

تغيرات صيغة خلايا الدم البيض وأشكالها أثناء الإصابة وبعد الشفاء من داء الليشمانيا الجلدية عند الإنسان (دراسة مقارنة)

د. محمد خضر مرة *

د. حسن محمد سلمان **

ندى ياسين ديب ***

(تاريخ الإيداع 10 / 3 / 2016. قبل للنشر في 20 / 11 / 2016)

□ ملخص □

أجريت الدراسة الحالية على عينات دم تعود لـ 15 مريضاً (12 ذكور، 3 إناث) ممن شخصت إصابتهم بالليشمانيا الجلدية و ثبت شفاؤهم منها بعد الخضوع للعلاج الموضعي. وأجريت اختبارات الدراسة على مرحلتين: الأولى بعد الخمج، والثانية بعد شهرين على الأقل من الشفاء. وخضع كل مريض في كلا المرحلتين للاختبارات الآتية: التعداد الكلي والعد التمييزي لخلايا الدم البيض، وقياس قيمة الهيماتوكريت. إضافة لذلك، تم إجراء دراسة للتغيرات المورفولوجية لخلايا الدم البيض للمصابين. أظهرت نتائج المرحلة الأولى ارتفاعاً معنوياً في متوسط تعداد اللمفاويات والحمضات ($P < 0.05$) ترافق مع انخفاض معنوي (ذو دلالة إحصائية) في متوسط التعداد الكلي لخلايا الدم البيض ونسبة العدلات ($P < 0.01$) ومتوسط قيمة الهيماتوكريت ($P < 0.01$) مقارنة مع القيم الطبيعية. أما في المرحلة الثانية فقد بينت النتائج عودة نسبة خلايا الدم البيض إلى قيمها الطبيعية حيث لوحظ انخفاض معنوي في تعداد الحمضات ($P < 0.05$) وانخفاض غير معنوي في تعداد اللمفاويات ($P > 0.05$)، وكذلك ارتفاع غير معنوي في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض ($P > 0.05$). كما أظهرت المقارنة بين نتائج المرحلتين الأولى والثانية فروقاً معنوية في التعداد الكلي وتعداد الحمضات، بينما لم تكن هذه الفروق معنوية بالنسبة للعدلات، واللمفاويات، والوحيدات ($P > 0.05$). أما بالنسبة للدراسة المورفولوجية الخلوية فلم تظهر النتائج أي اختلاف جوهري بين خلايا الدم البيض لدى الأشخاص المصابين وغير المصابين بالليشمانيا الجلدية.

الكلمات المفتاحية: الليشمانيا الجلدية، خلايا الدم البيض، الهيماتوكريت، الحمضات.

* أستاذ - قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة تشرين - سورية.

** أستاذ - قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة تشرين - سورية.

*** طالبة ماجستير - قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة تشرين - سورية.

Formula And Morphological Changes of White Blood Cells in Human during infection and after healing from Cutaneous Leishmaniasis(comparative study)

Dr. Mohammad Morra*

Dr. Hasan Salman**

Nada Deeb***

(Received 10 / 3 / 2016. Accepted 20 / 11 /2016)

□ ABSTRACT □

The present study was performed on blood samples belong to 15 patients(12 males,3 females) infected with cutaneous leishmaniasis, and their healing was also proved after submitting local treatment. Study tests were performed on 2 stages, the first after infection, and the second two months at least after healing. Every patient was subject of the following tests: total, and differential white blood cells count and hematocrit value. In addition ,a study of the morphological changes of white blood cells was conducted.

The results of the first stage have showed a significant increasing in lymphocytes and eosinophils mean percent($P<0.05$) accompanied with significant decreasing in total white blood cell count, neutrophils mean percent($P<0.01$), and mean hematocrit value ($P<0.01$) in comparing with the normal values. In the second stage of study, the results have demonstrated a reconversion of white blood cells mean percent into their normal levels,whereas a significant decreasing in eosinophils mean percent ($P<0.05$), and no significant decreasing in lymphocytes mean percent ($P>0.05$), and also no significant increasing in total blood cell count($P>0.05$).

Comparison between the results of the two stages have showed a significant difference in total white blood cell count, and eosinophils count, while these differences were not significant for neutrophils ,lymphocytes , and monocytes($P>0.05$)..

Concerning the cell morphological study, the data have not showed any noticeable differences between white blood cells of infected and uninfected human with cutaneous leishmaniasis .

Key words: white blood cells, hematocrit, lymphocytes, eosinophil's.

* Professor in Department of Animal Biology- Faculty of Sciences -Tishreen University-Syria.

** Professor in Department of Animal Biology-faculty of Sciences -Tishreen university-Syria.

*** Master Student in Department of Animal Biology-faculty of Sciences - Tishreen University-Syria.

مقدمة:

يُعد طفيلي الليشمانيا *Leishmania* من الحيوانات الأولية الطفيلية *Parasitic Protozoa* ينتمي إلى السوطيات الدموية *Haemoflagella* إجبارية التطفل (Sharma *et al.*; 2009; Aoun, 2014) ويسبب ثلاث مظاهر مرضية هي: الليشمانيا الجلدية *Cutaneous Lishmaniasis* والليشمانيا الجلدية المخاطية *Mucocutaneous Leishmaniasis*، والليشمانيا الحشوية *Visceral Leishmaniasis* (سلمان 1999 Matte 1999, And Olivier 2002). تنتشر هذه الأمراض في أكثر من 88 دولة من قارات العالم الخمس، وبخاصة المناطق المدارية وشبه المدارية، وكذلك دول حوض البحر الأبيض المتوسط ومنها سوريا (WHO 2007، سلمان 2001)، حيث يقدر عدد الإصابات سنوياً بحوالي 1.5 مليون إصابة بالليشمانيا الجلدية، ونصف مليون إصابة بالليشمانيا الحشوية (Awasthi *et al.*, 2004; Queiroz *et al.*; 2004) وتُعد الليشمانيا الجلدية الأوسع انتشاراً في سوريا، وهناك ما يفوق الـ 20 نوعاً من الطفيلي تنتقل إلى العائل المضيف بوساطة أكثر من ثلاثين نوعاً من الذبابة الفاصدة للوريد الأنتي *Phlebotomus* (Chappuis *et al.* 2007)، التي تتميز بلونها المصفر وحجمها الصغير، وتواجدها في الأماكن الرطبة والمظلمة، ونشاطها الليلي (Sharma *et al.*, 2008; Reithinger *et al.*, 2007).

لقد بات من المعروف أن الأخماج الطفيلية عموماً، والخمج بطفيلي الليشمانيا خصوصاً تسبب تغيرات في نسب خلايا الدم البيض في موضع الإصابة خلال فترة الخمج (Matte *et al.*, 2002; Issabeagloo ., 2011)، وتختلف هذه التغيرات تبعاً لعوامل متنوعة، منها نوع الطفيلي الخماج وفوعته، ومكان ونوع الخمج، ونوع الثوي ومقاومته المناعية (Awasthi *et al.*, 2004; Olivier 2005).

لقد أظهرت العديد من الدراسات والبحوث العلمية التي اهتمت بالتغيرات التي تطرأ على أعداد خلايا الدم البيض في الأخماج الجلدية الموضعية (Behm *et al.*, 2000; Kemp, 2000) أن الطفيلي يحرض توافد العدلات والحمضات إلى موضع الخمج خلال المرحلة الأولى منه، يلي ذلك تنشيط البالعات الكبيرة وازدياد في عدد اللمفاويات (Anderson *et al.*, 2007; Vergel *et al.*, 2006; Arabi *et al.*, 2002). وبالرغم من اهتمام العديد من الدراسات الأخرى بتحديد أنماط السيتوكينات *Cytokines* المتحررة والمراقبة لكل نمط من أنماط الاستجابة المناعية (Lambertz 2012., Bomfim *et al.* 1996., Passwell 1985) وبالآليات التي تمكن الطفيلي من النجاة من التخرّب والقتل ضمن الخلايا البالعة للثوي (Olivier *et al.*, 2005; Reed *et al.*, 1999) إلا أنها لم تول اهتماماً للتغيرات التي يمكن أن تحدث في صيغة خلايا الدم البيض المحيطي المرافقة للاستجابة المناعية التي تشير إلى احتمال الإصابة بهذا النوع من الطفيلي أو ذاك.

أظهرت نتائج دراسة سابقة على الإنسان (ديب وآخرون 2015) انخفاضاً معنوياً في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض وفي نسب العدلات وقيم الهيماتوكريت $P < 0.05$. كما بينت ذات الدراسة ارتفاعاً معنوياً لنسب كل من الحمضات واللمفاويات $P < 0.05$ خلال الخمج بالليشمانيا الجلدية، لذلك هدفت الدراسة الحالية إلى استقصاء ومتابعة التغيرات في صيغة خلايا الدم البيض في الدم المحيطي بعد الشفاء الظاهري من المرض بفترة زمنية تتراوح ما بين 2-3 أشهر. إضافة لذلك، تم تقصي التغيرات الشكلية الخلوية التي يمكن أن تطرأ على خلايا الدم البيض عند الأشخاص المصابين بالخمج .

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث الحالي من كونه يبرز التغيرات في صيغة خلايا الدم البيض قبل العلاج من الخمج بالليشمانيا الجلدية ويقارنها مع التغيرات ذاتها بعد العلاج. ولذا فقد هدفت الدراسة الحالية إلى الآتي:

تجاسة نسب الأنواع المختلفة لخلايا الدم البيض في عينات دم المرضى، وذلك خلال مرحلتين: الأولى بعد الإصابة (قبل العلاج) والثانية بعد الشفاء ومقارنة نسب الأنواع المختلفة للخلايا البيض لكل مرحلة مع القيم الطبيعية المعروفة عالمياً (THEML *et al.*, 2004).

مقارنة نسب خلايا الدم البيض بين المرحلتين المذكورتين وأهميتها احصائياً.

تجاسة تغيرات قيم الهيماتوكريت لدى المصابين بين المرحلتين، ومدى اختلافها عن القيم الطبيعية المعروفة عالمياً.

تقصي تأثير الخمج بالليشمانيا على التغيرات المورفولوجية التي يمكن ان تطرأ على خلايا الدم البيض في الدم المحيطي.

طرائق البحث و مواده:

شمل البحث (15) شخصاً من المراجعين لمركز الليشمانيا في مدينة اللاذقية ممن ثبتت إصابتهم بالليشمانيا الجلدية، وفقاً للطريقة الآتية:

- 1- أخذت مسحة جلدية من منطقة الإصابة وثبتت بالميتانول، ثم لونت بملون جيمزا Gimsa، وفحصت تحت المجهر باستعمال العدسة الغاطسة للتأكد من وجود الطفيلي.
- خضع المرضى بعد انتهاء فترة علاجهم بشهرين أو أكثر إلى اختبار جلدي موضعي أظهر شفاءهم.
- تم الحصول على عينات من الدم المحيطي أثناء الخمج بالليشمانيا و بعد الشفاء منه.
- 2- سُحبت بعد ذلك من كل مريض ثبتت إصابته عينتان من الدم مقدار كل منها 2.5 مم³ جمعت في أنابيب مضاف إليها 100 ميكروليتر من مانع التخثر EDTA.
- تم إجراء تحليل لعينات الدم المحيطي بإتباع الخطوات الآتية:
- 1- أجري قياس هيماتوكريت الدم حيث تم تنقيط الدم في الأنابيب الشعرية الخاصة بالهيماتوكريت لمدة خمس دقائق بسرعة (3000) دورة /دقيقة.
- 2- حُضرت خلايا الدم باستخدام محلول حمض الخل الممدد 2%، تلاه إجراء عد يدوي إجمالي باستخدام شريحة

نيوباور لعد خلايا الدم البيض (Estridge *et al* 2000).

- 3- حُضرت لكل مريض مسحة دموية رقيقة ثبتت بالميتانول لمدة دقيقتين ثم لونت بملون رايت لمدة خمس دقائق ثم جففت وأجري العد التفريقي لأنواع خلايا الدم البيض تحت العدسة الغاطسة بتكرارية مناسبة لكل مسحة وأُعتد متوسط العد (Estridge *et al* 2000).
- 5- تم إجراء الدراسة المورفولوجية وتقصي التغيرات السيتوبلاسمية لخلايا الدم البيض على مسحات الدم التي استخدمت للعد التفريقي والتقطت الصور باستخدام كاميرا من نوع Olympus مثبتة على المجهر.

4- أجريت الدراسة الإحصائية باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS، الإصدار 19 (Version 19 SPSS).

النتائج والمناقشة:

1 - تغيرات صيغة خلايا الدم البيض

تم إجراء الاختبارات الإحصائية الآتية وهي:

- 1 - اختبار ستودنت للمقارنة بين متوسطات متغيرات الدراسة قبل العلاج والقيم المعيارية الثابتة، تلاه إجراء الاختبار ذاته للمقارنة بين متوسطات متغيرات الدراسة والقيم الطبيعية أيضاً.
 - 2 - اختبار ستودنت للمقارنة بين متوسطات معايير الدراسة قبل العلاج و بعد الشفاء.
- (يُشار إلى أن القيم الأقل من 0,05 هي التي اعتمدت هامة احصائياً).
- و كانت نتائج الدراسة الإحصائية كالآتي :

الجدول (1): يبين نتيجة اختبار ستودنت One Sample T Test قبل العلاج بالمقارنة مع القيم المعيارية الثابتة.

*P<0.05, ** P<0.01		هيماتوكريت	التعداد الكلي	لمفاويات	عدلات	حمضات	وحيدات
القيمة العياري		45%	7000	35%	57%	3%	4%
قبل بدء العلاج	Mean± Std	36.47±10.5	5300±1750	46.00±10.9	44.93±11.25	4.60±2.16	3.86±2.261
One Sample T-Test	Sig	0.007 **	0.002 **	0.002 **	0.001 **	0.013 *	0.846

الجدول (2): يبين نتيجة اختبار ستودنت One Sample T Test بعد العلاج بالمقارنة مع القيم المعيارية الثابتة.

* = P<0.05, ** = P<0.0		هيماتوكريت	التعداد الكلي	لمفاويات	عدلات	حمضات	وحيدات
القيمة العياري		42%	7000	35%	57%	3%	4%
بعد الشفاء	Mean± Std	39.95±4.5	6600±1500	41.60±10.32	52.53±11.51	2.3±1.49	3.13±1.6
One Sample T-Test	Sig	0.001 **	0.296	0.027 *	0.155	0.319	0.66

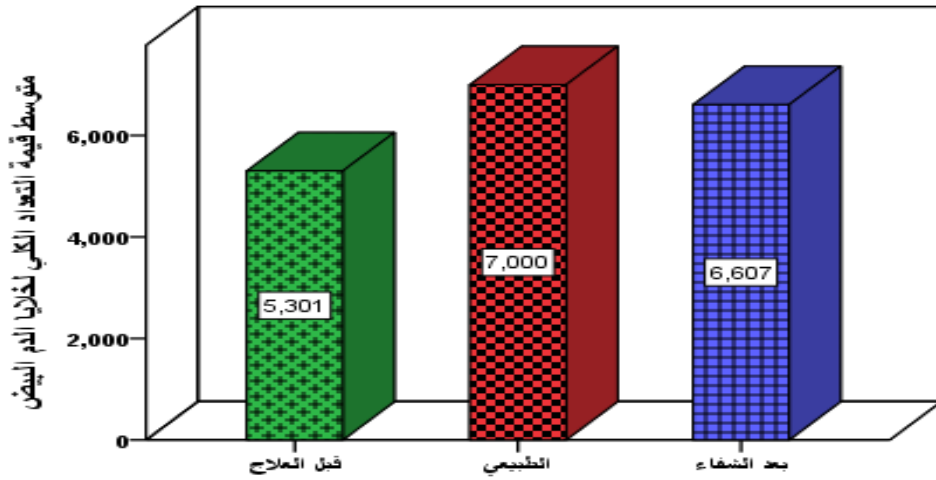
الجدول (3): يبين نتيجة اختبار ستودنت للعينات المرتبطة Paired Sample T-Test

لاختبار الدلالة الإحصائية لمتوسطات الفروق بين معايير الدراسة لدى المرضى قبل الخضوع للعلاج (1) وبعد الشفاء (2)

المتغير	هيماتوكريت 1 / 2	كلي 1 / كلي 2	لمفاويات 1 / لمفاويات 2	عدلات 1 / عدلات 2	حمضات 1 / حمضات 2	وحيدات 1 / وحيدات 2	أسسات 1 / أسسات 2
مؤشر الاختبار T	-1.019-	-2.337-	1.325	-2.250-	3.407	1.511	-0.939-
P-Value	0.326	.035*	.206	0.041 *	.004 **	.153	.364

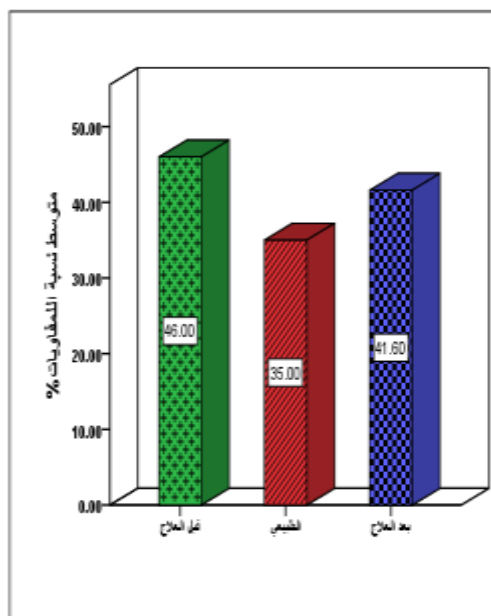
**= P< 0.01

بينت نتائج الاختبارات السابقة انخفاضاً معنوياً في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض قبل العلاج وزوال هذا الانخفاض بعد العلاج (بعد الشفاء)، حيث أظهرت المقارنة فرقاً معنوياً بين متوسط التعداد الكلي للمرحلتين (الجدول 3)، وهذا يظهر تأثيراً للشفاء من الخمج على التعداد الكلي لخلايا الدم البيض، مع العلم أن دراسات سابقة بينت أن أملاح الأنتيمون الخماسية المستخدمة في علاج داء الليشمانيا تسبب انخفاضاً في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض يترافق مع ارتفاع في نسبة الخلايا للمفاوية بالمقارنة مع العدلات (Mapar *et al.*, 2010)، ويتفق أيضاً مع نتائج دراسات سابقة أظهرت انخفاضاً معنوياً في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض عند المخموجين الذين لم يتلقوا العلاج بعد (ديب وآخرون 2015)، وكذلك مع دراسة (Dwivedi *et al.*; 2014) التي أوضحت انخفاضاً في متوسط التعداد الكلي للخلايا البيض عند بعض المصابين بالليشمانيا الجلدية، الشكل (1).

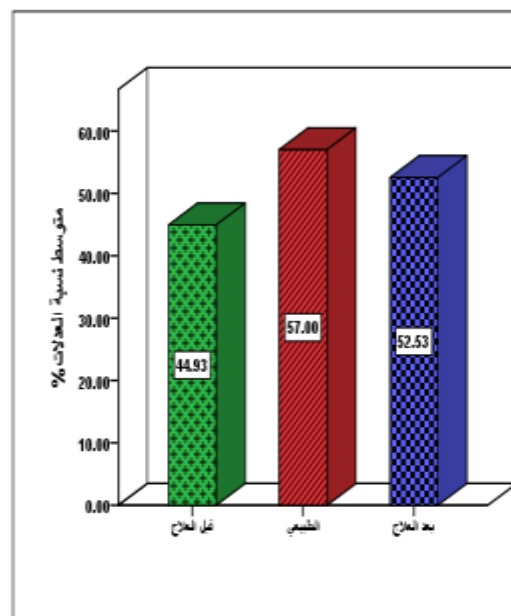


الشكل (1): التعداد الكلي لخلايا الدم البيض قبل العلاج وبعد الشفاء مقارنة مع المتوسط الطبيعي.

تظهر الدراسة الحالية أيضاً انخفاضاً معنوياً في نسبة العدلات بعد الخمج بالليشمانيا الجلدية متوافقاً مع نتائج (ديب وآخرون 2015) (الجدول 1)، ويتوافق كذلك مع نتائج دراسات سابقة بينت انخفاضاً معنوياً في تعداد العدلات بتأثير الخمج بالليشمانيا الحشوية (اسماعيل، 2004، 2004، Queiroz *et al.*, 2004, Rai *et al.*, 2008). إلا أن النتائج بينت عودة العدلات إلى قيمها الطبيعية بعد الشفاء، حيث لم نجد فروقاً معنوية في قيم العدلات بعد الشفاء مقارنة مع القيم الطبيعية ويتوافق ذلك مع نتائج (MIAH, 2012)، الجدول (2) الشكل (2).



الشكل(3): متوسط نسبة اللمفاويات



الشكل(2): متوسط نسبة العدلات

إضافة لذلك، أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعاً معنوياً في متوسط تعداد الخلايا اللمفاوية بعد الإصابة بما يتوافق مع نتائج العديد من الدراسات الأخرى (ديب وآخرون Passwell *et al* 1985, Miah *et al* 2015 (2012.، كما بينت دراسة أخرى (Darabi *et al.*, 2002) ازدياداً في عدد الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة لدى المصابين بداء الليشمانيا الجلدية المعالجة بالغلوكانتييم أو غير المعالجة، ولا بد من التنويه أنه بالرغم من الارتفاع المعنوي لنسب الخلايا اللمفاوية فقد لوحظ تفاوت واضح في هذه النسب عند بعض الأشخاص موضوع الدراسة حيث لوحظ ارتفاع أكثر أهمية عند بعض المرضى (بنسبة 33.4% من عدد المرضى، الجدول 5).

الجدول رقم 5 :			
تعداد العدلات واللمفاويات عند المجموعة الثانية من المرضى بعد الشفاء:		تعداد العدلات واللمفاويات عند المجموعة الأولى من المرضى قبل الشفاء:	
العدد/العمر	5 مرضى (20-33 عام)	العدد/العمر	10 مرضى (14-42 عام)
النسبة	(33.4%)	النسبة	(66.6%)
الجنس	ذكور	الجنس	3 إناث / 7 ذكور
متوسط نسبة العدلات	38.60±4.77	متوسط نسبة العدلات	59±5.87
متوسط نسبة اللمفاويات	53.80±5.40	متوسط نسبة اللمفاويات	35.5±5.38

كما يظهر الجدول أعلاه، فقد توزعت عينات المرضى بعد الشفاء في مجموعتين، سجل لدى المجموعة الأولى ارتفاع في متوسط تعداد العدلات وانخفاض في متوسط تعداد الخلايا اللمفاوية، بينما كانت الخلايا اللمفاوية هي السائدة في المجموعة الثانية بعد الشفاء.

تشير الدراسات في هذا الخصوص إلى أن عدد الخلايا اللمفاوية يبقى مرتفعاً بعد العلاج عند الأفراد الذين يبدون شفاءً ظاهرياً بحيث تغلب لديهم المجموعة الخلوية TH₂، أما الأشخاص الذين تغلب لديهم المجموعة الخلوية TH₁ فيشفون شفاءً تاماً (Reithinger *et al.*, 2007; Uzonna *et al.*, 2012) وقد بينت دراسة (Bomfim *et*

1996, al.,) أن السيتوكينات المتحررة في حال الإصابة بداء الليشمانيات الجلدية تختلف تبعاً للاستجابة المناعية التي يسببها العلاج المستخدم.

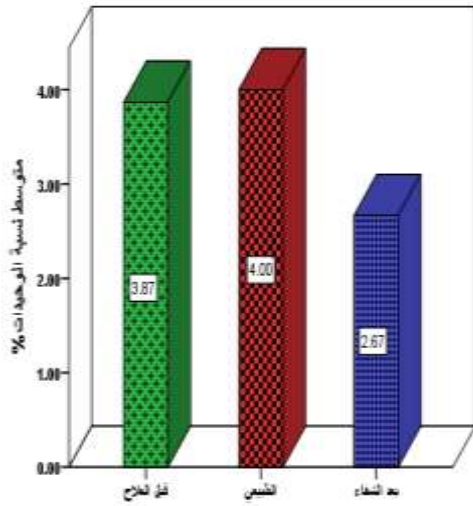
وبحسب النتائج الموضحة في عدد من الدراسات فإن الخلايا التائية تؤدي دور السيادة في المناعة تجاه

طفيلي الليشمانيات حيث تقوم هذه الخلايا بدور هام في توليد خلايا الذاكرة التائية المنظمة ويزداد عدد الخلايا المتخصصة بقتل الطفيلي في حال الإصابة (Franklin et al., 1982; Reed et al., 1990; Farah et al., 1976).

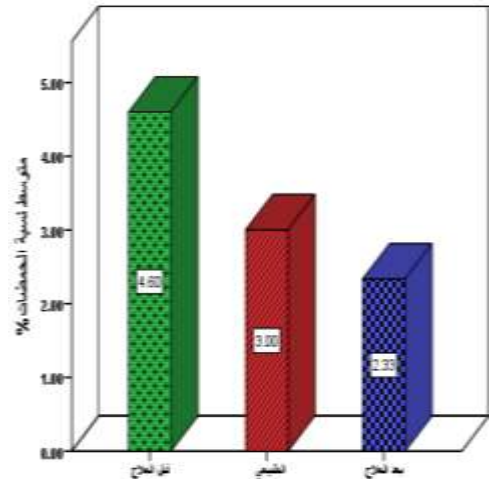
أما بالنسبة للحمضات، فقد بينت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً في تعدادها قبل البدء بالعلاج (الجدول 1)، ويتوافق ذلك مع نتائج دراسات أخرى أظهرت أيضاً ارتفاعاً في نسبة الحمضات نتيجة للإصابة بأخماج جلدية موضعية (ديب و آخرون 2014;2015 Rodriguez And Wilson) تلاه انخفاض غير معنوي في نسبتها مقارنة مع القيم الطبيعية بعد الشفاء، في حين أظهرت دراسة (Das., et al 2005) استمرار الارتفاع في نسبة الحمضات عند المرضى الذين لم يستجيبوا للعلاج من الليشمانيات الحشوية، (الشكل 4 والجدول 2).

أما بالنسبة للوحيدات فلم تُظهر نتائج اختبار ستودنت أية تغيرات معنوية في متوسط تعداد الوحيدات قبل العلاج، كما لم يُظهر الاختبار فروقاً معنوية لمتوسط نسبة الوحيدات بعد الشفاء مقارنة مع قيمها قبل العلاج ($P>0.05$) (الشكل 5). وعلى العكس من ذلك فقد أظهرت دراسة (Netto et al., 2006) ازدياداً في تعداد

الخلايا الوحيدة CD_{16}^{+} مرتبطاً مع الأعراض السريرية للخمج بالليشمانيات الجلدية، حيث كان الارتفاع في تعدادها معنوياً ومرتباً مع زيادة حجم الندبة الجلدية. كما تبين في دراسة أخرى (Keles et al., 2005) أن المواد المؤكسدة الناتجة عن الاستجابة المناعية تجاه طفيليات الليشمانيات الغازية تُحدث لدى المخموجين تخرّب جزئي في دنا DNA الخلايا وحيدة النواة المحيطة peripheral mononuclear cells مقارنة مع الأفراد الطبيعيين.



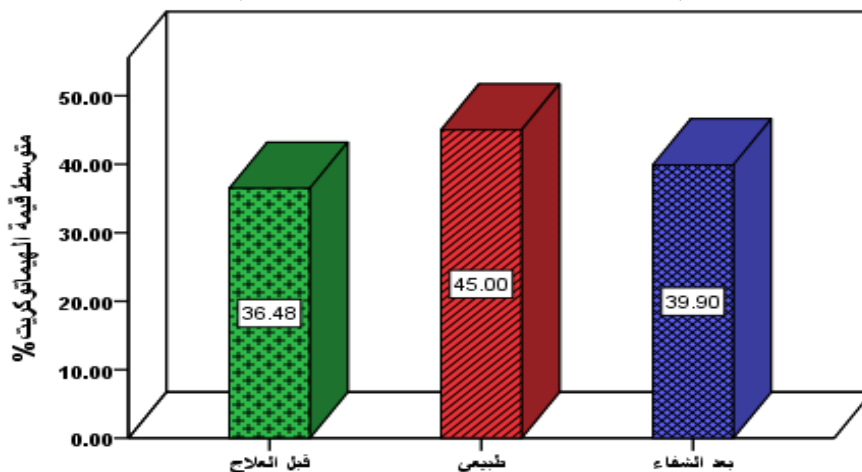
الشكل(5): متوسط النسبة المئوية للوحيدات



الشكل(4): متوسط النسبة المئوية للحمضات

إضافة لذلك، بينت نتائج اختبار ستودنت انخفاضاً معنوياً في قيمة الهيماتوكريت قبل العلاج مقارنة مع المتوسط الطبيعي، ويتوافق ذلك مع نتائج دراسة ديب وآخرون 2015، والتي أظهرت انخفاضاً معنوياً في قيم الهيماتوكريت بعد الإصابة بالليشمانيات وقد استمر هذا الانخفاض أيضاً بعد الشفاء ($p<0.01$) (الشكل 6) ويمكن أن

يعزى ذلك إلى التأثيرات الجانبية للمعالجة بأملاح الأنتيمون الخماسية (Glucantime) وتأثير الإصابة بالليشمانيا (Miah 2012., Das.,2005) في حين سجلت دراسات أخرى انخفاضاً في تعداد خلايا الدم الحمر و قيمة خضاب الدم بتأثير الخمج بالليشمانيا الحشوية (اسماعيل 2008, 2004., Queiroz et al).



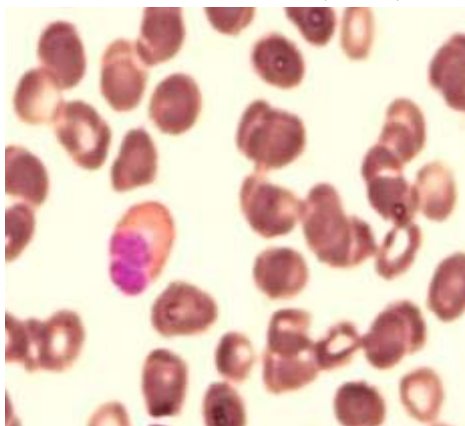
الشكل (6): متوسط قيم الهيماتوكريت

2-التغيرات الشكلية لخلايا الدم البيض بعد الخمج بالليشمانيا الجلدية :

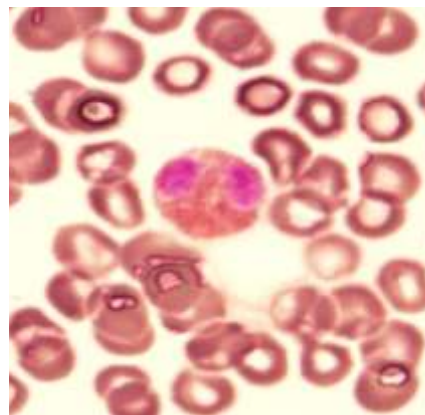
يهدف دراسة التغيرات الشكلية المحتملة لخلايا الدم البيض أثناء الخمج بالليشمانيا، فقد اهتمت الدراسة الحالية بملاحظة ومتابعة عدد من العوامل ذات الصلة بالتغيرات الشكلية لخلايا الدم البيض وبخاصة شكل النواة، والتغيرات في شكل الغشاء الخلوي، والتغيرات السيتوبلاسمية في شكل وتوزيع الحبيبات في خلايا الدم البيض المحببة Granulocytes، جسيمات دوהל Dohal Bodies التي تظهر في سيتوبلازما العدلات Neutrophils في حالات الأخماج الجرثومية والحروق وحالات التسمم (Theml et al;2004)، وكذلك التغيرات المحتملة في سيتوبلازما الخلايا اللمفاوية، وقد أجريت الدراسة على مسحات دموية معالجة كما ورد في طرائق البحث.

2-1- الحمضات Eosinophils: ظهرت النواة مكونة من جزأين كبيرين متصلين بخيط كروماتيني،

واشتملت السيتوبلازما الخلوية على عدد كبير من الحبيبات الصغيرة الملونة باللون الوردية والتي بدت أقرب إلى الحبيبات الطبيعية، بحيث أننا لم نلاحظ أي تغيرات مورفولوجية مقارنة مع الحمضات الطبيعية الموصوفة في المراجع العالمية (Behm et al;2000, Theml et al; 2004) الشكلين (7 و 8).



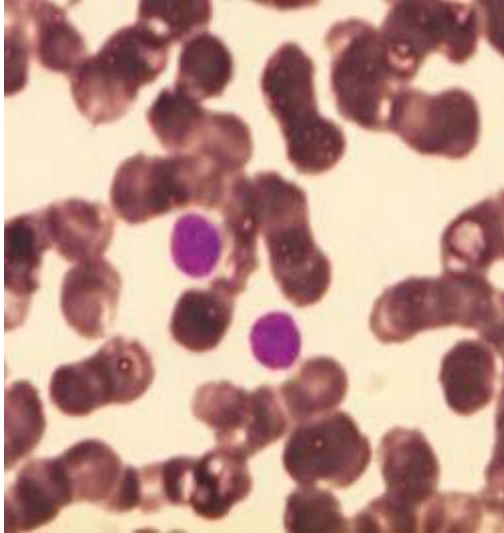
الشكل (8) حمضات شخص مصاب



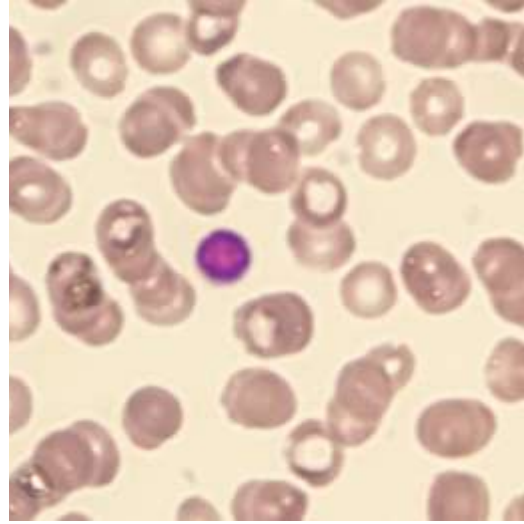
الشكل (7) حمضات شخص سليم

2-2- اللمفاويات Lymphocytes: أوضحت نتائج الدراسة أن الخلايا اللمفاوية الصغيرة طبيعية حيث تشغل

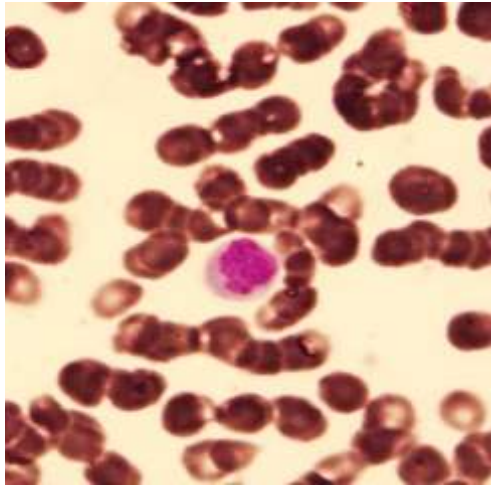
النواة الحيز الأكبر من السيتوبلازما الخلوية، ولونها طبيعي ولم يشاهد أي شكل شاذ لأنوية اللمفاويات في جميع عينات الدراسة، كما لم يلحظ في الغشاء الخلوي أية انتشاءات أو امتدادات أو أرجل كاذبة Irregular Pseudopods كما بدت اللمفاويات الكبيرة طبيعية من حيث اللون وشكل وحجم النواة، وشفافية السيتوبلازما الخلوية في جميع عينات الدراسة. (الأشكال 9-12).



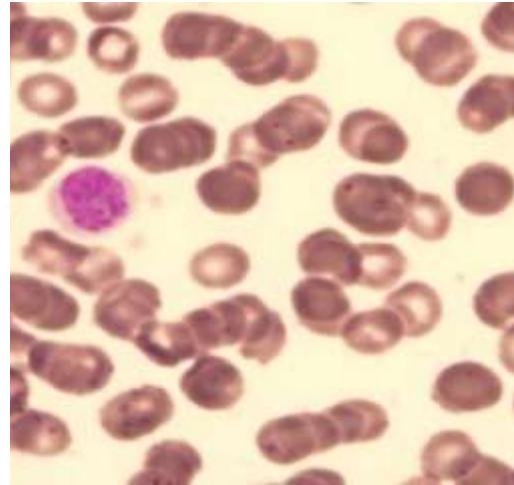
الشكل (10) لملفاويات صغيرة عند مصاب



الشكل (9) لملفاويات صغيرة عند شخص سليم



الشكل (12) لملفاويات كبيرة عند شخص مصاب

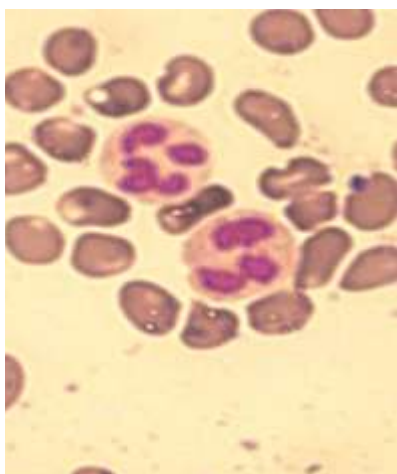


الشكل (11) لملفاويات كبيرة عند شخص سليم

2-3- العدلات Neutrophils: لم تبين نتائج الدراسة أية تغيرات غير طبيعية في شكل النواة وعدد الفصوص

المكونة لها إذ تراوح العدد ما بين 3-5 فصوص في العدلات الناضجة polymorphonuclears دون أي تقطع Segmentation في أجزاء النواة والذي يظهر في حالات مرضية مثل نقص الحديد وفقر الدم ضخم الأرومات Megaloblastic والاختماج المزمنة Chronic Infection (THEML et al;2000) كما بدت الحبيبات السيتوبلازمية طبيعية من حيث التوزيع والحجم والتلون، ولم يُلاحظ أية فجوات شفافة في السيتوبلازما الخلوية. وظهرت

العدلات غير الناضجة Band Neutrophils التي لا تزيد نسبتها عن 2% طبيعية ونواتها تشبه نعل الفرس أو حرف U (الأشكال 13-14).



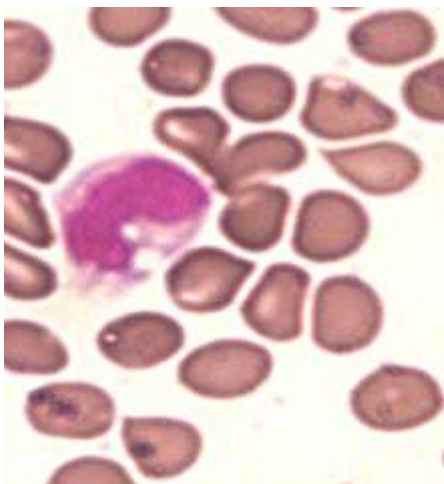
الشكل (14): عدلات شخص مصاب



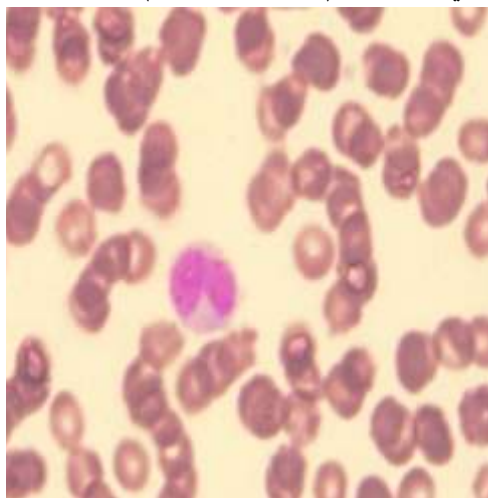
الشكل (13): عدلات شخص سليم

4-2- الوحيدات: Monocytes

بدأت الوحيدات طبيعية من حيث حجم وشكل الأنوية والأغشية السيتوبلاسمية، وقد لوحظ في عينات الدراسة وجود وحيدات مُفعلة أو نشطة حيث احتوت السيتوبلازما على فجوات صغيرة شفافة تعكس الدور النشط لهذه الخلايا في بلعمة طفيلي اللشمانيا. (الشكلين 15 و 16).



الشكل (16): خلية وحيدة مفعلة عند شخص مصاب
تظهر في السيتوبلازما عدة فجوات هاضمة



الشكل (15): خلية وحيدة طبيعية عند شخص سليم

الاستنتاجات و التوصيات:

1. يترافق الشفاء من الخمج بالليشمانيا الجلدية مع عودة نسب الخلايا البيض إلى قيمها الطبيعية عند بعض المرضى وبقاء نسبة اللمفاويات مرتفعة عند بعضهم الآخر، لذا يوصى بتنميط اللمفاويات البائية والتائية بعد الشفاء من الخمج.

2. لا يزول الانخفاض في قيمة الهيماتوكريت خلال الفترة الزمنية الأولى بعد الشفاء من الخمج بالليشمانيا الجلدية، لذا يوصى بإجراء دراسة معمقة للأسباب المحتملة لهذا لانخفاض وزمن ديمومته.
3. لا يسبب الخمج بالليشمانيا الجلدية تغيرات شكلية جوهرية في خلايا الدم البيض.

المراجع:

- 1 -اسماعيل، محمد. وبائيات داء الليشمانيا الجلدي في سوريا. مجلة التشخيص المخبري سوريا، المجلد 3، العدد 4، 2004.
- 2 -اسماعيل، محمد؛ الكفري، عبير. مستوى مرتفع لانتشار داء الليشمانيات الحشوي لدى سكان سورية باختبار هلام *ID-PaGIA Leishmaniasis*: دراسة أولية. مجلة التشخيص المخبري سوريا، المجلد 4، العدد 10، 2008.
- 3 تيب، ندى؛ مرة، محمد؛ سلمان، حسن. تأثير الخمج بطفيلي الليشمانيا في بعض معايير الدم عند الأشخاص المصابين بداء الليشمانيا الجلدية في سوريا مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية. سوريا، المجلد 37، العدد 5، 2015.
- 4 سلمان، حسن. مرض اللشمانيا الجلدية في محافظة طرطوس-سورية (1997). مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية. سوريا، المجلد 21، العدد 8، 1999، 119-136.
- 5 -سلمان، حسن. مرض الليشمانيا الجلدية في محافظة اللاذقية - الجمهورية العربية السورية - لعام 1997، أبحاث اليرموك سلسلة العلوم الأساسية والهندسية، الأردن، المجلد 10، العدد 1، 2001، 9-14.

المراجع الأجنبية:

1. AWASTHI, A; MATHUR, K; SAHA, B. *Immune response to Leishmania infection*. Indian J Med Res. India, Vol.119, 2004, 238-258.
2. AOUN,K; BOURATBINE, A. *Cutaneous Leishmaniasis in North Africa: Parasite*,EDP Sciences, Tunisia, Vol 21, 2014.1-9.
3. ADERSON,C; OUKKA,M; KHUSHROO,V; SACKS,D. *CD4+CD25-Foxp3-Th1 cells are the source of IL-10-mediated immune suppression in chronic cutaneous leishmaniasis*, The Journal of Experimental Medicine. USA, Vol. 204, No. 2 ,2007, 285-297.
4. BOMFIM, G; NASCIMENTO ,C; COSTA ,J; CARVALHO ,E; NETTO M ; BARRAL,A. *Variation of Cytokine Patterns Related to Therapeutic Response in Diffuse Cutaneous Leishmaniasis*, experimental parasitology, Brazil, Vol 84, 1996,188-194.
5. BEHM, C; OVINGTON, K. *The Role of Eosinophils in Parasitic Helminthes Infections: Insights from Genetically Modified Mice*. Parasitology Today Australia ,Vol. 16,NO. 5, 2000,202-207.
6. CHAPPUIS, F; SUNDAR, S; HAILU, A; GHALIB, H;RIJAL ,S;PEELING, R;ALVAR, J; BOELAERT, M. *Visceral Leishmaniasis: What Are The Needs For Diagnosis, Treatment And Control?.*, nature reviews microbiology, Switzerland, Vol. 5, 2007, 873-883.
7. DARABI, H; ABOLHASSANI ,M; KARIMINIA A, LIMOHAMMADIAN, M. *Expansion of $\gamma\delta$ T Cells in Patients Infected with Cutaneous Leishmaniasis With and*

Without Glucantime Therapy The Brazilian Journal of Infectious Diseases. Iran.,6(5), 2002,258-262.

8. DA SILVA SANTOS,C; BRODSKYN,C. *The Role Of CD4 And CD8 T Cell In Human Cutaneous Leishmaniasis*, Frontiers in Public Health Infectious Diseases, Brazil, Vol.2, 2014,1- 4.

9. DAS ,V; RANJAN ,A; BIMAL, S; SIDDIQUE ,N; PANDEY, K; KUMAR, N; VERMA, N; SINGH, V; SINHA, K; BHATTACHARYA, S. *Magnitude of unresponsiveness to sodium stibogluconate in the treatment of visceral leishmaniasis in Bihar*. The National Medical Journal Of India Vol. 18, N^o. 3, 2005.

10. DWIVEDI,G; GARG ,D; GUPTA ,A; PATNIA. *Cytodiagnosis of cutaneous leishmaniasis- a case report*. Asian Pacific Journal Of Health Sciences, 1(4S) 2014,20-22 .

11. ESTRIDGE ,B; RENOLDS, A; WALTERS,N. *Basic Medical Laboratory Techniques*. 4 Edition. USA, 2000.

12. FARAH, F; LAZARY, S; WECK, A. *The Effect of Leishmania Tropica on Stimulation of Lymphocytes With Phytohaemaglutinine*. Immunology Switzerland, ,Vol. 30, 1976, 629-634

13. ISSABEAGLOO, E; KERMANIZADEH, P; AHMADPOOR, F; TAGHIZADIEH, M. *Eosinophil and Mast Cells in Leishmaniasis*. Annals of Biological Research. Iran ,Vol. 2, No.6, 2011,36-41 .

14. KEMP K .*Cytokine-Producing T Cell Subsets in Human Leishmaniasis* Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, Vol48, 2000, 173–176. Denmark.

15. KELES ,H ;SELEK S;GUZEL, H; CELIK, H;EREL, O. *Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis*, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, Vol.585, 2005, 71–78.

16. LAMBERTZ U, SILVERMAN, J, NANDAN D, MCMASTER W, CLOS J, FOSTERREINER L *Secreted virulence factors and immune evasion in visceral leishmaniasis*, Journal of Leukocyte Biology, Germany, Vol .91, 2012, 887-900.

17. MATTE, C; OLIVIER, M. *Leishmania -Induced Cellular Recruitment during the Early Inflammatory Response: Modulation of Proinflammatory Mediators*. The journal of infectious disease , Canada, Vol.185, 2002,673-681.

18. MAPAR ,M; OMIDIAN, M. *Intralesional Injections Of Metronidazole Versus Meglumine Antimoniate For The Treatment Of Cutaneous Leishmaniasis*. Jundishapur Journal of Microbiology, IRAN, , Vol3.No2, 2010,79-83.

19. MIAH, A; SALAM, A; HAQUE, A;AZAD,A; HAQUE ,E; ISLAM, Q; EKRAM S. *Evaluation of Adverse Effects of Sodium Stibogluconate in the Treatment of Visceral Leishmaniasis*, Kyamc Journal, India. Vol. 3, No. 1, 2012, 239-243.

20. NETTO, M; WEYNBERGH,J. *CD16 monocytes in human cutaneous leishmaniasis: increased ex vivo levels and correlation with clinical data..* Journal of Leukocyte Biology Brazil Vol 79, 2006.

21. OLIVIER, M; GREGORY, D; FORGET G. *Subversion Mechanisms by Which Leishmania Parasites Can Escape the Host Immune Response: a Signaling Point of View*. Clinical Microbiology, Vol.18.No2. 2005,293–305.

22. PASSWELL,J; SHOR, R; KEREN, G; EL-ON, J. *Human Monocytes Infected with Leishmania Amastigotes Enhance Lymphocyte Proliferation*. Clin. Exp. Immunol. Vol. 60,1985, 565-571

23. PETERSON E; FRANKLIN ,A; NEVA, F; OSTER,C; DIAZ, H. *Specific Inhibition of Lymphocyte-Proliferation Responses by Adherent Suppressor Cells in Diffuse Cutaneous Leishmaniasis*. N .Engl. J. Med, USA,Vol.306, 1982, 387-392.

24. QUEIROZ, M; ALVES,J; Correia ,J. Visceral Leishmaniasis: *Clinical And Epidemiological Features Of Children In An Endemic Area*. Journal de Pediatric Brazil, Vol. 80, No.2, 2004,141-146.
25. REED,S; CARVALHO,E; SHERBERT,C; SAMPALO, D; RUSSO, D; BACELAR,O;PIHL,D;SCOTT,J; BARRAL,A; GRABSTEIN,K; JOHNSON,W. *In Vitro Responses to Leishmania Antigens By Lymphocytes From Patients With Leishmaniasis Or Chagas Disease*. the American society for clinical investigation USA,Vol.85,1990, 690-696
26. RAI, M; MUHAMMAD Z; SARWAR, J; QURESHI, A. *Haematological Finding in Relations to Clinical Findings of Visceral Leishmaniasis in Hazara Division*. Ayub. Med. Coll ,Pakistan, Vol.20, No.3, 2008, 40-44.
27. REITHINGER,R; DUJARDIN,J; LOUZIR,H; PIRMES,C; ALEXANDER,B; BROOKER,S. *Cutaneous Leishmaniasis*. The lancet infectious diseases. USA, Vol. 7, 2007, 581-596.
28. SHARMA, U; SINGH,S. *Insect Victor of Leishmania :Distribution ,physiology. And Their Control*. J Vector Borne Dis .India, Vol.45, 2008 ,255-272
29. SHARMA, U; SINGH, S. *Immunobiology Of Leishmaniasis*. Indian Journal Experimental Biology India,Vol.47, 2009, 412-423.
30. THEML, H; DIEM, H; HAFERLACH, T; *Color Atlas of hematology*. Thieme Verlag Rüdigerstraße 14, Germany, 2004.
31. UZONNA, J; LIU ,D. *The Early Interaction of Leishmania with Macrophages and Dendritic Cells and Its Influence on The Host Immune Response*. Front. Cell. Inf. Microbio, Canada, Vol.10,2012.
32. VERGEL,C; PALACIOS, R; CADENA,H; POSSO,C; VALDERRAMA,L; PEREZ,M; WALKER,J, TRAVI;B, SARAVIA;N. *Evidence For Leishmania [Vienna]Parasite In The Skin And Blood Of Patient before and after Treatment*. Journal of Infectious Diseases, Colombia,Vol.194, 2006, 503-511.
33. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Consultative Meeting of Cutaneous Leishmaniasis*. Geneva. 2007.