

دور الليكتين الرابط للمانوز عند أطفال سوريين مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد

الدكتورة جمانة الصالح*

نسرين غانم**

(تاريخ الإيداع 23 / 3 / 2015. قُبل للنشر في 21 / 5 / 2015)

□ ملخص □

تسبب المعالجة الكيميائية غالباً نقص عدلات وزيادة الحساسية للعدوى . معدل الوفيات mortality والمرضاة morbidity بسبب العدوى تبقى مشاكل مهمة لدى الأطفال المصابين بالسرطان. المستويات المصلية المنخفضة من الليكتين الرابط للمانوز (Mannose-binding lectin MBL) ممكن أن تمثل عامل خطورة للعدوى عند الأطفال المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد والمعالجين كيميائياً. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد فيما إذا كان نقص الليكتين الرابط للمانوز (MBL) مترافقاً مع زيادة خطورة العدوى لدى الأطفال المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد والمعالجين كيميائياً. تمت الدراسة بين عامي 2013 و 2014 في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق وشملت 37 طفلاً مشاركاً مصاباً بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد قبل البدء بالمعالجة الكيميائية، حيث تم تحديد العدوى من أضاير المرضى، وتم قياس مستويات الليكتين الرابط للمانوز (MBL) المصلية بطريقة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA). فكانت النتيجة أن وُجِدَت مستويات MBL المصلية أعلى عند المرضى الذين لم يتطور عندهم عدوى لاحقاً مقارنة بالمرضى الذين تطور عندهم عدوى، كما وُجِدَ أن جميع المرضى الذين لديهم نقص في مستويات MBL المصلية تطور لديهم عدوى لاحقاً على خلاف المرضى الذين لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية.

الكلمات المفتاحية: ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد، الليكتين الرابط للمانوز ، عدوى.

* أستاذ مساعد - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - نائب العميد للشؤون الإدارية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية.
** طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الأحياء الدقيقة والدمويات والمناعيات - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية.

The role of Mannose-binding lectin in Syrian children with acute lymphoblastic leukemia

Dr. Jumana Saleh*
Nesreen Ghanem**

(Received 23 / 3 / 2015. Accepted 21 / 5 / 2015)

□ ABSTRACT □

Chemotherapy causes neutropenia and increase susceptibility to infections. Morbidity and mortality due to infections remain serious problem in children with cancer. Decreased serum levels of Mannose-binding lectin (MBL) may represent a risk factor for infections in children with acute lymphoblastic leukemia receiving chemotherapy.

The aim of this study was to determine whether low MBL levels is associated with increased risk of infections in Syrian children with acute lymphoblastic leukemia.

The study has been done at Children University Hospital in Damascus between 2013-2014. This study included 37 children diagnosed with acute lymphoblastic leukemia (ALL) who were candidates for chemotherapy, and the infections were identified depending on patients files. The levels of Mannose-Binding Lectin (MBL) was determined by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

The result was that MBL serum levels are higher in patients who did not develop infections compared to patients who developed infections, and all patients with low MBL levels developed infections in contrast to patients with normal MBL serum levels.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia, Mannose-binding lectin, infections.

*Assistant professor, Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy-Damascus University , Syria

**Postgraduate student , Microbiology , Hematology and Immunology, Damascus University , Faculty of pharmacy, Damascus University , Syria

مقدمة :

الليكتين الرابط للمانوز (MBL) Mannose-binding lectin ، المعروف بالبروتين الرابط للمانان (MBP) mannan-binding protein ، ينتمي إلى عائلة من البروتينات تدعى الكوليكتينات والتي تتكون من ميدان كولايجيني وميدان لكتيني (ميدان التعرف على السكريات carbohydrate-recognition domain). الكوليكتينات متضمنة في تفعيل جملة المتممة عبر سبيل الليكتين (1,2). MBL هو بروتين يرتبط بشكل نوعي بالسكريات ، هذا الارتباط ينتج عنه حل مباشر متواسط بالمتممة وطهاية للمكروبات متبوع ببلعمة بالعدلات (3).

MBL يخلق أولاً في الكبد ، على الرغم من أنه غالباً يدور كبروتين مصلي . MBL يرتبط بالسكريات بحضور الكالسيوم من خلال النهاية الكربوكسيلية لميدان تعرف السكريات (CRD). هذا الميدان قادر على تشكيل روابط مع المجموعات الهيدروكسيلية على لجائن نوعية specific ligands تتضمن المانوز ، N-أسيتيل غلوكوز أمين ، N-أسيتيل مانوز أمين ، فوكوز والغلوكوز. هذه السكريات توجد في المكروبات المرضية مثل الجراثيم، الفطور ، الطفيليات والفيروسات. السكريات الموجودة في البروتينات السكرية للتديبات مثل D-غالكتوز ، حمض سياليك ليس لديها أي ألفة للارتباط مع MBL. وهكذا فإن MBL قادر على الارتباط بالمكروبات أو المواد غير المرغوبة ويبندئ تفعيل سبيل اللكتين ، ولكنه يتجنب التعرف على الذات (4,5).

خلال السنوات الماضية توسعت الدراسات حول دور MBL لدى مرضى السرطان لتحديد إذا كان نقص MBL مترافقاً مع زيادة خطورة العدوى (6).risk of infections

إن عوامل الخطورة المعروفة عند مرضى السرطان : العمر، نوع الورم ، النكس ، تعداد العدلات ولكن القليل جدا معروف عن دور المكونات الذوابة للمناعة الخلقية في كبت أو تعزيز السرطان (7,8) سبيل اللكتين من جملة المتممة هو جزء هام من المناعة الخلقية Innate Immunity.متضمن في الطهاية والحل (9).

أهمية البحث وأهدافه :

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد فيما إذا كان عوز MBL يمثل عامل خطورة لحدوث العدوى المرافقة للعلاج الكيميائي .

طرائق البحث ومواده :

تمت المصادقة على البحث من قبل لجنة أخلاقيات البحث العلمي في جامعة دمشق. مجموعة الدراسة: تشمل دراستنا 37 مشاركاً، جميعهم أطفال مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) وذلك استناداً إلى نتيجة مقياس التدفق الخلوي (Flowcytometry)، تتراوح أعمارهم بين 1 و 14 سنة، بمتوسط حسابي 5.5 وانحراف معياري 2.5.

تم جمع العينات عند التشخيص بالإصابة بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL)، وقبل خضوعهم للمعالجة الكيميائية، وذلك من شعبة أمراض الدم في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق، حيث جُمعَ 5 مل من الدم الوريدي من

كل مريض، وتم فصل المصل بالتثبيت وبسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق، ثم حفظ المصل في درجة حرارة - 80°C حتى إجراء المعايرة.

تحديد العدوى:

تم تحديد العدوى بالرجوع لأضابير المرضى، حيث تم حسابها لمدة 6 أشهر.

مقايمة مستويات MBL المصلية: جرت مقايمة MBL بطريقة المقايمة المناعية المرتبطة بالإنزيم Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) بعنيدة لشركة SunRed الصينية، وتم إجراء المعايرة حسب تعليمات الشركة المصنعة.

التحليل الإحصائي:

أجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية SSPS (version 21, IBM SSPS). تم التعبير عن مستويات MBL المصلية باستخدام المتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري، كما تم تطبيق اختبار Chi-Square للمقارنة بين تركيز مستويات MBL المصلية مع العدوى. تم تطبيق اختبار Mann-Whitney U للمقارنة بين المتوسطات ولمعرفة إذا كان الفرق بين المجموعات جوهرياً أو ناتجاً عن الصدفة، كما اعتمدت القيمة $P < 0.05$ كونها تدل على قيمة إحصائية يُعتدّ بها.

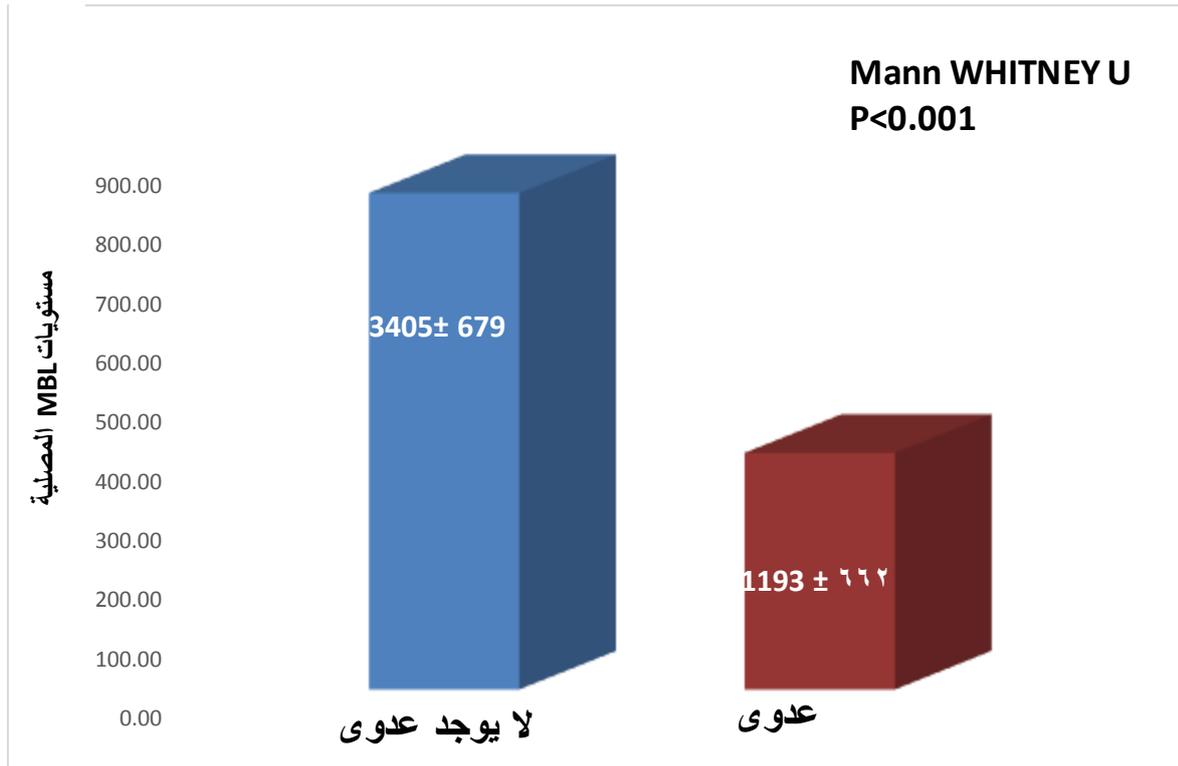
النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول 1 مقارنة مستويات MBL المصلية بين مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) اللذين تطور لديهم عدوى وبين الذين لم يتطور لديهم عدوى.

قمنا بتقييم 37 طفلاً (أعمارهم من 1-14 سنة بمتوسط حسابي 5.1 وانحراف معياري 2.5) ومراقبتهم لمدة ستة أشهر بدون تسجيل أي حادثة وفاة. كان متوسط مستويات MBL المصلية لديهم عند تشخيص الإصابة بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد 2209.75 ± 1298 ng/mL، فكانت النتيجة كالتالي: متوسط مستويات المصلية MBL عند مجموعة المرضى الذين لم يتطور عندهم عدوى أعلى من مجموعة المرضى الذين تطور عندهم عدوى بفارق يُعتدّ به إحصائياً (3405 ± 679 ، 1193 ± 662 على الترتيب) $P < 0.0001$.

الجدول 1: مقارنة مستويات المصلية MBL بين مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) اللذين تطور لديهم عدوى وبين الذين لم يتطور لديهم عدوى

عدوى	Mean \pm Std. Deviation	N	Minimum	Maximum
غير موجودة	3405 ± 679	17	1892	2308
موجودة	1193 ± 662	20	555	2433

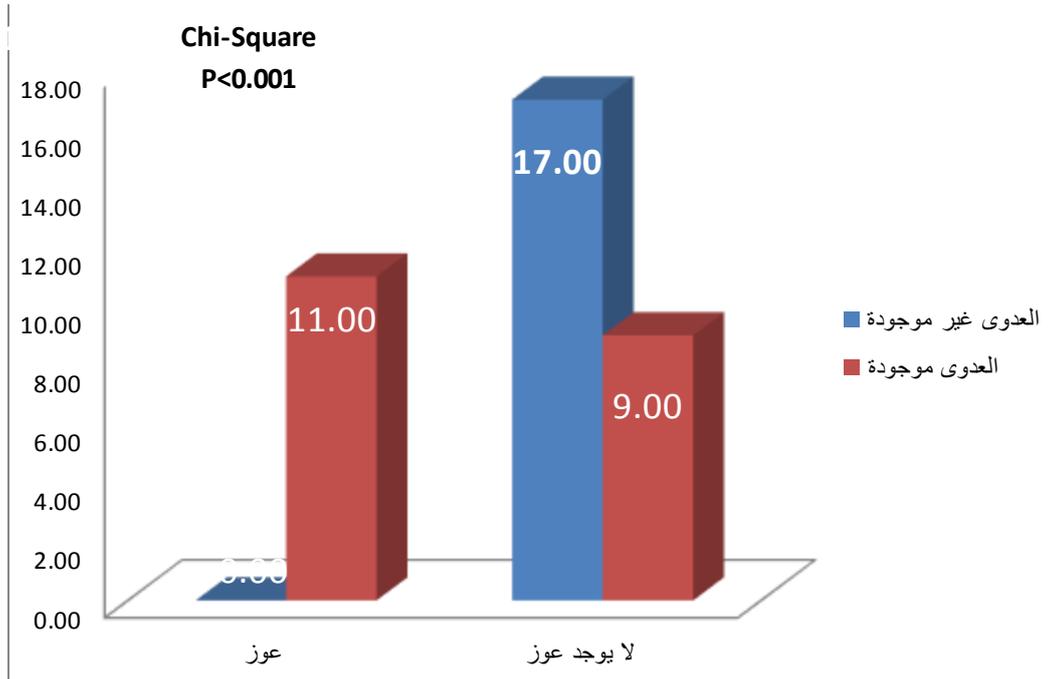


الشكل 1: مقارنة مستويات MBL المصلية بين مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) اللذين تطور لديهم عدوى وبين اللذين لم يتطور لديهم عدوى.

يوضح الجدول 2 عدد مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) الذين تطور عندهم عدوى والذين لم يتطور عندهم عدوى، وذلك حسب تصنيف المرضى إلى مرضى لديهم نقص في مستويات MBL المصلية ($MBL < 1000 \text{ ng/mL}$) ومرضى لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية ($MBL > 1000 \text{ ng/mL}$)، فكانت النتيجة أن وُجِدَ أن جميع المرضى الذين لديهم نقص في مستويات MBL المصلية قد تطورت لديهم عدوى، بخلاف المرضى الذين لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية، حيث إنه فقط 9 مرضى قد تطورت لديهم عدوى من أصل 26 مريضاً، وكان هناك فرق يُعتد به إحصائياً ($P=0.003$).

الجدول 2: عدد مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) الذين تطور عندهم عدوى وللذين لم يتطور عندهم عدوى حسب تصنيف المرضى إلى مرضى لديهم نقص في مستويات MBL المصلية ($MBL < 1000 \text{ ng/mL}$) ومرضى لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية ($MBL > 1000 \text{ ng/mL}$)

مستويات MBL (ng/ml)	عدوى		Total
	غير موجودة	موجودة	
>1000	0	11	11
<1000	17	9	26



الشكل 2: عدد مرضى ابيضاض الدم اللغواني الحاد (ALL) الذين تطور عندهم عدوى والذين لم يتطور عندهم عدوى حسب تصنيف المرضى إلى مرضى لديهم نقص في مستويات MBL المصلية ($MBL < 1000 \text{ ng/mL}$) ومرضى لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية ($MBL > 1000 \text{ ng/mL}$)

الاستنتاجات والتوصيات :

أظهرت النتائج أن متوسط مستويات MBL المصلية عند مجموعة المرضى الذين لم يتطور عندهم عدوى أعلى من مجموعة المرضى الذين تطورت عندهم عدوى، و أن جميع المرضى الذين لديهم نقص في مستويات MBL المصلية قد تطور لديهم عدوى، أما المرضى الذين لديهم مستويات MBL مصلية طبيعية فقد تطور عدوى فقط عند قسم منهم. حيث إن المستويات المصلية الطبيعية من MBL تبلغ 1000 ng/mL وهذا يتوافق مع ما أكده Schlapbach LJ et al أن نقص MBL يمثل عامل خطورة جديد للعدوى المرتبطة بالمعالجة الكيميائية (10)، وهذا سببه أن MBL يرتبط بالسطوح المكروبية بالتشارك مع بروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز-2 (MASP-2) والمعقد الناتج يشطر C2 ثم C4، مشكلاً بذلك $C4bC2b$ ، والذي يؤدي إلى طهاية و انحلال مباشر للعوامل الممرضة .

بناءً على ما سبق فإنه يمكن اعتبار أن مستويات MBL المصلية المنخفضة عامل خطورة جديد لتطوير العدوى عند الأطفال المصابين بابيضاض الدم اللغواني الحاد مستقبلي المعالجة الكيميائية، وبالتالي فإنه من خلال تحديد مستويات MBL المصلية عند تشخيص الإصابة بابيضاض الدم اللغواني الحاد يمكن تحديد المرضى المتوقع أن يتطور لديهم عدوى أثناء فترة المعالجة الكيميائية.

هذه الدراسة توصي اعتبار MBL عامل خطر جديد للعدوى المتعلقة بالمعالجة الكيميائية .

لدراسات لاحقة فحص النمط الجيني و دراسة المستويات المصلية وتحديد الارتباط بين الاثنين.

المراجع:

- 1- FRAKING FN, BROWER N, et al. *The role of mannose binding lectin (MBL) in paediatric oncology patients with febrile neutropenia*. Eur J Cancer. 2006;42:909–916.
- 2- EISEN DP, MINCHINTON RM. *Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases*. Clin Infect Dis. 2003;37:1496–1505.
- 3- TURNER MW. *Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system*. Immunol Today. 1996;17:532–540.
- 4- GARRED P, LARSEN F, et al. *Mannose-binding lectin and its genetic variants*. Genes Immun. 2006;7:85–94.
- 5- JACK DL, KLEIN NJ. *Mannose-binding lectin: Targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis*. Immunol Rev 2001;180:86–99.
- 6- LAUSEN B, SCHMIEGELOW K, ANDREASSEN B, et al. *Infections during induction therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia—no association to mannose-binding lectin deficiency*. Eur J Haematol. 2006;76:481–487.
- 7- MULLIGHAN CG, HEATLEY S, DOHERTY K, et al. *Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with major infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation*. Blood. 2002;99:3524–3529.
- 8- PETERSLUND NA, KOCH C, JENSENIUS JC, et al. *Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy*. Lancet. 2001;358:637–638.
- 9- NETH O, HANN I, TURNER MW, et al. *Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study*. Lancet. 2001;358:614–618.
- 10- SCHLAPBACH LJ, AEBI C, OTTH M, LEIBUNDGUT K, HIRT A, AMMANN RA, et al. *Deficiency of mannose-binding lectin-associated serine protease-2 associated with increased risk of fever and neutropenia in pediatric cancer patients*. Pediatr Infect Dis J. 2007; 26: 989– 94.