

دراسة مرضية نسجية لتأثير طفيلي *Toxoplasma gondii* على الامعاء الدقيقة والغليظة في اناث الجرذان البيض

اسيل يونس خلف

جامعة تكريت - كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

الخلاصة

استخدمت في هذه الدراسة عشرون من اناث الجرذان البيض حيث قسمت الى مجموعتين المجموعة الاولى مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية هي المجموعة التي تم حقنها بطفيلي المقوسات الكوندبية *Toxoplasma gondii* وجرى حقن 0.5 سم³ من عالق المشيمة في التجويف البريتوني في اليوم السابع من الحمل وجرى فحص الراشح البريتوني للجرذان بعد الحقن للتأكد من اكتساب الجرذان للاصابة بالطفيلي وذلك لمعرفة التأثير المرضي على الاعضاء المصابة مقارنة مع مجموعة السيطرة .

الكلمات المفتاحية:

طفيلي *Toxoplasma gondii* ،
الامعاء الدقيقة ، الغليظة ، اناث
الجرذان البيض .

للمراسلة:

اسيل يونس خلف

البريد الالكتروني:

aseel.yonis@yahoo.com

Histopathological Study for *Toxoplasma gondii* on The Large and Small Intestine of Female White Rats

Aseel Younis Khalaf

College Education of pure Science -Biology department

ABSTRACT

Key words:

Histopathological Study,
Toxoplasma gondii, Female
White Rats.

Correspondence:

Aseel Y. Khalaf

E-mail:

aseel.yonis@yahoo.com

Twenty female rats white were used in this study, which divided in to two groups ,the first group (control) , while the Second group(10) rat were in number the group was infected by *toxoplasma gondii* was injected 0.5 cm³ intraperitonally in pregnant rats at 7 days after gestation . Examination the of rats was have after injection, to show the effected parasite on it in comparson white rats control.

المقدمة Introduction

يعتبر داء المقوسات *Toxoplasmosis* واحد من الامراض المشتركة التي تنتقل بين الحيوان والانسان وان المسبب له نوع من الاوالي الطفيلية يدعى المقوسة الكوندبية *Toxoplasma gondii* (Paniker ,2002) . ويعد من الامراض الواسعة الانتشار عالمياً اذ يعتقد ان ما بين 30-60% من سكان العالم مخمجن به ، وحوالي ثلث سكان العالم قد يملكون اجسام مضادة له مما يعني تعرضهم للخمج في وقت ما من حياتهم (Wiefher et al .,2005) . يحدث الخمج بالطفيل بأطواره الثلاثة : الحويينات السريعة التكاثر *tachyzoite* والحويينات بطيئة التكاثر *bradyzoite* في الانسجة والحويينات البوغية *sporozoite* في اكياس البيض التي تطرحها القطط (Evering and Weiss,2006) .

يتواجد المرض بشكلين اعتماداً على طريقة حدوث الخمج يتمثل الشكل الاول بداء المقوسات السخدي *Placentation toxoplasmosis* الذي يحدث نتيجة انتقال الطفيل من الام الى جنينها عبر السخد . اما الشكل الثاني فينتج من اكتساب الخمج مع الماء والغذاء الملوثين لذلك يدعى بداء المقوسات المكتسب *acquired toxoplasmosis* (Vesco et al .,2007) . يتميز الطفيلي بان دورة حياته قد تكون مباشرة او غير مباشرة وعلى الرغم من ذلك فهو يعد من الطفيليات ثنائية العائل وتتمثل القطط بأنواعها المختلفة العائل النهائي اذ يحدث فيها التكاثر الجنسي واللاجنسي بينما تعتبر جميع الكائنات ذوات الدم الحار العائل الوسيط والتي يتكاثر فيها الطفيلي تكاثراً لا جنسياً فقط (Drisdelle ,2007) .

يكون الخمج بالطفيل من دون اعراض asymptomatic في المضيف ذي الكفاءة المناعية او يكون مصحوب بأعراض شبيهة بالانفلونزا اذ يتمكن النظام المناعي للمضيف من ايقاف تضاعف الطفيل وتكوين الاكياس النسجية في معظم انسجة الجسم والتي تتركز بشكل عال في الجهاز العصبي المركزي Central nerves system وفي العضلات الهيكلية Skeletal muscles والقلبية Cardiac muscles ومن دون ظهور اي اعراض في معظم الحالات (Miller et al,1999). يحتاج الطفيلي الى مضيفين لإكمال دورة حياته المضيف النهائي المتمثل بالعائلة السنورية والمضيف الوسيطي المتمثل بجميع الحيوانات من ذوات الدم الحار والطيور (Dubey , 2003).

تكمن خطورة المرض في مدة الحمل اذ ان داء المقوسات الخلقي ربما يستمر الى عمر اكثر من 10 سنوات بدون اعراض مرضية وقد ترافقه اعراض كالتهاب عضلة القلب وصغر حجم الراس (Montoya ,2004).

بعد العلاج ضروري جدا للنساء الحوامل المخمجات بالمرض لمنع انتقال الخمج الى الجنين ولكن حتى مع استعمال المضادات الحيوية لايمكن القضاء على الطفيل بشكل تام اذ ان الاشكال المتكيسة للطفيل تصبح مقاومة لكل انواع المضادات الحيوية المستخدمة ويمكن للخمج ان يعود ثانية (Brezin ,2000).

المواد وطرق العمل:

الحيوانات المخبرية:

تم استخدام الجرذان بعد الحصول عليها من معمل ادوية سامراء وتم تربيتها في مختبرات كلية التربية- جامعة تكريت وتم التأكد من سلامتها من داء المقوسات باستخدام اختبار اللاتكس Latex test . وكانت تربية الجرذان في اقفاص بلاستيكية وفرشت ارضية الاقفاص بنشارة الخشب وحفظت الاقفاص في مكان توفرت فيه الظروف الملائمة من درجة الحرارة 25 م° والدورة الضوئية 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام وزودت بالماء والعليفة لخاصة التي تتكون من 34 % حنطة و 20 % شعير و 25% ذرة و 10% بروتين حيواني و 10% حليب مجفف و 1% ملح طعام وفيتامينات (Terry et al.,1996) .

تصميم التجربة :

قسمت الحيوانات الى مجموعتين المجموعة الاولى (مجموعة السيطرة) اعطيت الماء المقطر والمجموعة الثانية تم اصابتها بطفيلي المقوسة الكوندية Toxoplasma gondii عن طريق حقن عالق المشيمة بجرعة 0.5 سم³ في التجويف البريتوني وتم فحص الراشح البريتوني للجرذان يوميا ولمدة 7 ايام للتأكد من اكتساب الجرذان للإصابة بالطفيلي .

طريقة عزل الطفيلي من المشيمة :

تم اخذ 35 غم من العينات النسجية (المشيمة) باستخدام مقص حاد ومشروط جراحي معقم . هرسست العينة بواسطة هاون ومدق زجاجي pestel and mortar لغرض مجانسيتها مع اضافة كميات من محلول الملح الفسلجي لكي تتم عملية المجانسة بشكل تام . استخدم محلول انزيم التريسين لغرض الهضم النسيجي المتجانس بحجم 1:1 ، وحضن الخليط عند درجة حرارة 37 م° في حمام مائي هزاز Shacker water bath لمدة ساعة واحدة لغرض اتمام عملية الهضم النسيجي بعدها رشح الخليط من خلال تمريره من عدة طبقات من الشاش الطبي المعقم للتخلص من القطع النسيجية الكبيرة الحجم نبذ الراشح بعدها في جهاز الطرد المركزي centrifuge بسرعة 2000 دورة في الدقيقة لمدة عشر دقائق وكررت العملية عدة مرات بعد سكب المحلول الرائق واستعمل محلول دارى فوسفات الصوديوم phosphate buffer saline لغسل الراسب في كل مرة .

سكب الرائق وعلق الراسب في محلول الملح الفسلجي للتخلص من اثار الانزيم الهاضم ثم نبذ الخليط مرة اخرى وكما في الخطوة السابقة ليعاد تعليق الراسب في 4-5 سم³ من محلول الملح الفسلجي المضاف اليه 1000 وحدة دولية من البنسلين pencillin و100 وحدة دولية من الستربتومايسين streptomycin لتجنب التلوث الجرثومي ولكي يتم التحري عن الطفيلي وتشخيص

اطواره اخذت قطرة اوقطرتين من محلول المعلق النسيجي الذي سبق تحضيره على شريحة زجاجية ليتم صبغها بصبغة كمزا Giemsa stain المحضرة باذابة 3.8 غم من مسحوق الصبغة في 250 سم من الكليسرين في قنينة زجاجية ملونة تحتوي على خرزات زجاجية لمزج المواد جيداً وحضنت الصبغة بدرجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة ثم وضعت ثانية على الهزاز Rotary shaker لمدة ثلاث ساعات وتركت الصبغة في قنينة غامقة لمدة اسبوعين لتصبح جاهزة للاستعمال . رشحت كمية قليلة منها باستخدام ورق الترشيح عند الاستعمال وعند التأكد من وجود الطفيلي حضرت جرعة مقدارها 0.5 سم³ وحقنت في الجرذان الحاضرة عن طريق التجويف البريتوني (BioRad,2000).

المقاطع النسيجية :

اعطيت الحيوانات جرعة كبيرة من الكلوروفورم ثم قتلت الحيوانات وازيلت الامعاء الدقيقة والغليظة بسرعة من الحيوانات واخذت العينات بحجم مناسب للفحص النسيجي ثم ثبتت بالفورمالين المتعادل 10% ثم تمريرها بالكحول الايثيلي وبعدها بالزابلول ثم تطمر بالشمع وثم قطعت بحجم (5مايكروميتر) ولونت بصبغة الهيموتوكسلين والايوسين وصبغة الانيلين الازرق (Jon,1989) وفحصت الشرائح النسيجية بواسطة كامرة رقمية مثبتة على المجهر الضوئي وتم مقارنة الصور المجهرية للامعاء الدقيقة والغليظة من المجموعة الثانية مع مجموعة السيطرة .

النتائج Results

التغيرات النسيجية المرضية :

القولون Colon :

اظهرت النتائج ان معظم مناطق سطح المخاطية ظهر مبطناً بخلايا عمودية ظهارية بسيطة حيث توصل سطح المخاطية مع تجاويف الغدد المخاطية من الصفحة الاساسية حيث امتلئت تجاويف تلك الغدد بغمد خفيف من خلايا الدم البيضاء وانتشرت في باقي الصفحة الاساسية بأعداد محدودة (شكل رقم 1)
الطبقة تحت المخاطية فيها نسيج ضام اورابط مفكك فيه حزم الالياف الغراوية وفيها انتشار اعداد من خلايا الدم البيضاء الالتهابية بين تلك الحزم والاعوية الدموية والشعيرات الدموية في هذه المنطقة ظهرت خالية من اي كريات دم حمراء في تجاويها .
كما بين المقطع ان مخاطية القولون لها سطح مغطى بخلايا بعضها عمودية ظهارية بسيطة واخرى مكعبة مع انسلاخ تلك الخلايا من بعض المناطق في المخاطية (شكل رقم 2) ويميز هذا المقطع وجود اعداد هائلة جداً من الخلايا الكاسية وامتداد تلك الخلايا داخل الغدد المخاطية المعوية في الصفحة الاساسية حيث ان تجاويف تلك الغدد قد امتلأت بتلك الخلايا ومخاطها .
وحول تلك الغدد هناك ارتشاح غمدي لخلايا الدم البيضاء ووجود ارتشاح منتشر بسيط في بقية الصفحة الاساسية كما ان الطبقة تحت المخاطية لها انتشار واضح لخلايا الدم البيضاء كذلك (شكل رقم 3) .
والنسيج الرابط في هذه المنطقة ظهر مفكك والشعيرات الدموية خالية من الدم وفي مناطق محددة تبدو منفصلة عن الطبقة العضلية الدائرية .

الاثنى عشر Duodenum

لوحظ فيه الزغابات في منطقة الطبقة المخاطية Sub Mucosa حيث حصل تلف للعديد من الخلايا الظهارية العمودية البسيطة المبطننة لتلك الزغابات وانسلاخ العديد منها في تجويف الامعاء وامكن ملاحظة وجود اعداد من الخلايا الكاسية goblet cell على سطح الزغابات .

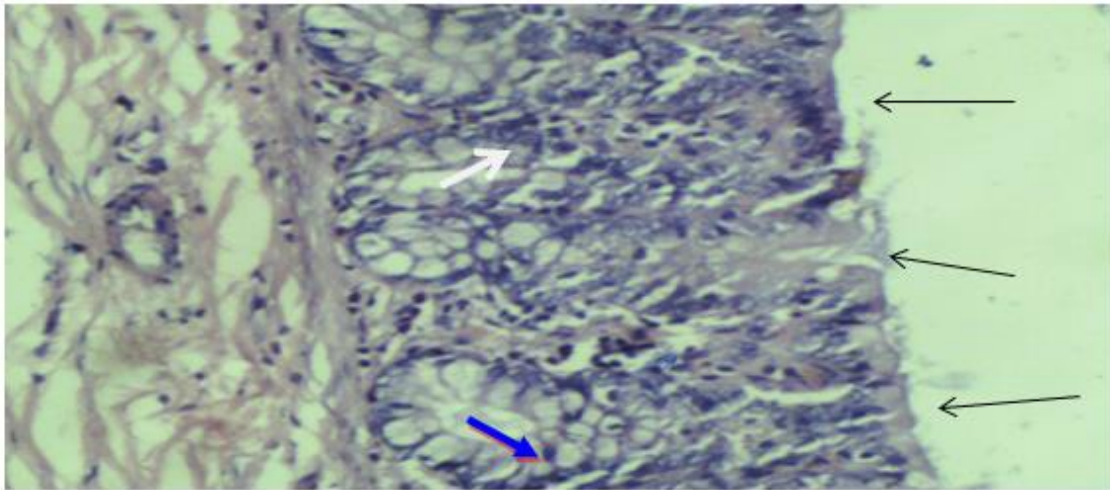
الصفحة الاساسية Lamina propria في لب الزغابات وتحت قواعدها ارتشحت بأعداد هائلة جداً من كريات الدم البيضاء (شكل رقم 4) كما ان الغدد المخاطية في الصفحة الاساسية فيها كتل مخاطية من الخلايا المخاطية المبطننة لتلك الغدد (شكل رقم 5).

الصائم Jejunum :

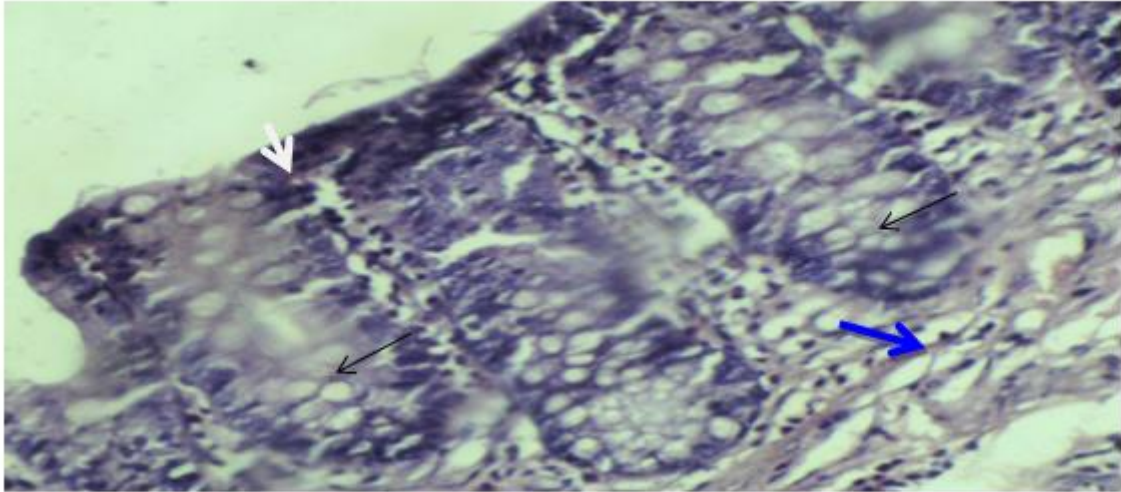
مخاطية الصائم احتوت على زغابات طويلة غيران سطوح تلك الزغابات ظهرت في معظمها منكسرة غير متواصلة بسبب فقدان العديد من الخلايا الظهارية المبطنه لها مع ملاحظة اعداد من الخلايا الكاسية عند اطراف الزغابات (شكل رقم 6) .
النسيج الخلالي للصفحة الاساسية ايضاً احتوت على اعداد كبيرة جداً من خلايا الدم البيضاء (شكل رقم 7)، كما ان الاوعية الدموية في المنطقة تحت المخاطية Sub Mucosa بدت خالية من الدم (شكل رقم 8) .

اللفانفي Ileum :

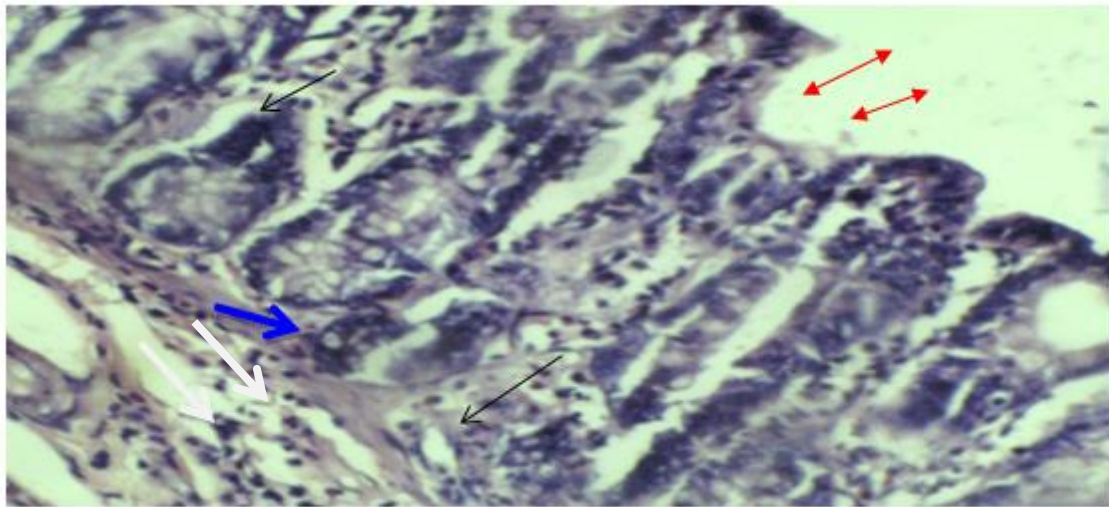
ظهر فيه تمزق معظم الزغابات الدقيقة من على سطح المخاطية وتمزق اعداد من الخلايا الظهارية من على سطح الزغابات وهناك قلة في اعداد الخلايا الكاسية .
الصفحة الاساسية مرتشحة بأعداد هائلة جداً من الخلايا الالتهابية (كريات الدم البيضاء) .
الغدد المخاطية في الصفحة الاساسية ظهرت بشكل مفكك وهناك تنكس Degeneration في اعداد الخلايا المخاطية المبطنه لها كما لوحظ تجمعات لمفية عقدية في الصفحة الاساسية مع انتشار اعداد منها في بقية النسيج الخلالي للصفحة الاساسية (شكل رقم 9).



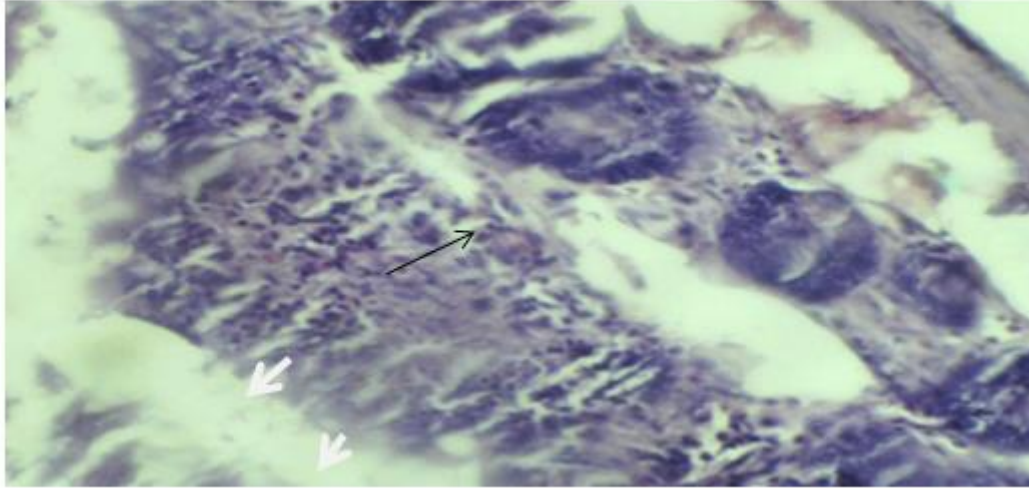
شكل رقم (1) مقطع في الامعاء الغليظة (القولون) يبين انسلاخ وتنكس اعداد من الخلايا الظهارية من على سطح المخاطية (السهم الاسود مع ارتشاح محدود للخلايا الالتهابية في الصفحة الاساسية بين الغدد المخاطية) (السهم الابيض) والغدد المخاطية امتلئت تجاوبها بكتل مخاطية (السهم الازرق) . (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20x) .



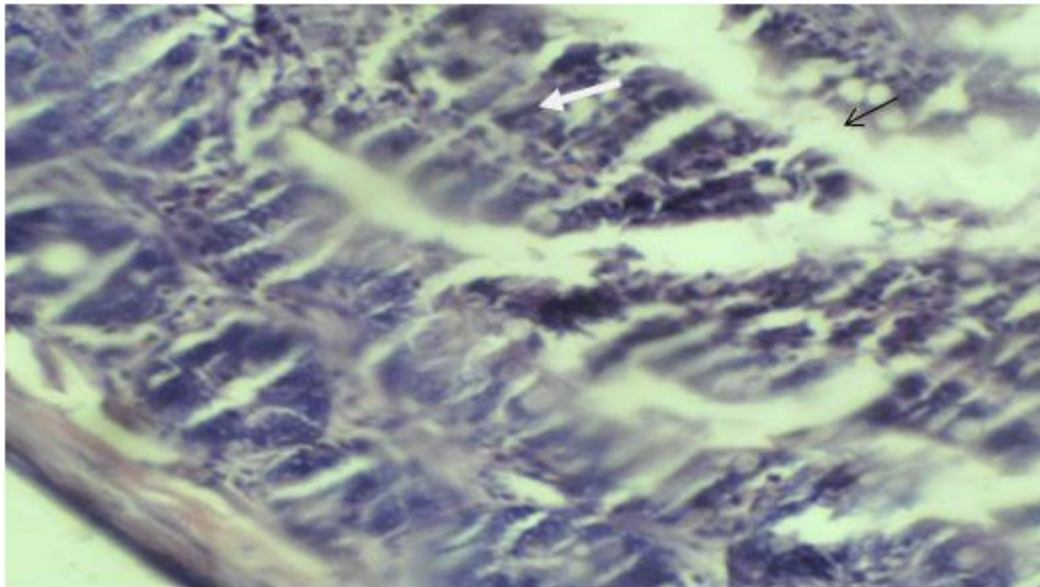
شكل رقم (2) مقطع في القولون يبين امتلاء الغدد المخاطية بكتل المخاط (السهم الاسود) ووجود ارتشاح لخلايا الدم البيضاء بين تلك الغدد في الصفيحة الاساسية (السهم الابيض) وسطح المخاطية وحصول انسلاخ لاعداد من الخلايا الظهارية (السهم الازرق). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين قوة التكبير 20x).



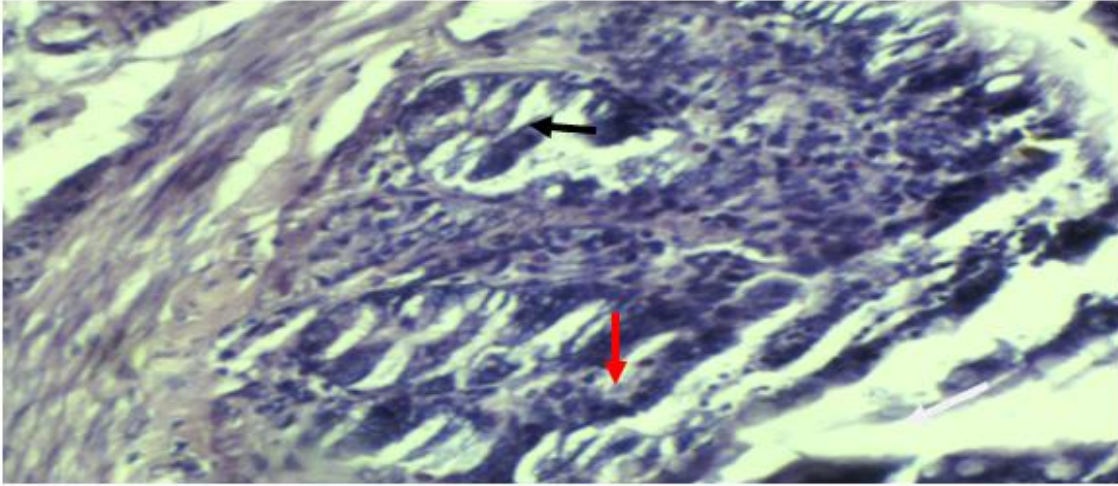
شكل رقم (3) مقطع في القولون يبين ارتشاح خلايا الدم البيضاء الالتهابية في الصفيحة الاساسية بين الغدد المعوية (السهم الاسود) وكذلك تحت الطبقة المخاطية (السهم الابيض) وانسلاخ بعض خلايا الظهارة السطحية (السهم الاحمر). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20X).



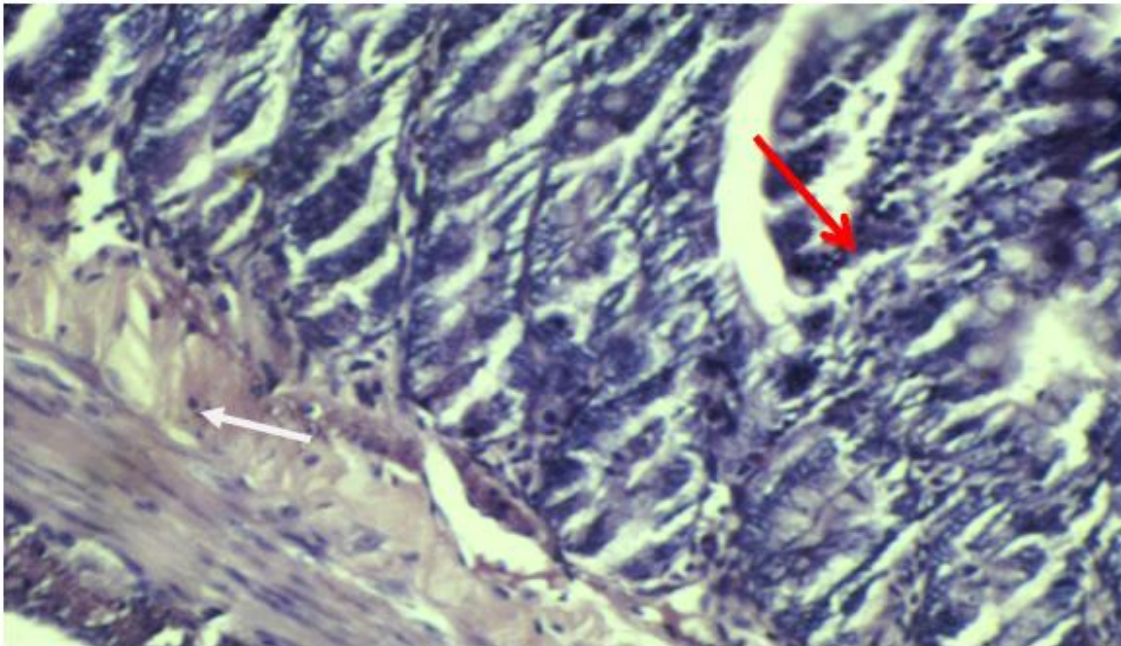
شكل رقم (4) مقطع في الاثني عشر يلاحظ فيه ارتشاح خلايا الدم البيضاء بين الغدد المعوية (السهم الاسود) وانسلاخ العديد من الخلايا الظهارية من على سطح الزغابات (السهم الابيض). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20X) .



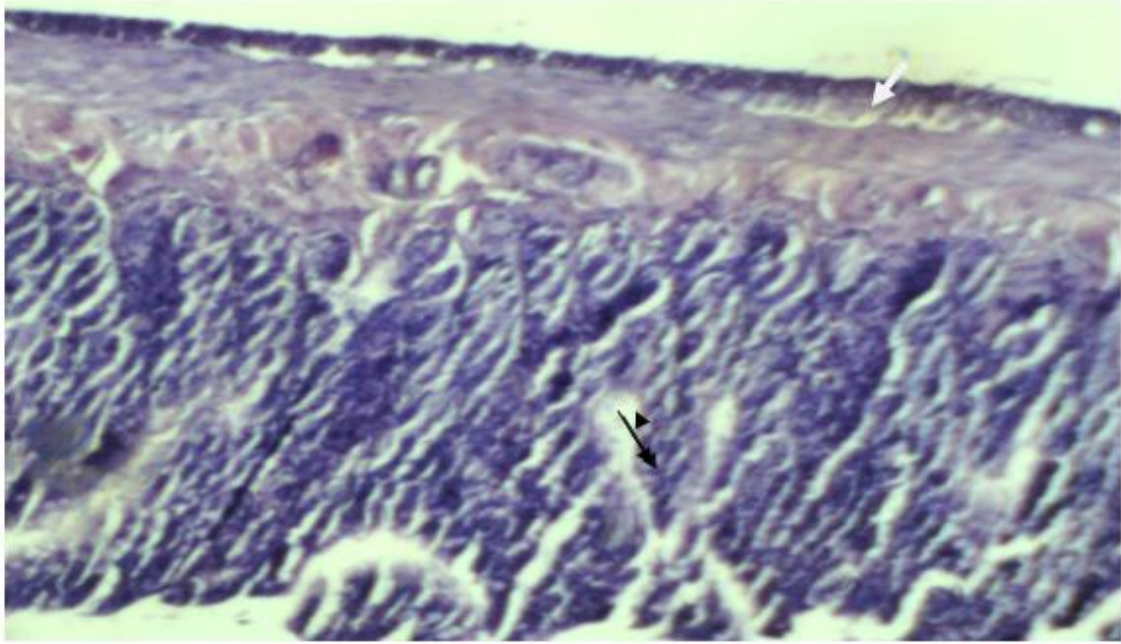
شكل رقم (5) مقطع في الاثني عشر يلاحظ فيه ارتشاح اعداد هائلة من خلايا الدم البيضاء في الصفيحة الاساسية (السهم الاسود) مع تفكك الغدد المخاطية وتنكس خلاياها المبطنة (السهم الابيض). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20X) .



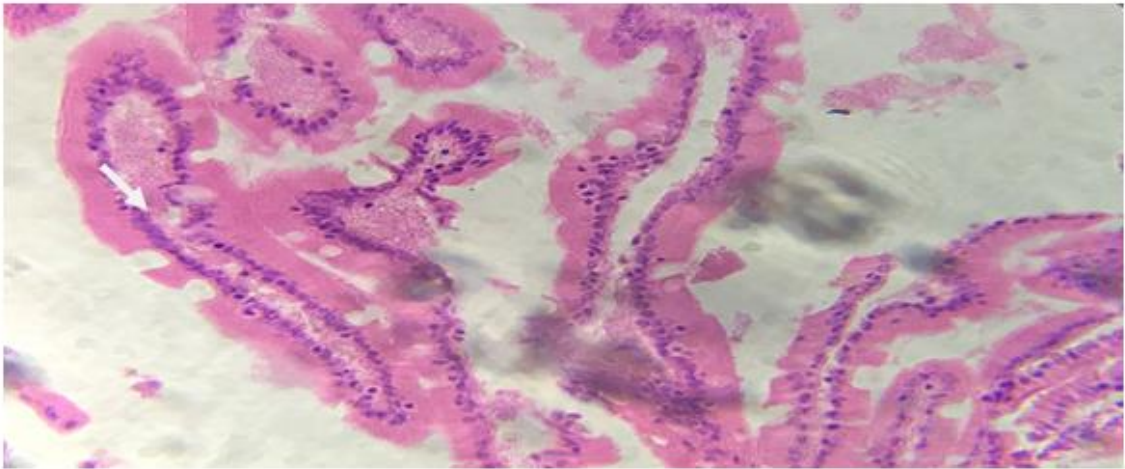
شكل رقم(6) مقطع في الامعاء الدقيقة (الصائم)يبين ارتشاح اعداد هائلة من خلايا الدم البيضاء الالتهابية في الصفيحة الاساسية (السهم الاسود) مع ملاحظة انسلاخ اعداد كبيرة من سطح الظهارة وتواجدها في تجويف الصائم (السهم الابيض) والعديد من الغدد المخاطية فيها تفكك (السهم الاحمر). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين قوة التكبير 20x).



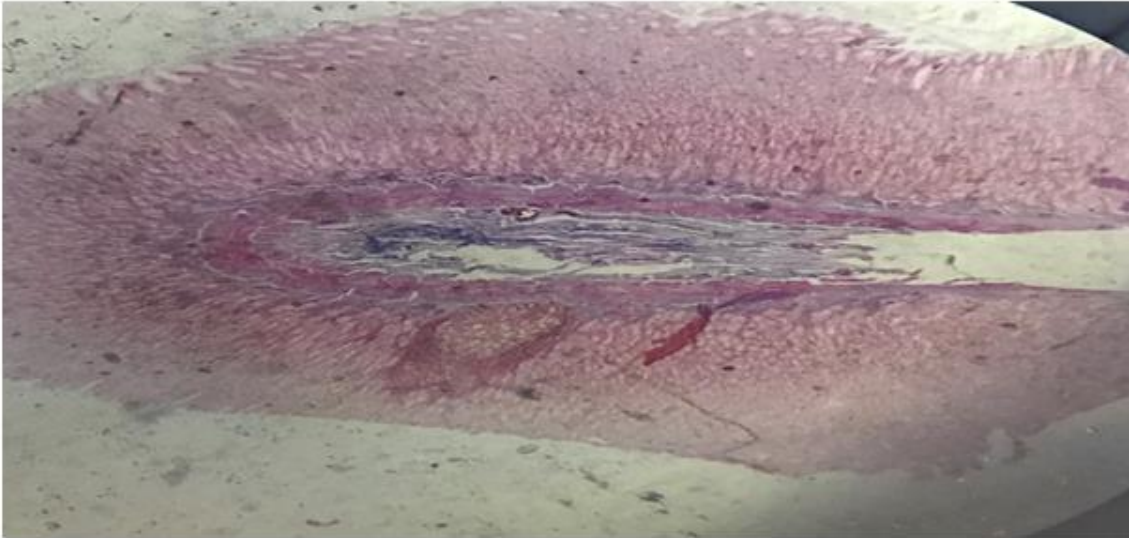
شكل رقم (7) مقطع في الصائم يبين تفكك الغدد المخاطية في الصفيحة الاساسية وتنكس خلاياها المخاطية (السهم الاحمر) مع وجود ارتشاح للخلايا الالتهابية في الطبقة تحت المخاطية (السهم الابيض). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20x).



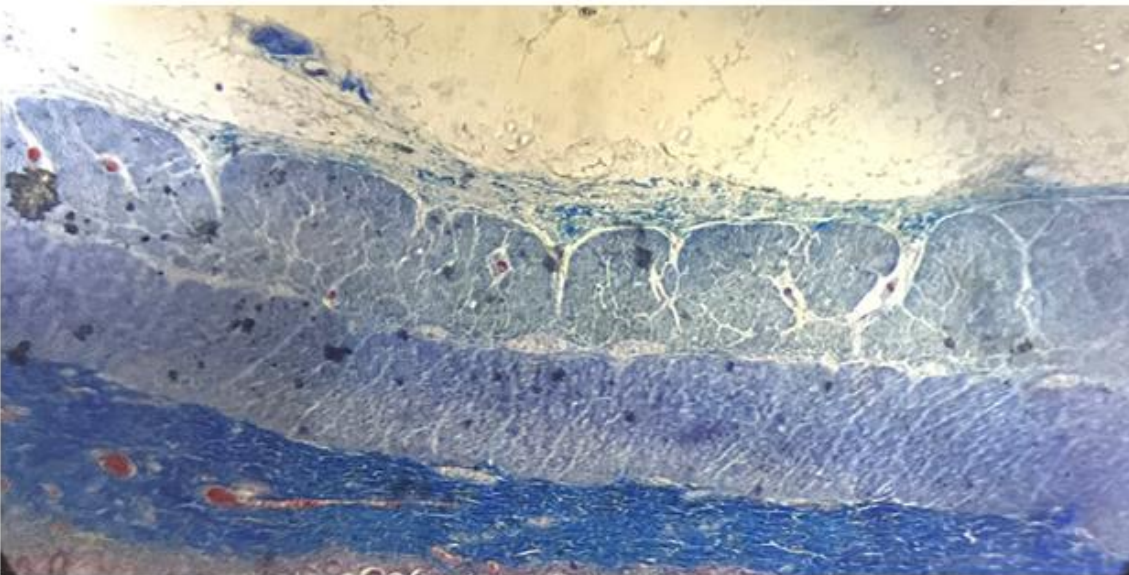
شكل رقم (8) مقطع في الصائم يبين ارتشاح اعداد من خلايا الدم البيضاء الالتهابية في الصفيحة الاساسية بين الغدد المخاطية (السهم الاسود) مع تفكك في الغدد المخاطية وخلاياها كما يلاحظ تنسج خلايا الطبقة المصلية الخارجية (السهم الابيض). (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين وقوة التكبير 20x).



شكل رقم (9) مقطع نسجي في الاثني عشر لمجموعة السيطرة يوضح الزغابات (الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين قوة التكبير 20x)



شكل رقم (10) مقطع نسيجي في الصائم لمجموعة السيطرة يوضح الغدد المعوية (الصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين قوة التكبير 20x)



شكل رقم (11) مقطع نسيجي في قولون مجموعة السيطرة يوضح طيات القولون (صبغة الانيلين الازرق Aniline Blue قوة التكبير 20x)

المناقشة Discussion

استخدام الطفيلي لأحداث الخمج في الجرذان ادى الى تلف نسيجي لبطانة الامعاء الدقيقة والغليظة المتمثلة بالاثني عشر، اللفائفي، الصائم، القولون وهذا بدوره يعطل وجود تلك الآفات اثناء الفحص النسيجي تتطابق هذه النتيجة مع ما ذكره باحثون اخرون من حيث ان الطفيلي يحدث آفات في الكبد والطحال و حدوث تلف للانسجة حيث ان سبب تلف الانسجة يحصل نتيجة تحرر الاطوار الحرة للطفيلي والتي تتجه الى مواقع تفتقر فيها الاجسام المضادة وهذا يؤدي الى ارتشاح الخلايا وتهدم خلايا النسيج (Dubey et al, 2007).

كما ان ارتشاح اعداد هائلة من كريات الدم البيضاء سببه هو التحسس المناعي للجهاز المناعي في الطفيلي حيث ان الاستجابة كانت واضحة من حيث ارتشاح اعداد هائلة من الخلايا بالرغم من ذلك كان حدوث الآفات النسيجية المرضية ايضاً ظاهراً حيث ان ذلك سببه هو الامراضية الشديدة للطفيلي اثناء خمجها للنسيج وهذا يطابق النتيجة التي حصل عليها باحثون

آخرون (James et al., 2007) اذ وجدوا في دراساتهم تغييرات نسيجية في جدران الامعاء لقطط قد اصيبت بداء المقوسات الكوندية وتمثل هذا التغيير بحدوث تلف للنسيج وحدوث تنخن للطبقة العضلية في الامعاء.

ان السبب الرئيسي لتفشي الخمج يعود الى تعدد مصادر الخمج كتناول اللحوم غير المطبوخة بصورة جيدة والتي تحتوي على العديد من الاكياس النسيجية وكذلك زيادة التعامل مع القطط السائبة والتي تعد السبب الرئيسي في احداث الخمج وتناول الفواكه والخضر الملوثة بأكياس البيض .

ان زيادة الخمج في مناطق الريف وهي مناطق رطبة تكثر فيها الاراضي المزروعة والبساتين وبذلك يزداد تماس النساء مع التربة من خلال العمل في المزارع فضلاً على تواجد القطط وتربية الحيوانات في المنازل اذ ان اعتدال المنطقة وزيادة الرطوبة فيها يساعدان على تبوغ اكياس البيض المطروحة مع براز القطط فضلاً على التماس المباشر مع الكثير من الحيوانات الحقلية (Wiffer et.al.2005). فضلاً على التماس المباشر مع الكثير من الحيوانات الحقلية التي قد تكون خمجة مع افتقار تلك المناطق الى الشروط الصحية وان الحليب غير المبستر سبباً اخر لاحداث الخمج بين تلك التجمعات البشرية (Stephen,et al 1996). ان التعامل مع القطط له الاثر الكبير في انتشار داء المقوسات لكونها تعد المضيف النهائي والوسيطي للطفيل اذ انها تحتوي في برازها على الملايين من اكياس البيض Oocysts التي يمكن ان تنتقل بسهولة وتؤدي الى حدوث الخمج (Al-Wattari, 2005).

المصادر References

- Al-Wattari, I.T.A. (2005). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among unmarried women of childbearing age in Mosul. M.Sc. Thesis, College of Medicine, Mosul University ., Pp:38-49.
- Bio Rad (2000). Human Toxoplasmosis :Laboratory Reagents and products paris. France
- Brezin, AP (2000). Ophthalmology neonate with congenital toxoplasmosis in ambriose thomas P. Peterson , E. editorscient. congenital toxoplasmosis Scifntific backround , Clinic & Control ,Parris , Springer-verlag pp165-177.
- Drisdelle, R. (2007). *Toxoplasma gondii* .Gen. art.29:17-19.
- Dubey, J.P. (2003). *Toxoplasma gondii* Vet .Parasitol.,86:235-248.
- Evering, T. and Weiss, L.M. (2006). The immunology of parasite infection in immunocompromised hosts parasite immunology ,28, No.11, P:549-565.
- James, G.S., Sintchenko, V.G., Dlickeson, D.J. and Glibert ,G.L. (1996). Comparision of cell culture , mouse inoculation and PCR for detection of *Toxoplasma gondii* :effect of storage condition on sensitivity . J. Clinical Microbiology .34(6):1572-1575.
- Jon, D. and Alan , S. Theory and Practice of histological Techniques. Second edition .Chichill Livinstone, 1989;(606-608).
- Miller, C.M.D.; Smith, N.C. and Johnson, A.M. (1999). Cytokines, nitric oxide, heat shock proteins and e Montoya , J.G., O. (2004). Toxoplasmosis. Lancet. Vol. 363, p:1965-1976.
- Paniker, C.K.J. (2002). Textbook of Medical parasitology .5th ed . jaypee brothers. New Delhi, India, 6:89-96.
- Stephen ,c., Haines ,D., Bollinger, T. and Schwantje, H. (1996). Serological evidence of *Toxoplasma gondii* infection in Cugarson Island .Can Vet .J.,37(4):241.
- Terry, K., Stedman, D., Bolon ,B. and Welsch, F. (1996). Effect of 2methoxy-yethanol on mouse neurulation. Tertology.54:219-298.
- Vesco, Buffolano, W., La- Chiusa, S., Mancuso, G., Caracappa, S. Chianca, A. (2007). *Toxoplasma gondii* infection in sheep in Sicily southern Italy. Vet. Par.146(1):3-8.
- Wieffer Marnix , Gobbels, Marc-Jan ,and Boris striepen (2005). Molecular and Biochemical parasitology .Center for Tropical and Emerging Global diseases, University of Georgia ,724 Biological Sciences building ,Athens, GA30602, USA, 137.(1):99-110 .