999؛ العزاوي، 2015).

تختلف الحركيات الخلوية في أساليبها التي تؤثر بها على الخلايا التي تفرزها اذ يدعى تأثيرها
 بالتأثير الذاتي Autocrine Action عندما تؤثر هذه الحركيات على الخلية نفسها المفزة لها وعندما

تؤثر على الخلايا المجاورة للخلية المفرزة يدعى بالتأثير الجوارى Paracrin Action وعندما تؤثر الحركات على الخلايا البعيدة التي تفرزها يدعى بالتأثير الداخلي Endocrine Action ويشبه تأثيرها هنا تأثير الهرمونات في الجسم (Roitt وآخرون ، 2001؛ العزاوي ، 2015).

تعمل الحركات الخلوية على تنشيط خلايا خط الدفاع الأول والتي تتمثل بالخلايا البلعية والخلايا القاتلة الطبيعية ضد أي جسم غريب يغزو الجسم والتي بدورها تعمل على تنشيط آليات الدفاع الأخرى (Trinchieri ، 2014) .

تضم الحركات الخلوية كلا من الحركات للمفاوية Lymphokines التي تفرزها الخلايا للمفاوية Lymphocytes والحركات الوحيدة Monokines التي تفرزها خلايا وحيدة النواة Monocytes والخلايا البلعية Macrophages والحركات الكيميائية Chemokines والتي تفرز من أنواع مختلفة من الخلايا كالبلاعم وحيدة النواة Mononuclear Phagocytes وألارومات الليفية Fibroblasts والخلايا البطانية Endothelial Cell و كذلك الانترليوكينات Interleukins التي تفرز من قبل خلايا الدم البيضاء Leukocytes (Trinchieri ، 2014 ، العزاوي ، 2015) .

2-11-1:انترفيرون كاما (IFN- γ) Interferon Gamma :

يعد من الحركات الخلوية المكونة من بروتينات سكرية Glycoproteins و يتكون من 142 حامض أميني إذ يعود الى عائلة الانتروفيرونات التي تضم ثلاثة أنواع هي الانتروفيرون الفا Interferon Alpha (IFN- α) و الانترفيرون كاما Interferon Gamma (IFN- γ) والانترفيرون بيتا Interferon Beta (IFN- β) وجميع هذه الأنواع لها نفس الحجم ولكن اختلافها يكون من الناحية المستضدية ويمكن أن تختلف في صفات أخرى، إذ يمكن لكل من نوعي انترفيرون الفا وبيتا مقاومة الأس الهيدروجيني PH الواطئ ، اما الانترفيرون كاما فيتميز انه لا يستطيع مقاومة الأس

الهيدروجيني PH الواطئ (Cruse و Lewis ، 2000 ، العزاوي ، 2015) . ينتج الانترفيرون كما بشكل اساسي من قبل الخلايا للمفاوية التائية المساعدة من النوع الاول ومن الخلايا التائية CD8+ وكذلك من قبل الخلايا القاتلة الطبيعية (Baron وآخرون ، 1991؛ Domingos وآخرون، 2012). ويكون للانترفيرون كما عدد من الوظائف منها تنشيط الخلايا البلعمية الكبيرة يعمل على زيادة قابليتها على تحطيم الكائنات الدقيقة داخل جسم الكائن الحي، ويعمل على تنشيط الخلايا القاتلة الطبيعية وخلايا الدم البيض العدلة Neutrophil والخلايا الحمضة Eosinophil (Cruse وآخرون؛ 2000)، وكذلك يساعد في التغلب على الممرضات كالفايروسات وبعض الطفيليات ومنها أنواع اللشمانيا التي تغزو جسم المضيف ويعد مؤشراً مهماً لشدة المرض (Schroder وآخرون، 2004).

ويعد انتاج انترفيرون كما $IFN-\gamma$ و عامل التنخر الورمي الفا Tumor Necrosis Factor ($TNF-\alpha$) ، المنتجة من قبل الخلايا التائية المساعدة من النوع الاول ذات أهمية لتجنب نمو العوامل الممرضة داخل الخلوية والسيطرة على الاصابة بما في ذلك الاصابة بطفيلي اللشمانيا وقد دلت دراسة أجريت على اللشمانيا الجلدية الامريكية أن هناك أدلة تشير إلى وجود زيادة في انتاج الانترفيرون كما $IFN-\gamma$ وعامل التنخر الورمي ألفا $TNF-\alpha$ وأن هذا الانتاج يزداد بإزدياد إنتاج عوامل الاستجابة المناعية الإلتهابية وظهور القرحة المخاطية على الرغم من قلة الطفيليات المعزولة و هذا يدل على ان انتاج الانترفيرون كما $IFN-\gamma$ يرتبط بعوامل الإلتهاب المفرزة في منطقة الاصابة (Oliveira وآخرون ، 2014) .

2-11-2: الواسم الخلوي للخلايا البائية CD20 :

هو عبارة عن بروتين سكري مفسفر نشط Activated –Glycosylated Phospha Protein يعبر عنه على اسطح جميع الخلايا البائية B cells منذ بداية تمايزها و يزداد تركيزه على اسطحها

خلال مراحل نموها وصولاً الى نضجها (Mohramann و Amber ، 2000 ، Lima و Santos ، 2000 ، 2017). الوزن الجزيئي له هو 33-37 كيلو دالتون ومن وظائفه تنظيم التنشيط والانتشار والتميز للخلايا البائية للمفاوية وفي اغلب الأحيان يستخدم لبيان الاستجابة المناعية بهذا النوع من الخلايا (Riley و Sliwowski ، 2000 ، Balmer و اخرون ، 2009؛ Leandro ، 2013).

تبين إن الإصابة بالطفيليات الابتدائية تؤدي الى تحول الخلايا البائية غير الناضجة إلى خلايا بائية ناضجة وتنشط هذه الخلايا في حالة الإصابة بالطفيليات الابتدائية، إذ إنها تنتج خلايا بلازمية Plasma Cell قصيرة العمر والتي توفر مصدراً لإنتاج الاجسام المضادة، كما أن هذه الإصابات الطفيلية التي تحفز تنشيط الخلايا البائية تؤدي إلى إنتاج اجسام مضادة خاصة بالطفيلي المعني (الذي يسبب الإصابة) ، ولكي تحمي الطفيليات نفسها فإنها طورت آليات للتهرب من هذه الخلايا وذلك بحث بدء عملية الموت المبرمج Apoptosis للخلايا البائية و كنتيجة لهذه العملية فإن هناك استجابة مبكرة لـ IgM وقد وجد ان بعض من الطفيليات المثقبيات Trypanosomatidae تؤدي إلى حدوث الموت المبرمج للخلايا و بالتزامن مع إطلاق الأجسام المضادة و أن الخلايا البائية تبدأ بـإنتاج الحركات الخلوية أو تنشيطها أثناء الإصابة الطفيلية والتي تساهم بتطور الإصابة (Vesely و اخرون ، 2012؛ Bockenstedt و اخرون ، 2015).

ذكر Rodriguz -Pinto و اخرون (2014) إن الخلايا البائية المتخصصة لطفيلي اللشمانيا المعزولة من اشخاص مصابين باللشمانيا الجلدية لها القدرة على استحثاث الخلايا التائية نوع CD4 واستحثاث افراز الحركات الخلوية ومن هنا إستنتجوا إمكانية استخدام هذه الآلية في علاج الإصابة باللشمانيا.

2-11-3:الحركي الخلوي الانترليوكين - 4 4 - Interlukin (1L-4) :

يفرز IL-4 بشكل رئيسي من الخلايا التائية النشطة من النوع الثاني Th-2 و كذلك من

الخلايا البدنية Mast Cells والخلايا القعدة Basophills والحمضة Eosinophil (Voehringer

واخرون، 2004؛ Anovazzi واخرون، 2017) .

وهو عبارة عن حركي خلوي يساهم في تنظيم الاستجابة المناعية وبمستويات مختلفة. إذ

يساهم في تمايز الخلايا التائية الخام (Th0) إلى الخلايا التائية النوع الثاني والتي بدورها ايضاً تنتج

كميات إضافية منه (تنتج كميات إضافية من IL-4) ، معظم الدراسات الحديثة تشير إلى أنه ينتج

بصورة رئيسية من قبل الخلايا التائية النشطة و لكنه ينتج ايضاً من قبل الخلايا البدنية و الخلايا

القعدة والخلايا الحمضة (Nelms وآخرون، 1999؛ Luzina وآخرون، 2012). يقوم IL-4 بعدد

من الوظائف منها يعمل على استحثاث انتاج IgE وله القدرة على تحديد النمط الظاهري للخلايا

التائية المساعدة من نوع الثاني Th-2 كما يساهم في تنظيم وتكاثر الخلايا للمفاوية والاليف الضامة

و الخلايا الظهارية و البطانية وله اهمية في موت الخلايا المبرمج (Vijayanand وآخرون، 2012

؛ Anovazzi واخرون ، 2017) .

يلعب IL-4 دوراً مهماً في العديد من الفعاليات الحيوية ومنها الاستجابة ضد الطفيليات

(Allen و Sutherland، 2016). فهو يعمل على تمايز الخلايا التائية من النوع الثاني في

الإصابات الطفيلية وقد وجد إن غياب إنتاج هذا الحركي يؤدي إلى تفاقم الأصابة الطفيلية بالديدان في

الفئران المختبرية (Zamorano وآخرون، 2003). وهو يلعب دوراً في مقاومة الأصابة بالشمانيا

(Guimaraes وآخرون، 2006) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3- المواد وطرائق العمل: Materials and Methods

3-1: الأجهزة والمواد والغدد المختبرية المستعملة:

3-1-1: الأجهزة المستعملة Apparatus Used:

تمَّ استعمال عدد من الأجهزة في الدِّراسة الحالية، والمبينة في الجدول (3-1):

جدول (3-1): الأجهزة المستعملة والشركات والدول المنتجة لها.

الدولة Country	الشركة Company	اسم الجهاز Instruments	
Japan	Marubeni	Refrigerator	ثلاجة
Germany	Memment	Wax Bath	حمام شمعي
Germany	Memment	Water Bath	حمام مائي
Germany	Labinco	Hot Plate	صفحة ساخنة
Germany	Memment	Electric Oven	فرن كهربائي
USA	Genex	Camera Genex 5Mega	كاميرا تصوير
South Korea	Samsung	Microwave	الميكروويف
USA	Genex	Light Microscope	مجهر ضوئي
Japan	Kedee	Manual Microtome	مشراح يدوي
Germany	Termaks	Timer	مؤقت

30 ChapterThree:Materials and Methodsالفصل الثالث:المواد وطرائق العمل

3-1-2: المستلزمات المختبرية الطبية المستعملة:

استعملت في الدّراسة الحالية المستلزمات المختبرية والمواد المبينة في الجدول (2-3):

جدول (2-3): المستلزمات المختبرية والشركات والدول المنتجة لها.

الدولة Country	الشركة Company	اسم المادّة المختبرية Materials	
China	Apel	Cover Slides	أغطية شرائح
Germany	EAIPF	Eppendrof Tubes	أنابيب أبندروف
U.K.	Thrmo	Positive Charge Slides	شرائح موجبة الشحنة
China	Citoclase	Slides	شرائح زجاجية

3-1-3: المواد الكيميائية المستعملة Chemicals Materials Used:

استعملت مجموعة من المواد الكيميائية، والمبينة في الجدول (3-3):

جدول (3-3): المواد الكيميائية المستعملة والشركات والدول المنتجة لها.

الدولة Country	الشركة Company	اسم المادّة الكيميائية Name of Chemical Materials	
Denmark	Dako	Endogenous Peroxidase 3% Hydrogen Peroxidase	انزيم بروكسيديز الهيدروجين 3%
England	BDH Chemical Ltd	Canada Balsam	بلسم كندا
U.K.	Vector Laboratories	Avidin – Biotin Blocking	داري الافدين بايوتين
U.K.	Sigma	Phosphate Buffer Saline (PBS)	داري الفوسفات الملحي
U.K.	BDH	Sodium Citrate Buffer	داري سترات الصوديوم
China	SCR	Xylene	زايلين

31 ChapterThree:Materials and Methodsالفصل الثالث:المواد وطرائق العمل

Italy	History Line Labotaries	Paraffin Wax	شمع البارافين
Denmark	Dako	polyclonal Rabbit Anti – Human CD4	ضد الارنب متعدد النسيلة المضاد لـ CD4 البشري
India	Loba Chemie	Concentrated Formalin	فورمالين مركز (37-40%)
Iraq	Samaraa Medical	Alcohol 70%	كحول طبي تركيز 70%
U.K.	Sigma	Tween (20)	المادة الصابونية
China	Kontam	Xylocaine (HCl) 2%	مخدر موضعي 2%
U.K.	Vector Laboratories	Avidin – Biotin Complex	مركب الافدين بايوتين
U.S.A	Vector Laboratories	Horse Serum	مصل الخيول
Denmark	Dako	3,3 Diaminobenzidine	ملون DAB
S.A.R.	Syrbio	Eosin stain	ملون الايوسين
S.A.R.	Syrbio	Hematoxylin Stain	ملون الهيماتوكسليين

3-1-4: العدد المختبرية والشركات المستعملة:

استعملت في الدراسة الحالية مجموعة من العدد المختبرية، والمبينة في الجدول (3-4):

جدول (3-4): العدد المختبرية المستعملة والشركات والدول المنتجة لها.

الدولة Country	الشركة Company	العدة المختبرية Laboratory Kit
U.S.A	Biorbyt (UK)	Human CD20 antibody
U.S.A	Biorbyt (UK)	Human IFN- γ antibody
U.S.A	Biorbyt (UK)	Human IL-4 antibody

2-3: موقع الدراسة Study Location:

أجريت الدراسة الحالية على المرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدية والمراجعين لوحدة الامراض الجلدية في مستشفى بعقوبة التعليمي العام /الاستشارية في مركز مدينة بعقوبة /محافظة ديالى.

3-3: جمع المعلومات Collection of Data :

جُمعت المعلومات من المرضى المصابين بمرض اللشمانيا الجلدية وذلك بعد أن شُخصت من قبل أطباء مختصين بالامراض الجلدية وحسب الأعراض السريرية. وتم إعداد أستمارة إستبيان لتسجيل المعلومات المطلوبة عن طريق طرح الاسئلة على المصابين وشملت الاستمارة : الاسم ، العمر، الجنس، السكن ، الحالة الاجتماعية ، شكل القرحة ، عدد القرح ، موقع الإصابة ، مدة الإصابة ، وجود القوارض في المنزل أو المنطقة السكنية فضلاً عن منطقة السكن (ريف أو مدينة) وهل يعاني المريض من أمراض أخرى او يتناول ادوية (ملحق A) .

4-3: جمع العينات Collection of Samples:

شملت الدراسة الحالية 110 شخص مصاب بداء اللشمانيا الجلدية بواقع 50 ذكور و60 أناث وكانت أعمارهم تتراوح بين (أقل من سنة – أكثر من 41 سنة) وقد سُجل نوع العلاج الذي تم تلقيه من قبل المرضى وعدد الجرع المأخوذة ، أذ تبين أن جميع المرضى تلقوا عقار البنتوستام على شكل حقن جلدية حول موضع الإصابة وتم تحديد كمية الجرعة وعدد الجرع من قبل الطبيب المختص بالأمراض الجلدية.

3-4-1- الخزعة النسجية Histological Biopsies :

تم أخذ 45 خزعة نسجية Biopsies من جلد المرضى المصابين الذين أظهروا موافقتهم فيما لم تؤخذ الخزعة من الآخرين . أخذت الخزعة بواسطة أداة ثقب (أداة التخريم) تدعى Punch وقد تم أخذ العينة بأن يتم ثقب الجلد من حافة القرحة مع تجنب المناطق المتقيحة (بواقع 4 ملم) وتتم هذه العملية بعد ان يتم تعقيم الآلة والجزء المراد أخذ الخزعة منه بالكحول الايثيلي و بتركيز 70% والتخدير الموضعي باستخدام Xylocaine (2%) تمت العملية من قبل مختصين.

حُفظت العينات بمحلول الفورمالين 10% لحين إجراء الفحوصات اللازمة. وتم توزيع العينات على ثلاث مجاميع المجموعة الاولى قبل العلاج و المجموعة الثانية اثناء العلاج و المجموعة الثالثة مرحلة الشفاء وقد تمت عملية جمع العينات في الفترة المحصورة بين آب 2017 ولغاية تشرين الثاني 2017. وقد أخذت موافقة جميع أفراد العينة المدروسة قبل أخذ الخزعة، ولم تؤخذ الخزعة من الأشخاص الذين رفضوا ذلك كما لم تؤخذ العينات من الأشخاص الذين يعانون من الأمراض المزمنة أو يتناولون الادوية.

3-4-2: الدراسة النسجية Histological Study :

تم اتباع طريقة Bancroft و Steven (1996) و Nasrabdi وآخرون (2011) في عمل المقاطع النسجية من الخزعة المأخوذة من المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية وكما يلي:

1. التثبيت والغسل : Fixation and Washing

تُثبت الخزع النسجية بواسطة محلول الفورمالين 10% لمدة 24 ساعة، وتم ترك العينات لحين الخطوة اللاحقة، وتم تحضير محلول الفورمالين 10% بإضافة 90 مليلتر من الماء المقطر إلى 10 مليلتر من الفورمالين المركز وغسلت العينات بالماء الجاري بعد انتهاء مدة التثبيت.

2. الانكاز :Dehydration

مررت العينات بسلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%) ليتم سحب الماء من العينات، وقد تم ترك العينات في كل تركيز من تراكيز الكحولات المذكورة اعلاه لمدة ساعة.

3. الترويق :Clearing

رُوقت العينات بأستعمال مادة الزايلين Xylene لمدة تراوحت بين 20 إلى 30 دقيقة.

4. الارتشاح والإسجاء (الطمر) :Infiltration and Embedding

تم وضع العينات المروقة في شمع البارافين المنصهر بدرجة 56-58 م°، إذ تم ارتشاح العينات بشمع البارافين على ثلاث مراحل ولمدة ساعة كاملة لكل مرحلة، وبعدها يتم إسجاء العينات بنفس الشمع داخل قوالب خاصة.

5. التشذيب والتقطيع :Trimming and Sectioning

شُذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج النسجية بواسطة مشرط حاد، وتم تقطيع النماذج يدويا باستخدام جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome بسمك 5 مايكروميتر، ونقلت الخزع النسجية المقطعة والمتسلسلة على شرائح زجاجية Slides، مع مراعاة وضع السطح اللامع إلى الأسفل، ثم وضعت الشرائح، بعد ترقيمها، على صفيحة كهربائية ساخنة Electronic Hot Plate بدرجة حرارة 37 م° لغرض فرش المقاطع النسجية، وثُركت لتجف لمدة 24 ساعة.

6. التلوين Staining:

تم تلوين الشرائح بملون الهيماتوكسلين - أيوسين، لإظهار التراكيب العامة للنسيج بحسب طريقة Humason (1979) وعلى النحو الآتي:

أُزيل الشمع من العينات المفروشة على الشرائح، باستخدام مَادَّة الزايلين وعلى مرحلتين ولمُدَّة 30 دقيقة لكل مرحلة، ثم مُرِّرَت العينات بسلسلة تنازلية من الكحول الايثيلي ابتداءً من 100% على مرحلتين ثم 90%، 80%، 70%. إذ وضعت العينات لمدة دقيقة واحدة لكل مرحلة، تم غسل العينات بعدها بالماء المقطر ثم وضعت العينات في ملون الهيماتوكسلين مُدَّة 5-10 دقائق، بعدها غسلت بالماء الجاري مُدَّة 5 دقائق، ووضعت العينات بعدها في محلول ملون الايوسين مُدَّة دقيقة واحدة فقط. ثم مررت بعدها بسلسلة تصاعدية أخرى من الكحول الايثيلي وتركيز 70%، 80%، 90%، 100% لمدة دقيقة واحدة لكل تركيز لغرض إزالة الصبغات الفائضة عن العينات. ثم رُوِّقَت الشرائح بمادة الزايلين وعلى مرحلتين لمُدَّة 30 دقيقة لكل مرحلة.

7. التحميل Mounting:

تم تحميل العينات باستعمال المَادَّة اللاصقة بلسم كندا Canada Balsam، ووضعت فوقها الأغشية الزجاجية Cover Slides، ثم نقلت الشرائح الزجاجية فوق صفيحة ساخنة درجة حرارتها 37 °م لتسهيل جفاف العينات.

8. الفحص Examination:

تم فحص الشرائح التي تم تحضيرها بالخطوات السابقة بواسطة المجهر الضوئي المركب Compound Light Microscope وقد لوحظت وسجلت التغيرات المرضية التي طرأت على الأنسجة المصابة بالمرض ثم صورت الشرائح الزجاجية باستعمال كاميرا HDCE-X5 المثبتة على

المجهر وقد تم التصوير في مختبر الحيوان /قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى.

3-5: الدراسة الكيميائية المناعية النسجية Immunohistochemical Study :

3-5-1: مبدأ الاختبار Principle of the Test :

تعتمد هذه التقنية على الكشف عن التعبير عن كل من IL-4 و IFN- γ و CD20 في النسيج المصاب بطفيلي الشمانيا الجلدية وفي موقع الآفة خصوصاً وذلك باستخدام مبدأ الأفيدين - بايوتين والذي يُعد من التقنيات الشديدة الحساسية والتي تعتمد على الأفيدين (وهو بروتين سكري) والذي يمتلك القدرة الشديدة للارتباط بالبايوتين (وهو فيتامين ذو وزن جزيئي صغير) .

ويمكن تعليم الأفيدين باستعمال البيروكسيداز أو الفلورسين أما البايوتين فله القدرة على الارتباط بالجسم المضاد. ومن هنا فإن هذه الآلية تشمل ارتباط الجسم المضاد الأولي غير المعلم مع المستضد من جهة ومع الجسم المضاد الثانوي المرتبط بالبايوتين من جهة أخرى والذي يرتبط بدوره مع معقد الأفيدين - بايوتين والذي يكون معلماً بمادة (الانزيم) البيروكسيداز ثم يتم إظهار الأخير اي البيروكسيداز باستخدام صبغة DAB أو أي صبغة أو ملون له القدرة على إظهار لون عند تفاعله مع البيروكسيداز (Hsu وآخرون ، 1981) .

3-5-2: طريقة العمل :

تم إستعمال تعليمات الشركة المصنعة المرفقة مع العدة المختبرية للتحري عن كل من CD20

IL-4 و IFN- γ وعلى النحو التالي :

- تم إزالة شمع البرافين من المقاطع النسجية المثبتة على الشرائح الموجبة الشحنة وذلك باستخدام

الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة 4 دقائق لكل مرحلة.

37 الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل Chapter Three: Materials and Methods

- تم غمر المقاطع النسجية بتدرجات تنازلية للكحول وأبتدأت من 100% ثم 95%، 80%، 70% وبواقع 4 دقائق لكل تركيز ثم غُسلت الشرائح الحاوية على العينات بالماء المقطر.
- كُشف عن المستضد وذلك بوضع الشرائح في محلول سترات الصوديوم عند 6 - PH و وضعت في المايكرويف عند 60 واط وعلى مرحلتين بواقع 5 دقائق لكل مرحلة. تم تبريد العينات وذلك بتركها 15- 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة. ثم غُسلت بمحلول PBS على مرحلتين و بواقع 5 دقائق لكل مرحلة .
- تم حضن العينات بمادة الغلق البيروكسيديز Peroxidase Block مدة نصف ساعة وغُسلت بعدها بمحلول الفسلجي PBS وذلك على مرحلتين مدة كل منها 5 دقائق.
- حُضِنَت العينات بوضعها بمصل الحصان 10% Horse Serum لمدّة لا تقل عن 10 دقائق، ثم تم غسل العينات بمحلول PBS بمرحلتين، لمدة 5 دقائق لكل مرحلة.
- ثم حُضِنَت العينات بعدها بمادة القالب الافدين - بايوتين Avidin - Biotin Blocking مدّة ربع ساعة (15 دقيقة)، وغُسلت العينات بواقع مرحلتين بمادة PBS ولمُدّة 5 دقائق لكل مرحلة.
- حُضِنَت العينات بضدّ الارنب متعدد النسيلات Polyclonal المضاد لكل من الحركيات الخلوية (CD20 و IL-4 و IFN- γ) البشري و بحسب العدة ، ولمُدّة ساعة كاملة وذلك بدرجة حرارة الغرفة وبعد التخفيف بمحلول PBS (30:1)، ثم غُسلت بمحلول PBS على مرحلتين .
- حُضِنَت بعدها العينات بمعقد بيروكسيديز الافدين - بايوتين Avidin - Biotin Peroxidase مدّة نصف ساعة.

- وضعت العينات بمحلول ثنائي أمين البنزادين رباعي الهيدروكلوريد 3,3 Diaminobenzidine (DAB) ومحلول ثنائي أمين البنزادين الأساس DAB Substrate ولمدة 8 دقائق ، ثم غسّلت العينات بمحلول PBS و على مرحلتين مدة كل منها 5 دقائق .
- ثم تم معالجة العينات بملون الهيماتوكسولين Hematoxylin Stian وغسّلت بعدها بالماء المقطر، وتركت العينات لتجف بدرجة حرارة الغرفة ، فحصت العينات تحت المجهر الضوئي لملاحظة التعبير عن كل من CD20 و IL-4 و IFN- γ .

3-6: التحليل الإحصائي Statistical Analysis :

أستخدم البرنامج الإحصائي Statistical Package of Social Sciences (SPSS) لتحليل جميع بيانات الدراسة الحالية ، إذ تم التعبير عن البيانات بأستعمال المتوسط الحسابي ($\pm$) والخطأ القياسي اختبار T عندما تكون بين مجموعتين أو اختبار ANOVA عندما تكون بين أكثر من مجموعتين .وعبرت عن البيانات بصيغة التكرار او النسبة المئوية وتم تحليلها بأستخدام مربع كاي .إذا كانت قيمة P أقل من أو تساوي 0.05 فأنها تعني وجود فروق معنوية .

الفصل الرابع
النتائج والمناقشة

Results and Discussion

Results and Discussion

44: النتائج و المناقشة

1-4: توزيع الاصابة بداء اللشمانيا الجلدية Distribution of Cutaneous

Leishmaniasis Infection

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إنه من بين 110 اشخاص من المراجعين لوحدة الامراض الجلدية في مستشفى بعقوبة التعليمي والمصابين باللشمانيا الجلدية، كان 45.45 % (50 ذكر من اصل 110) منهم ذكور و 54.54 % (60 انثى من اصل 110) منهم إناث وقد كانت اعمارهم تتراوح بين اقل من سنة - اكثر من 41 سنة وكما موضح في جدول (1-4). تبين من النتائج عدم وجود فروق معنوية للإصابة باللشمانيا الجلدية بين الذكور والاناث عند مستوى احتمالية 0.05 اذ بلغت قيمة P-value 0.390 وهذا يتفق مع Saheb (2018) و AL- Khayat وآخرون (2018) ، والذين بينوا عدم وجود فروق معنوية بين الذكور والإناث المصابين باللشمانيا الجلدية بالرغم أن ألاتا أكثر تعرضاً للإصابة من الذكور. فيما كانت هذه النتيجة غير متفقة مع Kalaf وآخرون (2016) و Al-Warid وآخرون (2017) الذين بينوا ان إصابة الذكور كانت أعلى من الإناث وقد بينوا ان سبب ذلك قد يعود الى زيادة احتمالية تعرض الذكور للسعة الحشرة الناقلة للمرض مقارنة بالإناث نظرا لكثرة نشاط الذكور مقارنة بالإناث ونوع الملابس التي قد تكشف عن الأذرع والأرجل. إن نتائج الدراسة الحالية تظهر عدم وجود إختلاف بين إصابات الذكور والاناث مما يشير الى تشابه فرص تعرضهم للإصابة كونهم يعيشون في بيئة واحدة والتي تتميز بالظروف البيئية نفسها كما إن طبيعة العينة المدروسة (التي تتضمن المراجعين لوحدة الامراض الجلدية في مستشفى بعقوبة التعليمي) والتي شملت على أعداد إناث أكثر من أعداد ذكور لكون المراجعات الاناث هم الأكثر مراجعة في تلك

الوحدة لانشغال الذكور بوظائفهم أو أعمالهم مما أدى إلى ظهور النتائج الحالية بين الجنسين و إرتفاع نسبة الإصابة عند الاناث مقارنة بالذكور على الرغم من عدم وجود فروق معنوية .

أن نتائج هذه الدراسة (إصابة إناث أكثر من الذكور) تتفق أيضا مع دراسة الباحثين Bailey وآخرون (2007) و Akosy وآخرون (2016) الذين بينوا سبب إرتفاع الإصابة عند إناث قد تعود الى عدة تفسيرات الأول ان عدد الحالات المرضية المراجعة لبعض المستشفيات والمراكز الصحية من إناث أكثر من الذكور، الثاني إختلاف النشاطات للإناث والذكور والأخير قد يرجع الى إنخفاض المناعة عند إناث مقارنة بالذكور نتيجة الحمل والانجاب.

أوضحت الدراسة الحالية ان أعلى نسبة إصابة كانت بين الفئات العمرية 21 - 30 سنة (جدول 4-1) وهذا لا يتفق مع نتائج الدراسات السابقة التي أوضحت ان أكثر الفئات العمرية تعرضا للإصابة بهذا المرض هم من كانوا بعمر 20 سنة وقل وخصوصا فئة الاطفال كونهم الاكثر نشاطا ولعبا في المناطق التي يتواجد فيها المضيف الناقل (Kalaf وآخرون، 2016 ؛ AL-Warid وآخرون ، 2017 ؛ AL- Khayat وآخرون ، 2018) . وقد يعود السبب في نتائج الدراسة الحالية الى طبيعة العينة المدروسة والتي أعتمدت على المراجعين للمستشفى التعليمي. كما لا تتوافق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دحام والالوسي (2011) الذين بينا إن أعلى نسبة إصابة كانت في الاعمار دون العاشرة وقد عللا ذلك الى كثرة نشاط هذه الفئة العمرية فضلا الى عدم تطور الجهاز المناعي مقارنة بالفئات العمرية الأخرى.

ومن الفحص العياني لمنطقة وجود الافة (حبة بغداد) في اجسام المصابين تبين إن أعلى نسبة كانت إصابة الذراع 40 % (44 مصاب في منطقة الذراع من اصل 110) تليها الساق والذراع ونسبة 20.90 % والساق التي سجلته هي الاخرى نسبة 20.90 % فيما كانت نسبة الإصابة بالوجه

5.45% وهي الأقل بين الاشخاص المصابين باللشمانيا الجلدية وكما موضح في جدول (4-1) وهذا يتوافق مع كل من AL-Samarai و Al-Obaidi (2009) و Rahi وآخرون (2014) و Kalaf و آخرون (2016) و Al-Khayat وآخرون (2018) . و هذا يدل على ان الحشرة الناقلة للطفيلي تهاجم المناطق المكشوفة من الجسم لغرض حصولها على وجبة الدم لذا فان معظم المناطق وأكثرها تعرضا لهذه اللسعات هي الأرجل والأذرع كما ان الحشرة يبدأ نشاطها بين الساعة العاشرة مساءً والرابعة صباحا لذا فهي تهاجم وقت الليل أي في الوقت الذي تكون فيه الضحية نائمة ومن هنا جاءت الإصابة بالوجه فضلاً عن مناطق الجسم الأخرى (AL-Samarai و AL-Obaidi ، 2009 ؛ Hassan ، 2017 ؛ AL-Khayat وآخرون ، 2018) .وقد اشارت موكر (2006) الى ان إصابة الوجه بالآفة يتناقص مع تقدم العمر و عزى ذلك الى احتمال زيادة الافرازات الدهنية في الوجه عند البالغين التي تحتوي على احماض دهنية قاتلة للبكتريا والطفيليات وبذلك تلعب دوراً طارداً و منفراً للحشرة. من جانب اخر فان نتائج هذه الدراسة لا تتفق مع ما توصل اليه Sharquie و Najim (2004) و Rahi وآخرون (2013) اللذان اشارا الى ان اعلى نسبة للإصابة من نصيب الوجه وأشارا الى ان السبب يرجع الى ان الوجه غالبا ما يمثل الجزء دائم الظهور من البدن وهذا يجعله اكثر المناطق عرضة للسع.

وقد اظهرت النتائج ان الإصابة بالآفات المتعددة (78.18%) كانت اعلى من الإصابة بالآفات المفردة (21.81%) وكما موضح في جدول (4-1). وهذا يختلف مع الدراسات السابقة التي أوضحت ان الآفات المفردة هي الأكثر شيوعاً من الآفات المتعددة في المصابين (Kalaf وآخرون ، 2016 ؛ AL-Khayat وآخرون ، 2018). وتتفق هذه الدراسة مع AL-Samarai و AL-Obaidi (2009) ودحام والالوسي (2011) الذين أوضحوا ان الآفات المتعددة كانت هي الأكثر شيوعاً بين المصابين في محافظة صلاح الدين وقد عزى الباحثان الى ان هذا يعود الى طبيعة المنطقة الزراعية

التي يعيش فيها أولئك الأشخاص (وهي بيئة مشابهة لبيئة دبالى) كونها مناطق زراعية تكثر فيها الحشرة الناقلة وبذلك فإن فرص التعرض لأكثر من لدغة تكون اكبر، وقد يعزى ذلك الى نشاط الحشرة وانتشارها و طول فترة التعرض الى لسعاتها في أوقات متقاربة الذي ساهم في إصابة الأشخاص بلسعات متعددة (Rahi وآخرون، 2014). كما ان الدراسة الحالية لا تتسجم مع ما أشار اليه Gumurdulu وآخرون (2004) و Agha وآخرون (2018) الذين بينوا ان نسبة الإصابة بقرحة واحدة اعلى من نسبة الإصابة بقرح متعددة.

وأشارت نتائج الدراسة الحالية ان المصابين بالآفة الجافة كانوا اكثر (56.36 %) من أولئك المصابين بالآفة الرطبة (43.65%) مع عدم وجود فروق معنوية اذ بلغت قيمة $P=0.182$ وكما موضح في الجدول (4-1). وهذا يتفق مع دراسة Kalaf وآخرون (2016) الذين وجدوا ان الآفات الجافة اكثر من الرطبة و لا تتفق مع نتائج دراسة كل من الجبوري والجبوري (2014) في الشرقاط و AL-Heany وآخرون (2014) في بغداد و Ali وآخرون (2015) و-AL-Khayat وآخرون (2018) الذين بينوا ان الآفات الرطبة اعلى عند المصابين باللشمانيا الجلدية من أولئك المصابين بالآفات الجافة عند المصابين قيد دراساتهم ولعل ذلك يشير الى الاصل البشري للإصابة وما يؤكد ذلك ان اغلب المفحوصين هم سكان المدينة . ان عدم وجود فروق معنوية بين النوعين من الآفات (القرح) قد يعود الى ملاحظة تسجيل وجود القوارض في كل من المناطق الحضرية و المناطق الريفية (وذلك تبعا للاستبيان المعد مسبقا للدراسة الحالية) مما يدل على وجود حالات ذات اصل حيواني أيضا على الرغم ان اغلب المصابين في الدراسة الحالية كانوا يحملون اصابات جافة وهذا يتفق مع ماتوصل اليه AL – Mafraji وآخرون (2008). ومن الملاحظ في الدراسة الحالية وجود نسبة مئوية عالية للإصابة بالنوع الرطب من الآفات ،ان ذلك قد يشير الى وجود المضيفات الخازنة للمرض المتمثلة بالكلاب والقوارض وهذا ما اكدته نتائج الدراسة الحالية من حيث

وجود القوارض في اماكن معيشة المصابين خصوصاً في المناطق الريفية فضلاً عن وجودها في المناطق المدنية، إذ سجلت نسبة وجود للقوارض بلغت 62.72% في مناطق سكن المصابين في الدراسة الحالية وهذا ما تم ايضاحه في الجدول (4-1)، إذ كان البعض منهم يعانون من اصابات بالآفات الرطبة والبعض الآخر من اصابات جافة فضلاً عن وجود الحشرة الناقلة في مناطق سكن جميع الاشخاص المصابين في الدراسة الحالية ووجود الكلاب السائبة (جميع المراجعين اشاروا الى وجود كلاب سائبة في مناطقهم) وهذا ما أكدته الدراسات السابقة من ان انتشار الإصابة يرتبط مع وجود الحيوانات الخازنة والحشرة الناقلة في المناطق المدروسة وكما مبين في الدراسات السابقة التي أجريت من قبل كل من AL-Heany وآخرون (2014) و AL-Obaidi وآخرون (2016) و Kalaf وآخرون (2016) و AL-Khayat وآخرون (2018) لم يكن هناك فرق معنوي بالنسبة الى مناطق سكن المصابين على الرغم من ارتفاع نسبة الإصابة بين سكان المدينة 55.5 % مقارنة بالريف 44.5 % كما موضح في جدول (4-1). وهذا يتفق مع دراسة كل من Aara وآخرون (2013) و Nilforoushzadeh وآخرون (2014) و Saheb (2018) الذين بينوا ان الأشخاص الذين يعيشون في المناطق المدنية اكثر تعرضاً للإصابة من أولئك الذين يعيشون في المناطق الريفية وقد عزى ذلك الى ان هذه المناطق قد تكون شبه ريفية، إذ ذكر Saheb (2018) ان ديالى تعد من المناطق شبه الريفية وذلك لكثرة المناطق الزراعية فيها. و لا تتفق الدراسة الحالية مع كل من Rahi وآخرون (2014) و Agha وآخرون (2018) و AL-Khayat وآخرون (2018) الذين أوضحوا ان الأشخاص الذين يقطنون المناطق الريفية هم الأكثر عرضة للإصابة من أولئك الذين يقطنون المناطق المدنية وقد يعود السبب إلى ان المناطق الريفية توفر مناطق بيئية ملائمة لانتشار الحشرة الناقلة ومن ثم انتشار الإصابة.

جدول (4-1) : توزيع نسب الإصابة باللشمانيا الجلدية بين افراد عينة الدراسة .

المجموعة	العدد	النسبة المئوية %	p-value
الجنس	50	45.45	0.390
	60	54.54	
العمر	12	10.90	0.001
	31	28.18	
	32	29.09	
	23	20.90	
	12	10.90	
موقع الإصابة	44	40	0.000
	23	20.90	
	6	5.45	
	23	20.90	
	7	6.36	
	7	6.36	
عدد الحبات	24	21.81	0.000
	86	78.18	

0.182	43.63	48	نوع الحبة
	56.36	62	رطبة جافة
0.010	62.72	69	القوارض
	37.27	41	توجد لا توجد
0.300	44.5	49	السكن
	55.5	61	ريف مدينة

2-4: الدراسة النسجية Histological Study :

1-2-4: الوصف الشكلي Morphological Description :

يوضح شكل (1-4) مرض اللشمانيا الجلدية عند الاشخاص المصابين في الدراسة الحالية وقد أظهرت نتائج الدراسة الوصفية أن ألفة ذات مظهر و شكل خاص و مميز شبيه بما سجل سابقا، أذ تتكون الافة من حطاطة تحيط بها حافة دائرية سمكية ذات لون وردي، وقد تضمنت الدراسة الحالية تمييز شكل الحبة ونوع الحبة وهذا مايتفق مع Ahmad وآخرون (2008) و Yücel وآخرون (2013) و Al-Kamel (2015) بأن المرض له صفات مظهرية خاصة تميزه عن الامراض الأخرى و تساهم في تشخيصه، كما وان الافة قد تأخذ مظهرين رطب وجاف والنوعان سبق وان تم تشخيصهما في العراق (AL-Heany وآخرون ، 2014؛ Kalaf وآخرون ، 2016) .



شكل (1-4) : الافة الجلدية لمرض اللشمانيا الجلدية يظهر في اماكن متعددة من الجسم .

2-2-4: التغيرات النسجية Histological Changes:

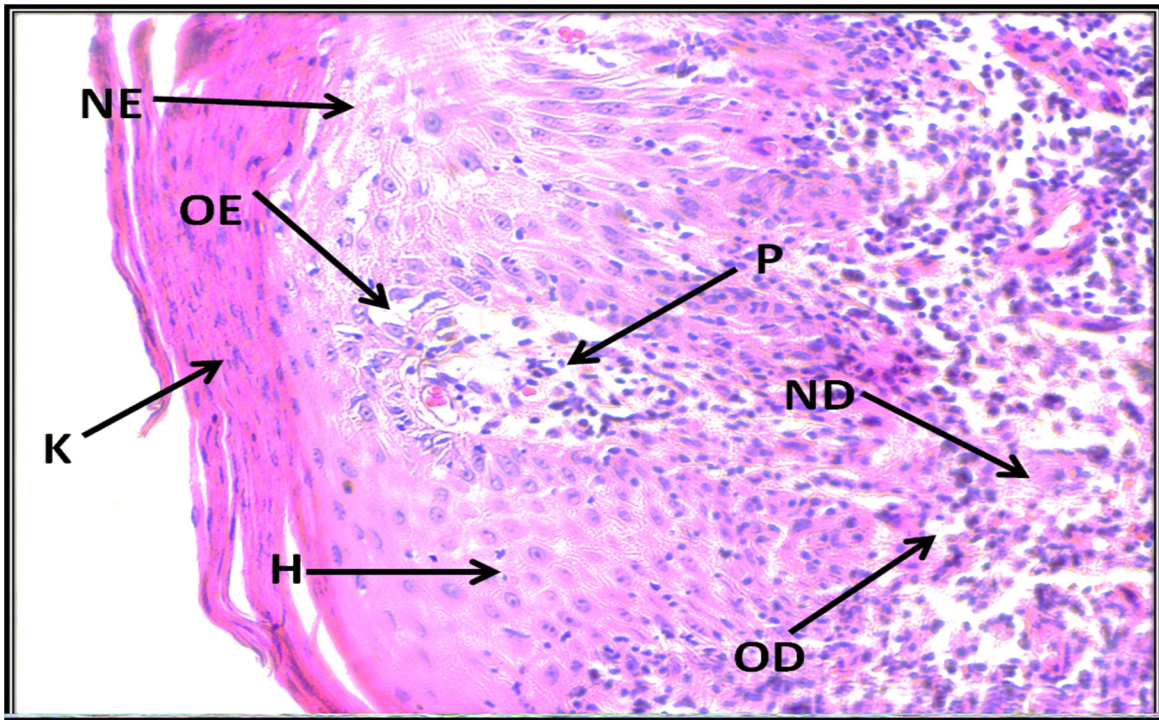
بينت الدراسة الحالية أن هناك مجموعة من التغيرات النسجية ظهرت في المقاطع النسجية المأخوذة من جلد المرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدية وقسمت هذه التغيرات إلى مجموعتين اعتماداً على وقت أخذ الخزعة النسجية الى خزع نسجية قبل وأثناء العلاج بعقار البنتوستام وقد لخصت التغيرات النسجية بالجدول (2-4).

جدول(4-2): يبين نسبة التغير في الآفات المرضية المختلفة المرافقة لداء اللشمانيا قبل وأثناء العلاج.

الآفة المرضية	قبل العلاج	أثناء العلاج	قيمة مربع كاي	قيمة P
تنخر الخلايا Necrosis	%60	%42.85	5.78	0.023
التقرن Keratosis	%85	%52.38	25.23	<0.001
الورم الحبيبي Granulomas	%50	%38.09	2.92	0.117
تضخم البشرة Hyper Epidermis	%90	%80.95	3.27	0.107
وذمة بشرة Oedema in Epidermis	%60	%52.38	1.3	0.319
وذمة ادمة Oedema in Dermis	%75	%66.66	1.55	0.275
ورم حلبي Papilloma	%30	%28.85	0.04	0.951
تليف Fibrosis	%60	%75	0.03	0.034
الحروف الشبكية Rete ridges	%65	%42.85	9.74	0.003

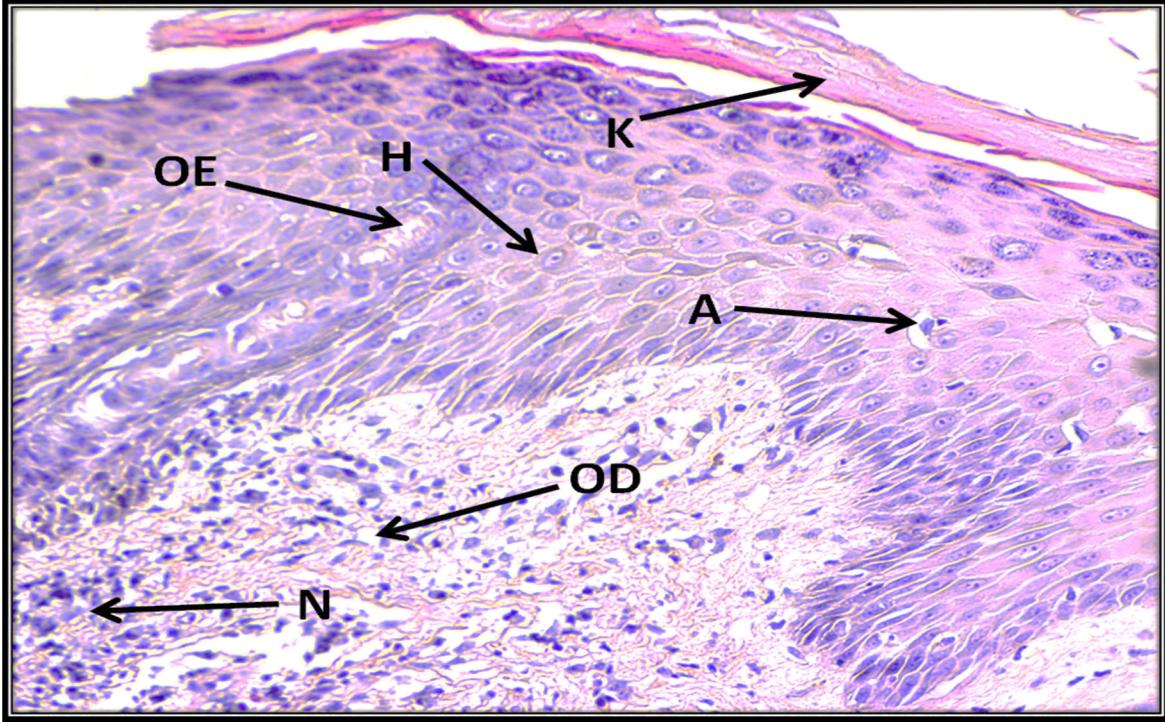
أن من بين هذه التغيرات النسجية التي ظهرت في نسيج المرضى في الدراسة الحالية هي تنخر الخلايا Necrosis وفرط التقرن Keratosis في طبقة البشرة إذ كانت نسبة ظهورها بين المصابين المأخوذ منهم الخزع قبل العلاج 60 % و 85 %، على التوالي وكما موضح في شكل (2-4) الذي يظهر تنخر الخلايا وفرط التقرن في البشرة ، وأظهر العلاج تأثيره على المقاطع النسجية أذ قلت النسب إلى 42.85 % و 52.38 %، على التوالي كما مبين في جدول (2-4) وشكل (3-4) . تبين من النتائج الحالية وجود فروق معنوية لهذين التغيريين النسيجين و التي شملت تنخر الخلايا و فرط التقرن و كانت قيمة P- Value للتخر الخلوي 0.023 و لفرط التقرن 0.001 عند مستوى احتمالية 0.05 وهذا يتفق مع نتائج دراسة كل من Ul Bari و Rahman (2006) الذين بينوا وجود فروق معنوية لتنخر الادمة و تقرن البشرة قبل و أثناء العلاج ، وهذه التغيرات تحدث في الإصابة الشديدة حيث تبدأ الطبقة المتقرنة بالانفصال عن طبقة البشرة وتبدأ طبقة الادمة بالتنخر عند مرور فترة طويلة على الإصابة . ولا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Viana وآخرون (2013) الذين بينوا عدم وجود فروق معنوية لفرط التقرن قبل و أثناء العلاج وقد يعود ذلك الى طبيعة العلاج المستعمل في الدراسة و الذي يختلف عن نوع العلاج في تلك الدراسة أذ استعمل كل من Viana وآخرون (2013) علاج Glucantime مع علاجات أخرى اما في الدراسة الحالية استعمل علاج الحقن الموضعي بعقار Pentostam. كما أظهرت النتائج أيضا وجود أورام حليمية Papilloma في طبقة الادمة و قد قلت من 30 % قبل العلاج إلى 28.85 % بعد العلاج وكان P-Value يساوي 0.951 وهذا يدل على عدم وجود فروق معنوية كما في جدول (2-4) ، وهذا يتفق مع Manamperi وآخرون (2017) كما في شكل (2-4) وشكل (4-5) ، ولكن لا تتفق مع دراسة Viana وآخرون (2013) التي بينت نتائجهم أن هناك فروق معنوية للأورام الحليمية قبل العلاج و أثناء العلاج و الذي أوضح ان سبب ظهور هذه الأورام قد يعود الى تداخل طبقة البشرة مع طبقة الادمة .

كما وأشارت نتائج الدراسة الحالية أن من بين التغيرات النسيجية التي تحدث في النسيج المصاب هو تكون الوذمة Oedema في طبقة البشرة بنسبة 60% قبل العلاج ، وإنخفضت إلى 52.38% اثناء العلاج شكل (2-4)، وكذلك انخفاض في وذمة الادمة من 75% إلى 66.66% كما مبين في جدول (2-4) و شكل (3-4) ، وهذه النتيجة تتفق مع Danas وآخرون (2014) كما بينت المقاطع النسيجية ارتشاح الخلايا البلعمية الحاوية على الطور اللاسوتي للطفيلي شكل (3-4) .



شكل (2-4) مقطع طولي في جلد مريض مصاب بداء اللشمانيا الجلدية قبل العلاج يوضح فرط التقرن K ، تضخم طبقة البشرة H ، تنخر في طبقة البشرة NE ، تنخر في طبقة الادمة ND ، و وذمة في طبقة البشرة OE، و ظهور وذمة في طبقة الادمة OD ، ورم حليمي P (20 x H&E)

كما لوحظ وجود إنخفاض في نسبة تضخم طبقة البشرة من 90% في قبل العلاج إلى 80.95% اثناء العلاج، كما موضح في جدول (2-4) و شكل (2-4) (3-4) على التوالي ، وهذا يتفق مع الدراسة التي أجريت من قبل Shirian وآخرون (2012) . ان زيادة سمك البشرة يعود الى حدوث فرط التقرن اذ ان الزيادة في سمك الطبقة المتقرنة ينعكس على بقية البشرة فضلا عن زيادة سمك طبقاتها الاخرى (Saini و Aggarwal، 2017) .

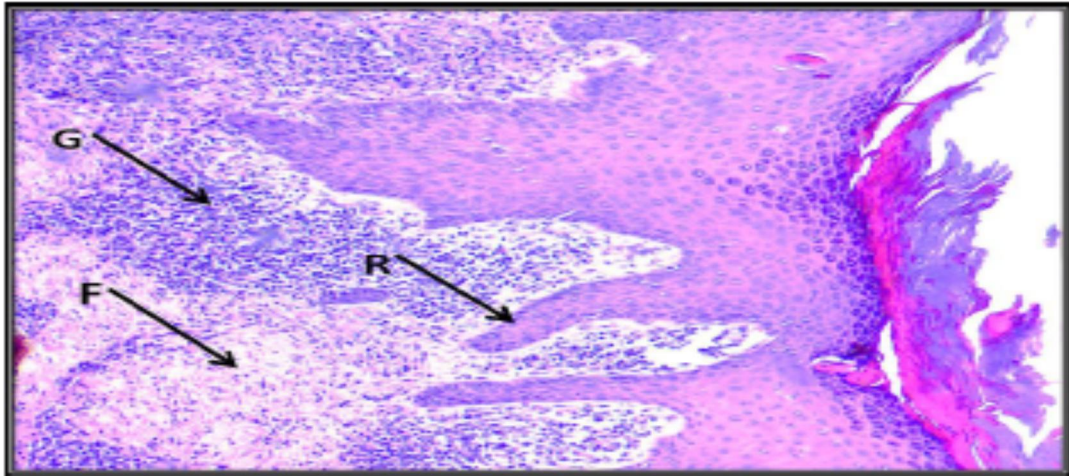


شكل (3-4) مقطع عمودي لجلد مريض مصاب بداء الشمانيا الجلدية اثناء العلاج يظهر انفصال الطبقة المتقرنة عن البشرة K ، خلايا بلعمية حاوية على الطور اللاسوطي للطفيلي A ، وذمة البشرة OE ، تنخرالخلايا N ، وذمة الادمة OD ، تضخم طبقة البشرة H (20x H&E) .

وأظهرت النتائج الحالية وجود أورام حبيبية Granulomas تتكون من تجمع الخلايا الالتهابية في طبقة الأدمة كانت نسبتها قبل العلاج 50% شكل (4-4) و تنخفض اثناء العلاج إلى 38.09% و قد كانت قيمة P-Value تساوي 0.117 مع عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 كما موضح في جدول (2-4) وشكل (4-4 و 5-4) ، و هذا يتفق مع Shamsi- Meymandi وآخرون (2011) الذين أشاروا إلى أن تفاقم الإصابة والذي يؤدي إلى ارتشاح عدد كبير وأنواع كثيرة من الخلايا الالتهابية يؤدي إلى تكون الأورام الحبيبية. وقد أشار كل من Koçarslan وآخرون (2013) و Taheri وآخرون (2017) إلى ارتشاح الخلايا الالتهابية أحادية النواة والخلايا العدلة وأنواع أخرى من الخلايا والتي تترافق مع التخر أو بدونه وهذا يؤدي إلى ظهور أورام حبيبية .

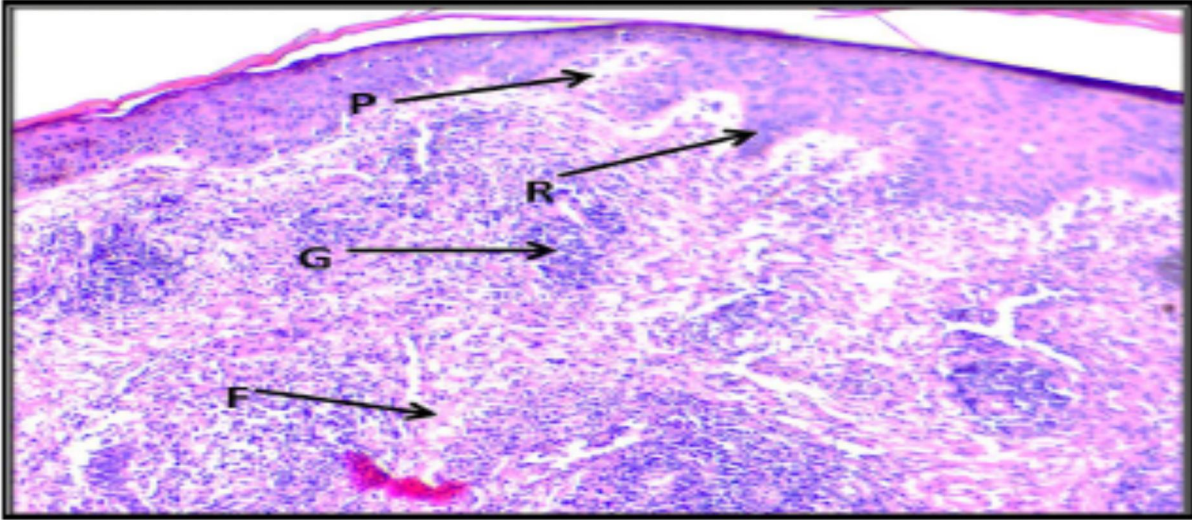
ويظهر شكل (4-4 و 5-4) و جدول (2-4) ظهور امتدادات من طبقة البشرة إلى طبقة الادمة والتي يسمى بالحروف الشبكية Rete ridges أذ تقل نسبتها اثناء العلاج من 65% (قبل العلاج) إلى

42.85% (اثناء العلاج) كما في شكل (4-5) ، وتتفق الدراسة الحالية مع Al-Musawi (2018) والتي اوضحت في عينات اللشمانيا التي تمت دراستها مع عينات لمرضى الجرب ، ظهور الحروف الشبكية في البشرة و التي تعد مصطلح وصفي لفرط التنسج في البشرة اذ يحدث ان تزداد الخلايا في الطبقة القاعدية للبشرة نتيجة حدوث زيادة الانقسام مما يؤدي الى حدوث زيادة كبيرة في اعداد الخلايا ولكي يستوعب النسيج هذه الزيادة تبدأ الطبقة القاعدية بالامتداد والاستطالة الى الاسفل داخل طبقة الادمة وعلى شكل استطالات منتظمة من الحواف الشبكية مما يؤدي الى ظهور شكل اشبه بسنام الجمل (Madke وآخرون، 2013).



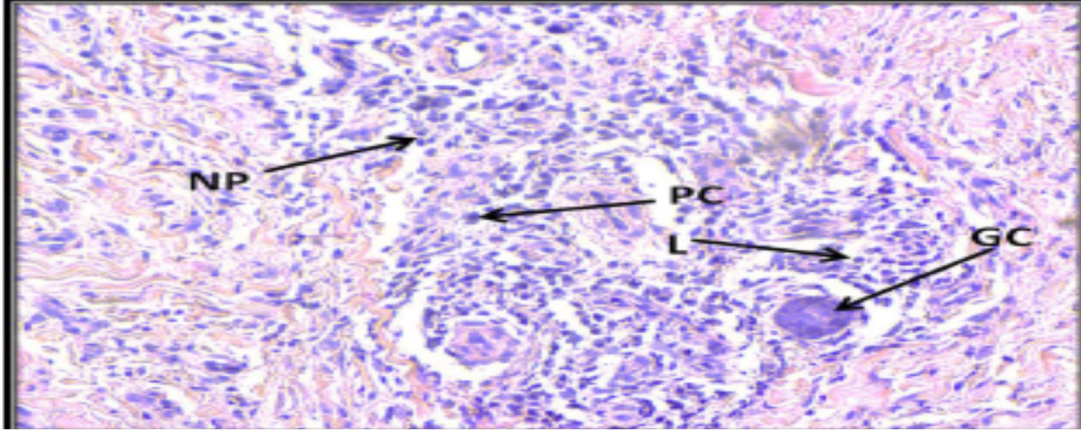
شكل (4-4) مقطع عمودي في جلد لمرضى مصاب باللشمانيا قبل العلاج يوضح ظهور حروف شبكية R ، ورم حبيبي G، الياف الكولاجين F (20x H&E).

كما ان الشكل (4-4) و الشكل (5-4) أظهرتا تأثيرات مرضية أخرى منها الزيادة في تليف Fibrosis النسيج والتي ازدادت من 60% قبل العلاج إلى 75% اثناء العلاج وكانت قيمة P-Value 0.034 مع وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 و كما موضح في جدول (2-4). وهذا يتفق مع نتائج الدراسات السابقة التي بينت ان الزيادة في الياف المغراوية دليل على بدء عملية الشفاء (Viana وآخرون، 2013).



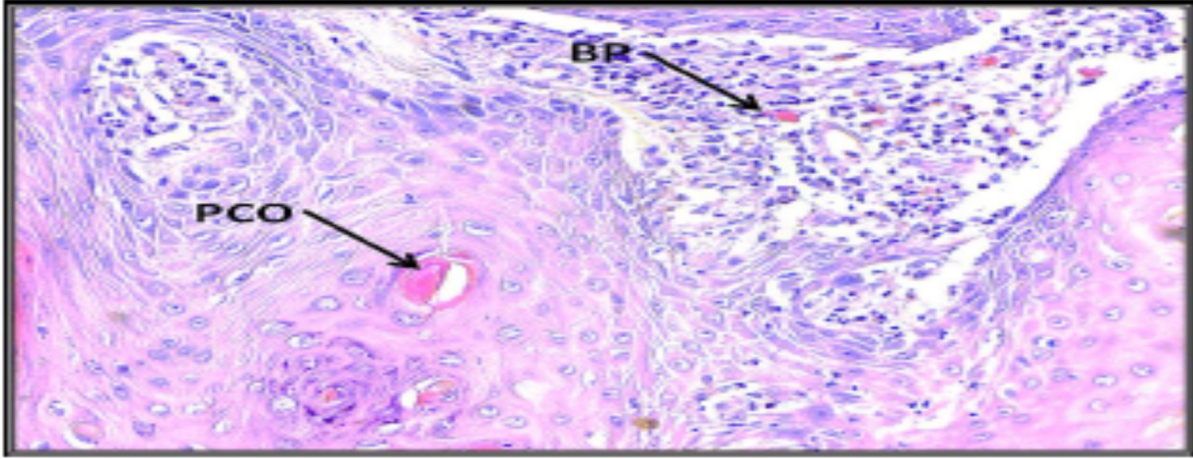
شكل(4-5): مقطع عمودي في جلد مصاب بالشمانيا اثناء العلاج ورم حليمي P ،حروف شبكية R ،الياف الكولاجين F ، ورم حبيبي G (20x H&E) .

يوضح شكل (4-6) ارتشاح الخلايا اللمفاوية Lymphocytes والخلايا العدلة Neutrophil وخلايا بلازمية Plasma Cell وكذلك ظهور الخلايا العملاقة Giant Cell ويحدث ذلك في طبقة الادمة وتتفق هذه النتيجة مع ما بينه González وآخرون (2018) وقد بينوا ان وجود هذه الخلايا في مواقع الافة يدل على حدوث استجابة مناعية قوية نتيجة ارتشاح هذه الخلايا واحداثها للاستجابة المناعية البادئة للالتهاب ، وقد بينوا ان التغيرات النسجية يرتبط بشكل إيجابي مع زيادة اعداد هذه الخلايا اذ ان التقرن و التتخر يزداد بازدياد اعداد الخلايا وترتبط منطقة الالتهاب بزيادة مساحات التتخر وأن السبب قد يعود الى دور الخلايا التائية الذي تؤديه في احداث الامراضية إذ يرتبط وجودها بزيادة التعبير للانترفيرون و عامل التتخر الذين لهما دور في أحداث الامراضية من خلال زيادة التتخر وإستدعاء الخلايا الى موقع الإصابة وهذا يتسبب في زيادة التفاعلات الالتهابية.



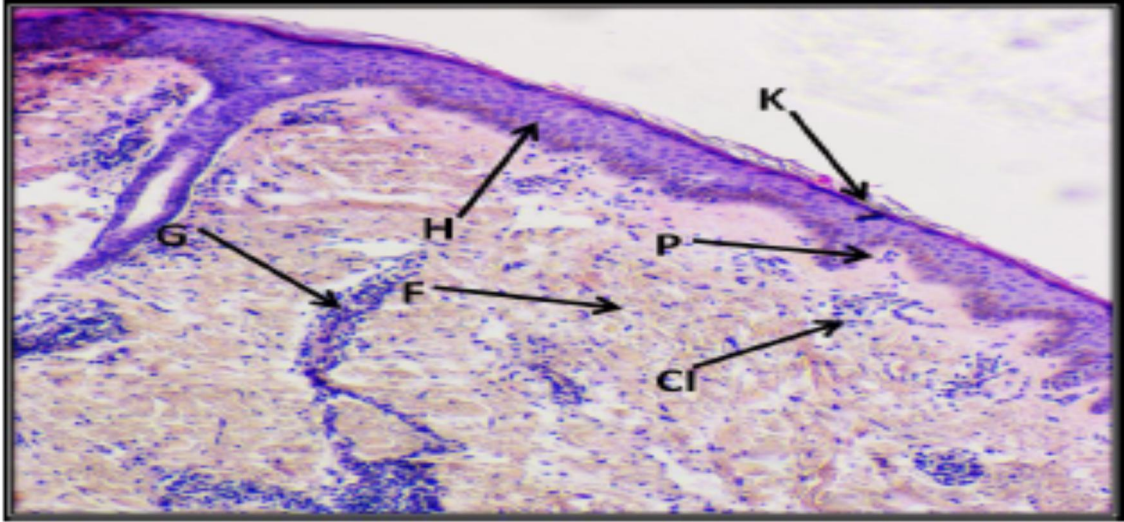
شكل (4-6): مقطع عمودي من أدمة جلد مصاب بداء اللشمانيا الجلدية أثناء العلاج يوضح الخلية العملاقة GC، الخلية البلازمية PC، الخلية للمفاوية L، الخلية العدلة NP (40x H&E).

واظهرت الدراسة الحالية ان الطبقة المتقرنة (الكيراتينة) قبل العلاج تبدأ بالامتداد الى طبقات البشرة الأخرى مما يؤدي الى ظهور مايسمى باللالئ القرنية Pearl Cornea التي تكون بشكل اكياس كيراتينة متطاولة متكونة من الكيراتين المضغوط في البشرة فضلا عن الارتشاح في الخلايا الالتهابية كما في شكل (4-7). ومن هذه التغيرات النسجية تشير إلى إن داء اللشمانيا مرض مزمن، و ان ذلك ناتج عن تداخل طبقات البشرة نتيجة حدوث فرط التنسج ويتسبب في حدوث الالتهاب في مواقع الإصابة وهو مايتفق مع Botelh وآخرون (1998) و Alves وآخرون (2013) الذين أشاروا الى ظهور اللالئ القرنية في المرضى المصابين باللشمانيا نتيجة حدوث فرط التنسج الذي يحدث في طبقة البشرة وهذا عادة ما يحدث في الامراض الجلدية المزمنة و في الامراض الجلدية الناتجة عن الإصابات الفطرية والطفيلية اذ يؤدي استمرار الضرر النسجي لفترة طويلة الى امتداد هذا الضرر الى طبقات اكثر عمقا في الجلد (Neel و Sober ، 2003؛ Edler وآخرون، 2007؛ Singh وآخرون، 2011؛ Alves وآخرون، 2013؛ Singh و Ramesh، 2013).



شكل (4-7): مقطع عمودي في بشرة الجلد مصاب بداء اللشمانيا قبل العلاج يظهر ارتشاح الخلايا القعدة Bp ، ظهور مايسمى باللالئ القرنية PCo ، (20x H&E) .

ان التغيرات النسيجة التي لوحظت بالدراسة الحالية أظهرت تجاوب مع العلاج في معظم الحالات وقد يؤدي ذلك الى عودة الجلد نوعا ما الى طبيعته بمرور الوقت وحدث الشفاء وان وجود الفروق المعنوية بين بعض التغيرات قبل واثناء العلاج قد يدل أيضا الى ان بعض التغيرات التي تظهر استجابة عالية للعلاج من خلال ظهور الالياف المغراوية بكثافة وتقليل السمك في الطبقة المتقرنة التي قد تكون علامة للشفاء من المرض شكل (4-8) والتخلص من الإصابة وهذا يتفق مع Botelh واخرون (1998) و Shamsi- Meymandi واخرون (2011) و González واخرون (2018).



شكل (4-8) مقطع عمودي في جلد مريض مصاب بداء اللشمانيا الجلدية في فترة الشفاء نقصان سمك الطبقة المتقرنة K، تضخم طبقة البشرة H، الورم الحليمي P، كثافة الياف الكولاجين F، ارتشاح خلوي CI، ورم حبيبي G (H&E 20x).

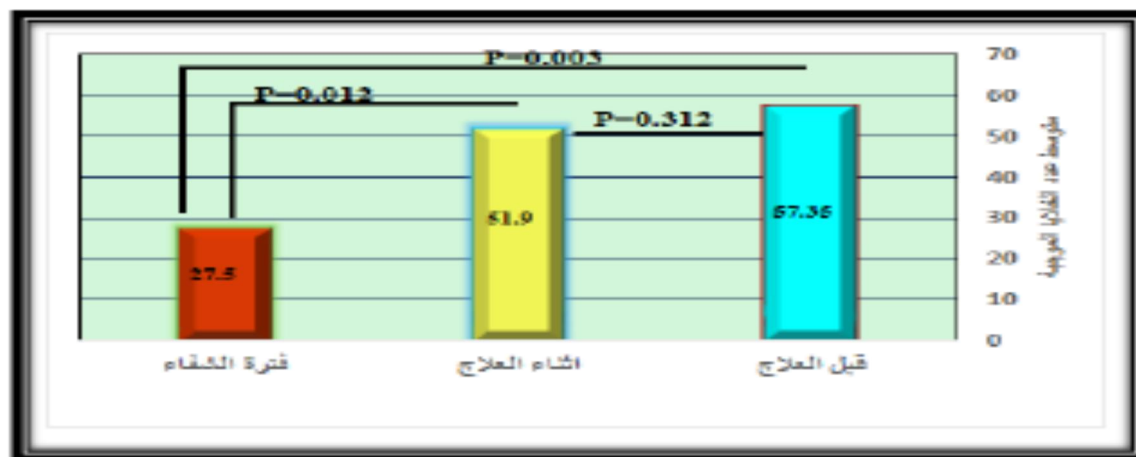
3-4: الدراسة الكيميائية المناعية النسجية Immunohistochemical study :

3-4-1: مستويات التعبير الجيني للحركيات الخلوية حسب مراحل المرض

3-4-1-1: الانترفيرون كاما (γ -Interferon)

يشير شكل (4-9) إلى ارتفاع معدل الخلايا المعبرة عن الانترفيرون كاما لدى المرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدي في المراحل المختلفة للدراسة والتي شملت قبل وأثناء العلاج ومرحلة الشفاء أذ بلغ إرتفاعه (18.34 ± 57.35 و 18.34 ± 51.9 على التوالي) في مرحلتي قبل وأثناء العلاج وكانت قيمة P-Value 0.0312 اي لا توجد فروق معنوية بين المرحلتين كما موضح في شكل (4-9a و b)، ولكن أنخفض معدل الخلايا المعبرة عن الحركي الخلوي في مرحلة الشفاء كما في شكل (4-9c) وكانت قيمة P-Value 0.012 بين مرحلتي الشفاء وأثناء العلاج، كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فروق معنوية بين مرحلتي الشفاء وقبل العلاج أذ بلغت قيمة P-Value 0.003 بين المرحلتين

عند مستوى احتمالية 0.05 وتتفق هذه النتيجة مع Melby وآخرون (1994) الذين بينوا أن جميع العينات المأخوذة من مرضى مصابين باللشمانيا الجلدية اظهروا تعبيراً عالياً لهذا الحركي الخلوي .

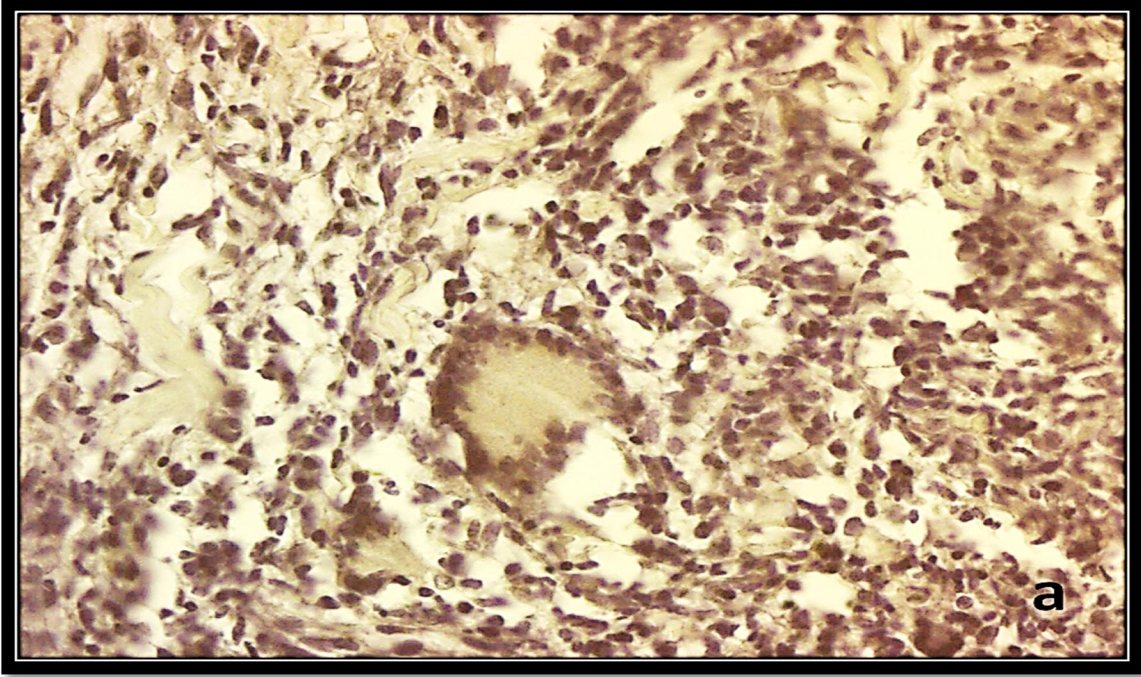


شكل (4-9): معدل مستوى التعبير الانتزفيريون كما في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي.

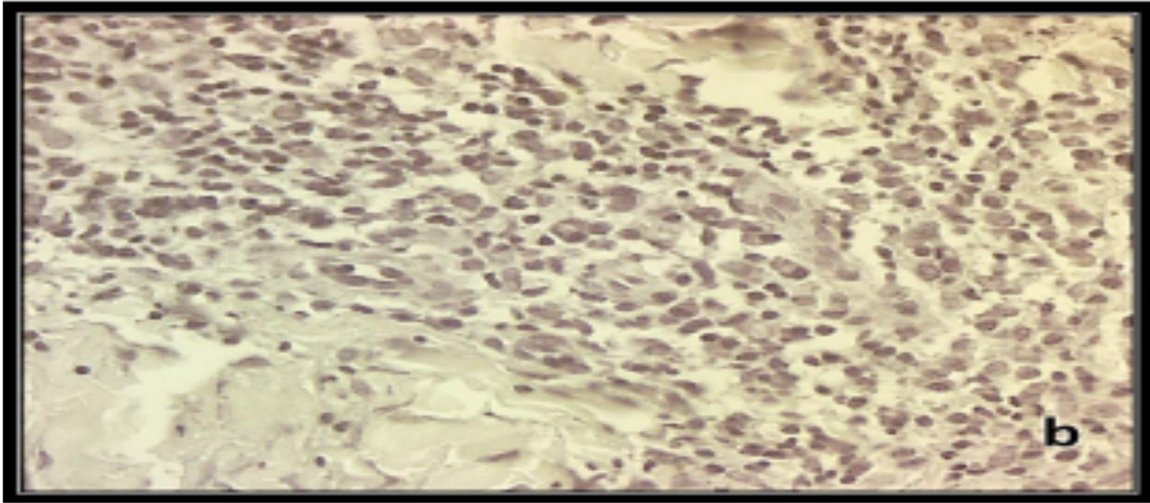
كما أن هذه الدراسة تتفق أيضاً مع Louzir وآخرون (1998) الذين أوضحوا أن أكثر من 90% من العينات المأخوذة من المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية كان لديهم تعبيراً عالياً لهذا الحركي الخلوي . كما وتتفق مع دراسة Vieira وآخرون (2002) الذين أوضحوا وجود تعبير عالي لهذا الحركي الخلوي في المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية وتتفق هذه الدراسة مع Faria وآخرون (2009) الذين أشاروا إلى وجود تعبير عالٍ لهذا الحركي الخلوي في الآفة عند المصابين باللشمانيا الجلدية وكان هذا التعبير أعلى في الإصابات المتأخرة من الإصابات المبكرة وتتفق مع Akhzari وآخرون (2017) الذي أوضح وجود تعبير للحركي $INF-\gamma$ في مكان الآفة عند المصاب باللشمانيا الجلدية.

فيما أوضح Castro – Gomes وآخرون (2017) وجود تعبير عالٍ لهذا الحركي الخلوي ربما يتفق مع الدراسة الحالية وقد بينوا أن هذا التعبير كان معتمداً على نوع الطفيلي المسبب للمرض . وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Viana وآخرون (2013) والذين أوضحوا ارتفاع التعبير لهذا

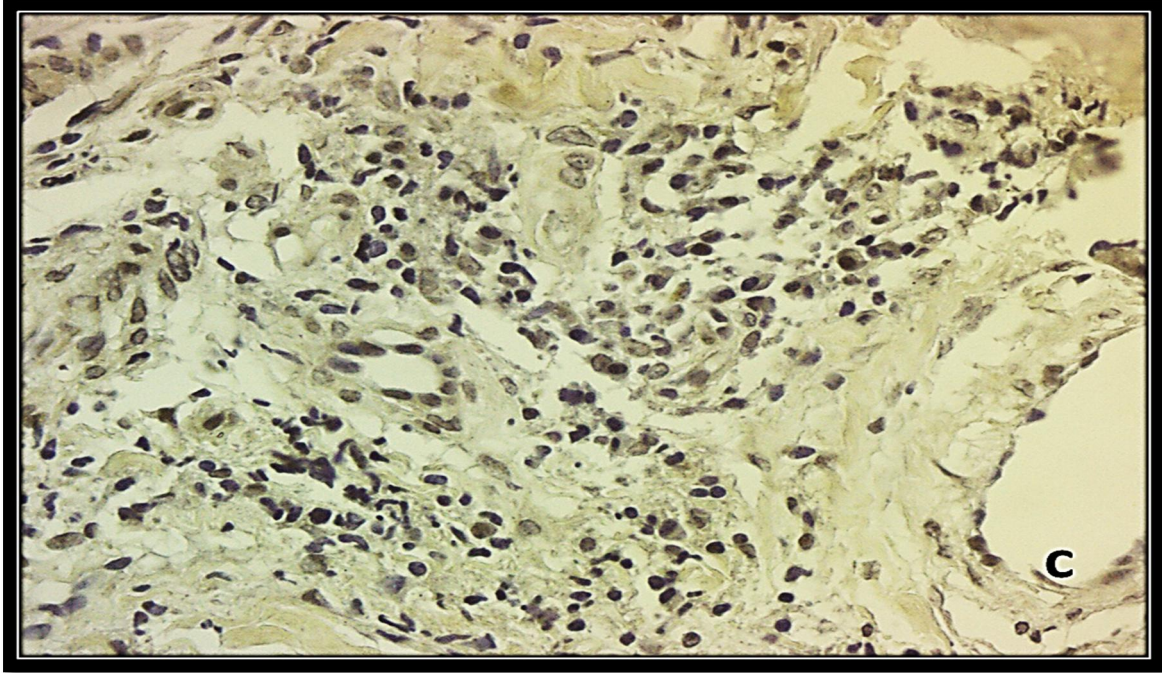
الخلوي ($\text{INF-}\gamma$) في المصابين باللشمانيا الجلدية قبل وبعد العلاج وقد كان مستوى التعبير أعلى عند المصابين قبل العلاج مقارنة بالمصابين بعد العلاج وهذا ما يتفق نتائج مع الدراسة الحالية التي اوضحت ان التعبير عن الحركي الخلوي في موضع الافة عند المصابين باللشمانيا الجلدية والذين لم يتلقوا العلاج كان اعلى من اولئك الذين تلقوا العلاج مع عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين فيما كان هناك فروق معنوية بين هاتين المجموعتين مقارنة مع المجموعة التي اتمت العلاج وكما موضح في الشكل (4-9). ان وجود التعبير عن الحركي $\text{INF-}\gamma$ يشير الى تنشيط خلايا Th-1 والتي تعمل على افراز هذا الحركي بعد تنشيطها بمحفز كالاصابة بطفيلي اللشمانيا ويعمل هذا الحركي بدوره على تنشيط الخلايا البلعمية (المسؤولة عن التهام الطفيلي) والتي بدورها تنتج انزيم iNOS_2 لتكوين اوكسيد النتريك NO الذي يقتل الطفيلي في طوره اللاسوطي داخل الخلايا وهذا يؤكد دور هذا الحركي في السيطرة على التكاثر الطفيلي وبالتالي تطور المرض (Kima و Soong، 2013). وقد اوضح Maspi وآخرون (2016) و Bahram وآخرون (2018) ان وجود هذا الحركي في موضع الإصابة بعد الشفاء يؤكد ان هذا الحركي قد يساهم في اصلاح بالضرر الناتج في الانسجة.



شكل (a9-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبير عالي للانترفيرون كاما قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



شكل (b9-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبير متوسط للانترفيرون كاما اثناء العلاج وارتشاح مكثف للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



شكل (c9-4): مقطع نسيجي يوضح معدل تعبير واطئ للأنترفيرون كما في مرحلة الشفاء وارتشاح قليل للخلايا البلعمية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).

4-3-1-2: أنترلوكين-4 (Interleukin-4):

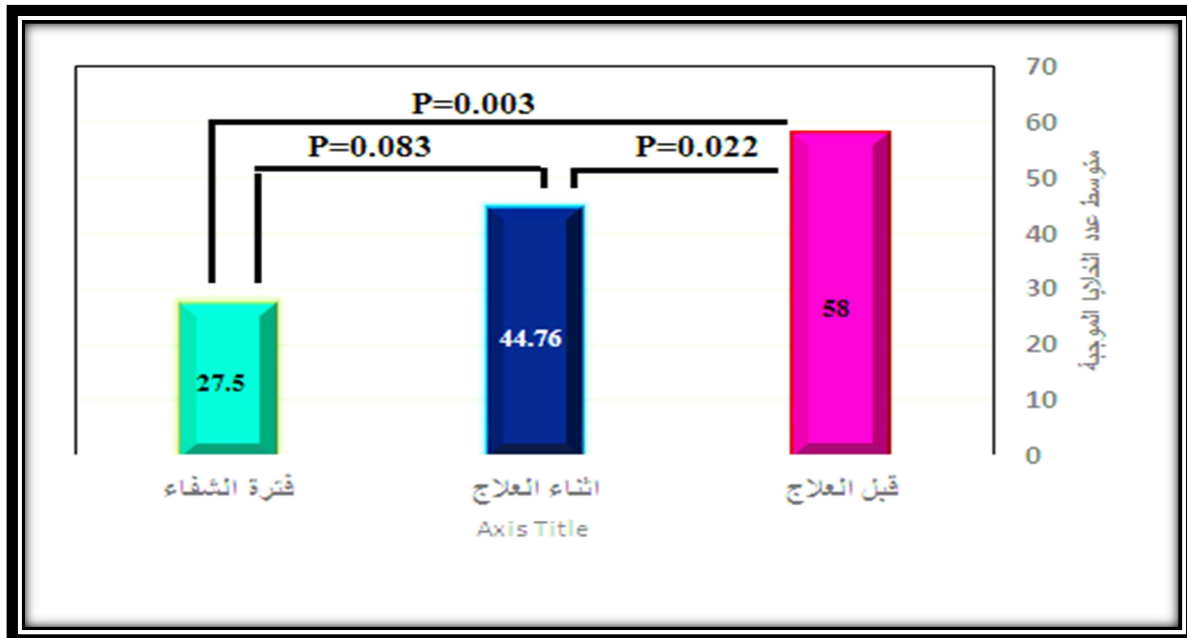
أوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود تعبير للحركي الخلوي IL-4 في المراحل المختلفة للإصابة باللشمانيا إذ كان هناك تعبير عال لهذا الخلوي عند المصابين باللشمانيا الجلدية وفي موقع الآفة إذ بلغ معدل الخلايا المعبرة قبل العلاج (16.09 ± 58) كما موضح في شكل (10-4 و a10-4)، بدأ هذا التعبير بالانخفاض عند أولئك الذين تلقوا العلاج إذ كان معدل الخلايا المعبرة عن هذا الحركي أثناء العلاج (19.65 ± 44.76) كما موضح في شكل (10-4 و b10-4) ثم إنخفض بصورة كبيرة عند أولئك الذين أنهوا العلاج (بعد اسبوعين من آخر جرعة) إذ بلغ مستوى التعبير عند هؤلاء (15 ± 27.5 خلية موجبة) شكل (10-4 و c10-4) وقد كان هناك فرق معنوي بين المجاميع الثلاث إذ بلغت قيمة P-value في مجموعة قبل العلاج وأثناء العلاج 0.022 في حين بلغت بين مجموعة أثناء

العلاج والشفاء 0.083 اما قيمة P-value بين مجموعة قبل العلاج والشفاء فقد كانت 0.003 كما موضح في شكل (4-10) .

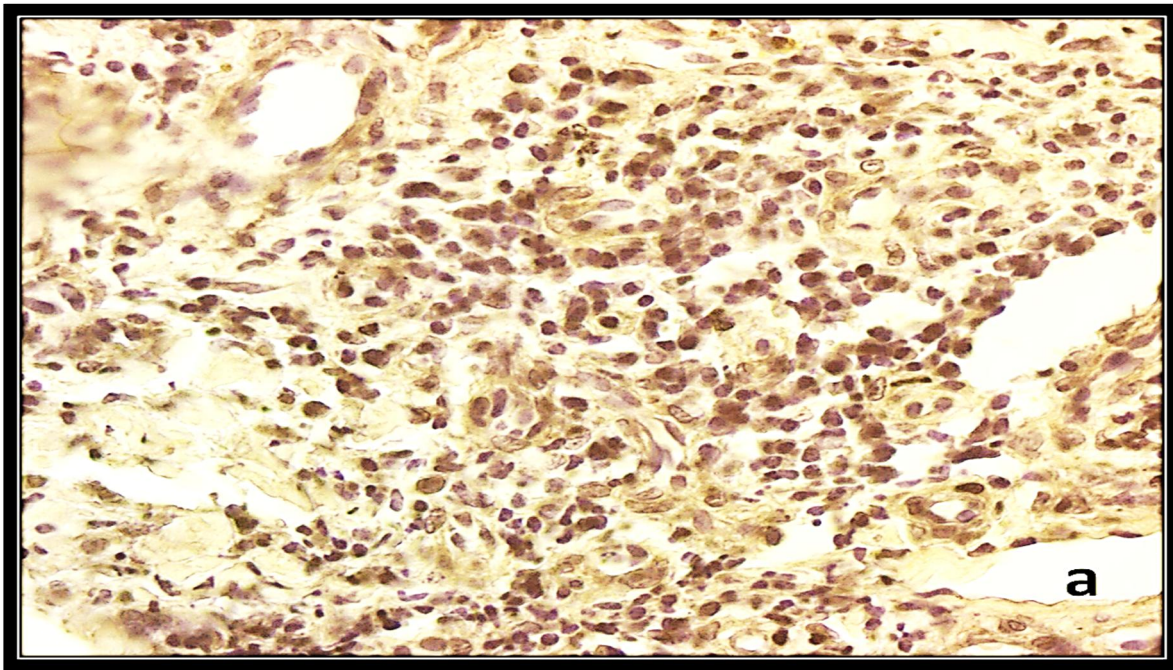
وتتفق هذه الدراسة مع Nogueira وآخرون (2008) الذين اكدوا وجود تعبير عن هذا الحركي في الخزع النسجية الماخوذة من مرضى مصابين باللشمانيا الجلدية والجلدية المخاطية وكانت التعبير اعلى في المخاطية الجلدية كما وتتفق مع الدراسة التي اجراها Kumer وآخرون (2009) الذين بينوا ارتفاع مستوى التعبير IL-4 في مجموعة قبل العلاج ثم إنخفاضه بعد العلاج بصورة معنوية ويتفق مع Viana وآخرون (2013) الذين بينوا إن هناك تعبيراً للحركي IL-4 في مجموعة قبل العلاج وبعده وإن هذا التعبير عن الحركي قد انخفض عند مجموعة بعد العلاج وهذا يتفق مع الدراسة الحالية التي اوضحت ان التعبير عن الحركي الخلوي IL-4 في موضع الافة عند المصابين باللشمانيا الجلدية كان أعلى في مجموعة قبل العلاج منه عن مجموعة أثناء العلاج وإنخفاض التعبير عن هذا الحركي بصورة اكبر في مجموعة بعد العلاج (الشفاء اسبوعين بعد اخر جرعة)، فيما اوضح Melby وآخرون (1994) انه كان هناك تعبير واطئ للحركي الخلوي IL-4 في المصابين باللشمانيا الجلدية في موضع الافة.

ان ارتفاع هذا الخلوي والتعبير عنه قد يعود الى انه يفرز من خلايا عديدة منها الخلايا التائية المحفزة بصورة رئيسية وخلايا العقدة والحمضة والخلايا البدينة (Luzina وآخرون، 2012)، كما ان هذا الحركي الخلوي يعد احد حركات الخلايا التائية النوع الثاني وهو من الحركات التي تساعد الطفيلي على التضاعف ويثبط انتاج NO ، كما انه احد الحركات التي لها القدرة على تثبيط تمايز الخلايا التائية الى الخلايا النوع الاول مما يؤثر على انتاج γ -INF. لذا فهو يعد احد الحركات التي

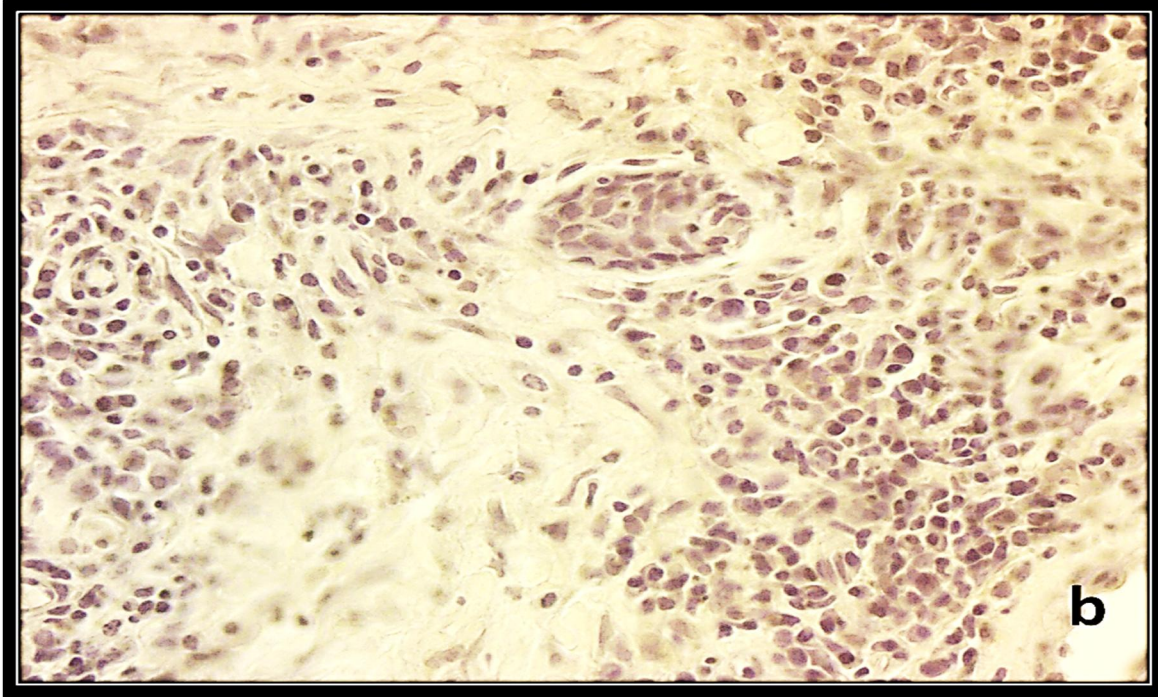
تساهم في تطور المرض وان التوازن في انتاج $INF-\gamma$ و $IL-4$ في موضع الافة هو الذي يحدد مدى تطور المرض من عدمه (Brelaz-de – Castro واخرون، 2012).



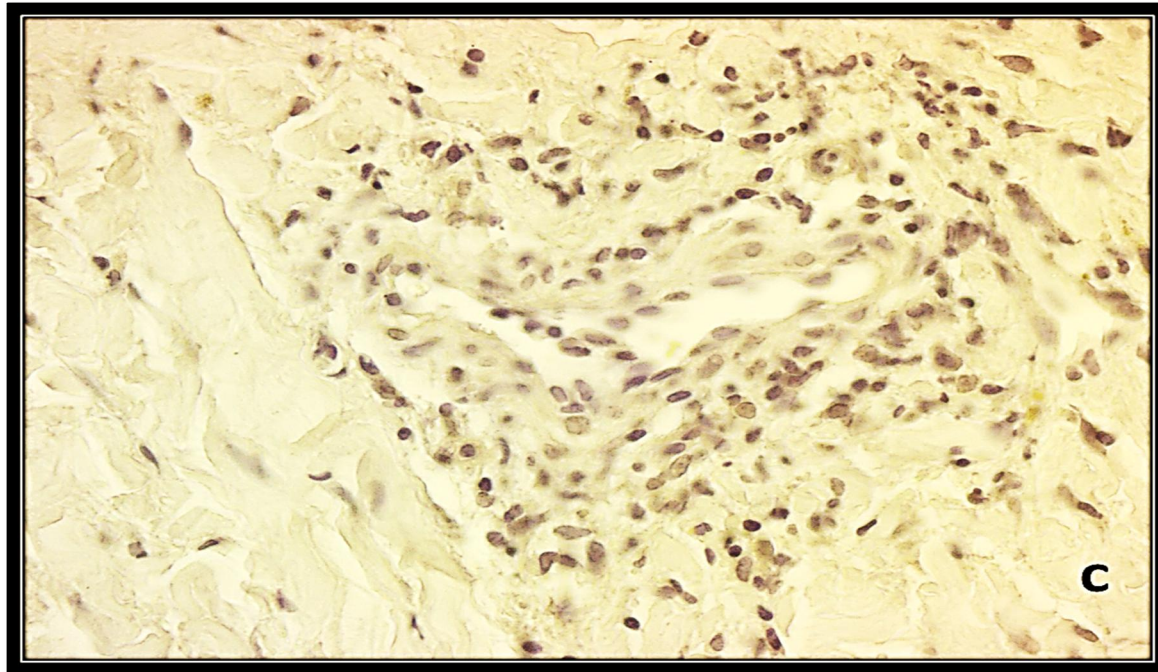
شكل (4-10): معدل مستوى التعبير الجيني للانترلوكين-4 في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي.



شكل (4-10a): مقطع نسيجي يوضح معدل تعبير عالي للانترلوكين 4- قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا Th-2 في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



شكل (b10-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبير متوسط للانترليوكين -4 اثناء العلاج وارتشاح للخلايا Th-2 في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



شكل (c10-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبير واطى للانترليوكين -4 في مرحلة الشفاء وارتشاح للخلايا Th-2 في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x) .

3-1-3-4: الواسم الخلوي للخلايا البائية CD20

بينت نتائج الدراسة الحالية ان مستوى التعبير عن الواسم الخلوي CD20 كان عالياً في مجموعة ما قبل العلاج إذ بلغ معدل عدد الخلايا الموجبة (16.22 ± 60) خلية في هذه المجموعة شكل (4-11 و 4-11a) فيما انخفضت تدريجياً في مجموعتي اثناء العلاج والشفاء إذ بلغ معدل عدد الخلايا الموجبة لها بين المجموعتين 18.84 ± 46.19 و 27.5 ± 15 خلية شكل (4-11 و 4-11a و 4-11b) وقد تبين الفرق في انخفاض هذا الواسم بين مجاميع هذه الدراسة معنوياً إذ بلغت قيمة P-value في مجموعتي قبل العلاج واثناءه 0.015 فيما كانت هذه القيمة 0.056 بين مجموعتي الشفاء واثناء العلاج اما قيمة P-value في مجموعتي قبل العلاج والشفاء فقد كانت 0.01 شكل (4-11) وهذا يتفق مع دراسة Amato وآخرون (2003) الذين اوضحوا انخفاض هذا الواسم في مجموعة بعد العلاج مقارنة مع مجموعة قبل العلاج ولكن لم تكن هناك فروق معنوية بين المجموعتين، كما ويتفق مع دراسة Rochael و Dourate (2006) الذين اوضحوا وجود تعبير لهذا الواسم في المصابين بداء اللشمانيا الجلدية الامريكية وانحصرت النتيجة بوجود الواسم في منطقة الادمة .

وتتفق مع دراسة Shamsi-Meymandi وآخرون (2011) والذين اوضحوا وجود تعبير لهذا الواسم في المصابين باللشمانيا الجلدية ولكن بصورة غير كبيرة مع وجود زيادة في التعبير بهذا الواسم خلال فترة العلاج (استخدام عقار Meglumine antinonate) وهذا ما يخالف نتائج الدراسة الحالية التي اوضحت ان هناك انخفاض في التعبير لهذا الواسم خلال فترة العلاج (استخدم علاج Pentostam) كما وتتفق هذه النتيجة مع دراسة

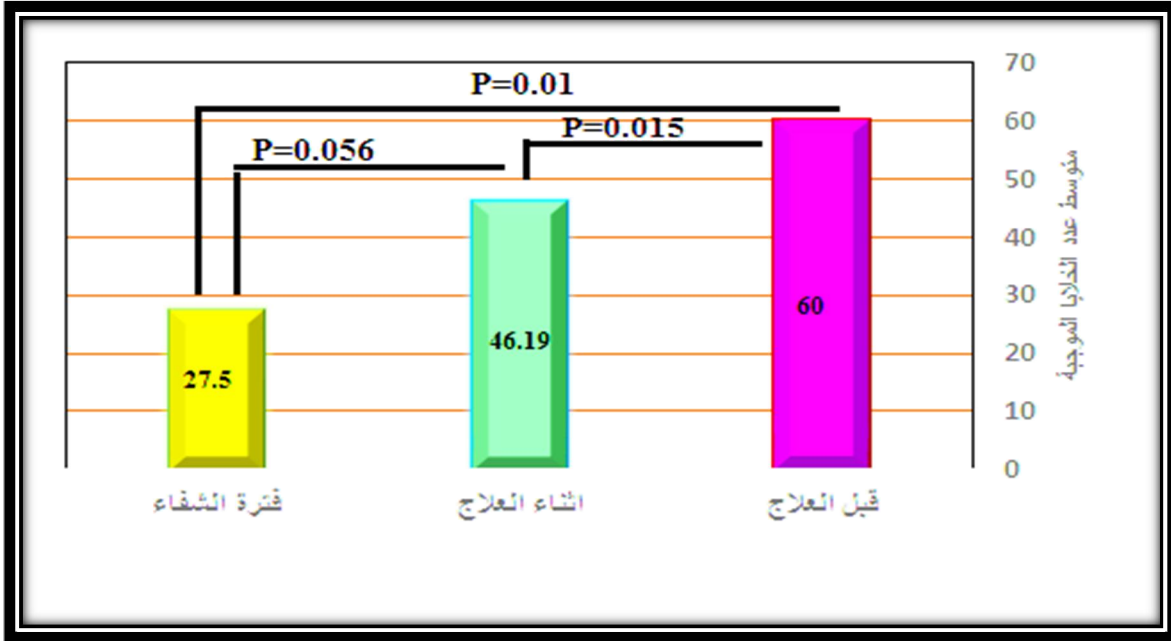
Domingos وآخرون (2012) والذين يبنوا وجود تعبير بهذا الواسم الخلوي في المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية الأمريكية (مع عدم الإشارة الى مستوى التعبير بعد العلاج) .

كما اشار Jabbour وآخرون (2014) الى وجود تعبير بهذا الواسم الخلوي في المرضى المصابين باللشمانيا الجلدية والمراجعين للمركز الصحي للجامعة الأمريكية في بيروت ولم تنتشر الدراسة التعبير عن هذا الواسم بعد العلاج (لعدم شمولها لهذه المجموعة في الدراسة).

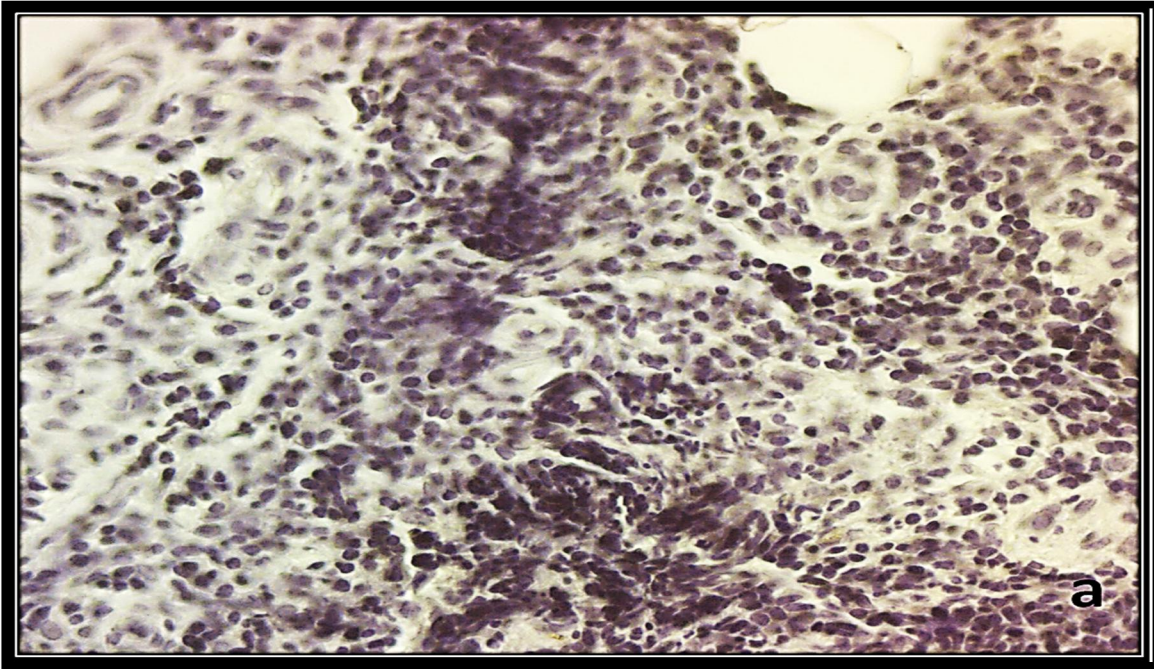
ان دور خلايا B المناعية ما زال غير واضح في مرض اللشمانيا الجلدية ولكن تشير الدراسات الى مساهمة هذه الخلايا في تطور امراضية هذا الداء ، اذ اشارت دراسة Hoerauf وآخرون (1995) الى زيادة شدة المرض بعد تحفيز IL-7 والذي تتوسطه الخلايا البائية في الفئران ، فيما اشار Miles وآخرون (2005) الى ان القابلية السمية لمعقد IgG يتم اختزاله بواسطه تحفيز IL-10 بمستوى عال فيما اشارت دراسات اخرى ان الخلايا البائية و/ او الاجسام المضادة تلعب دوراً في حماية المضيف في الاصابة باللشمانيا فقد اشار كل من Scott وآخرون (1986) و Woelbing وآخرون (2006) وانه في حالة نضوب الخلايا البائية سواء في حالة العلاج ب IgM او من خلال ازالة الجين المعبر عنها (في الدراسات التجريبية) ممكن ان يؤدي الى زيادة الأمراض وشدها.

وقد تعزى هذه الاختلافات في مستويات التعبير لهذا الواسم في النتائج الحالية والدراسات الاخرى الى دور الخلايا البائية التي تعود الى عدة عوامل منها الخلفية الوراثية للمضيف ومسارات العدوى وتطور المرض وجرعة الطفيلي التي يتلقاها المضيف والاليات التثبيطية المختلفة التي يظهرها المضيف تجاه السلالة المختلفة للطفيلي (Wanassen وآخرون ، 2008) . وقد اظهرت دراسة Wanassen وآخرون (2008) ان لخلايا B دوراً مهماً في تحفيز وتجنيد الخلايا التائية CD4 الخاصة بالطفيلي وان وجودها بشكل كبير في

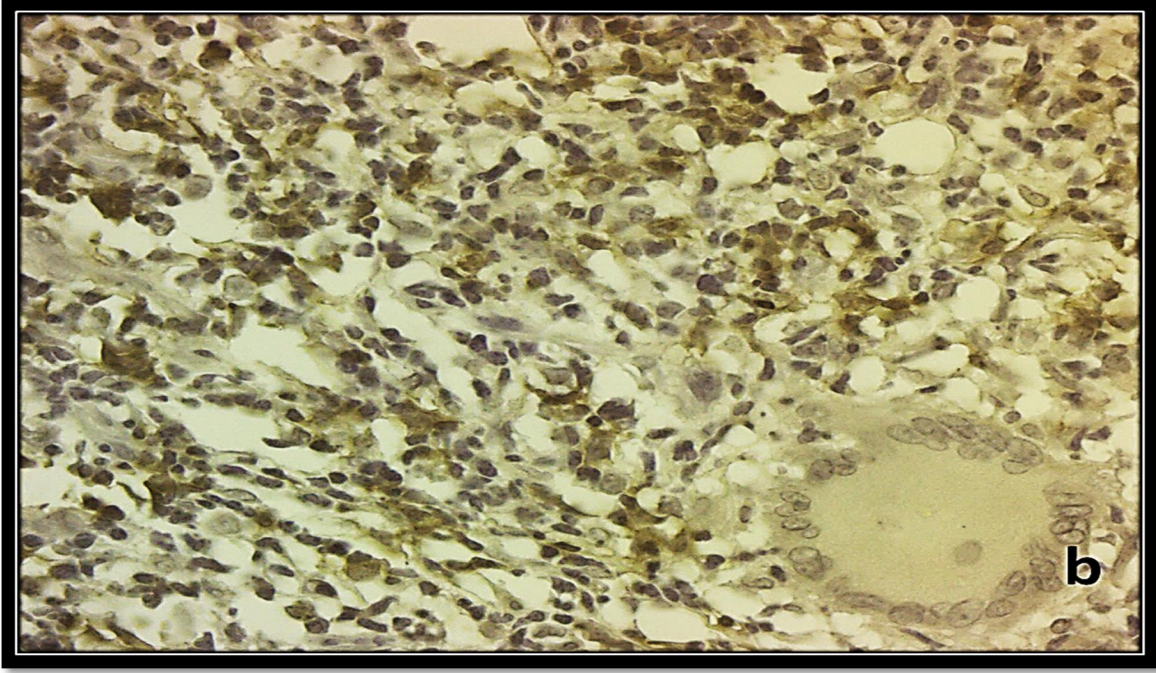
مواقع الإصابة يؤدي الى تحفيز هذه الخلايا وتنتخر الانسجة في الفئران ذوات المناعة العالية والعادية ، اذ ان الخلايا البائية والاجسام المضادة تؤدي الى تغير الساييتوكينات المنتجة من قبل الخلايا التشرية بما يعزز من تطور المرض.



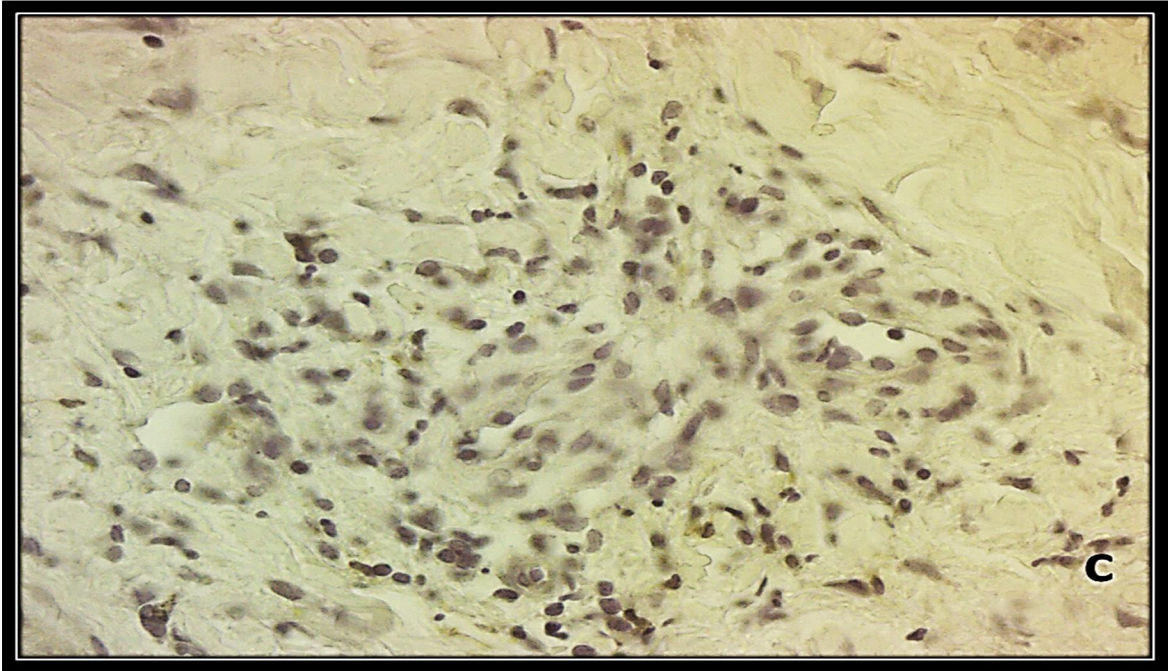
شكل (4-11): مستوى التعبير الجيني CD20 في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي



شكل (4-11a): مقطع نسيجي يوضح معدل تعبير عالي لل CD20 قبل العلاج وارتشاح مكثف للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



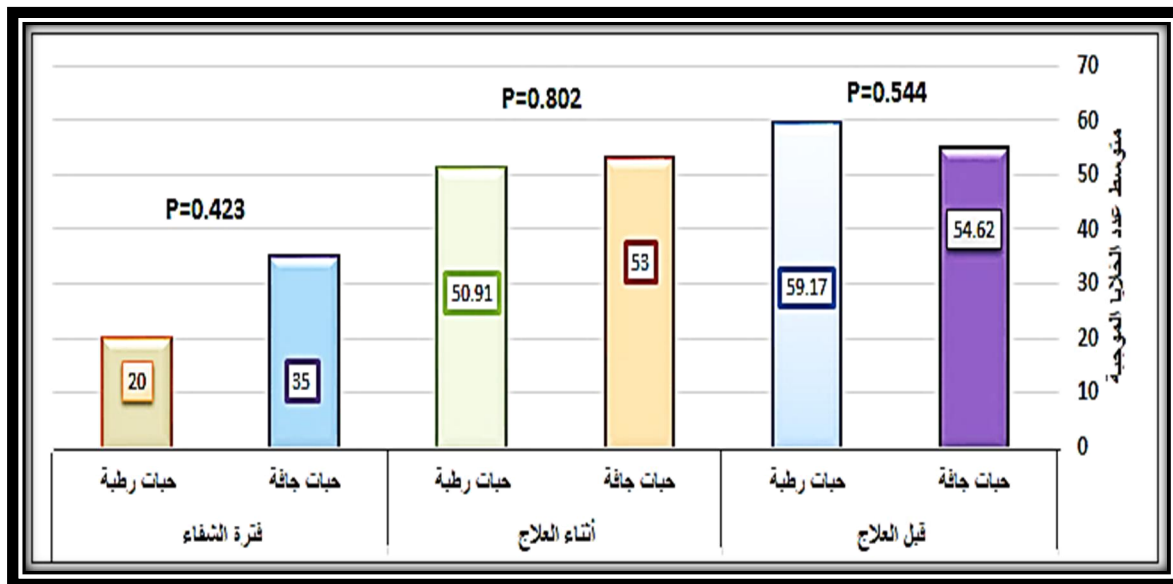
شكل (b11-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبيرمتوسط لل CD20 اثناء العلاج وارتشاح للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).



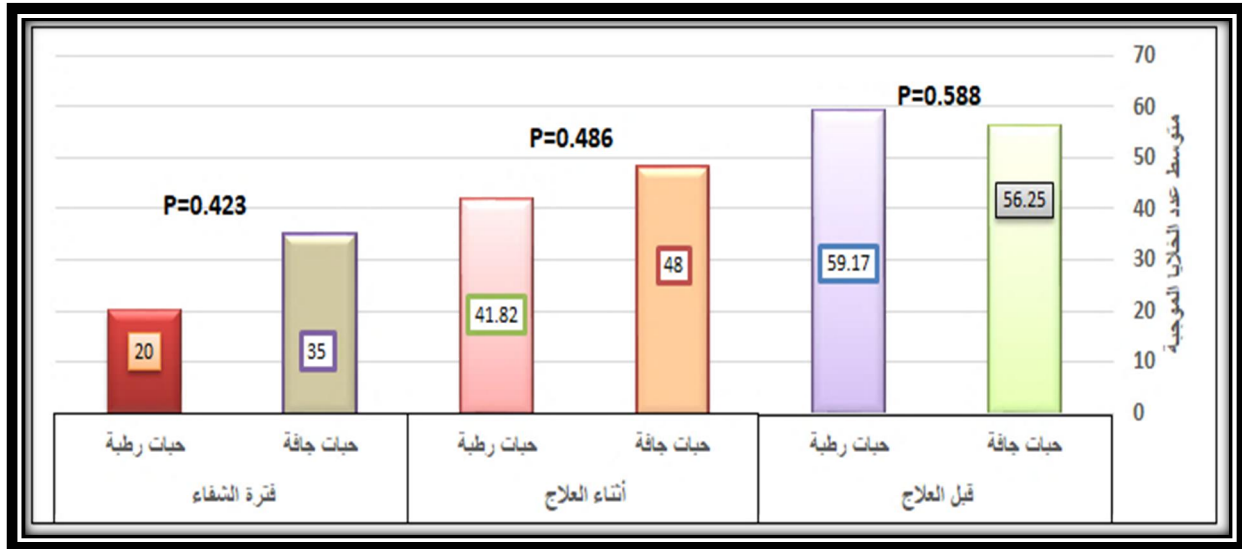
شكل (c11-4): مقطع نسجي يوضح معدل تعبير واطئ لل CD20 في مرحلة الشفاء وارتشاح قليل للخلايا اللمفاوية في منطقة الادمة لمريض مصاب باللشمانيا الجلدية (40x).

2-3-4: مقارنة تعبير الحركات الخلوية اعتماداً على نوع الحبة (جافة Dry ، ورطبة Wet)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية انه من بين 20 مريضاً في فترة قبل العلاج ، كان ثمانية منهم لديهم حبات جافة أي نسبة 40% فيما كان هناك 12 مريضاً لديهم حبات رطبة أي نسبة 60% مجموعة المرضى قبل العلاج، اما في فترة العلاج فقد كان هناك 11 لديهم حبات رطبة فيما كان هناك لديهم حبات جافة وكان هناك مريضان في فترة الشفاء لديهم حبات رطبة واثنين لديهم حبات جافة . وأظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمستويات التعبير الجيني للانترفيرون كما في الحبات الجافة والرطبة انحداراً من مرحلة قبل العلاج الى مرحلة الشفاء . ففي الفترة قبل مرحلة قبل العلاج كانت هذه المستويات 16.18 ± 54.62 خلية موجبة و 15.64 ± 59.17 خلية موجبة في الحبات الجافة والرطبة على التوالي وبدون فرق معنوي ($P=0.544$). أما في الفترة اثناء العلاج فقد انخفضت هذه المستويات 23.59 ± 53 و 13 ± 50.91 خلية موجبة في الحبات الجافة والرطبة على التوالي ($P=0.802$). وعلى نفس المنوال فقد انخفضت هذه المستويات في مرحلة الشفاء لتصل الى 21.21 ± 20 و 0 ± 20 على التوالي (وبدون فرق معنوي ($P=0.423$) كما موضح في شكل (4-12) .



شكل (4-12): مستوى التعبير الجيني للانترفيرون كما في الحبات الجافة والرطبة في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي .

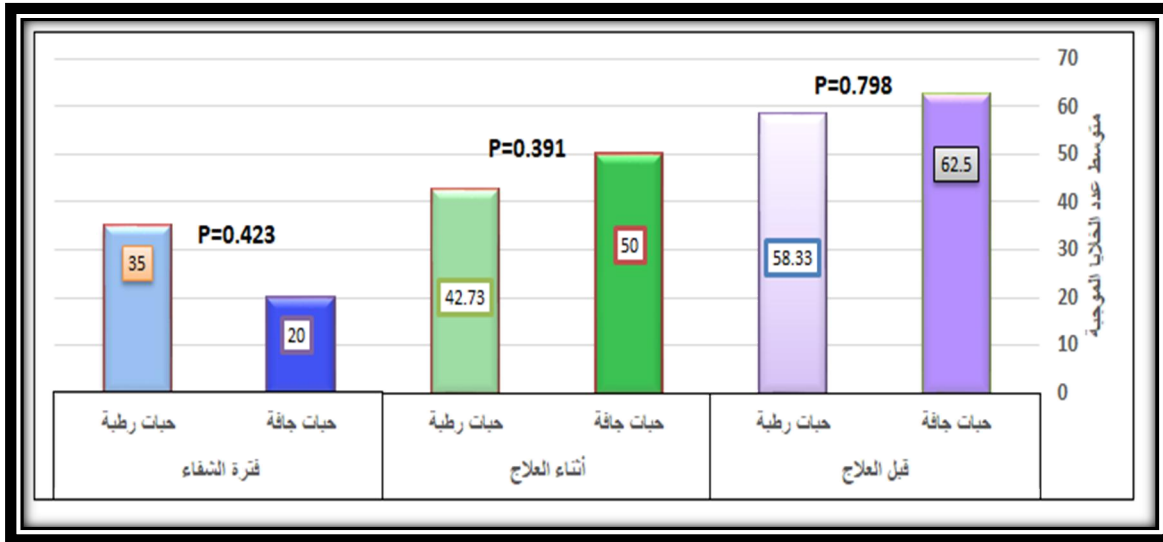


الشكل (4-13) مستوى التعبير الجيني للانترلوكين 4 في حالي الحبات الجافة والرطبة في الفترة قبل واثناء العلاج والشفاء .

بينت نتائج الدراسة الحالية ان مستوى التعبير للانترلوكين- 4 في الحبات الرطبة أعلى من نظيره في الحبات الجافة في فترة قبل العلاج (17.68 ± 56.25 خلية موجبة مقابل 59.17 ± 15.64 خلية موجبة على التوالي) الا ان الفرق لم يكن معنويا ($P=0.588$) ، أما اثناء العلاج فقد انعكست الصورة لتكون هذه المستويات اعلى في الحبات الجافة منها في الرطبة (48 ± 16.87 خلية و 41.82 ± 22.28 خلية موجبة على التوالي) مع عدم وجود فرق معنوي ($P=0.486$). وبدا هذا الفرق اكثر وضوحا في فترة الشفاء ليصبح 35 ± 21.21 و 20 ± 0 خلية موجبة على التوالي الا ان الفرق لم يصل الى مستوى المعنوية ($P=0.423$) كما موضح في شكل (4-13).

على نقيض الحركيين السابقين كان مستوى التعبير الجيني للواسم الخلوي 20 اعلى في الحبات الجافة مقارنة بالرطوبة في مرحلة قبل العلاج (10.35 ± 62.5 خلية موجبة مقابل 19.46 ± 58.33 خلية موجبة) وبدون فرق معنوي ($P=0.798$) وانخفضت هذه المستويات لتصل الى 50 ± 18.26 خلية موجبة في الحبات الجافة و 42.73 ± 19.54 خلية موجبة في الحبات الرطبة ($P=0.391$) في فترة العلاج كما موضح في شكل (4-14). وشهدت فترة الشفاء انخفاضا اكثر في هذه المستويات الا انها

تزامنت مع ارتفاع نسبي في حالة الحبات الرطبة مقارنة مع الحبات الجافة (21.21 ± 35) خلية موجبة مقابل 0 ± 20 خلية موجبة إلا أن الفرق لم يكن معنوياً ($P=0.423$) كما هو موضح في الشكل (4-14).



شكل (4-14): مستوى التعبير الجيني للواسم الخلوي 20 في الحبات الجافة والرطبة في المراحل المختلفة لداء اللشمانيا الجلدي

وعند المقارنة بين نمط التعبير للحركيات المدروسة لوحظ أن النتائج بينت أن نمط الاستجابة المناعية لكلا النوعين من الحبات كان متشابهاً وكما موضح بحسب الأشكال (4-12 و 4-13)، إذ لم تظهر فروقات معنوية بين في معدلات التعبير للحركيات بين الحبات الجافة والحبات الرطبة على الرغم من الاستجابة المناعية للحركيات الانترفيرون كاما والانترلوكين 4- كان أعلى في الحبات الرطبة (قبل العلاج) وتناقصت بعدها إلى فترة الشفاء وبصورة أكثر وضوحاً في الحبات الرطبة منها في الجافة (الشكل 4-12 و 4-13). وقد يفسر ذلك بحسب ما بينه كل من El-Hajj وآخرون (2008) و Schwartz وآخرون (2006) تطور وشفاء الحبات الرطبة بصورة أسرع من الحبات الجافة وقد عدها كل منهما الطور الحاد الذي يشفى ذاتياً خلال 3-6 أشهر مقارنة بالحبات الجافة التي تظهر بصورة احمرار وتنمو تدريجياً بصورة ابطأ من الرطبة و يكون الشفاء الذاتي بعد 3-12 شهر.

لقد بين Meymandi وآخرون (2009) أن الافة الرطبة تحفز كلا من الخلايا التائية النوع الأول والخلايا التائية النوع الثاني، إذ تعمل الخلايا من النوع الأول على تحفيز الانترفيرون كما بصورة عالية والذي بدوره يتوسط تحفيز الخلايا البلعمية التي تتوسط عملية قتل الطفيلي (على الرغم من أنها تعد مكانا له ليتكاثر إذ يعتمد نجاحه هنا على قدرته على الاستمرار وتجنب عمليات السيطرة عليه من قبل الخلية البلعمية)، فيما تعمل الخلايا من النوع الثاني على تحفيز الانترلوكين-4 الذي بدوره يحفز نضج وتمايز الخلايا البائية.

أن وجود تعبير للواسم الخلوي 20 يدل على تحفيز الخلايا البائية والذي قد يؤكد ما بينه سابقا Meymandi وآخرون (2009) الذي أوضح أن الانترلوكين-4 يحفز نضج وتمايز الخلايا البائية وتحفيزها لإنتاج الأجسام المضادة. وقد وجد أنها تلعب دورا في عمليات الشفاء في إصابات اللشمانيا في الفئران المصابة تجريبيا وهذا ربما يفسر ارتفاع هذا الواسم في فترة الشفاء في الحبات الرطبة (التي تشفى أسرع) من الحبات الجافة (Bockenstedt وآخرون، 2015).

3-3-4: الارتباط بين كل من الانترفيرون كما و الانترلوكين-4 والواسم الخلوي CD20

تم إجراء اختبار معامل الارتباط البسيط بين الواسمات الثلاث (الانترفيرون كما و الانترلوكين 4 والواسم الخلوي 20) لجميع مراحل المرض. أظهرت نتائج الاختبار (جدول 3-4) أن هناك ارتباط متوسط إيجابي عالي المعنوية بين الانترفيرون كما والواسم الخلوي 20 ($P=0.015$, $r=0.360$) فترة الثقة (0.59-0.07)، كما ظهر ارتباط إيجابي عالي المعنوية بين الانترلوكين 4 والواسم الخلوي 20 ($P<0.001$ $r=0.688$) ، فترة الثقة (0.82-0.49) ولم يظهر أي ارتباط معنوي آخر بين المتغيرات التي أدخلت في النموذج . أن وجود ارتباط معنوي بين انترفيرون كما والواسم الخلوي 20 يتفق مع ما توصلت إليه النتائج السابقة والتي بينت أن هناك صلة بين السيطرة الفعالة على الطفيليات وتلف الأنسجة، مما يؤدي إلى تواتر أعلى للخلايا المنتجة لـ $IFN-\gamma$ ، ومن جهة فإن هذا التواتر يواجه

فعالية مضادة من قبل خلايا B المتسللة ، وبالتالي قد يشير الى وجود استجابة مناعية خلطية محتملة في الموقع (Veiera وآخرون ، 2002). كما وتتفق مع نتائج الدراسة السابقة التي أجريت من قبل Rostami Nagheti وآخرون (2010) والتي فسرت هذا الترابط في ان الخلايا البائية تساهم مع الخلايا التائية النوع الأول في انتاج انترفيرون كاما. ان الارتباط المعنوي العالي بين كل من انترلوكين-4 و الواسم الخلوي 20 يتفق مع ما اقترحه Gibson-Corley (2010) و Hurdayala وآخرون (2017) من ان الخلايا البائية تساهم في تنظيم الاستجابة المناعية للخلايا التائية النوع الاول والنوع الثاني. كما انه من المعروف ان الخلايا التائية النوع الثاني تنتج انترلوكين -4 والذي بدوره يتوسط عملية تنشيط الخلايا البائية وتمايزها لإنتاج الاجسام المضادة (Rush و Hodgkin ، 2001).

جدول (3-4): العلاقة بين انترفيرون كاما وانترلوكين-4 و الواسم الخلوي CD20

Marker		IFN- γ	IL-4	CD20
IFN- γ	Pearson correlation	1	0.275	0.360
	P-value		0.068	0.015
	r	0.360		
IL-4	Pearson correlation	0.275	1	0.688
	P-value	0.068		0.00
	r	0.688		
CD20	Pearson correlation	0.360	0.688	1
	P-value	0.015	0.00	

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusion & Recommendations

5: الاستنتاجات والتوصيات :Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات :Conclusions

من النتائج التي تمَّ الحصول عليها استنتجت الدّراسة ما يأتي:

- 1- حدوث تغيرات في جلد المصابين بداء اللشمانيا الجلدية ناتجة عن وجود الطفيلي داخل الخلايا وبينها فضلا عن ارتشاح الخلايا والعوامل المناعية في منطقة الإصابة.
- 2- ازدياد الياف المغراوية في مراحل متأخرة من الإصابة (اثناء وبعد العلاج) دليل على الشفاء.
- 3- استحثاث الاستجابة المناعية الموضعية لدى مرضى اللشمانيا الجلدية التي تمثلت بارتفاع الحركيات الخلوية لدى المرضى، والتي شملت IL-4 والانترفيرون كاما والواسم الخلوي CD20 .
- 4- وجد أنه لم يكن هناك أختلافات في أالاستجابة المناعية لكلا نوعي الحبات (الجافة والرطبة) بالنسبة للحركي الخلوي الانترفيرون كاما و IL-4 والواسم الخلوي CD20

التوصيات :Recommendations

- 1- إجراء دراسة مناعية نسجية وجزيئية على المرضى المصابين بداء اللشمانيا الجلدي .
- 2- إجراء دراسة لمحاولة إيجاد علاج بواسطة طرق بايولوجية.
- 3- التوسع في إجراء البحوث ومعرفة العلاقة التي تربط بين طفيليات اللشمانيا ومجاميع دم المصابين بها وعلاقتها بالحشرة الناقلة .
- 4- أجراء دراسة لإيجاد طرق مناسبة للسيطرة على الحشرة الناقلة .

الملاحق

Appendices

الملحق (A)

استمارة معلومات

اسم المريض:	العمر:
الجنس:	المهنة:
العنوان:	وجود حيوانات في المنزل:
موقع الإصابة	فترة الإصابة
عدد الحبات :	شكل الحبة
وجود قوارض	
الإصابة بالأمراض المزمنة:	
الحالة الاجتماعية للمريض:	
عدد المصابين بين أفراد الأسرة:	
تناول الادوية:	

المصادر

References

المصادر العربية:

اسماعيل، رجاء موسى واسعد، الهام عائد (2015). دراسة التغيرات المصلية والدموية لدى الاطفال المصابين بطفيلي اللشمانيا الاحشائية في مدينة كركوك. مجلة العلوم الصرفة والتطبيقية، جامعة بابل، 23(1):308-320.

الجبوري، عبد الله حسين عبد الله والجبوري، اكرام عبد الله عجيل (2014). اللشمانيا الجلدية في قضاء الشرقاط -دراسة وبائية مناعية بكتريولوجية، مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 19(6):18-25.

الحديثي، أسماعيل عبد الوهاب وعواد، عبد الحسين حبش (2000). علم الطفيليات، الطبعة الثانية، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل: 486 صفحة.

العبد الله، شتيوي (2012). علم وظائف الأعضاء. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، الطبعة الأولى، عمان، الأردن: 534ص.

العزاوي، افراح علي عبد الامير (2017). تأثير داء السكري وعقار البنيتوستام على تطور الإصابة بداء اللشمانيا الاحشائية في ذكور الفئران المختبرية. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ذي قار: 109 ص.

العزاوي، منى حميد أحمد (2015). دراسة التغيرات النسيجية و المناعية لمرضى اللشمانيا الجلدية في محافظة ديالى. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى: 125 ص.

العمري، صالح عبد الله، إبراهيم؛ الفكي، عبد الرحمن وابو قرية، سعد محمد حسين (1999). مقالة استعراضية عن امراض اللشمانيا في المملكة العربية السعودية، المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل، عدد خاص بمناسبة مرور مائة عام على تأسيس المملكة العربية السعودية: 319-

المختار، كواكب عبد القادر والراوي، عبد الحكيم أحمد (2000). علم النسيج (أنسجة الأعضاء). الطبعة الثانية. دار الكتب والوثائق، بغداد: 419ص.

المياي، هادي مدلول حمزة (2014). تقويم واستخدام بعض الفحوصات المناعية في دراسة وبائية داء اللشمانيا في محافظة القادسية اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة القادسية 272 صفحة.

بكداش، محمد؛ منيف، غريب و سكرية، شادي (2012). دراسة تصنيفية لبعض انواع الفواصد *Phlebotomus* الذباب الرمل (Diptera: psychodidae) sand flies الناقل لداء اللشمانيا *Leishmania* kenitoplastidae في بعض مناطق محافظة حمص _سورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، 28(2):30-37.

بكداش، محمد؛ قباقيبي، محمد ماهر و سكرية، شادي (2013). دراسة بيئة وبائية لانتشار الفواصد - ذباب الرمل الناقل لطفيليات اللشمانية في محافظة حماة - سورية. مجلة التشخيص المخبري، 6(9):21-24.

دحام ، امال كامل و الالوسي ، توفيق إبراهيم (2011). مسح وبائي لداء اللشمانيا الجلدي في محافظة صلاح الدين. مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 3(2): 601-610.

دعبول، محمد وائل تيسير (2009). داء اللشمانيات الجلدي في دمشق. المجلة الصحية لشرق المتوسط، منظمة الصحة العالمية، 15(5): 1084-1097.

سكرية، شادي؛ سعاد العقلة ومحمور، قويدر (2012). استخدام تقنية PCR للكشف عن اللشمانيا المدارية في سوريا، مجلة جامعة دمشق للعلوم الاساسية في سوريا. 28(1):1-9.

شعبان، مها والنحاس، سمر (2003). وبائية داء اللشمانيا الجلدية لمراجعي مستشفى الأمراض

الجلدية والزهرية والعيادات الشاملة في دمشق. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، 19

:114-124.

علي، منال (2014) تتميط انواع اللشمانيا المسؤولة عن الاصابات الجلدية في اللاذقية، رسالة

ماجستير. كلية الصيدلة، جامعة دمشق: 65ص.

موكر، هنادي محسن مهدي (2006). اللشمانيا الجلدية في محافظة البصرة دراسة وبائية ومناعية

وعلاجية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة: 128ص

نجرس، اسامة ناظم (2013). الوافي في المناعة. الرسالة للطباعة والنشر والتوزيع في

سامراء: 158 ص.

المصادر الأجنبية:

Aara, N.; Khandelwal, K.; Bumb, R.A.; Mehta, R.D.; Ghiya, B. C.; Jakhar, R.; Dodd, C.; Salotra, P. and Satoskar, A.R. (2013). Clinco-Epidemiologic Study of Cutaneous Leishmaniasis in Bikaner, Rajasthan, India American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 89(1):111–115.

Agha, N. F. SH.; Al-khayat, Z. A. Y. and Alharmni, K. I. F. (2018). Prevalence of cutaneous leishmaniasis in Erbil, Iraq. Polytechnic Journal, 8 (3): <http://dx.doi.org/10.25156/ptj> .

Ahmed, I.; Humayun, Z. and Ahmed, M.(2008). Pattern of cutaneous leishmaniasis cases among troops and their families in Sibi, Pakistan. Armies forces Medicine Journal, 58(2): 120-122.

Akhoundi, M.; Mohhebdi, M.; Asadi, M.; Mchmudi, M.R.; Amereei, K. and Mirzaei, A (2013). Molecular characterization of leishmaniasis spp. In

reservoir hosts in endemic foci of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. *Folia Parasitologica*, 60(3): 218-224.

Akhzari , S., Resvan, H., Zolhavarieh, S.M. and Moafi, M. (2017). Comparison pro-inflammatory, gene expression in lesion caused by either burn injuries or cutaneous leishmaniasis. *Gene cell Tissue*, 4(1): e42887.

Aksoy, M.; Doni, N.; Ozkul, H. U.; Yesilova, Y.; Ardic, N.; Yesilova, Y.; Ahn-Jarvis, J.; Oghumu, S.; Terrazas, C. and Satoskar, A.R. (2016). Pediatric Cutaneous Leishmaniasisin an Endemic Regionin Turkey:A Retrospective Analysis of 8786 Cases during1998-2014. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. DOI:10.1371/journal.pntd.0004835

Ali, M. A.; Rechi, A. A. and Khamesipour, A. (2015). Species Typing with PCR-RFLP from cutaneous leishmaniasis patients in Iraq. *Donnish Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3): 26-31.

Al-Bajalan, M. M. M.; Aljof, S. M. A.; Niranji, S. S.; Abdol Kareem, D.R; Khudhair, K.A. and Kato, H.(2018). An outbreak of *Leishmania major* from an endemic to anon – endemic region posed a public health in Iraq from 2014-2017 epidemiological. Molecular and phylogenetic studies- *PLOS Neglected Tropical Diseases*,12(3) :e0006255-e0006266.

Alemayehu, B. and Alemayehu, M. (2017). Leishmaniasis: A review on parasite, vector and reservoir host. *Health Science Journal*, 11(4): 519-524.

Al-Heany, A. R.; Sharquie, K. E.; Al-Najar, S.A. and Noaimi, A.A. (2014). Cutaneous leishmaniasis: comparative techniques for diagnosis. *IOSR Journal of Dental Medical Sciences*, 13(4) :33-37.

-
- Al-Kamel, M. A. (2015). Leishmaniasis in Yemen: A clinic-epidemiological study of leishmaniasis in central Yemen. International journal of Dermatology, <http://doi: 10.1111/ijd. 13041>.
- Al-Kamel, M. A. (2016). Stigma in cutaneous leishmaniasis, historical and new evidence, based concepts. Our Dermatology Online., 8(1): 81-90.
- Al-Khayat , Z. A. Y.; Agha, N. F. S.; Alharmani, K. I. F. and Khudhur, Y. J. (2018). A clinico – epidemiological study on cutaneous leishmaniasis in Erbil, Iraq (2015-2017). International Journal of Research in Dermatology,4(1): 1-7.
- Allen, J.E. and Sutherland, T. E. (2014). Host protective roles type 2 immunity: parasite killing and tissue repair, flip sides of the someone. Seminars in Immunity, 26(4): 23-26.
- Al-Mafraji, K.H.; Al-Rubaey, M. G. and Al-Kaisy, K. K. (2008). Clinico-Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Yarmook Teaching Hospital, Iraq. Journal of Community Medicine, 3:194-197.
- Al-Musawi, N.D.; Al-Bayati, N.Y. and Al- Kadhemi, M.H.(2018). Histological changes resulting from parasitic infection (scabies). Diyala Journal of Pure Sciences., 14(2): 248-259.
- Al-Musawi, M.M.; Hasan, H.R. and Maluki, A.H. (2014). Relationship between Th1, Th2 immune response and serum SOD activity in scabies. Journal of Advanced Biomedical and Pathobiology Research, 4(1): 1-15.
- Al-Obaidi, M. J. L; Ibrahim, K.; Aduan, T.; Abd Al-Hadi, E.; Akram, E.; Qazi, Z. and Talal, L. (2013). Epidemiological study to investigate a possible vector of visceral leishmaniasis in the central region of Iraq. Al-Mustansiriya Journal of Sciences,24(6):1-12.

-
- Al-Obaidi, M. J., Abd-Alhussein, M.Y and Al-Saqr , I.M. (2016). Survey study on the prevalence of cutaneous leishmaniasis in Iraq. Iraqi Journal of Science, 57(3C): 2181 – 2187.
- Al-Samarai, A. M.; Al-Obaidi, A. A. H, Al-Jumaili, Z. K.; Jasim, M. M. and Qatal, S. (2016) cutaneous Leishmaniasis in iraq: a continuing endemic disease. Journal of Drug and Diseases Researches, 31(1): 1024-1031.
- Al-Samarai, A. M. and Al-Obaidi, H. S. (2009). Cutaneous leishmaniasis in Iraq. Journal of Infection in Developing Countries, 3(2):123-129.
- Alvar, J.; Velez, I. D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Cano, J.; Jannin, J. and den Boer, M. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One, 7(5): 356-371.
- Alves, C.F.; Alves, C.F.; Figueiredo, M.M.; Souza, C.C.; Machado-Coelho, G.L.L.; Melo, M.N.; Tafuri, W.L.; Raso, P.; Soares, R.P. and Tafuri, W.L.(2013). American tegumentary leishmaniasis : effectiveness of an immunohistochemical protocol for the detection of *Leishmania* in skin. PLOS One,8(5) : e63343.doi:10.1371/ journal.PONE.0063343.
- Al-Warid, H. S.; Al-Saqr, I. M.; Al-Tuuaijari, S. B. Al-Zadawi, K. A. M. (2017). The distribution of cutaneous leishmaniasis in Iraq: demographic climate aspects. Asia Biomedicine,11(3):255.
- Amato, V.S.; Andrade, H.F. and Duarte, M. I. S. (2003). Mucosal leishmaniasis; in situ characteristic of host inflammatory response before and after treatment. Acta Tropica, 85: 39-49.
- Ameral, V.F.; Pirmez, C.; Gonçalves, A.J.S.; Ferreira, V. and Grimaldi, G. (2000). Cell population in lesions of cutaneous leishmaniasis of *Leishmania (L.) amazonensis* infected rhesus macaques, *Macaca mulatta*. Memorios Institute Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 95(2): 209-216.

- Ambi, A.; Woods, K.; Call, B.; Coombs, G. and Mottran, J. C. (2011). Morphological events during the cell cycle of *Leishmania major*. Eukaryotic Cell, 10(11) : 1420-1438.
- Andrade, M.S.; Valenca, H.F.; Da Silva, A.L.; Almeida, F.de A.; Almeida, E.L.; De Brito, M.E.F.; Filhos, S. P. (2006). Sand fly Fauna in a military training area endemic for American tegumentary leishmaniasis in the Atlantic Rain Forest region of Pernambuco, Brazil. Cadernos de Saude Publica, 21(6):1761-1767.
- Anovazzi, G.; Medeiros, M. C.; Pigossi, S.C.; Finoti, L.S.; Souza Moreira, T.M.; Mayar, M.P.A.; Zanalli, C.F.; Valentini, S.R.; Rossa-Junior, C. and Scarel- Caminaga, R.M. (2017). Functionality and opposite roles of two interleukine 4 naptotypes in immune cells. Genes and Immunity, 18: 33-41.
- Assafa, D.; Kibru, E.; Nagesh, S.; Gebreselassie, S.; Deribe, F. and Ali, J. (2006). Medical parasitology. Ethiopia Public Health Training Initiative, Ethiopia Ministry of Health and Ethiopia Ministry of Education: 139pp.
- Awasthi, A.; Mathur, R.K. and Saha, B. (2004). Immune response to *Leishmania* infection. Indian Journal of Medical Research, 119:238-258.
- Bahram, F.; Harandi, A. and Rafati, S. (2018). Biomarkers of cutaneous leishmaniasis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Doi: 10.3389/fcimb.2018.00222.
- Bailey, M.S. and Lockwood, D.N. (2007). Cutaneous leishmaniasis. Clinical in Dermatology, 25(2):203-211.
- Balmer, N.N.; Hughey, L.; Busam, K.J.; Reddy, V. and Andea, A.A. (2009). Primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma with aberrant co-expression of CD20: case report and review of the literature. American Journal Dermatopathology, 31:187–192.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1996). Theory and practice of histological techniques , 4th ed, Churchill Livingstone, New York: 766 p

-
- Bari, A. U. and Rahman, S.B. (2008). Cutaneous leishmaniasis: an overview of parasitology and host – parasite – vector inter relationship. Journal of Pakistan Association Dermatology, 18: 42- 48.
- Baron, S.; Tying, S. K.; Fleishman, W. R.; Coppenhaver, D.H.; Niesel, D.W.; Klimpel, G.R.; Stanton, G.J. and Hughes, T. K. (1991). The interferons: Mechanism of action and clinical applications. JAMA., 66(10):1375-1383.
- Bockenstedt, M. M.; Boggiatto, P. M. and Jones, D. E. (2015). Characterization of the B cell response to *Leishmania* infection after anti-CD20 B cell depletion. International Journal of Clinical Experimental Pathology, 8(6):6192-6202
- Botelh, A. C. C.; Tafuri, W. L.; Genaro, O. and Mayrink, W. (1998). Histopathology of human American cutaneous leishmaniasis before and after treatment. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 31(1): 222-225.
- Bray, R. S. (1987). Note on the history of cutaneous leishmaniasis in the Mediterranean and Middle East. Parasitology, 29(2-3) : 175-179.
- Brelaz-de – Castro, M. C. A.; Almeida, A. F.; Oliveira, A. P.; Assis-Souza, M., Rocha, L. F. and Perira, V. R. A. (2012). Cellular immune response evaluation of cutaneous leishmaniasis patients, Cells stimulates with *Leishmania (viannia) braziliensis* antigenic fractions before and after clinical cure. Cellular Immunology, 279 (2): 180-186.
- Bullen, D. V. R.; Baldwin, T. M.; Curtis, J. M.; Alexander, W.S. and Handman, E. (2003). Persistence of lesions in suppressor of cytokine signaling-1 deficient mice Infected with *L. major*. Journal of Immunology, 170:4262-4267.
- Calborn, D. M. (2010). The biology and control of Leishmaniasis vectors. Journal of Global Infectious Diseases, 2:127-134.

- Campino, L.; Cortes, S.; Dionisio, L.; Neto, L.; Afonso, M. O. and Maia, C. (2013). The first detection of leishmaniasis major in naturally infected *Sergentomyia* in Portugal. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janero, 108(4): 516-518.
- Carroll, K.C.; Mores, S. A.; Mietzner, T. and Miller, S. (2013). Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 27th edn., Mc Graw Hill Education, New York: 705-715.
- Castellano, L.R.; Filho, D.C.; Argiro, L.; Dessein, H.; Prata, A.; Dessein, A. and Rodrigues, V. (2009). Th1/Th2 immune responses are associated with active cutaneous leishmaniasis and clinical cure is associated with strong interferon gamma production. *Human Immunology*, 70: 383–390.
- Castro-Gomes; C.M.; Souse, M G. T.; Meneze, J. P. B.; Batista, M. C.; Lima, A. C. S.; Belda, W.; Bradshaw, D.; Gama, M. E. A.; Laurenti, M. D.; Silveira, F. T. and Corbett, G.E.P. (2017). Immunopathological characterization of human cutaneous leishmaniasis lesions caused by *Leishmania (Viannia)*spp.in Amazonian Brazil. *Parasitology Research*, 116(5) : 1423-1431.
- Chapel, H.; Haeney, M.; Misbah, S. and Snowden, N. (1999). *Essentials of Clinical immunology*, 4th edn. Blackwell Sci., Oxford: 351pp
- Cruse, J. M. and Lewis, R. E. (2000). *Atlas of immunology*. CRC Press, N.Y., USA, 185-209.
- Danas, M.L.; Oliveira, J.M.; Carvalho, L.; Passos, S.T.; Queiroz, A.; Guimães, L. H.; Machado, P.; Carbalho, E. and Arrunda, S. (2014). Comparative analysis of the tissue inflammatory responses in human cutaneous and disseminated leishmaniasis. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janerio, 109:202-209.
- Dawit, G.; Girma, Z. and Simenew, K. (2012). A review on biology, epidemiology and public health significance of leishmaniasis. *Acta Parasitologica Globalis*, 3(3):43-53.

- Domingos, P. L. B.; Viana, A. G.; Fraga, C. A. C. and Bonan, P. R. F. (2012). OX40+ T lymphocytes and IFN- γ are associated with American tegumentary leishmaniasis pathogenesis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 87(6):851-855.
- Donovan, M. J.; Maciuba, B. Z.; Mahan, C.E. and McDowell, M. A. (2010). *Leishmania* infection inhibits cycloheximide-macrophage apoptosis in a strain dependent manner. *Experimental Parasitology Journal*, 123(1):58-64.
- Dourate, M. L and Rochael, M. C. (2006), Histopathological and immune, h. to chemical rovofile of the American cutaneous leishmaniasis with emphaissis on FXIII at dermal dendrocytes. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 81(6) : 537-544.
- El-Hajj, L.; Thellier, M.; Cerrieve, J.; Bricaire, F.; Danis, M.; Caume, E. (2008). Localized Cutaneous leishmaniasis imported into paris. A reviw , F39 eases. *International Journal of Dermatology*, 43: 120-125.
- Elder, D.E.; Elenisas, R.; Johnson, B.; Ioffreda, M.; Miller, J. and Miiler, O.F.(2007). *Levers histopathology of the skin*, second edithion. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA:290-294.
- Emami, M. M. and Yazdi, M. (2008). Entomological survey of *Phlebotomus* sand flies (Diptera: psychodidae) in a focus of visceral leishmaniasis in central Iran. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45(1):38-43.
- Faria,D.R.; souza,P.E.; Duraes,F.V.; Carvalho, E.M.; Gollob, K.J.; Machado, P.R. and Dutra, W.O. (2009) Recuitment of CD&(+) tcells expressing granzyme A associated with lesion progression in human cutanteows Leishmaniasis. *Parasite and Immunology*, 31(8) : 432-439.

- Gibson-Corley, K. N.(2010). Understanding the role of B cells during *Leishmania amazonensis* infection. Ph. D. Theses and Dissertations. Iowa State University , Ames, Iowa. 11418. <https://lib.dr.iastate.edu/etd/11418>
- Gimblet-Ochieng, C. (2017). Regulating Immune mediated pathology in cutaneous leishmaniasis: Roles for IL-22 and skin microbiota. Publicly Accessible Penn Dissertation. 2305. <https://repository.upenn.edu/dissertations/2305>.
- González, K.; Diaz, R.; Ferreira, A.; Garcia, V.; Paz, H.; Calzada, J.E.; Ruiz, M.; Laurenti, M. and Saldaña, A. (2018). Histopathological characteristics of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania Viannia panamensis* in Panama. Revista do Institute de Medicina Tropical de São Paulo, 60:e8-e16.
- Gramiccia, M. G. and Grandoni, L. (2005). Current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. International Journal of Parasitology, 35:1169-1180.
- Guimaraes, E.T.; Santos, L. A.; Santos, R. R.; Tiexeira, M. M.; Santos, W.L.C. and Soares, M. B. P. (2006) in Role of interleukin 1 and prostaglandin E2 in *Lieshmania amazonensis* infection of BALB/ mice. Microbe and Infection ,8(5) : 1219-1226.
- Gumurdulu,D.; Ergin, M.; Tuncer,I.; Uzun, S. and Memisoglu, H.(2004). Histopathological and clinical evaluation of the cutaneous leishmaniasis in Southern Anatolia, Turkey. Aegean Pathology Journal, 1:57–61.
- Hassan, S. R. (2017), Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Tuz. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(1): 477-483.

- Hoerauf, A.; Solbach, W.; Rollinghoff, M., and Gessner, A. (1995). Effect of IL-7 treatment on *Leishmania major* infected BABL-Xid mice: enhanced lymphopoiesis with sustained Lack of B1 cell, and clinical aggravation of disease. International Immunology, 7(11) :1879-1884.
- Hsu, S.M.; Raine, L. and Fanger, H. (1981). The use of anti avidin antibody and avidin – biotin – peroxidase complex in immune peroxidase technique. American Journal of Clinical Pathology, 75: 216-221.
- Humason, G.L. (1979). Animal tissue technique, 4th ed. W.H. Freeman and Co, Francisco: 661p.
- Hurdayala, R.; Ndlovua, H. H., Revaz-Bretona, M.; Parihara, S.P.; Nonoa, J.K.; Govendera, M, and Brombachera, F. (2017). IL-4–producing B cells regulate T helper cell dichotomy in type 1- and type 2-controlled diseases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America. doi:10. 1073/pnas.1708125114/-/DCSupplemental.
- Jabbour, M.N.; Issa, G.; Charafeddine, K.; Simaan, Y.; Karam, M.; Khalifeh, H.; Habib, R. and Khalifeh, I. (2014). , The immune microenvironment in cutaneous leishmaniasis. European Academy of Dermatology and Venereology .1-10. DOI: 10.1111/jdv.12781.
- Jacobson, R. L. (2003). *Leishmania tropica* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) - a perplexing parasite. Folia Parasitologica, 50: 241 – 250
- Janson, A. M. and Roque, A. L. R. (2010) Domestic and wild mammalian reservoirs. In: Telleria, J. and Tibyarence, M. (eds). American trypanosomiasis chagas disease. Elsevier, London: 249-276.
- Kalaf, A. Kh.; Majeed, S. K. and Naif, A. A. H. (2016). Study of the prevalence and histopathological changes of cutaneous leishmaniasis in

Nassirriyah city, Thiqr province. Basrah Journal of Veterinary Research, 15(3) : 520-531.

Kaye P, Scott P (2011) Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. Nature Reviews Microbiology, 9:604–615. doi: [10.1038/nrmicro2608](https://doi.org/10.1038/nrmicro2608) -21747391

Kedzeiski, L.; Zhu, X. and Handman, E. (2006). *Leishmania* vaccines :progress and problems. Parasitology, 133:s87-112.

Kima, R.E and Soong, L. (2013). Interferon gaman and leishmaniasis. Frontiers in Immunology, 4: [http://doi: 10.3389/ fimmu.2013](http://doi.org/10.3389/fimmu.2013).

Kimblin, N.; Peters, N.; Debrabant, A.; Secundino, N.; Egen, J.; Lawyer, P.; Fay, M.P.; Kumar, R.; Bumb, R. A. and Salotra, P. (2009). Evaluation of localized and systemic immune response in cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* Interleukin 8, monocyte chemotactic protein-1 and Nitric oxide are major regulatory factors. The Journal of Cells, Molecules, Systems and Technologies. doi: 10.1111/5-1365-2567.2009-03223.x.

Koçarslan, S.; Turan, E.; Ekinici, T.; Yesilova, Y. and Apari, R.(2013). Clinical and histopathological characteristic of cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa city of Turkey including Syrian refugees. Indian Journal of Pathology and Microbiology, 56(3):211-215.

Kumer, A. (2013). *Leishmania* and Leishmaniasis. Springer, New York, USA: 90p.

Kumer, R.; Bumb, R. A. and Salotra, P. (2009). Evaluation of localized and systemic immune response in cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* : interleukine 8 , monocytes chemotactic protein -1 and nitric oxide are major regulatory factors. The Journal of Cells, Molecules, Systems and Technologies. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03223.x.

- Laurenti, M. D.; Orn, A.; Sinhorini, I. L. and Corbett, C. E. (2004). The role of complement in the early phase of *Leishmania (Leishmania)amazonensis* infection in BALB/c mice. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 37(3):427-34.
- Lawyer, P. G.; Young, D. G.; Butler, J. F. and Akin, D. E. (1987). Development of *Leishmania mexicana* in *Lutzomyia diabolica* and *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae). Journal of Medical Entomology, 24: 347-355.
- Leandro MJ: (2013). B-cell subpopulations in humans and their differential susceptibility to depletion with anti-CD20 monoclonal antibodies. Arthritis Research and Therapy, 15(Suppl 1): S3.
- Louzir, H.; Melby, P.C.; Salah, A.B.; Mvra Kch.; H.; Aoun, Ka; Ismarl, R.B. and Dellagi, K. (1998). Immunological determinant of disease evolution in localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. The Journal of Infectious Diseases, 177:1687-1695.
- Luzina, I.G.; Keegan, A.D.; Heller, N. M.; Rook, G.A.W.; Donohue, T.S. and Atamas, S. P. (2012). Regulation of inflammation by interleukin -4: a review of alternatives. Journal of Leukocyte Biology, 92 (4): 753-764.
- Madke, B.; Doshi, B.; Khopkar, U. and Dongra, A. (2013). Appearance in dermapathology, the diagnostic and the deceptive. Indian Journal of Dermatology, Venereology, Leprology, 79:338-348.
- Maheshwari, N. (2008). Clinical microbiology and parasitology, 2nded., Jaypee Brothers Medical Publishers, LTD, New Delhi, India: 310pp.
- Manamperi, N.H.; Oghumu, S.; Pothirana, N.; de Silva, M.V.; Abeyewichieme, W.; Satoskar, A.R. and Karunaweera, N.D.(2017). In situ immunopathological changes in cutaneous leishmaniasis due to

-
- Leishmania donovani*. Parasites Immunology, 39(3),doi:10.1111/pim.12413.
- Marquardt, W. C.; Demaree, R. S. and Grieve, R. B. (2000). Parasitology and vector biology. 2nd edition. Academic Press, San Diego, California 1455–1463.
- Masmoudi, A.; Hariz, W.; Marrekchi, S.; Amouri, M. and Turki, H.(2013). Old world cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. J. Dermatol .Rep., 2: 31-41.
- Maspi, N.; Abdoli, A. and Ghaffarifar, F. (2016). Pro and anti- inflammatory cytokines in cutaneous leishmaniasis: a review. Pathogens and Global Health, 110:247-260.
- McCall, L.; Zhang, W. and Matlashewski, G. (2013). Determinants for the development of visceral leishmaniasis disease. PLOS Pathology, 9 (1): 1-7.
- Melby, R. C.; Andrade-Narvaes, F. J.; Darnell, B. J.; Ualencue-Pacheco, G.; Tryon, V. V. and Palomo-Cetina, A. (1994). Increased expression of pro-inflammatory cytokines in chronic lesions of human cutaneous leishmaniasis. Infection and Immunity, 62(3): 837-842.
- Meymandi, S.; Dabiri, Sh.; Shamsi-Meymandi, S.; Nikpour, H. and Kharazmi, A. (2009). Immunophenotypic pattern and cytokine profiles of dry cutaneous leishmaniasis. Achieve Iranian Medicine, 12(4): 371-376.
- Miles, S. A.; Convad, S. M.; Alves, R. G., Jeronimo, S. M., and Mosser, D. M. (2005). A role for IgG immune complexes, during infection with intracellular pathogen *Leishmania*. Journal of Experimental Medicine, 201: 747-754.

- Mirhossieni, M.; Salehzadeh, A.; Jamaadt, S.R.; Zahirinia, H. and Rahmanzadeh, N. (2017). Distribution and seasonal activity of Phlebotominae sandfly in Yazd and its outskirt, Center of Iran. The Scientific World Journal. <http://doi.org/10.1155/201/1486845>.
- Mohrmann, R.L. and Amber, D.A. (2000). CD20-Positive peripheral T-cell lymphoma: report of a case after nodular sclerosis Hodgkin's disease and review of the literature. Modern Pathology, 13:1244–1252.
- Molan, A. and Faraj, A. M. (2010). Concise medical parasitology. First edition, Shabab Printing House-Erbil, Iraq :386 pp.
- Mubayi, A.; Paredes, M. and Ospina, J. (2018). Comparative assessment of epidemiologically different cutaneous leishmaniasis outbreaks in Madrid, Spain and Tolima, Colombia: An estimation of the reproduction number via a Mathematical Model. Tropical Medicine and Infectious Diseases, 3 (43):1-22.
- Nasrabadi, H. N.; Ebrahimi, T.M.; Banadaaki, D.S.; Kojonsangi, T.M. and Zahhedi, F. (2011). Study of cutaneous wound healing in rats treated with *Lactobacillus plantarum* day 1,3,7,14 and 21. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(21): 2395: 2401.
- Nateghi Rostami, M.; Keshavarz, H.; Edalat, R.; Sarrafnejad, A.; Shahrestani, T.; Mahboudi, F. and Khamesipour, A. (2010). CD8+ T Cells as a Source of IFN- γ Production in Human Cutaneous Leishmaniasis. PLOS Neglected Tropical Diseases, 4(10): e845. doi:10.1371/journal.pntd.
- Neel, V.A. and Sober, A.J. (2003). Tumors arising from the epidermis. In: Kufe, D.W.; Pollack, R.E.; Weicheslbaum, R.R.; Bast, R.C.; Gansler, T.S.; Holland, J.F. and Frei, E.(Edrs.). Holland-Frei cancer medicine, 6th edition B.C. Decker Inc.: 300-390.

- Nelms, K.; keegan, A.D, zamarano, J. Rayen, J. J. and Paul, W.E. (1999). The 1L-4 receptor signaling mechanism and biological function. Annual Reviews of Immunology, 17: 701-738.
- Nilforoushzadeh, M. A.; Bidabadi, L. S.; Hosseini; S. M.; Nobari, R. F. and Jaffary, F.(2014). Cutaneous Leishmaniasis in Isfahan Province, Iran, During 2001-2011. Journal of Skin and Stem Cell,1(2): e23303.
- Nogueira, M. F.; Goto, I. T.; Sotto, M. N. and Cuce. L. C. (2008). Cytokine profile in Montenegro skin test of patients with localized cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. Revista Medicine Tropical Sao Paulo, 50(6): 333-337.
- Oliveira, N.W.; Ribeiro, L.E.; Schrieffer, A.; Machado, P.; Carvalho, E.M. and Bacellar, O. (2014) The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in pathogenesis of tegumentary leishmaniasis. Cytokine, 66:127-132.
- Oryan, A. and Akbari, M. (2016). Worldwide risk factors in leishmaniasis. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 9(10): 925-932.
- Palit, A.; Bhattacharya, S.K. and Kundu, S.N. (2005). Host preference of *Phlebotomus sargenties* and *Phlebotomus papatasi* in different biotopes of west Bengal, India. International Journal of Environment and Health Research, 15(6):449-454.
- Paniker, C. J. (2007). Textbook of medical parasitology-6th edition. Ajanta Offset and Packaging, Medical publishers, LTD., New Delhi:248p.
- Peters, N. C.; Egen, J. G.; Secundino, N.; Debrabant, A.; Kimblin, N.; Kamhawi, S.; Lawyer, P.; Fay, M. P.; Germain, R. N. and Sacks, D. (2008). *In vivo* imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies. Science, 321(5891): 970-974.

- Qainnell, R.J. and Courtenay,O.(2009). Reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, 136: 1915-1934.
- Rahi, A.A.; Hraiga, B.A. and Hassan, J.J. (2014). Some epidemiology aspects of cutaneous leishmaniasis in Kut city, Iraq. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*, 2(1D0: 451-455.
- Rahi, A. A.; Nsaif, S.; Hassoni, J. J.; Ali, M. A. and Hamza, H. A. (2013). Comparison of diagnostic methods in cutaneous leishmaniasis in Iraq. *American Journal of Biological Sciences*,1(1): 1-5.
- Ready, P. D. (2013). Biology of Phlebotomine sand flies as a vector of disease agents. *Annual Review Entomolgy*,58:227-250.
- Remadi, L.; Haouas, L.; Chaara, D.; Slama, D.; Chargui, N.; Dabyghi, N.; Jbeniani, H.; Mezhoud, H. and Babba, H. (2016). Clinical presentation of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. *Dermatology*, 232:752-759.
- Reithinger R. and Davies, C.R. (1999). Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of American cutaneous leishmaniasis? A critical review of the current evidence. *American Journal Tropical Medicine Hygiene*, 61:530—41.
- Reithinger, R.; Mohsen, M. and Leslei, T. (2010). Risks factors for anthroponotic cutaneous leishmaniasis at household level in Kabul, Afghanistan. *PLOS Neglected Tropical Disease*, 4(3): e639-e647.
- Riley, J.K. and Sliwkowski, M. X. (2000).CD20: a gene in search of a function. *Seminars in Oncology*, 27(6): 17-24.
- Roberts, L.S. and Janovy, J. (2009). *Foundations of Parasitology*, 8th edn. Mc Graw-Hill, Boston, USA :990p.
- Roberts, M. T. M. (2006). Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. *British Medical Bulletin*,76: 115-130.

- Rodriguez- Pinto, D.; Saravia, N.G. and McMahon - Pratt, D.(2014). CD4 T cell activation by B cells in human *Leishmania (viannia)* infection. BMC Infectious Diseases, 14 : 108-120.
- Rohousova, I.; Subrahmanyam, S.; Volfoa, V.; Mu, J.; Volf, P.; Valenzuela, J.G. and Jochim, R. C. (2012). Salivary gland transcriptomes and proteomes of *Phlebotomus tobbi* and *Phlebotomus sergenti*, vectors of leishmaniasis. PLOS, Neglected Tropical Diseases, 6 (6): 1-27.
- Roitt, I., Brostoff, J. and Mole, D. (2001). Immunology, 6th ed., Mosby, Spain: 243-260.
- Roque, A.L.R. and Jansen. A.M. (2014). Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americans. International Journal of Parasitology Parasites and Wildlife, 3:251-620.
- Rush, J. S. and Hodgkin, P D. (2001). B cells activated via CD 40 and IL-4 undergo a division burst but require continued stimulation to maintain division, survival and differentiation. European Journal of Immunology, 31(4): 1150-1159.
- Saheb, E.J. (2018). The prevalence of parasitic protozoan disease in Iraq, 2016, 2016. Karbala International Journal of Modern Science, 4(1):21-25.
- Saini, A. M.R. and Aggarwal, A. (2017). Clinico-pathological of cutaneous leishmaniasis and its diagnostic algorithm. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 7(9): 573-576.
- Salam, N.; Al-Shagha, W. M. and Azzi, A. (2014). Leishmaniasis in middle East: incidence and epidemiology. PLoS Neglected Tropical Diseases, 8(10):e3200.

- Santos, M.A. O. and Lima, M.M.(2017). Cd20 role in pathophysiology of Hodgkin's diseases. *Rivista da Associação Medica Brasileira*, 63(9): 810-813.
- Schroder, K.; Hertzog, P. J.; Ravasi, T. and Hume, D. A. (2004). Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, 75: 163-189.
- Schwartz ,E.; Hatz ,C. and Btum, J. (2006). New world cutaneous leishmaniasis in travelers. *Lancet Infectious Diseases*, 6:342-349.
- Scott, P.; Chang, C.H.; Sun, J.; Longley, B. J.; Ruddle, N.H.; Flavell, R. A. and Mahonpratt, D. (1988). B lymphocyte, are required for the generation of T Cells, that mediate healing of cutaneous leishmaniasis. *Journal of Immunology*, 137: 1017-1021.
- Secundino, N.F.; Eger-Mangrich, I.; Braga, E.M.; Santoro, M.M. and Pimenta, P.F. (2005). *Lutzomyia longipalpis* peritrophic matrix: formation, structure, and chemical composition. *Journal of Medicine Entomology*, 42: 928–938.
- Shamsi- Meymandi, S.; Javadi, A.; Dabiri, Sh.; Shamsi-Meymandi, M. and Nadji, M. (2011). Comparative histological and immunohistochemical changes of dry type cutaneous leishmaniasis after administration of meghumine antimoniate, Imiquimod or compination therapy. *Archives of Iranian Medicine*, 14(4): 238-243.
- Sharquie, K. and Najim, R. A. (2004). Disseminated cutaneous leishmaniasis. *Saudi Medical Journal*, 25: 951-954.
- Sharquie, I.K.; Shararah, Z.A.A. and Al-Bayati, A.M. (2016). Sequential testing of serum immunoglobulins in patients with active and treated scabies. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 15(5): 79-100.

- Shirian, S.; Oryan, A.; Hatam, G. R. and Daneshbod, Y. (2012). Mixed mucosal leishmaniasis infection caused by *L. tropica* and *L. major*. Journal of Clinical Microbiology, 50(11): 3805-3808.
- Singh, A. and Ramesh, V. (2013). Histopathological features in leprosy, post kala azar dermal leishmaniasis and cutaneous leishmaniasis. Symposium Dermatopathology, 79(3): 360-366.
- Singh, A.; Wang, X. and Nath, I. (2011). Skin biopsy in leprosy. In: Khopker U. (Ed). Skin biopsy perspective. ISBN: 978-953-307-290-6. In Tech, <http://www.intechopen.com/books/skin-biopsy-perspective/skinbiopsy-in-leprosy>.
- Soares, R. P.; Barron, T.; McCoy-Simandle, K.; Svobodova, M.; Warburg, A. and Turco, S. J. (2004). *Leishmania tropica*: intraspecific polymorphisms in lipophosphoglycan correlate with transmission by different *Phlebotomus* species. Experimental Parasitology, 107(1-2): 105-114.
- Sucker, F.; Yawanis, F.; AlDoori, N. and Al-Mehdawi, S. K. (1985). The possible vector of infantile visceral leishmaniasis in Iraq. Bullen of Endemic Disease, 26(1/4):27-36.
- Sundar S. and Rai M., (2002).** Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis . Clinical Diagnosis of Laboratory Immunology, 9(5): 951-958.
- Taheri, E.; Dabiri, S.; Shamsi- Meymandi, M. and Saedi, E. (2017). Possible interrelationship of inflammatory cells in dry type cutaneous leishmaniasis. Iranian Journal of Pathology, 12(2):119-127.
- Teixeira, D.E.; Benchimol, M.; Rodrigues, J.C.F.; Crepaldi, P.H.; Pimenta, P.F.P and Souza, W. (2013). The Cell Biology of *Leishmania*: How to teach using animations. PLoS Pathoglogy, 9 (10): e1003594. doi: 10.1371/journal.ppat.1003594.

- Toun, F.F.; Neto, V.A. and Amato, V.S. (2008). *Leishmania*: Origin, evolution and future since the Precambrian. Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Immunology and Medical Microbiology; 54: 158-166.
- Trigg, J.K. (1996). Evaluation of a eucalyptus-based repellent against *Culicoides impunctatus* (Diptera:Ceratopogonidae) in Scotland. Journal of American Mosquito Control Association, 12 (2 Pt 1): 329–30.
- Trinchieri, G. (2014). Interleukin-12: a cytokine produced by antigen – presenting cell with immunoregulatory function in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes. Blood Journal, 84(12) : 4008-4027.
- Ul-Bari, A. and Rahman, S. (2006). Correlation of clinical histopathological microbiological findings in 60 cases of cutaneous leishmaniasis. Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, 72(1):28-32.
- Van Zandbergen, G.; Bollinger, A.; Wenzel, A.; Kamhawi, S.; Voll, R.; Klinger, M.; Müller, A.; Hölscher, C.; Herrmann, M.; Sacks, D.; Solbach, W. and Laskay, T. (2006). *Leishmania* disease development depends on the presence of apoptotic promastigotes in the virulent inoculum. Proceedings of the National Academy Sciences, U.S.A., 103(37) 13837–13842.
- Vesely, M.C.A.; Bermejo, D.A.; Montal, C.L., Acosta- Radriguez, E.V. and Gruppi, A. (2012). B-cell response during protozoan parasitic infections- Journal of Parasitology Research. <http://dx.doi-org/10.1155/2012/362131>.
- Viana, A.G.; Mayink, W.; Frage, C.A.C., Silva, L.M.; Domiagos, P.L.B.; Bonan, P.R.F.; Paual, A.M.B. and Botelho, A.C.C. (2013). Histopathological and Immunohistochemical aspects of American cutaneous leishmaniasis before and after different treatments. Anais Brasileiros de Dermatologia, 88(1) : 32-40.

- Vieira, M.C.S.; Oliveira, F.; Arruda, S.; Bittencourt, A. L; Barbosa, A. A.; Barral- Netto, M. and Barral, A. (2002). B- cell infiltration and frequency of cytokine producing cells differ between localized and disseminated human cutaneous leishmaniasis. *Memoria do Instituto Oswaldo Cruz Rio de Janeiro*, 97(7) : 979-983.
- Vijayanand, P.; Seumois, G.; Simpson, L.J.; Abdul-Wajid, S.; Baumiohann, D, Panduro, M.; Huang, X; Interlandi, J. and Ansel, K.M. (2012). Interleukin-4 production by follicular helper T cell requires the conserved 114 enhancer hypersensitivity site. *Veterinary Immunity*, 36 (2): 175-187.
- Voehringer, D.; Shinkai, K.; Locksley and R. M. (2004). Type 2 immunity reflects orchestrated recruitment of cells committed to IL-4 production. *Immunity*, 20 (3): 267-277
- Wanasen, N.; Xin, Lo and Soong, L. (2008). Pathogenic role of B cell and antibodies in murine *Leishmania amazonensis*. *International Journal of Parasitology*, 38(3-4) :417-429.
- Wheeler, R. J.; Gluenz, E. and Gull, K. (2011). The cell cycle of *Leishmania*: morphogenetic events and their implications for parasite biology. *Molecular Microbiology*, 79(3): 647-662.
- W.H.O. (2018). Cutaneous Leishmaniasis in Iraq : demographic and climate aspects. *Asian Biomedicine*, 11(3): 255-260.
- WHO. (2003). Communicable Disease profile, Iraq. Communicable Disease Working Group on Emergencies, HQ Division of Communicable Disease Control, EMRO, WHO OFFICE, Baghdad. 108p.
- WHO. (1990). Control of leishmaniasis, report of expert committee, Technical report series, 743:14pp.

-
- WHO. (2010). Control of the leishmaniasis. In proceedings of a meeting of the WHO, Expert committee, Geneva: 22-26.
- WHO. (2014). Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO eastern Mediterranean region. Series 35. Regional office for the eastern Mediterranean: 48 pp.
- Woelbing, F.; Kostke, S. L.; Moelle, K.; Belkaid, Y.; Sunder, C.; Verbook, S.; Waisman, A.; Nigg, A.B.; Knop, J.; Udey, M.C. and Von Stebut, E.(2006). Uptake of *Leishmania major* by dendritic cells in mediate by Fcγ receptors and Facilitates acquisition of protective immunity. Journal of Experimental Medicine, 203: 177-188.
- Yücel, A.; Günaşti, S.; Denti, Y. and Hzun, S. (2013). Cutaneous leishmaniasis: new dermoscopic findings. International Journal of Dermatology, 52(7): 831-837.
- Zamorano, J.; Rivas, M. D. and Perez. G. M. (2003). Interleukin- 4: A multifunctional cytokine. Immunologia,22(2):215-224.

Abstract

The local immune response has been studied in patients with cutaneous leishmaniasis attending to Dermatology Unit at Baqubah Teaching Hospital for the period between October 2017 to August 2018. Forty-five biopsies were taken from 110 patients in different ages groups diagnosed with cutaneous leishmaniasis the samples was divided into groups :pretreated, treated group, and posttreatment (healing group). Women were more exposed to infection (54.54%) than men (45.45%). The most age groups exposed to infection was (21-30) years, while the age group less than one 10 years- years and 41 years and more were the least infected groups (10.90%) with significance level (P-Value = 0.001). Skin lesions distributed in different parts of the body and the arms were most infected parts (40%) while the lowest infected part was the face (5.45%). The multiple lesions (78.18%) were higher than single lesions (21.81%) it was obtained that dry lesion cases reported in 56.36% of patients were higher than wet lesion cases (43.65%). The infection of cutaneous leishmaniasis was recoded in percentage in urban areas residents (55.5%), against those in rural areas residents (44.5%). While the percentage of infection in those who live in areas where rodents live was 62.72% compared with are found 37.72% in those were live in areas where rodents were absent, with significant differences at 0.05. A Histopathological changes study was carried at different stages of the disease, (pre-treatment and through-treatment).The pathological changes in epidermis included hyperkeratosis and hyper epidermis, the changes occurred in 85% and 90% , respectively but these percentages decreased during treatment to 52.38% and 80.95% respectively. The oedema in epidermis appeared in 60% of patients before treatment and decreased during treatment to 52.38% of them. The necrosis appeared in both epidermis and dermis among 60% of patients before treatment and decreased to 42.85% among them during treatment, with

B

significant differences at $P\text{-Value}=0.05$. Papilloma appeared in 30% of patients before treatment and decreased to 28.85 after treatment, The extending rete ridges through the end of internal layer of epidermis to the dermis appeared in 65% of patients , and decreases during the treatment to 42.85% them. The histological changes in the dermis include infiltration of various inflammatory cells such as phagocytes, lymphocytes, and plasma cells, and the fluids accumulate to initiated the edema in the dermis (in patient 75% before treatment, dropping to 66.66% of them during treatment). As a results of infection, these were of inflammatory cells accumulate to create granuloma (dropping from 50% to 38.09% during treatment). Collagen fibers appeared in 78% of patients as an evidence of healing process.

An immunohistochemical study has shown an increase of the positive cells for Interferon gamma in the infected tissue before treatment (57.35 ± 18.34) decreased during treatment and healing period (51.9 ± 18.34 and 27.5 ± 15 , respectively) . The statistical analysis showed significant differences between pre-treatment and healing period groups ($P\text{-Value}=0.0003$) . The positive cells for CD4 increased before and during the treatment (60 ± 16.22 and 46.19 ± 18.84 , respectively), without significant differences ($P\text{-Value}=0.01$) between recovery and before treatment, and ($P\text{-Value}=0.056$) between recovery and during treatment. The positive cells for Interleukin-4 decreased compared to before treatment and dropped further during treatment (58 ± 16.09 and 27.5 ± 15 , respectively) . The statistical analysis showed significant differences between pre-treatment and healing period at 0.05. Results demonstrated that immune responses in dry and wet lesions in immune response between types, as no significant difference appeared in the studied cytokines between the two types of lesions, despite that the immune response for the two cytokine (IFN- γ and IL4) was more cleared come those in IFN- γ . it also appeared that there is a significance correlation between

C

IFN- γ and CD20 ($P=0.015$) and ($r=0.360$) confidence period (0.07–0.59), and a high significance positive correlation was found between IL-4 and CD20 ($P<0.001$ and $r=0.688$) confidence period (0.44–0.82).

Ministry of Higher Education
& Scientific Research University Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Biology



A study of histological changes and Cellular Immune Response in Patients with Cutaneous Leishmaniasis in Diyala Province /Iraqi

A thesis

Submitted to the Council of College of Education for Pure Science/Diyala
University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Biology

By

Saba Dawod Salman

Bachelor of Science Life 2012- 2013 / University of Diyala

Supervised by

Dr.Nagham Y. Al-Bayati

Professor

Dr.Thekra AttA Ibrahim

Assis. Prof.

January 2019 A.D

Rabi Al-Thani 1440 A. H