

# مجلة جامعة حمص

سلسلة العلوم الطبية والصحية



مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 47 . العدد 6

1447 هـ - 2025 م

الأستاذ الدكتور طارق حسام الدين رئيس جامعة حمص

المدير المسؤول عن المجلة

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الإنسانية	أ. د. وليد حمادة
رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية	د.نعيمة عجيب

عضو هيئة التحرير	د. محمد فراس رمضان
عضو هيئة التحرير	د. مضر سعود
عضو هيئة التحرير	د. ممدوح عبارة
عضو هيئة التحرير	د. موفق تلاوي
عضو هيئة التحرير	د. طلال رزوق
عضو هيئة التحرير	د. أحمد الجاعور
عضو هيئة التحرير	د. الياس خلف
عضو هيئة التحرير	د. روعة الفقس
عضو هيئة التحرير	د. محمد الجاسم
عضو هيئة التحرير	د. خليل الحسن
عضو هيئة التحرير	د. هيثم حسن
عضو هيئة التحرير	د. أحمد حاج موسى

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها

الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص

سورية . حمص . جامعة حمص . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : ++ 963 31 2138071

. موقع الإنترنت : [www.homs-univ.edu.sy](http://www.homs-univ.edu.sy)

. البريد الإلكتروني : [journal.homs-univ.edu.sy](http://journal.homs-univ.edu.sy)

**ISSN: 1022-467X**

## شروط النشر في مجلة جامعة حمص

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
  - طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
  - إذا كان الباحث طالب دراسات عليا:  
يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقة على النشر في المجلة.
  - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:  
يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.
  - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :  
يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.
  - إذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :  
يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث ، وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.
  - يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):  
عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي ( كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1- مقدمة
  - 2- هدف البحث
  - 3- مواد وطرق البحث
  - 4- النتائج ومناقشتها .
  - 5- الاستنتاجات والتوصيات .
  - 6- المراجع.

- يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات ( الآداب - الاقتصاد - التربية - الحقوق - السياحة - التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):
- عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي ( كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1. مقدمة.
- 2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
- 3. أهداف البحث و أسئلته.
- 4. فرضيات البحث و حدوده.
- 5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
- 6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
- 7. منهج البحث و إجراءاته.
- 8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
- 9. نتائج البحث.
- 10. مقترحات البحث إن وجدت.
- 11. قائمة المصادر والمراجع.
- 7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:
  - أ- قياس الورق 25×17.5 B5.
  - ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 - يمين 2.5- يسار 2.5 سم
  - ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8
  - ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20
- كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي - العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.
- ج. يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.
- 8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.
- 9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.

10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة  
11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام ورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:

آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة - الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة - سنة النشر - وتتبعها معترضة ( - ) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة - دار النشر وتتبعها فاصلة - الطبعة ( ثانية . ثالثة ) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة .  
وفيما يلي مثال على ذلك:

-MAVRODEANUS, R1986- Flame Spectroscopy. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

— بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة، اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة — المجلد والعدد ( كتابة مختزلة ) وبعدها فاصلة — أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.  
مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases Clinical Psychiatry News , Vol. 4. 20 – 60

ج . إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و التقيد بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: ( المراجع In Arabic )

## رسوم النشر في مجلة جامعة حمص

1. دفع رسم نشر (50000) ل.س أربعون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.
2. دفع رسم نشر (200000) ل.س مئة ألف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .
3. دفع رسم نشر (200) مننًا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .
4. دفع مبلغ (15000) ل.س ستة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

## المحتوى

الصفحة	اسم الباحث	اسم البحث
32-11	د.يمن هلال	دراسة تأثير خل التفاح الأبيض السوري في قيم الضغط الإنبساطي والإنقباضي لدى عينة من مرضى الضغط في سورية
48-33	بلال الجاسم أ.د. عزام العمري	دراسة نسيجية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب
84-49	ديانا حسن د.نادر عبد الله د.زهير الشهابي	الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية $CD4^+$ و $CD8^+$ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبيّة بمراحله المبكرة
114-85	د.فريد محمد رياض الباقوني أ.د. عبد الله شيخ ابراهيم	دراسة اللمفاويات كمشعر إنذاري في قصور القلب الاحتقاني
134-115	عاصم الباكير د.ماهر صالح د.أشرف الصالح	دراسة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة عن إسهال العجول



## دراسة تأثير خل التفاح الأبيض السوري في قيم الضغط الإنبساطي والإنقباضي لدى عينة من مرضى الضغط في سورية

اعداد : د.يمن هلال / كلية الصيدلة / حمص

### ملخص

يعد ارتفاع ضغط الدم من أكثر الأمراض المزمنة انتشاراً في العالم، ويتأثر بعدة عوامل كالعمر والجنس والحالة النفسية وغيرها من العوامل. وبما أن سورية تتميز بإنتاج مميز من خل التفاح الأبيض الذي يحوي بشكل أساسي حمض الخل ومركبات بوليفينولية التي تساهم في ضبط ضغط الدم، بالإضافة لعدة فوائد طبية أخرى، هدف هذا البحث لدراسة تأثير حمض خل التفاح الأبيض السوري المصنع منزلياً على قيم ضغط الدم الإنقباضي والإنبساطي، وذلك على عينة من مرضى الضغط في مدينة حمص. تم تصنيع خل التفاح الأبيض السوري يدوياً وتمت مقايسة تركيز حمض الخل فيه وكان تركيزه 4%. وحدد الحد الأدنى من كمية خل التفاح الأبيض السوري اللازمة لإحداث الأثر الخافض للضغط والتي تحوي على حمض الخل بتركيز 0.6 غ/ل ثم تم قياس الضغط للمشاركين قبل وبعد تناولهم لجرعة خل التفاح المخفف بالماء على فترات زمنية لمدة 120 دقيقة مع قياس الضغط كل 15 دقيقة.

بينت النتائج أن الخل لا يؤثر على قيم الضغط لدى الأصحاء، بينما له تأثير على مرضى الضغط دون أن يكون لعامل الجنس أو العمر أي دور في انخفاض الضغط بعد تناول الخل. وازداد متوسط انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل مع الوقت وكذلك كلما ارتفع مؤشر كتلة الجسم. كما لم يتأثر الضغط الإنقباضي باختلاف الزمر الدوائية الخافضة للضغط على عكس الضغط الإنبساطي حيث كان الدور التآزري الأكبر للخل مع المدر البولوي مقارنة بالزمر الدوائية الأخرى (حاصرات قنوات الكالسيوم، حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2، حاصرات بيتا الأدرينالية

ومثبطات الإنزيم المحوّل للأنجيوتنسين)، وكان دوره التآزري هو الأقل مع حاصرات بيتا الأدرينالية مقارنة مع حاصرات قنوات الكالسيوم وحاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 والمدرات البولوية.

#### الكلمات المفتاحية:

ضغط الدم الإنبساطي والإنقباضي، خل التفاح الأبيض السوري، حمض الخل، العمر، الجنس، مؤشر كتلة الجسم، الزمر الدوائية الخافضة للضغط.

## **The Effect of Syrian White Apple Cider of Diastolic and Systolic Blood Pressure in a Sample of Hypertension Patients in Syria**

### **Abstract**

High blood pressure is one of the most prevalent chronic diseases in the world and it is affected by several factors as age, gender, psychological state...etc. Given that Syria is known for its exceptional production of white apple cider, which primarily contains acetic acid and other compounds which contribute to blood pressure control, in addition to other several medical benefits, this work aimed to study the effect of homemade Syrian white apple cider on systolic and diastolic blood pressure values of hypertensive patients in Homs.

Syrian white apple cider was prepared, and its acetic acid concentration was measured (4%). The minimum amount of this cider that required to lower a blood pressure was determined (0.6 g/L of acetic acid). Participants' blood pressure was measured before and after consuming the specific dose of apple cider diluted with water for 120-minute intervals, with measuring blood pressure every 15 minutes.

The results showed that cider had no effect on blood pressure of healthy individuals, but it did have an effect on patients with hypertension. Neither gender nor age play a role in the reduction of blood pressure after cider consumption. The average reduction in diastolic and systolic blood pressure increased over time and also with increasing body mass index (BMI). Systolic blood pressure was not affected by different

antihypertensive drug groups, unlike diastolic blood pressure. Cider had the greatest synergistic effect with diuretics compared to other drug groups (calcium channel blockers, angiotensin II receptor blockers, beta-adrenergic blockers, and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors). Furthermore its synergistic effect was the least with beta-adrenergic blockers compared to calcium channel blockers, angiotensin II receptor blockers, and diuretics.

**Keywords:**

Diastolic and systolic blood pressure, Syrian white apple cider vinegar, acetic acid, age, gender, BMI, antihypertensive drugs.

## مقدمة

يعد ارتفاع ضغط الدم من أكثر الأمراض المزمنة انتشاراً في العالم وهو أحد الأسباب الرئيسية للوفيات المبكرة في العالم حيث أن 46% من الأشخاص البالغين المصابين بارتفاع ضغط الدم، لا يعلمون بإصابتهم. تشير التقديرات إلى أن حوالي 1.28 مليار شخص بالغ من الفئة العمرية 30-79 سنة في العالم مصابون بارتفاع ضغط الدم ضمن آخر إحصائيات منظمة الصحة العالمية 2023، مع توقع أن يصل العدد بحلول عام 2025 إلى 1.56 مليار [1] ، وبالنسبة للعالم العربي، فإن معدل انتشار ارتفاع ضغط الدم يتراوح بين 20% إلى 40% في بعض الدول [2].

يعبر مصطلح ضغط الدم عن القوة الضاغطة التي يؤثر فيها الدم على جدران الأوعية الدموية وبالتالي المحافظة على اندفاع الدم عبر جهاز الدورة الدموية الى كافة أعضاء الجسم. وغالبا ما يتطور مرض ضغط الدم على مدار سنوات طويلة ودون أعراض واضحة ومن الممكن أن يسبب في حالته تلك مشاكل صحية عديدة مثل النوبة القلبية والسكتة الدماغية لذا سمي بالقاتل الصامت .

تعتبر حدود القيم الطبيعية لضغط الدم mmHg 120/80 حيث يعبر الرقم الأعلى عن الضغط الإنقباضي والآخر عن الإنبساطي وهي قياسات توافق حركات القلب ما بين دفع القلب للدم و استرخاءه. يوضح الجدول (1) تصنيف ارتفاع ضغط الدم وفق القيم العالمية.

جدول 1: تصنيف ارتفاع ضغط الدم وفق القيم العالمية.

تصنيف ضغط الدم	mmHg الإنقباضي	mmhg الإنبساطي
مثالي	120	80
اعلى من الطبيعي	120_129	80>
1 ارتفاع ضغط الدم مرحلة	130_139	80_89
2 ارتفاع ضغط الدم مرحلة	او اكثر 140	او اكثر 90
ضغط الدم مرحلة حرجة	180 اكثر من	120 اكثر من

يتأثر ضغط الدم بعدة عوامل كالعمر والجنس والحالة النفسية وغيرها من العوامل، حيث يزداد معدل ضغط الدم مع التقدم بالسن كما يعتبر معدل ارتفاع ضغط الدم عند الرجال أعلى مما هو عند النساء وصولاً إلى سن انقطاع الحيض أو اليأس لتتساوى حينها النسبة أو تسبق حتى نظيرتها. كما قد يزداد ضغط الدم مع النشاطات العنيفة وزيادة الشدة النفسية وبين الليل والنهار لكنه في النهاية يتأرجح حول قيم متقاربة في الحالة الطبيعية.

تعود حوالي 5-10% من حالات ارتفاع ضغط الدم لأسباب واضحة كتصلب الشرايين ومشاكل قلبية بالإضافة لاستخدام الأدوية كموانع الحمل والكوكائين وغيرها، كذلك في حالات أورام الغدة الكظرية، وتشوهات القلب الخلفية والاكنتاب وأمراض الكلى. أما الشريحة الأكبر من مرضى الضغط والتي تشكل حوالي 90-95% فتعد حالات مجهولة الأسباب وتسمى بارتفاع الضغط البدئي.

يتم تشخيص ارتفاع ضغط الدم عبر قياس ضغط الدم باستخدام جهاز قياس الضغط. تُعتبر قراءة ضغط الدم التي تبلغ 80/130 مم زئبقي أو أكثر بمثابة علامة على ارتفاع ضغط الدم [3] وتكرر القياسات ثلاث مرات في فترات مختلفة للحصول على تشخيص دقيق.

يتضمن العلاج الدوائي عادةً: مدرات البول، مثبطات إنزيم تحويل الأنجيوتنسين (ACE)، مضادات بيتا. يمكن أن تساعد تغييرات نمط الحياة مثل ممارسة الرياضة وتحسين النظام الغذائي، في تقليل ضغط الدم [4]. أما العلاج غير الدوائي فيتضمن اتباع سلوكيات صحية و تعديل نمط الحياة (المحافظة على وزن صحي أي أن يكون مؤشر كتلة الجسم بين 19-24 كغم/سم مربع، وممارسة الرياضة، والتغذية المتوازنة والغنية بالفواكه والخضروات مع تجنب الملح والاكالات المصنعة، وتجنب التدخين والكحول، والابتعاد عن الشدة النفسية والإرهاق [5]. ويمكن أن يؤدي ارتفاع ضغط الدم غير المعالج إلى مشاكل صحية خطيرة بما في ذلك: أمراض القلب وفشله والسكتات الدماغية وأمراض الكلى المزمنة [6,7].

## خل التفاح الأبيض

تتميز سورية بإنتاج مميز من التفاح الأبيض والذي منه يصنع صنع خل التفاح الأبيض وهو منتج غذائي طبيعي يتم إنتاجه بواسطة عمليات التخمر الكحولية [8] وفق الخطوات التالية: تقطيع التفاح إلى قطع صغيرة، ثم إضافة الماء والسكر للسماح بعملية التخمر. يترك الخليط في مكان دافئ لمدة تتراوح بين 3 إلى 4 أسابيع حيث يتم التخمر على مرحلتين الكحولي ثم الحمضي، بعدها يتم تصفية السائل للحصول على الخل. أما الطريقة الصناعية تعتمد على استخدام بكتيريا لتسريع التخمر الكحولي بواسطة والتخمر الحمضي بكتيريا حمض الخل ثم التعقيم بعد التصفية.

يحتوي خل التفاح على حمض الخل ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) وهو المادة الفعالة الرئيسية. إن حمض الخل هو حمض دهني قصير السلسلة، ويعد أحد أكثر أنواع الأحماض الكربوكسيلية (Carboxylic acids) أهمية، وهو المركب المسؤول عن مذاق خل التفاح المميز [9]. كما يحتوي الخل على مركبات بوليفينولية والتي تساهم في ضبط ضغط الدم و فرط شحميات الدم والالتهابات كما تسبب تلف الحمض النووي للخلايا السرطانية [10,11]، بالإضافة للماء والمركبات الكيميائية الأخرى مثل الفيتامينات والمعادن [12]. كما يُعزى إلى خل التفاح الأبيض عدة فوائد طبية، منها: تحسين مستويات ضغط الدم، تعزيز الهضم، وخفض مستويات الكوليسترول [13]، حيث تبين أن استهلاك خل التفاح ساهم في خفض ضغط الدم بنسبة 6-10% [14,15]. ويمكن أن يلعب الخل دوراً أساسياً في الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية [16-19] مما يساهم في ضبط ضغط الدم، وله تأثيرات مضادة للبكتيريا [20,21] ومضادة للفطريات [20] كما أدى خل التفاح إلى تحسين حالة المرضى الذين يعانون من الدوالي [22].

يمكن أن يعزى انخفاض ضغط الدم الناجم عن استهلاك الخل وفق الدراسات إلى تقليل نشاط الإنزيم المحول للأنتيجيوتنسين، كما أن الأدينوزين و AMP، اللذين يتم إنتاجهما بعد استقلاب حمض الخل التي يمتصها الجهاز الهضمي، يحفزان توسع الأوعية وتنشيط AMPK مما يزيد من تدفق الدم [19,23,24,25,26].

**مبشرات وأهداف البحث:**

يتوجه النهج العالمي اليوم للطب التقليدي والنباتات الطبية للحفاظ على الصحة وعلاج الأمراض [22]، ووفق الدراسات السابقة تم بحث تأثير الخل على السمنة [15] وعملية الهضم [9] ومستويات الأنسولين [16] والسرطان [11] وتعنى الدراسات السريرة الحديثة بتأثير الخل على أمراض أخرى كالضغط علما أن نوع الخل المستخدم في الدراسة سيؤدى لاختلاف النتائج، ولهذا هدف هذا البحث لدراسة تأثير حمض خل التفاح الأبيض السوري المصنع منزليا على قيم ضغط الدم الإنقباضي والإنبساطي، وذلك على عينة من مرضى الضغط في مدينة حمص .

### العينة المدروسة والطرائق:

شملت هذه الدراسة مجتمع أحصائي مكون من 100 متطوع 20 منهم أصحاء كعينة شاهد و80 مرضى يعانون من ارتفاع ضغط الدم. وتمت مراعاة نسبة الذكور إلى الإناث في الدراسة (1:1) وكذلك الفئات العمرية حيث كان أكبر مريض مشارك بعمر 68 سنة وأصغر مريض بعمر 39 سنة. وحددت معايير الاستبعاد التالية: من لديهم حساسية للخل، وجود مشاكل في الجهاز الهضمي، وجود أمراض القلب الأخرى كعدم انتظام ضربات القلب، والمدخنين.

تم اختيار مجموعة الدراسة بناء على معايير الاستبعاد التي تم ذكرها سابقا وذلك بعد شرح غرض البحث للمشاركين وطريقتها والتدخلات المتوقعة ومدة التجربة و تأكيد الموافقة المستتيرة من قبلهم، حيث تم اعلامهم بكل مجريات البحث وطريقة العمل قبل البدء وأبلغوا أن لهم الحق بالانسحاب من الدراسة في أي وقت اذا لم يرغبوا باستكمالها، مع الحفاظ على سرية معلومات المشاركين.

أجريت الدراسة في غرف الانتظار لبعض العيادات القلبية الخاصة والعامه في مدينة حمص واستمرت لمدة ساعتين. كما تم جمع بعض المعلومات الشخصية كالطول والوزن لحساب مؤشر كتلة الجسم، السيرة المرضية والأدوية الموصوفة والجرعات وغيرها.

بالنسبة لخل التفاح الأبيض السوري الذي تم استخدامه في هذه الدراسة فقد تم تصنيعه يدويا وفق الطريقة المذكورة سابقا ثم تمت مقايسة تركيز حمض الخل فيه. حيث تمت معايرة 2 مل من خل التفاح دون تمديد بهيدروكسيد الصوديوم تركيزه 16 غ/ل بوجود مشعر فينول فتالئين حتى الوصول

لنقطة نهاية المعايرة، وبتحديد الحجم المستهلك من هيدروكسيد الصوديوم (5 مل) تم إجراء الحسابات لتحديد تركيز حمض الخل في الخل المستخدم وكان تركيزه 4%. ولمعرفة الحد الأدنى من كمية خل التفاح الأبيض السوري اللازمة لإحداث الأثر الخافض للضغط، أجريت تجربة بسيطة على متطوعين من مرضى الضغط وتم قياس الضغط لهما قبل وبعد تجرعهما لكميات محددة من الخل مع كأس من الماء وذلك كما يبين الجدول 2:

جدول 2: تحديد الجرعة الدنيا من خل التفاح المؤثرة على الضغط الإنقباضي والإنبساطي مقدرًا بـ mmHg

الشخص الثاني		الشخص الاول		جرعة خل التفاح الأبيض
بعد	قبل	بعد	قبل	
79/119	80/119	88/122	87/125	5 غ
80/119	81/120	87/124	88/124	10 غ
75/110	81/120	71/111	78/120	15 غ
74/111	82/124	73/112	82/123	30 غ

لم تؤثر كمية 5 و 10 غ من خل التفاح على الضغط، ولوحظ بدء التأثير بجرعة 15 غ وازداد التأثير بجرعة 30 غ من الخل، وتم اعتماد أدنى جرعة مؤثرة على ضغط الدم وهي ملعقة كبيرة من الخل المحضر والتي تحوي على حمض الخل بتركيز 0.6 غ/ل تجنباً لأذية المعدة.

كانت خطوات التجربة كالتالي: بدأت التجربة بعد 4 ساعات من تناول الفطور حيث تم قياس الضغط للمشاركين باستخدام مقياس ضغط يدوي غير الالكتروني مع سماعة، ثم تناول المشاركون جرعة خل التفاح المشار إليها أعلاه بعد التخفيف في كأس ماء كبير للحد من الطعم اللاذع غير المرغوب للمرضى. تم مراقبة المرضى لمدة 120 دقيقة للتأكد من عدم ظهور أي أثر غير مرغوب به، مع قياس الضغط كل 15 دقيقة.

**النتائج والمناقشة:**

تمت معالجة البيانات ببرنامج Excel 2010 وبرنامج IBM SPSS Statistics- 22 . تم تطبيق اختبار وحيد الإتجاه على الضغط الإنبساطي والإنقباضي لدى الأصحاء فكانت قيم P\_valu لهما هي (0.825 و 0.555) على التوالي وهي أكبر من 0.05 أي لا يوجد فروق معنوية بين قياسات الضغط الإنبساطي والإنقباضي للأصحاء، أي أن الخل لا يؤثر على الضغط لدى الأصحاء.

#### تأثير الجنس في انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل

تم اختبار التوزع الطبيعي للعينات بتأثير الجنس بإجراء Bootstrap وكانت قيم Sig للضغط الإنبساطي هي 0.174 و 0.111 للذكور والإناث على التوالي وللضغط الإنقباضي 0.200 و 0.148 للذكور والإناث على التوالي. وبما أن كل القيم أكبر من 0.05 فإن توزع العينة يعتبر طبيعي.

تم حساب t-Test لدراسة الاختلاف بين الجنسين، وكانت قيمة (2-tailed) Sig. لكل من الانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي بين الجنسين (0.613 و 0.156) على التوالي وكلاهما أكبر من 0.05 أي أنه لا توجد فروق جوهرية أو معنوية بين الذكور والإناث، أي أن عامل الجنس ليس له أي دور في التأثير على انخفاض الضغط بعد تناول الخل.

وللتأكد من حصانة النتائج تم حساب Bootstrap for Independent Samples Test وكانت قيم القيمة الدنيا سالبة والعليا موجبة ( -3.098 و +1.1511) للانخفاض في الضغط الإنبساطي و (-0.575 و +4.299) للانخفاض في الضغط الإنقباضي بعد تناول الخل، أي أن القيم تمر بالصفير مما يدل على عدم وجود اختلافات جوهرية ذات دلالة احصائية بين الجنسين.

وكانت نتيجة هذه الدراسة مخالفة لدراسة سابقة بينت أن انخفاض قيم الضغط الإنقباضي والإنبساطي لدى الذكور أكبر من الإناث وعزت ذلك إلى أن أغلب النساء قيد الدراسة دخلن في سن اليأس وانخفضت مستويات الاستروجين لديهن، بالإضافة لارتفاع هرمون الكورتيزول مما يشكل عبئا على جهاز الدوران فتقل مرونة الشرايين وتزداد قيم الضغط ويصبحن أقل تأثرا بالأدوية الخافضة للضغط [22].

### تأثير BMI في انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل

تتوزع العينة المدروسة ضمن أربع فئات حسب مؤشر كتلة الجسم إلى (وزن تحت الطبيعي، طبيعي، فوق الطبيعي و بدانة) وعليه لدراسة تأثير الوزن في انخفاض الضغط بعد تناول الخل تم اولا اختبار التوزع الطبيعي للعينات بتأثير BMI بإجراء Bootstrap وكانت قيم Sig للضغط الإنبساطي وللضغط الإنقباضي لكافة الفئات الوزنية أكبر من 0.05 وتوزعها طبيعي، ماعدا توزع الضغط الإنقباضي في فئة البدانة فكانت 0.047 وللتأكد من حصانة التحليل تم إجراء اختبار Oneway ANOVA مع اختبار Games-Howell، وبينت النتائج أن متوسط انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي يزداد مع ازدياد الوزن أي أن العينة المندرجة في فئة البدانة ينخفض لديها كلا الضغطين الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل أكثر من فئة الوزن فوق الطبيعي والتي بدورها ينخفض لديها متوسط قيم الضغط أكثر من فئة الوزن الطبيعي وتحت الطبيعي.

وللتأكد من حصانة النتائج تم إجراء اختبار NPar Tests و اختبار Jonckheere-Terpstra Test الذي يختبر إذا كان الانخفاض في الضغط يزداد بازدياد الوزن وبينت النتائج أن قيمة Std. J-T Statistic لكل من الانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي هي 3.048 و 1.527 على التوالي وهي قيم موجبة أي كلما اتجهنا نحو البدانة ازداد انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل. يبين الجدول 3 متوسط قيم الانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي تبعا لمؤشر كتلة الجسم.

كذلك تم إجراء اختبار Kruskal Wallis Test فكانت قيم Asymp. Sig. هي 0.15 و 0.458 لكل من انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي على التوالي وهما أكبر من 0.05 وهذا ما يؤكد ما ذكر سابقا عن زيادة انخفاض الضغط مع ازدياد الوزن.

جدول 3: متوسط قيم الانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي مقدرا بـ mmHg تبعا

لمؤشر كتلة الجسم وفق نتائج تحليل Oneway

	N	Mean
تحت الوزن الطبيعي	2	4.00
الانخفاض في الضغط الإنبساطي		

	وزن طبيعي	14	5.43
	وزن فوق الطبيعي	40	7.68
	بدانة	24	10.88
	<b>Total</b>	80	8.25
الانخفاض في الضغط الإنقباضي	تحت الوزن الطبيعي	2	7.00
	وزن طبيعي	14	7.50
	وزن فوق الطبيعي	40	9.75
	بدانة	24	10.58
	<b>Total</b>	80	9.54

#### تأثير فترة الانتظار بعد تناول الخل في انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي

تم تطبيق اختبار وحيد الإتجاه على الضغط الإنبساطي للمرضى فكانت النتيجة قبل وبعد تناول الخل، لذلك تم إجراء اختبار Multiple Comparisons المقارنات الزوجية LSD، وتمت المقارنة بين القياس الأول قبل تجرع حمض الخل مع كل من القياس الثاني بعد 15 دقيقة ومع القياس الثالث بعد 30 دقيقة ومع القياس الرابع بعد 45 دقيقة ومع القياس الخامس بعد 60 دقيقة ومع القياس السادس بعد 75 دقيقة من تجرع حمض الخل.

وكانت قيم الـ Sig دوماً أقل من 0.05 لجميع المقارنات بين (0.00 و 0.039) للضغط الإنبساطي أي توجد فروق معنوية واضحة بين القياس الأول وبقية القياسات، وكان الفرق بين Lower Bound , Upper Bound بين القياس الأول وكل القياسات التالية موجباً وتزداد قيمته مع الوقت مما يدل على أن القياس الأول يتفوق على القياسات البقية أي أن الضغط الإنبساطي ينخفض تدريجياً مع الوقت بعد تناول الخل لتصل قيمة الـ Sig إلى 0.000 أي أن الارتباط معنوي قوي جداً وخاصة بالمقارنة مع القياسين الأخيرين (60 و 75 دقيقة).

وكذلك تمت نفس الإجراءات السابقة لقيم الضغط الإنقباضي حيث كانت  $P\_valu=0.000<0.05$  أي يوجد فروق معنوية قوية جدا بين قياسات الضغط الإنقباضي للمرضى بعد تناول الخل، وكانت قيم الـ Sig (0.107 و 0.00 و 0.03 و 0.00 و 0.00) على التوالي للقياسات 2-3-4-5-6 وهي أقل من 0.05 للقياسات جميعها ما عدا القياس الثاني بعد 15 دقيقة. أي توجد فروق معنوية واضحة بين القياس الأول والقياسات 3-4-5-6 بالنسبة للضغط الإنقباضي، وكان الفرق بين Lower Bound , Upper Bound بين القياس الأول وكل القياسات التالية موجبا وتزداد قيمته مع الوقت مما يدل على أن القياس الأول يتفوق على القياسات البقية أي أن الضغط الإنقباضي ينخفض تدريجيا مع الوقت بعد تناول الخل لتصل قيمة الـ Sig إلى 0.000 أي أن الارتباط معنوي قوي جدا وخاصة بالمقارنة مع القياسات بعد (30 و 45 و 60 و 75 دقيقة).

#### تأثير الفئة العمرية في انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل

تم تقسيم العينة المدروسة تبعا للفئة العمرية لثلاث مجموعات 1 و 2 و 3 أي (39-40، 50-60، وأكبر من 60 سنة)، ثم تم التأكد من التوزيع الطبيعي للعينة بإجراء Tests of Normality فنتبين أن توزيع العينة للفئة العمرية 2 وفي الضغط الإنبساطي فقط غير موزعة طبيعيا وفق Kolmogorov-Smirnov (0.046). لذلك وجب فحص التجانس للعينة Test of Homogeneity of Variances وكانت قيم Sig. لانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي هي (0.852 و 0.127) على التوالي وبما أنها أكبر من 0.05 فهذا يدل على تجانس النتائج تبعا للفئة العمرية. ثم أجري اختبار Bootstrap for Multiple Comparisons وحيد الإتجاه تبعا للفئة العمرية فكانت قيمة Std. Error لكل الفئات العمرية بين (1.281 و 1.597) للانبساطي وبين (1.339 و 1.852) للإنقباضي وهي قيم أكبر من 0.05 وعليه تم التأكد من حصانة النتيجة.

تم تطبيق اختبار وحيد الإتجاه تبعا للفئة العمرية فكانت  $P\_valu$  تساوي 0.077 و 0.146 للضغط الإنبساطي والإنقباضي على التوالي وهي أكبر من 0.05 أي لا يوجد فروق معنوية بين الفئات العمرية الثلاث ولا يوجد اختلاف جوهري في انخفاض كل من قيم الضغط الإنبساطي والإنقباضي تبعا للفئة العمرية.

### تأثير الزمرة الدوائية في انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل

تمت دراسة معدل انخفاض الضغط بعد تناول خل التفاح تبعا لزمر الأدوية الخافضة للضغط التي يتناولها المرضى، حيث كانت نسبة استخدام العينة المدروسة للزمر الدوائية المختلفة كالتالي: حاصرات قنوات الكالسيوم 17.5 %، حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 بلغت نسبتهم 25 %، حاصرات بيتا الأدرينالية 18.75 %، مثبطات الإنزيم المحوّل للأنجيوتنسين (ACE) 22.5 %، مدر بولي 2.5 %، ومشاركة دوائية لحاصرات قنوات الكالسيوم مع حاصرات المفعول الأدرينالييني ومدر بولي 8.75 %، وغير معالج دوائيا 5 %).

تم إجراء اختبار وحيد الإتجاه تبعا للزمر الدوائية (الجدول 4) فكانت تساوي 0.043 و 0.930 للضغط الإنبساطي والإنقباضي على التوالي. أي لا يوجد فروق معنوية بين الزمر الدوائية بالنسبة لقيم الضغط الإنقباضي على عكس الإنبساطي وعلية توجب إجراء فص التجانس Test of Homogeneity of Variances المبينة نتائجه في الجدول 4 .

جدول 4: اختبار ANOVA و اختبار مجانسة التوزع للانخفاض في قيم الضغط الإنقباضي والإنبساطي

	ANOVA		Test of Homogeneity of Variances	
	F	Sig.	Levene Statistic	Sig
الانخفاض في الضغط الإنبساطي	2.30 1	0.04 3	1.395	0.228
الانخفاض في الضغط الإنقباضي	0.309	0.930	2.149	0.058

حيث كانت قيم Sig. لانخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي هي (0.228 و 0.058) على التوالي وبما أنها أكبر من 0.05 فهذا يدل على تجانس النتائج تبعاً للزمر الدوائية. ولتحديد أثر نوع الزمرة على انخفاض الضغط الإنبساطي تم إجراء تحليل Bootstrap for Multiple Comparisons وبيّن الجدول 5 متوسط قيم انخفاض الضغط الإنبساطي لكل زمرة دوائية ومقارنتها مع الزمر الدوائية الأخرى التي تبين بينهما وجود فروق معنوية، أي عندما تكون القيمة العليا والدنيا للمتغير موجبتان معاً أو سالبتان معاً. وعند مقارنة متوسط الانخفاض يمكن تحديد أي الزمر الدوائية كان للخلل تأثير تآزري معها في خفض الضغط مقارنة بالزمر الأخرى.

جدول 5: متوسط قيم الانخفاض في الضغط الإنبساطي والإنقباضي تبعاً للزمر الدوائية وفق تحليل Bootstrap for Multiple Comparisons

الدواء نوع (I)	الدواء نوع (J)	Mean Difference (I-J)	95% Confidence Interval
----------------	----------------	-----------------------	-------------------------

دراسة تأثير خل التفاح الأبيض السوري في قيم الضغط الإنبساطي والإنقباضي لدى عينة من مرضى الضغط في سورية

			Lower	Upper
حاصرات قنوات الكالسيوم Mean 9.50 Std. Deviation 4.670	حاصرات بيتا الأدرينالية Mean 6.20 Std. Deviation 4.039	3.300	0.034	6.613
حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 Mean 10.10 Std. Deviation 5.803	حاصرات بيتا الأدرينالية Mean 6.20 Std. Deviation 4.039	3.900	0.163	7.358
مدر Mean 13.00 Std. Deviation 0.00	حاصرات قنوات الكالسيوم Mean 9.50 Std. Deviation 4.670	3.500	0.913	6.000 <sup>c</sup>
	حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 Mean 10.10 Std. Deviation 5.803	2.900	0.000	5.288 <sup>c</sup>
	حاصرات بيتا الأدرينالية Mean 6.20 Std. Deviation 4.039	6.800	4.733	8.764
	مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين Mean 7.78 Std. Deviation 4.110	5.222	3.250	7.173

لوحظ من الجدول أن للمدر البولوي الأثر الأكبر في خفض الضغط الإنبساطي مع الخل مقارنة بالزمر الدوائية الأخرى (حاصرات قنوات الكالسيوم بفارق 3.5، حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين

2 بفارق 2.9، حاصرات بيتا الأدرينالية بفارق 6.8، مثبّطات الإنزيم المحوّل للأنجيوتنسين بفارق 5.22 وقد يعزى ذلك لدور الخل في إطراح الصوديوم وبالتالي له آلية تآزرية مع المدرات. وكان أيضا للخل دور تآزري مع حاصرات بيتا الأدرينالية أقل من حاصرات قنوات الكالسيوم بفارق 3.3 ومن حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 بفارق 3.9، ويعود ذلك للتأثير التآزري للخل الذي يعمل على خفض فعالية الجهاز الودي وعرقلة عمله مما يوسع الأوعية الدموية وهي الآلية ذاتها لحاصرات بيتا إذ تساعد على توسيع الأوردة والشرايين لتحسين تدفق الدم، وكذلك للفعل التآزري للخل مع الذي يقلل من افراز الكلى لانزيم الرينين مما يخفض الضغط.

#### الاستنتاجات والتوصيات

تم اعتماد أدنى جرعة مؤثرة على ضغط الدم وهي ملعقة كبيرة من الخل المحضر منزليا والتي تحوي على حمض الخل بتركيز 0.6 غ/ل تجنباً لأذية المعدة. تبين النتائج أن الخل لا يؤثر على الضغط لدى الأصحاء، بينما له تأثير على مرضى الضغط ودون أن يكون لعامل الجنس أو العمر أي دور في التأثير على انخفاض الضغط بعد تناول الخل. كما أظهرت النتائج ازدياد متوسط انخفاض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بعد تناول الخل مع الوقت وكذلك كلما اتجهنا نحو البدانة. أما بالنسبة لتأثير الخل على عمل الزمر الدوائية الخافضة للضغط، لم يتأثر الضغط الإنقباضي باختلاف نوع الدواء على عكس الضغط الإنبساطي حيث كان الدورالتآزري الأكبر للخل مع المدر البولي مقارنة بالزمر الدوائية الأخرى (حاصرات قنوات الكالسيوم، حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2، حاصرات بيتا الأدرينالية، مثبّطات الإنزيم المحوّل للأنجيوتنسين. بينما كان دوره التآزري هو الأقل مع حاصرات بيتا الأدرينالية مقارنة مع حاصرات قنوات الكالسيوم وحاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 والمدرات البولية.

توصي هذه الدراسة باستخدام الخل كعامل مساعد في خفض الضغط الإنبساطي والإنقباضي بهدف التقليل من الجرعة الدوائية المستخدمة لخفض الضغط، على أن تكون جرعة الخل الموصى بها ملعقة كبيرة في اليوم ويمكن إدراجها مع السلطة خلال وجبة الغداء لغناها بالدم، مع التأكد من

عدم وجود مضاد استطباب للخل إذ لا ينصح به لمن يعاني من أمراض بالمعدة. كما يوصي البحث بإجراء المزيد من الدراسات السريرية حول الأثر بعيد المدى لتناول الخل كعامل علاجي رديف للأدوية الخافضة للضغط.

المراجع العلمية

1. World Health Organization, 2023– <https://www.who.int/ar/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
2. World Health Organization Eastern Mediterranean Region, 2020– <https://www.who.int/ar/news/item/17-01-1443-more-than-700-million-people-with-untreated-hypertension>
3. WANG S, WONG S, YIP B, LEE E, 2025– Developing and validating a diagnostic threshold for central blood pressure in assessing cardiovascular risks, European Journal of Preventive Cardiology <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwaf309>
4. ARMSTRONG C, 2018– Hypertension Guideline: What Is New? What Do We Do?. AFP Am Fam Physician. 97(6):413–415
5. COMMODORE–MENSAH Y, 2022 – Workshop to Control Hypertension, National Institutes of Health (NIH) <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov>
6. Managing High Blood Pressure, National Center for Chronic Disease; (December13,2024) <https://www.cdc.gov/high-blood-pressure/living-with/index.html>
7. POKHAREL Y, KARMACHARYA B M, NEUPANE D, 2022 – Hypertension—A Silent Killer Without Global Bounds: What Next?, Journal of the American Medical Association JACC, 80 (8) 818–820.
8. Ho CW, Lazim AM, Fazry S, Zaki U, Lim S, 2017– Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. Food Chemistry. 221: 1621–1630.

9. TURHAN E, KORKUT O, 2016– Chemical and sensory properties of vinegar from dimrit grape by submerged and surface method. Journal of Food, DOI:10.15237/gida.GD15043
10. SUGIYAMA S, FUSHIMI T, KISHI M, IRIE S, TSUJI S, HOSOKAWA N, 2010– Bioavailability of acetate from two vinegar supplements: capsule and drink. Journal of nutritional science and vitaminology. 56 (4): 266–269. <https://doi.org/10.3177/jnsv.56.266>
11. Baba N, Higashi Y, Kanekura TJN, 2013– Japanese black vinegar “Izumi” inhibits the proliferation of human squamous cell carcinoma cells via necroptosis. Nutrition and Cancer. 65(7): 1093–1097.
12. AHMET DOGAN DUMAN A, TÜRKMEN A, 2024– The determination of chemical composition in some vinegars and compliance with food legislation. African Journal of Biotechnology. 23(12):354–360.
13. PERUMPULI N, DILRUKSHI N, 2022– Vinegar: A functional ingredient for human health. International Food Research Journal, 29(5), pp.959–974.
14. KONDO T, KISHI M, FUSHIMI T, UGAJIN S, KAGA T, 2009– Vinegar intake reduces body weight, body fat mass, and serum triglyceride levels in obese Japanese subjects. Bioscience, biotechnology, and biochemistry,. 73(8), pp.1837–1843.
15. HALIMA H, SONIA G, SARRA K, HOUDA J, FETHI S, ABDALLAH A, 2018– Apple cider vinegar attenuates oxidative stress and reduces the risk of obesity in high–fat–fed male wistar rats. Journal of medicinal food, 21(1), pp.70–80.

16. JOHNSTON C, 2009 – Medicinal uses of vinegar. Complementary and alternative therapies and the aging population. Elsevier. 433–43.
17. KONDO S, TAYAMA K, TSUKAMOTO Y, IKEDA K, YAMORI Y, 2001–. Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats. Journal of Biotechnology and biochemistry. 65 (12): 2690–4.
18. SUGIYAMA A, SAITOH M, TAKAHARA A, SATOH Y, HASHIMOTO K, 2003– Acute cardiovascular effects of a new beverage made of wine vinegar and grape juice, assessed using an in vivo rat. Journal of Nature. 23 (9): 1291–6.
19. HONSHO S, SUGIYAMA A, TAKAHARA A, SATOH Y, NAKAMURA Y, HASHIMOTO KJB, 2005– A red wine vinegar beverage can inhibit the renin–angiotensin system: experimental evidence in vivo. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(7):1208–1210.
20. CARSON CF, ASH O, CHAKERA AJN, 2017– In vitro data support the investigation of vinegar as an antimicrobial agent for PD-associated Pseudomonas exit site infections. Nephrology, 22(2), pp.179–181.
21. CORTESIA C, VILCHÈZE C, BERNUT A, CONTRERAS W, GÓMEZ K, WAARD J, JACOBS R, KREMER L, TAKIFF H, 2014. Acetic acid, the active component of vinegar, is an effective tuberculocidal disinfectant. MBio, 5(2), pp.10–1128
22. ATIK D, ATIK C, KARATEPE C, 2016– The effect of external apple vinegar application on varicosity symptoms, pain, and social

- appearance anxiety: a randomized controlled trial. Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine. (1):6473–678.
23. JAFARI A, FALAH A, LOTFI H, ZAHRAEII A ,KAZEMI A, 2012– Vinegar as a removing agent of *Candida albicans* from acrylic resin plates. Jundishapur Journal of Microbiology. 5(2):388–392.
24. Tsuzuki W, Kikuchi Y, Shinohara K, Suzuki T, 1992– Fluorometric assay of angiotensin I–converting enzyme inhibitory activity of vinegars. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 39(2):188–192.
25. SAKAKIBARA S, MURAKAMI R, TAKAHASHI M, FUSHIMI T, MUROHARA T, KISHI M, 2010– Vinegar intake enhances flow–mediated vasodilatation via upregulation of endothelial nitric oxide synthase activity. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 74 (5):1055–1061.
26. SHAHINFAR H, AMINI R, PAYANDEH N, TORABYNASAB K, POURREZA S, JAZAYERI S, 2022– Dose–dependent effect of vinegar on blood pressure: A Grade–assessed systematic review and meta–analysis of randomized controlled trials. Complementary therapies in medicine, 71, 102887. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2022.102887>

## دراسة نسيجية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب

\*بلال الجاسم

\*\*أ.د. عزام العمري

### الملخص:

أجريت هذه الدراسة بهدف مقارنة تأثير خيط البولي غليكوليك أسيد (PGA) القابل للامتصاص مع خيط الحرير غير القابل للامتصاص في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب باستخدام غرزة بونيل. شملت التجربة 12 كلباً سليماً تراوحت أعمارها بين 10 أشهر و3 سنوات وأوزانها بين 15-20 كغ، وزعت عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين (6 كلاب لكل مجموعة). أجريت جميع العمليات تحت التخدير العام بمزيج من الزيلازين والكيتامين، تلاها شق جراحي بطول 3 سم على وتر أخيلس وخياطته بخيط PGA (المجموعة الأولى) وبخيط حرير (المجموعة الثانية). استمرت المتابعة السريرية والنسجية لمدة 90 يوماً وتضمنت الفحص الإكلينيكي اليومي والتقييم العياني إضافةً إلى الفحوص النسيجية المرضية باستخدام صبغة هيماتوكسلين والايوزين.

أظهرت النتائج أن خيوط PGA أثارت استجابة التهابية خفيفة ومؤقتة، تميزت بارتشاح خلوي معتدل وتحلل تدريجي للخيوط مما سمح بإعادة تنظيم ألياف الكولاجين وتكوين نسيج ندبي منظم ووظيفي. في المقابل أدى استخدام خيوط الحرير إلى استجابة التهابية مزمنة وشديدة، اتسمت بوجود كثيف للخلايا الالتهابية والعلاقة متعددة النوى حول الخيط، مع تكوين ورم حبيبي ونسيج ندبي متليف وغير منتظم وهو ما قد يعيق عملية الشفاء الطبيعية للوتر.

تشير هذه النتائج إلى أن خيوط PGA توفر بيئة نسيجية أكثر ملاءمة لإصلاح وتر أخيلس مقارنة بخيوط الحرير، من خلال استجابة التهابية أقل حدة وإعادة تشكيل أنسجة أكثر تنظيماً، مما يجعلها خياراً مفضلاً في جراحة إصلاح الأوتار.

دراسة نسجية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب

**الكلمات المفتاحية:** وتر أخيلس، خياطة الأوتار، خيوط جراحية، بولي غليكوليك أسيد (PGA)،  
حرير، شفاء الأوتار

---

\*طالب ماجستير - جراحة واشعة وتخدير- قسم الجراحة والولادة - كلية الطب البيطري - جامعة  
حماة.

\*\*أستاذ الجراحة والتخدير- قسم الجراحة والولادة- كلية الطب البيطري - جامعة حماة.

## A Histological Comparative Study of Using Polyglycolic Acid and Silk Sutures in Achilles Tendon Repair in Dogs

Belal Aljaseem

\*

\*\*Prof.Dr.Azzam Alomari

### Abstract:

This study was conducted to compare the effect of absorbable polyglycolic acid (PGA) sutures with non-absorbable silk sutures in Achilles tendon repair in dogs using the Bunnell technique. The experiment included 12 healthy dogs aged 10 months to 3 years and weighing 15–20 kg, randomly divided into two equal groups (6 dogs each). All surgeries were performed under general anesthesia with a combination of xylazine and ketamine, followed by a 3 cm longitudinal incision on the Achilles tendon and its repair using PGA sutures (group 1) and silk sutures (group 2). Clinical and histological follow-up continued for 90 days and included daily clinical examination, gross evaluation, and histopathological analysis using H&E staining.

The results showed that PGA sutures induced a mild and temporary inflammatory response characterized by moderate cellular infiltration and gradual suture degradation, allowing reorganization of collagen fibers and the formation of a well-structured and functional scar tissue. In contrast, silk sutures elicited a severe chronic inflammatory response, characterized by dense inflammatory cell infiltration and multinucleated giant cells around the suture, with granuloma formation and irregular fibrotic scar tissue, which may impair the natural healing process of the tendon.

These findings indicate that PGA sutures provide a more favorable tissue environment for Achilles tendon repair compared to silk sutures, by eliciting a milder inflammatory response and promoting more organized tissue remodeling, making them a preferable choice in tendon repair surgery.

**Keywords:** Achilles tendon, tendon repair, surgical sutures, polyglycolic acid (PGA), silk, tendon healing.

\*Master Student- Surgery, Radiology, and Anaesthesia-Department of Surgery and Obstetrics-Veterinary Medicine-Hama University.

\*\*Professor-Surgery and Anaesthesia -Department of Surgery and Obstetrics-Veterinary Medicine-Hama University.

## 1. المقدمة Introduction

يُصنّف الوتر ضمن الأنسجة الضامة الكثيفة المنتظمة، ويتألف من حزم كولاجينية متوازية مرتبة وفق محور الشد الميكانيكي، وتعتبر وظيفته الأساسية نقل القوة من العضلات إلى العظام وتحريك المفاصل مع قدرة عالية على تحمل قوى الشد وامتصاص الصدمات بفضل خاصيته المرنة اللزجة (Fossum, 2018). ورغم تشابهه البنيوي مع الرباط إلا أن الاختلاف الوظيفي واضح فالوتر يربط بين العضلة والعظم لتأمين الحركة بينما يربط الرباط عظمتين لتوفير الثبات (Asahara et al., 2017).

ويعد وتر أخيلس (الوتر العقبي) من أقوى وأثخن أوتار الطرف الخلفي في الكلاب حيث يسهم في بسط مفصل العرقوب وقبض الركبة ويؤدي دوراً أساسياً في أنشطة مثل القفز والركض. (Sugiyama, 2017) ورغم قوته البنيوية إلا أنه يعتبر أكثر عرضة للإصابة بسبب تعرضه المتكرر لقوى شد مفرطة خصوصاً في الكلاب النشيطة (Dams et al., 2019). وتكرار إصابته يجعله أكثر أهمية جراحياً مقارنة بأوتار أخرى مثل وتر العضلة العميقة أو ثلاثية الرؤوس الفخذية (Montgomery et al., 2003). وتعود قابلية وتر أخيلس للإصابة إلى اصطفااف أليافه الطولية المتوازية التي تجعله مقاوماً للشد الطولي لكنه ضعيف تجاه قوى الالتواء

ما يزيد من احتمالية التمزق (Liu et al., 2017). اكلينيكياً فإن الإصابات الكاملة تظهر بوضعية المشي الأخمصي مع سقوط مفصل العقب إضافةً إلى تورم وفقدان التوتر الطبيعي عند الجس (Kramer et al., 1998; Spinella et al., 2010). أما الإصابات المزمنة فقد تؤدي إلى القدم المفلطحة أو الاستلقاء الكامل لمشط القدم. وقد يُلاحظ في التمزق الجزئي ما يسمى بوقفة مخلب سرطان البحر (Piermattei and Flo, 1998). وفي الإصابات الثنائية الشديدة يعجز الحيوان عن المشي مع مضاعفات إضافية خصوصاً لدى الكلاب البدينة أو المصابة بأمراض جهازية (Piermattei and Flo, 1998).

وفي هذا السياق فإن تقنية الخياطة تُعد عاملاً حاسماً في نجاح الترميم الجراحي للأوتار إذ تحدد استقرار النسيج وسرعة الالتئام (Fossum, 2018). تعد غرزة بونيل (Bunnell Technique) خياراً واسع الاستخدام حيث تمرر الخيوط بشكل متعرج مائل عبر الوتر مما يحقق تماساً واسعاً مع النسيج وتوزيعاً متوازناً لقوى الشد. توفر هذه التقنية ثباتاً ميكانيكياً جيداً مع تقليل التوتر على أطراف القطع وتُطبق غالباً مع خيوط غير قابلة للامتصاص مثل البولي بروبيلين لضمان ثبات طويل الأمد (Fossum, 2018). كما يمكن تعزيزها بوسائل إضافية مثل الجبائر أو التثبيت الخارجي (Worth et al., 2004). وقد أظهرت دراسات أن هذه التقنية تحقق توازناً بين القوة وسهولة التطبيق مقارنة بتقنيات أخرى (Moore et al., 2004). كذلك فإن الخيوط الجراحية تُعد أداة أساسية في الطب البيطري والبشري على حد سواء، إذ تدعم التئام الأنسجة وتقلل المضاعفات وينبغي أن تتصف بالقوة الكافية والتوافق الحيوي وسهولة الربط والاستقرار في العقد فضلاً عن الامتصاص التدريجي عند استخدامها داخلياً (Naleway et al., 2015; Odili et al., 2023). وقد تطور مجال إنتاج الخيوط خلال العقود الأخيرة ليشمل أنواعاً متعددة تتناسب مع اختلاف النسيج والعمليات (Gierek et al., 2018).

## دراسة نسبية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب

ويعد خيط البولي غليكوليك أسيد (PGA) من أهم الخيوط الصناعية متعدد الألياف ومتوفر بشكل مطلي وغير مطلي، يتميز بمقاومة جيدة للعقد وتفاعل نسيجي بسيط. يفقد نحو 35% من قوته خلال 14 يوماً و65% خلال 21 يوماً، ويُنْتَص كلياَ خلال 60-90 يوماً. إضافةً لذلك فإنه يتمتع بخواص مضادة للجراثيم خاصة ضد المكورات العنقودية (Fossum, 2018; Schmiedt, 2012). أما خيط الحرير فهو خيط طبيعي غير قابل للامتصاص لكنه يفقد جزءاً كبيراً من قوته خلال أسابيع ويمتص تدريجياً خلال عامين. يتميز بسهولة الربط لكنه يحفز استجابة التهابية قوية مما يحد من استخدامه في حالات العدوى والجراحات العميقة (Grier, 1972; Schmiedt, 2012).

بناءً على ما سبق، فإن اختيار نوع الخيط الجراحي مع التقنية الملائمة للخياطة مثل غرزة بونيل يمثل عاملاً أساسياً لضمان نجاح ترميم وتر أخيلس واستعادة الوظيفة الحركية للكلاب المصابة وعليه تم اقتراح هذا البحث للمقارنة بين خيط البولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس باستخدام غرزة بونيل لدى الكلاب.

## 2. المواد وطرائق العمل Material and Methods:

### • حيوانات التجربة

أُجريت الدراسة على اثني عشر كلباً من كلا الجنسين تراوحت أعمارها بين 10 أشهر و3 سنوات وأوزانها بين 15-20 كغ. جرى اختيار الحيوانات وفق معايير الصحة العامة وخلوها من الأمراض المزمنة أو الإصابات العضلية الهيكلية السابقة. وزعت الكلاب عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين (6 كلاب لكل مجموعة) وأُبقيت ضمن ظروف بيئية وغذائية موحدة شملت الإيواء والتهوية ودرجة الحرارة والإضاءة الطبيعية مع توفير الماء والغذاء طوال مدة التجربة. نُفذت العمليات الجراحية على وتر أخيلس خلال الفترة الممتدة من حزيران حتى أيلول 2024 في

حظائر كلية الطب البيطري - جامعة حماة بعد تطبيق بروتوكول صيام غذائي (12 ساعة للطعام وساعتين للماء). استمرت المتابعة الإكلينيكية والسلوكية ثلاثة أشهر في المشفى البيطري التعليمي ومخابر الدراسات العليا.

#### • خطوات التخدير والتحضير الجراحي:

أُجريت جميع العمليات تحت التخدير العام باستخدام مزيج من زيلازين (2 ملغ/كغ، حقن عضلي) وكيثامين (5.5 ملغ/كغ، حقن عضلي)، حيث شملت العملية مرحلتين:

1. تحضيرية: لتهدئة الحيوان وتثبيط النشاط الحركي.

2. تخدير كامل: لتأمين العمق المطلوب للجراحة.

تم وضع الحيوانات في الاستلقاء الجانبي وتثبيت الأطراف بعد التأكد من عمق التخدير. شمل التحضير الجراحي غسل الجلد، حلاقة الشعر، تطهير بالكحول 95%، ثم بوفيدون-يود 10%، وأخيراً تغطية المنطقة بشاش معقم.

#### • الإجراء الجراحي:

أُجري شق طولي بطول 3 سم على الجانب الوحشي للساق فوق حذبة العقب حتى الوصول إلى وتر أخيلس، بعد قطع الوتر أعيدت خياطته وفق تقنية بونيل باستخدام:

• المجموعة الأولى: خيط بولي غليكوليك أسيد قابل للامتصاص (PGA USP 1).

• المجموعة الثانية: خيط حرير غير قابل للامتصاص (Silk USP 1).

أُغلق الجلد بغرز بسيطة بخيوط حرير رقم "1"، وتبع ذلك تعقيم موضعي وإعطاء مضاد حيوي وقائي وتثبيت الطرف بجبيرة خاصة لتقليل الحركة.

#### • المتابعة السريرية والفحوصات:

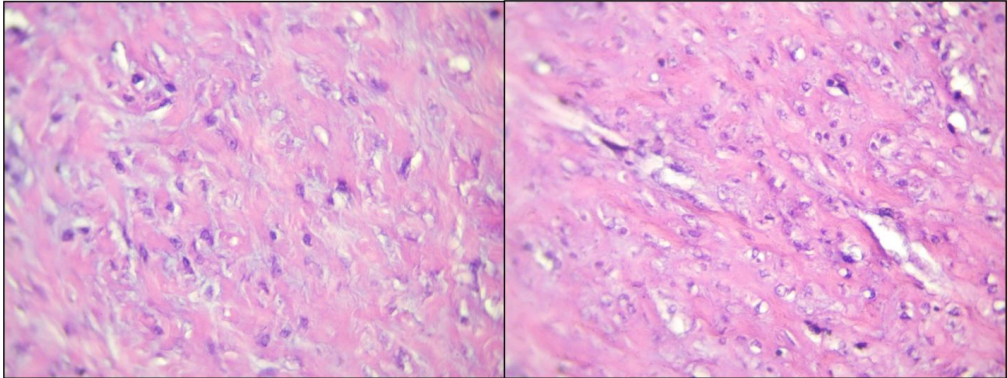
استمرت المتابعة السريرية لمدة 90 يوماً وشملت:

1. الفحص الإكلينيكي اليومي: والذي تضمن تقييم النشاط البدني، الشهية، الاستجابة للمؤثرات، إضافة إلى مراقبة الجرح من حيث التورم أو الاحمرار أو إفرازات قد تشير إلى وجود التهاب.
2. الفحص العياني المرضي النهائي: حيث جرى توثيق عند انتهاء التجربة التغيرات العيانية مثل الالتصاقات اللصيقة بين الوتر والأنسجة المحيطة ونوعية التئام النسيج من حيث انتظام الارتباط بين نهايتي الوتر.
3. تم إعدام الكلاب بالقتل الرحيم باستخدام T64.
4. الفحص النسيجي المرضي: تم جمع عينات نسيجية من منطقة الجراحة شملت الوتر المقطوع والمعالج، إضافة إلى عينات من الطرف السليم للمقارنة. حُفظت العينات في محلول فورمالين 10% لمدة 15 يوماً، ثم مرت بمراحل تحضيرية تضمنت كل من إزالة الماء بالكحول ثم التمرير في الزيلول والإشباع بالبارافين. قُطعت العينات بعد تشكيل قوالب شمعية إلى شرائح بسماكة 4-6 ميكرون وصُبغت بصبغة H&E لإظهار البنية الخلوية والأنسجة الضامة. جرى فحص الشرائح بالمجهر الضوئي وتوثيقها بالتصوير الرقمي لتحليل النتائج ومقارنتها بين المجموعتين.

## 3. النتائج Results:

## 3-1- نتائج الدراسة النسيجية لالتئام وتر أخيلس لدى الكلاب باستخدام خيوط PGA.

تظهر المشاهدات النسيجية التالية مقاطع من وتر أخيلس لكلب بعد خياطته باستخدام خيوط (Polyglycolic Acid)PGA وخط الحرير في مراحل الشفاء وتمثل هذه الصور مقاطع نسيجية مصبوغة بصبغة الهيماتوكسيلين والإيوزين (H&E) وهي صبغة شائعة الاستخدام في علم الأنسجة لتسليط الضوء على تفاصيل الخلايا والأنسجة. حيث تظهر الصورة (رقم 1) مقطعاً نسيجياً لوتر أخيلس يمر بمرحلة مبكرة إلى متوسطة من عملية الشفاء بعد الخياطة بخيط (PGA)، يغلب على الصورة اللون الوردى الفاتح إلى الأرجواني مما يشير إلى وجود كميات كبيرة من المادة الخلالية (extracellular matrix) والألياف الكولاجينية بالإضافة إلى وجود خلايا متنوعة (الصورة على اليسار)، ويلاحظ في الصورة على اليمين تشابه في اللون العام ولكن تظهر اختلافات طفيفة في كثافة الخلايا أو تنظيم الألياف مما يعكس ديناميكية عملية الشفاء (الصورة على اليمين).

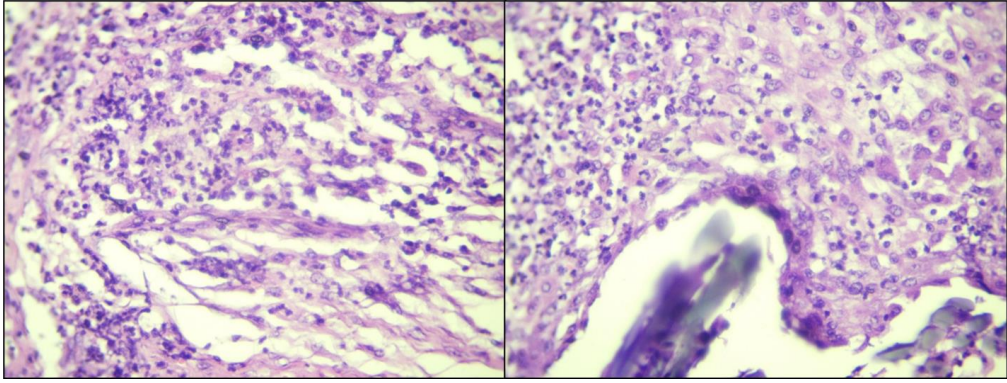


صورة رقم (1): توضح عملية الشفاء بعد الخياطة بخيط (PGA)

## 3-2- نتائج الدراسة النسيجية لالتئام وتر أخيلس لدى الكلاب باستخدام خيوط الحرير.

## دراسة نسيجية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب

تُظهر الصورة (رقم 2) مقطعاً نسيجياً لوتر أخيلس بعد الخياطة بخيط الحرير ويلاحظ وجود استجابة التهابية واضحة حيث تظهر كثافة عالية من الخلايا الالتهابية المنتشرة في النسيج، يسيطر اللون الأرجواني الداكن على الصورة مما يشير إلى وفرة النوى الخلوية (الصورة على اليسار). وتظهر الصورة (الصورة على اليمين) بوضوح استجابة الجسم الغريب للخيط الحريري حيث يظهر جزء من الخيط الجراحي (الذي يظهر عادةً بلون أزرق أو بنفسجي داكن ومظهر ليفي) محاطاً بتجمع كثيف من الخلايا الالتهابية خاصة الخلايا العملاقة متعددة النوى.



صورة رقم (2): توضح عملية الشفاء بعد الخياطة بخيط الحرير.

بناءً على المشاهدات النسيجية يمكن الإشارة إلى ما يلي:

- خيوط (PGA) القابلة للامتصاص: تثير استجابة التهابية أقل حدة وتكون مؤقتة حيث يتحلل الخيط تدريجياً، وتظهر عملية شفاء تتميز بإعادة تشكيل الألياف الكولاجينية وتكوين نسيج وتر جديد مع انحسار الالتهاب مع مرور الوقت.
- خيوط الحرير غير القابلة للامتصاص: تثير استجابة التهابية مزمنة وقوية تتميز بوجود خلايا عملاقة متعددة النوى وتكوين ورم حبيبي جسم غريب حول الخيط، وإن هذه الاستجابة المستمرة قد تؤثر على جودة شفاء الوتر وتكوين نسيج ندبي غير وظيفي.

بشكل عام تُظهر الصور النسيجية أن خيوط PGA توفر بيئة أفضل لشفاء وتر أخيلس من خلال استجابة التهابية أقل حدة وقابليتها للامتصاص مما يسمح بإعادة تشكيل أفضل للأنسجة. في المقابل تثير خيوط الحرير استجابة التهابية مزمنة قد تعيق عملية الشفاء الطبيعية وتؤدي إلى تكوين نسيج ندبي أكثر وضوحاً.

#### 4. المناقشة Discussion:

أظهرت الأوتار التي تم خياطتها بخيوط PGA في دراستنا تطوراً نسيجياً متوافقاً مع المراحل الفسيولوجية الطبيعية للشفاء التي أشارت إليها الدراسات المختلفة، حيث تميزت المراحل المبكرة بارتشاح التهابي معتدل يضم خلايا بلعمية وخلايا ليمفاوية وهو ما يعكس المرحلة الالتهابية الضرورية هذا يتفق مع ما توصل إليه (Sharma and Maffulli, 2005). ترافق ذلك مع زيادة في أعداد الخلايا الليفية وبداية ترسيب كولاجين من النوع الثالث بشكل غير منتظم. ومع

تقدم الشفاء فقد انخفضت الكثافة الالتهابية وبدأت الخلايا الليفية بالتمايز إلى خلايا وترية مع تحسن تدريجي في تنظيم ألياف الكولاجين وانتقالها من النوع الثالث غير الناضج إلى النوع الأول الناضج ميكانيكياً وهذه النتيجة لا تختلف عما ذكره (Docheva et al., 2015). مع ملاحظة أن انحسار الالتهاب مع تحلل الخيط يعكس التوافق الحيوي العالي لـ PGA الذي يقلل التحفيز المناعي طويل الأمد وهذا ينسجم مع نتائج (Yaltirik et al., 2003). وإن وجود خلايا عملاقة متعددة النوى متفرقة حول بقايا الخيط يعد استجابة بلعمية متوقعة لا تشير إلى التهاب مزمن. بالتالي يوفر PGA دعماً ميكانيكياً مؤقتاً يسمح للنسيج الوتري الملتئم بتحمل الأحمال تدريجياً مما ينتج نسيجاً ندبياً منظماً وقوياً وظيفياً.

وعلى العكس فقد أثارت خيوط الحرير استجابة نسيجية شديدة ومزمنة اتسمت بارتشاح التهابي كثيف ومطول مع تراكم واضح للخلايا العملاقة متعددة النوى حول ألياف الحرير الأمر الذي يتوافق مع الدراسة التي توصل إليها (Anderson et al., 2008) حيث أدى هذا التفاعل إلى

## دراسة نسجية مقارنة بين استخدام خيط بولي غليكوليك أسيد وخيط الحرير في خياطة وتر أخيلس لدى الكلاب

إفراز مستمر لسيتوكينات وإنزيمات تحللية أعاققت إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية وأخرت تمايز الخلايا الليفية ما نتج عنه ترتيب فوضوي لألياف الكولاجين وتكوين تليف كثيف وضعيف ميكانيكياً. هذه النتائج تتفق مع دراسات أوضحت أن الحرير كمادة بروتينية طبيعية يثير استجابة مناعية قوية وتكوين ورم حبيبي (Kakoei et al., 2010). كما أكدت دراسات أخرى أن الحرير يسبب تليفاً كثيفاً والتساقات تحد من الحركة الطبيعية مقارنة بخيوط PGA التي دعمت تكوين نسيج منظم وقوة شد أعلى (Lawrence and Davis, 2005) (Akeson et al., 1977). هذا ما توصلنا إليه في نتائج الدراسة التشريحية المرضية. أظهرت أبحاث أخرى أن الخيوط الطبيعية مثل الحرير والقطن تولد رد فعل التهابي مزمن عند زرعها في الأنسجة (Curreri et al., 1975) (Kanematsu et al., 1984)، بينما تميزت الخيوط الاصطناعية القابلة للامتصاص مثل PGA باستجابة أخف وأقصر زمنياً. دراسات مقارنة حديثة أكدت أن خيوط مثل PGA أدت إلى تنظيم أفضل للكولاجين واستجابة التهابية أقل مع نتائج ميكانيكية متفوقة مقارنة بالحرير (ERGÜN et al., 2019) (Milella et al., 2001). بينت مراجعات أخرى أن تحلل PGA المائي أطف على الأنسجة مقارنة بالتحلل الإنزيمي المرتبط بخيوط الحرير الذي يحفز استجابات مناعية قوية (Dennis et al., 2016) وقد توصلنا الى نتائج مماثلة لهذه الابحاث. وأكدت دراسات سابقة أن الخيوط الطبيعية ترتبط غالباً بمضاعفات التهابية طويلة الأمد (SUGARBAKER, 1985). تؤكد النتائج النسيجية أن خيط PGA يتفوق بوضوح على الحرير في إصلاح وتر أخيلس إذ يثير استجابة التهابية مؤقتة ومنضبطة تسمح بإعادة تشكيل نسيجي منظم وندبة قوية وظيفياً، بينما يؤدي الحرير إلى التهاب مزمن وتليف شديد يضعف جودة الشفاء. وعليه، توصي الأدلة السريرية الحديثة باستخدام الخيوط الاصطناعية القابلة للامتصاص مثل PGA لتحقيق نتائج أفضل في جراحة الأوتار.

**5. الاستنتاجات Conclusions:**

يستنتج من هذه الدراسة أن خيوط PGA القابلة للامتصاص توفر بيئة بيولوجية أكثر ملاءمة لشفاء وتر أخيلس، إذ تثير استجابة التهابية خفيفة ومؤقتة تُسهم في إعادة تشكيل الكولاجين وتكوين نسيج منظم وقوي وظيفياً. في المقابل فإن خيوط الحرير غير القابلة للامتصاص ترتبط باستجابة التهابية مزمنة يهيمن عليها وجود خلايا عملاقة متعددة النوى وتؤدي إلى تكوين نسيج ندبي غير منظم الأمر الذي يحد من جودة الشفاء الوظيفي للوتر.

**6. التوصيات Recommendations:**

- إجراء دراسات نسيجية باستخدام تقنيات متقدمة (مثل التلوينات المناعية أو المجهر الإلكتروني) لفهم أدق لآلية شفاء الأوتار.
- مقارنة أنواع خيوط جراحية أخرى (مثل خيوط البولي دايوكسانون أو البولي كابرولاكتون) لتحديد الأنسب في إصلاح الأوتار.
- تقييم الجوانب الوظيفية والميكانيكية للوتر بعد الشفاء (مثل قوة الشد والتحمل الحركي) وربطها بالمشاهدات النسيجية.

**7. المراجع References:**

1. Akeson, W., Amiel, D., Mechanic, G., Woo, S. L., Harwood, F., & Hamer, M. (1977). Collagen cross-linking alterations in joint contractures: changes in the reducible cross-links in periarticular connective tissue collagen after nine weeks of immobilization. *Connective tissue research*, 5(1), 15–19.
2. Anderson, J. M., Rodriguez, A., & Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in immunology*,
3. Asahara, H., Inui, M., & Lotz, M. K. (2017). Tendons and ligaments: connecting developmental biology to musculoskeletal disease pathogenesis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32(9), 1773-1782.

4. Curreri, P. W., Wilterdink, M. E., & Baxter, C. R. (1975). Characterization of elevated fibrin split products following thermal injury. *Annals of Surgery*, 181(2), 157.
5. Dams, O. C., van den Akker-Scheek, I., Diercks, R. L., Wendt, K. W., Bosma, E., van Raaij, T. M., Munzebrock, A. V., Zijlstra, W. P., Zwerver, J., & Reininga, I. H. (2019). The recovery after Achilles tendon rupture: a protocol for a multicenter prospective cohort study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 20, 1-8.
6. Dennis, C., Sethu, S., Nayak, S., Mohan, L., Morsi, Y., & Manivasagam, G. (2016). Suture materials—Current and emerging trends. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 104(6), 1544–1559.
7. Docheva, D., Müller, S. A., Majewski, M., & Evans, C. H. (2015). Biologics for tendon repair. *Advanced drug delivery reviews*, 84, 222-239.
8. ERGÜN, S., Alakbarov, A., YILMAZ, A., Karademir, B., & Akgur, U. (2019). The Effect of Different Suture Materials on Achilles Tendon Metabolism: A Preliminary in vivo Study of mRNA levels in Rabbits. *MLTJ-MUSCLES LIGAMENTS AND TENDONS JOURNAL*, 9(4).
9. Fossum, T. W. (2018). *Small Animal Surgery E-Book: Small Animal Surgery E-Book*. Elsevier Health Sciences.
10. Gierek, M., Kuśnierz, K., Lampe, P., Ochała, G., Kurek, J., Hekner, B., Merkel, K., & Majewski, J. (2018). Absorbable sutures in general surgery—review, available materials, and optimum choices. *Polish Journal of Surgery*, 90(2), 34-37.
11. Grier, R. (1972). *Surgical Sutures-Part II: Indications for Different Suture Materials and Comparable Costs*.
12. Kakoei, S., Baghaei, F., Dabiri, S., Parirokh, M., & Kakoei, S. (2010). A comparative in vivo study of tissue reactions to four suturing materials. *Iranian Endodontic Journal*, 5(2), 69.
13. Kanematsu, T., Takenaka, K., Matsumata, T., Furuta, T., Sugimachi, K., & Inokuchi, K. (1984). Limited hepatic resection effective for selected cirrhotic patients with primary liver cancer. *Annals of Surgery*, 199(1), 51.

14. Kramer, M., Schimke, E., Gerwing, M., Schleich, S., & Michele, U. (1998). Diseases of the achilles tendon in dogs and cats. *Tierarztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/heimtiere*, 26(4), 238-246.
15. Lawrence, T. M., & Davis, T. R. (2005). A biomechanical analysis of suture materials and their influence on a four-strand flexor tendon repair. *The Journal of hand surgery*, 30(4), 836–841.
16. Liu, L., Hindieh, J., Leong, D. J., & Sun, H. B. (2017). Advances of stem cell based-therapeutic approaches for tendon repair. *Journal of orthopaedic translation*, 9, 69-75.
17. Milella, E., Ramires, P., Brescia, E., La Sala, G., Di Paola, L., & Bruno, V. (2001). Physicochemical, mechanical, and biological properties of commercial membranes for GTR. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 58(4), 427–435.
18. Montgomery, R., Fitch, R., & Slatter, D. (2003). Muscle and tendon disorders. *Textbook of Small Animal Surgery*. 3rd ed. Saunders, Philadelphia, 2266-2267.
19. Moores, A. P., Owen, M. R., & Tarlton, J. F. (2004). The three- loop pulley suture versus two locking- loop sutures for the repair of canine achilles tendons. *Veterinary Surgery*, 33(2), 131-137.
20. Naleway, S. E., Lear, W., Kruzic, J. J., & Maughan, C. B. (2015). Mechanical properties of suture materials in general and cutaneous surgery. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 103(4), 735-742.
21. Odili, C. C., Ilomuanya, M. O., Sekunowo, O. I., Gbenebor, O. P., & Adeosun, S. O. (2023). Knot strength and antimicrobial evaluations of partially absorbable suture. *Progress in Biomaterials*, 12(1), 51-59.
22. Piermattei, D., & Flo, G. (1998). Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair. *JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL EDUCATION*, 25, 29-29.

23. Schmiedt, C. W. (2012). Suture material, tissue staplers, ligation devices and closure methods. *Veterinary surgery: small animal*. St Louis: Elsevier Saunders, 187-200.
24. Sharma, P., & Maffulli, N. (2005). Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *JBJS*, 87(1), 187–202.
25. Spinella, G., Tamburro, R., Loprete, G., Vilar, J., & Valentini, S. (2010). Surgical repair of Achilles tendon rupture in dogs: a review of the literature, a case report and new perspectives. *Veterinari Medicina*, 55, 303-310.
26. Sugiyama, T. (2017). Evaluation of tibiotarsal transarticular immobilization techniques and kinematic study of the gastrocnemius muscle-tendon unit in dogs [The University of Melbourne].
27. Worth, A., Danielsson, F., Bray, J., Burbidge, H., & Bruce, W. (2004). Scientific Articles-Ability to work and owner satisfaction following surgical repair of common calcanean tendon injuries in working dogs in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 52(3), 109-116.
28. Yaltirik, M., Dedeoglu, K., Bilgic, B., Koray, M., Ersev, H., Issever, H., Dulger, O., & Soley, S. (2003). Comparison of four different suture materials in soft tissues of rats. *Oral diseases*, 9(6), 284–286.

## الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8<sup>+</sup> و CD4<sup>+</sup> المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبي بمراحله المبكرة

د. يانا حسن \*

د. نادر عبد الله \*\*

د. زهير الشهابي \*\*\*

### □ ملخص

**الخلفية:** أثبتت أدلة دامغة القيمة الإنذارية للخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، وخاصة في سرطان الثدي ثلاثي السلبي (TNBC). ومع ذلك، لم يُجرَ سوى عددٌ محدودٌ من الدراسات التي بحثت في أهمية مجموعات فرعية من الخلايا التائية في TILs.

**الهدف:** هدفت هذه الدراسة إلى التحقيق في القيمة الإنذارية للعلامات المناعية، بما في ذلك الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) السدوية، والخلايا التائية CD8<sup>+</sup>، والخلايا التائية CD4<sup>+</sup> في سرطان الثدي ثلاثي السلبي غير النقلي.

**المواد والطرائق:** تمت مراجعة 109 مريضات مصابات بـ TNBC من المرحلة الأولى إلى الثالثة، ممن تلقين العلاج الكيميائي المساعد القائم على الأنتراسيكلين-التاكسان في مستشفى اللاذقية الجامعي، اللاذقية، سوريا بين عامي 2020-2024. قُيِّمت كثافة الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) السدوية، بالإضافة إلى وجود الخلايا التائية السدوية CD8<sup>+</sup> و CD4<sup>+</sup> باستخدام الهيماتوكسيلين والإيوزين والتلوينات الكيميائية النسيجية المناعية. حُلَّت البقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات باستخدام نماذج كابلان-ماير وانحدار كوكس (COX).

**النتائج:** لوحظت كثافة عالية من TILs السدوية (≤30%) لدى 59.6% من المريضات وارتبطت بعمر أصغر (P=0.009)، وأورام أصغر حجماً (P=0.026)، وغياب إصابة العقد اللمفاوية (P=0.017). أظهرت المريضات ذوات الكثافة العالية من TILs السدوية تحسناً كبيراً

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

---

في البقيا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات (72.3% مقابل 40.9%،  $P=0.002$ ). ارتبط ارتفاع CD8+ بانخفاض معدل النكس (نسبة الخطر: 3.38،  $P<0.001$ )، بينما لم تظهر CD4+ أهمية إنذارية ( $P=0.41$ ). أكد التحليل متعدد المتغيرات أن TILs (نسبة الخطر: 2.05) و CD8+ (نسبة الخطر: 3.12) كانت مؤشرات إنذارية مستقلة إلى جانب حالة العقد اللمفاوية (N3: نسبة الخطر: 4.91)، وحجم الورم (T3-T4: نسبة الخطر: 1.72)، ودرجة الورم (G3: نسبة الخطر: 2.18).

الاستنتاج: بالإضافة إلى الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، فإن إدراج الخلايا التائية CD8+ قد يؤدي إلى تحسين النموذج الإنذاري لسرطان الثدي ثلاثي السلبية غير النقلي بشكل أكبر بما يتجاوز تضمين العوامل التقليدية وحدها.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC)، الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، العلاج الكيميائي المساعد، الخلايا CD8+، الخلايا CD4+.

---

\* طالبة دكتوراه - قسم الأورام، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

[yana.hasan@latakia-univ.edu.sy](mailto:yana.hasan@latakia-univ.edu.sy)

\*\* أستاذ - قسم الأورام، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

\*\*\* أستاذ - قسم التشريح المرضي، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

## The Prognostic Role of Tumor-infiltrating CD8 and CD4 T Lymphocytes in Early Stage Triple Negative Breast Cancer

Dr. Yana Hasan \*

Dr. Nader Abdullah \*\*

Dr. Zuheir Alshehabi \*\*\*

### Abstract

**Background:** Accumulating evidence supports the prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), particularly in triple-negative breast cancer (TNBC). However, the role of specific T-cell subsets within TILs remains insufficiently explored.

**Aim:** This study aimed to investigate the prognostic value of immune markers, including stromal TILs (sTILs), CD8<sup>+</sup> T cells, and CD4<sup>+</sup> T cells in non-metastatic TNBC.

**Materials and methods:** In this prospective cohort study, we analyzed 109 patients with stage I-III TNBC who received adjuvant anthracycline-taxane chemotherapy at Lattakia University Hospital, Syria (2020-2024). Stromal TIL density, CD8<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup> infiltration were assessed using hematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry. Three-year recurrence-free survival (RFS) was analyzed using Kaplan-Meier estimates and Cox proportional hazards models.

**Results:** High sTILs ( $\geq 30\%$ ) were observed in 59.6% of patients and correlated with younger age ( $P=0.009$ ), smaller tumor size ( $P=0.026$ ), and node–negative disease ( $P=0.017$ ). Patients with high TILs exhibited significantly better 3–year RFS (72.3% vs. 40.9%,  $P=0.002$ ). Elevated CD8<sup>+</sup> T–cell infiltration was associated with reduced recurrence (hazard ratio [HR]: 3.38,  $P<0.001$ ), while CD4<sup>+</sup> T–cell infiltration showed no prognostic relevance ( $P=0.41$ ). Multivariable analysis confirmed TILs (HR: 2.05) and CD8<sup>+</sup> (HR: 3.12) as independent predictors, alongside nodal involvement (N3: HR: 4.91), large tumor size (T3–T4: HR: 1.72), and high tumor grade (G3: HR: 2.18).

**Conclusion:** Beyond traditional clinicopathological factors, incorporating CD8<sup>+</sup> T–cell density alongside TILs may enhance prognostic stratification in non–metastatic TNBC, offering potential clinical utility in risk assessment

**Keywords:** Triple–negative breast cancer (TNBC), tumor–infiltrating lymphocytes (TILs), adjuvant chemotherapy, CD8<sup>+</sup> T cells, CD4<sup>+</sup> T cells.

---

\* PHD Student -Department of Oncology, Faculty of Medicine,  
Lattakia University, Lattakia, Syria [yana.hasan@latakia-univ.edu.sy](mailto:yana.hasan@latakia-univ.edu.sy)

\*\* Professor -Department of Oncology, Faculty of Medicine, Lattakia  
University, Lattakia, Syria.

\*\*\* Professor -Department of Pathology, Faculty of Medicine,  
Lattakia University, Lattakia, Syria.

### مقدمة:

سرطان الثدي هو أكثر أنواع السرطان شيوعاً بين النساء في جميع أنحاء العالم. تُقدّر الوكالة الدولية لأبحاث السرطان أنّ معدل الإصابة بسرطان الثدي سيزداد بأكثر من 40% وأنّ معدل الوفيات سيزداد بأكثر من 50% بحلول عام 2040 [1]. يُمكن تصنيف سرطان الثدي إلى أربعة أنواع فرعية: Luminal A، Luminal B، والمُخصَّب بـ HER2، وثلاثي السلبية [2]. من بينها، يُعد سرطان الثدي ثلاثي السلبية (triple-negative breast cancer) (TNBC) ذو النتائج الكيميائية المناعية النسيجية السلبية لمستقبلات الإستروجين ومُستقبلات البروجسترون وHER2 في أنسجة سرطان الثدي مرضاً غير متجانسٍ مع إنذارٍ سيئٍ للغاية [3]. يُمثّل TNBC 15-20% من سرطانات الثدي [4]. نظراً إلى نمطه الظاهري الفريد، يتمّ علاج سرطان الثدي ثلاثي السلبية بشكلٍ أساسيٍّ بالعلاج الكيميائي السام للخلايا [5].

تحتل البيئة الدقيقة المناعية للورم باهتمام كبير في نطاق الواسمات الحيوية التنبؤية والإنذارية. بوصفها مُلتقى تفاعلات الورم-المُضيف، فإنّ لهذه البيئة تأثيراً بالغاً في تكوّن الورم (tumorigenesis)، ليس فقط من حيث بدء السرطان وتقدمه، ولكن أيضاً من حيث الاستجابة للتدخلات العلاجية [6]. ومن بين العناصر التي استأثرت باهتمام بالغ في السنوات الأخيرة الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (tumor-infiltrating lymphocytes) (TILs)، التي تُمثّل خطّ الدفاع الأول للجهاز المناعي داخل الورم. وقد قدّر تنوع وكثافة TILs كمؤشّر للاستجابة المناعية، حيثُ أكّدت العديد من الدراسات تأثير هذه الخلايا على إنذار السرطان [7].

تُمثّل الخلايا التائية السامة للخلايا CD8+ المجموعة المهيمنة ضمن TILs، القادرة على التعرف على الخلايا السرطانية ومهاجمتها من خلال التعرف على مستضداتٍ مُحددةٍ تظهر على جزيئات مُعدّة التوافق النسيجي الرئيسي من الصنف الأول (MHC class I). بمجرد تنشيطها، تُطلق هذه الخلايا التائية CD8+ إنزيماتٍ حاملة للبروتين وحالة للخلايا تؤدي إلى موت الخلايا

السرطانية [8]. وتتعرّز الآليات المضادة للسرطان لهذه الخلايا بإفراز إنترفيرون-غاما، الذي يُعزّز تثبيط نمو الخلايا الخبيثة ويحفّز موتها المُبرمج [9].

إن القيمة الإنذارية للخلايا المفاوية التائية CD4+ في سرطان الثدي ثلاثي السلبية مُعقّدة وتعتمد على النمط الظاهري الخاص بها ووظيفتها. يمكن للخلايا المفاوية التائية CD4+ أن تتمايز إلى مجموعات فرعية مختلفة من الخلايا التائية المساعدة (Th1، Th2، Th17)، والخلايا التائية التنظيمية (Treg)، والخلايا التائية الجريبية، ولكل منها أدوار مميزة [9]. تساعد الخلايا CD4+ في القتل الخلوي الذي تقوم به الخلايا CD8+، مما يسهم بفعالية في الاستجابة المناعية للورم [9]. من ناحية أخرى، يمكن أن تزيد الخلايا التائية التنظيمية (Treg)، والتي تُشكّل 10% من إجمالي الخلايا CD4+ في الدم المحيطي للأفراد الأصحاء، إلى 30-50% داخل آفات الورم، مما يُبطل تنشيط الخلايا CD8+ و CD4+، ويلعب دوراً حاسماً في تثبيط المناعة وتكوين الأوعية الدموية، وقد يُعيق الاستجابة المناعية المضادة للأورام في الجسم. يمكن أن يشمل هذا التراكم الكبير للمجموعات الفرعية من الخلايا التائية التنظيمية (Treg) المثبطة للمناعة تسليلاً عالياً للخلايا FOXP3+ [6]. يمكن لهذه الخلايا التنظيمية FOXP3+ أن تقمع الاستجابات المناعية ضدّ المستضدات الذاتية، وتُعيق المناعة المضادة للأورام، وهي مؤشّر تنبؤي للنتائج السيئة [10]. وقد ثبت أن الارتباط بين الخلايا التائية التنظيمية والخلايا التائية CD8+ المتسللة له أهمية إنذارية وتنبؤية، وذلك حسب موقع وكثافة كل مجموعة فرعية [5].

#### أهمية البحث وأهدافه:

- **الهدف الرئيسي:** تحديد القيمة الإنذارية للخلايا المفاوية المتسللة للورم (TILs) في التنبؤ بحدوث النكس خلال ثلاث سنوات لدى مريضات TNBC اللواتي تلقين العلاج الكيميائي المساعد.

- **الهدفُ الثانويُّ:** تحديدُ القيمةِ الإنذاريةِ لكلِّ من الخلايا اللَّمفاويةِ التَّائيةِ  $CD8^+$  و  $CD4^+$  في التنبؤِ بحدوثِ النَّكسِ خلالَ ثلاثِ سنواتٍ.

#### مواد وطرائق البحث:

- **مببرات البحث:**

تتمثَّلُ العواملُ الإنذاريةُ الرَّئيسيةُ في TNBC بمراحلهِ الباكرةِ في عبءِ الورمِ النَّشريحي. وعلى الرُّغمِ من إدراجِ أهميَّةِ الخلايا اللَّمفاويةِ المُتسلِّلةِ للورمِ (TILs) كواسمٍ حيويِّ إنذاريِّ في العديدِ من المبادئِ التَّوجيهيةِ الدَّوليةِ لـ TNBC [11] [12]، إلَّا أنَّ التَّوصيفَ الأكثرَ تفصيلاً للبيئةِ المناعيةِ للورمِ قد يكونُ مفيداً لمزيدٍ من التَّصنيفِ الإنذاري. في هذهِ الدَّراسةِ، سعينا إلى تحديدِ القيمةِ الإنذاريةِ لـ TILs والخلايا التَّائيةِ  $CD8^+$  و  $CD4^+$  في هذا النَّوعِ الفرعيِّ من سرطانِ النَّدى. ستدعمُ هذهِ الأدلَّةُ بقوةً تطبيقَ واسمٍ حيويِّ جديدٍ في أنظمةِ تحديدِ مرحلةِ سرطانِ النَّدى الإنذاريةِ المُستقبليةِ لسرطانِ النَّدى ثلاثيِ السَّلبيةِ بمراحلهِ الباكرةِ.

- **عيَّةُ المرضى وطرائقُ الدَّراسة:**

تصميمُ الدَّراسة: دراسةٌ حشديةٌ تقدِّميةٌ (prospective cohort study).  
العيَّة: شملتِ الدَّراسةُ 109 من مريضاتِ سرطانِ النَّدى ثلاثيِ السَّلبيةِ غيرِ النَّقائلي (أي، في المراحلِ I-III) اللواتي خضعنَ لجراحةِ استئصالِ النَّدى وتلقينَ العلاجِ الكيماويِّ المُساعدَ (من دونِ تلقِّيِ أيِّ علاجٍ قبلَ الجراحةِ) في مستشفى اللَّاذقيةِ الجامعيِّ بين عامي 2020-2024م وتمَّت متابعتُهُنَّ لمدَّةِ ثلاثِ سنواتٍ على الأقلِّ، وحققنَ الشُّروطَ التالية:

- توفُّرُ عيَّاتٍ نسيجيةٍ من الورمِ الأوَّليِّ (قبلَ العلاجِ الكيماويِّ) مُنبتةً بالفورمالين ومغموسةً بالبارافين.
- متابعةٌ سريريةٌ لمدَّةِ 3 سنواتٍ على الأقلِّ لتقييمِ البُقايا الخاليةِ من النَّكسِ.

الدَّورُ الإِنذَارِيُّ لِلخَلَايَا المَمْفَاوِيَّةِ التَّنَائِيَّةِ CD8+ و CD4+ المُتَسَلِّلَةِ للورم في سرطانِ الثديِ ثَلَاثِي السَّلْبِيَّةِ  
بمراحله المبكرة

- توفُّرُ بياناتٍ كاملةٍ عن العمرِ، والخصائصِ السَّريريَّةِ المرضيَّةِ للورم.
- الموافقةُ على الدُّخولِ في الدراسةِ.
- استُبعِدَتِ المرضياتُ عندَ وجودِ أحدِ المعاييرِ التَّالِيَةِ:
  - وجودُ نقائلٍ بعيدةٍ (المرحلة IV) عندَ التَّشخيصِ.
  - سرطاناتُ الثديِ غيرُ TNBC.
  - تلقِّيَ علاجٍ كيميائيٍّ أو شعاعيٍّ قبلَ الجراحةِ.
  - وجودُ قصَّةٍ سابقةٍ لسرطانٍ آخرَ.
  - العيِّناتُ النَّسِيجِيَّةُ غيرُ الكافيةِ أو منخفضةِ الجودةِ (تلفُ النَّسيجِ أو عدمُ وجودِ مناطقٍ غنيَّةٍ بالورم).
- نقصُ في البياناتِ السَّريريَّةِ أو المُتَابَعَةِ (مثلُ فُقدانِ المُتَابَعَةِ قبلَ 3 سنوات).
- المرضياتُ غيرُ الرَّاغباتِ في المشاركةِ في الدراسةِ (اللواتي رفضنَ الموافقةَ).

جمعُ البيانات:

جُمِعَتِ العيِّناتُ في هذهِ الدَّراسةِ بشكلٍ تَقَدِمِيٍّ (prospectively) للمريضاتِ اللواتي نَمَّ تشخيصهنَّ وعلاجهنَّ أثناءَ فترةِ الدَّراسةِ بعدَ أخذِ موافقةٍ خطيَّةٍ من المريضةِ. وُنَقَّتِ البياناتُ التَّالِيَةُ عبرَ أضايبيرِ المرضياتِ:

- العمر عندَ تشخيصِ سرطانِ الثديِ ( $> 50$  سنة،  $\leq 50$  سنة)
- حجم الورم البدئي: (T1-T2، T3-T4)
- إصابة العقد اللمفاوية: (N0، N1، N2)
- درجة الورم: (GI، GII، GIII)
- مرحلة السرطان: (IA، IIA، IIB، IIIA، IIIB، IIIC)

- خضعت جميع المريضات لجراحة استئصال الثدي وتلقين العلاج الكيميائي المساعد التالي:  
دوكسوروبيسين (60 مغ/م<sup>2</sup>) + سيكلوفوسفاميد (600 مغ/م<sup>2</sup>) كل 3 أسابيع لـ 4 دورات. ثم إمّا:
- باكليتاكسيل 175 مغ/م<sup>2</sup> كل 3 أسابيع أو بشكل أسبوعي لـ 4 دورات.
  - أو (باكليتاكسيل 175 مغ/م<sup>2</sup> + كاربوبلاتين بجرعة مساحة تحت المنحني 6) كل 3 أسابيع لـ 4 دورات.

### قياس TILs السدوية:

تمّ تحديد كمية TILs السدوية في مقاطع الهيماتوكسيلين والأيوزين من خزعات الاستئصال الجراحي قبل بدء العلاج الكيميائي المساعد. وقُيِّمت TILs وفقاً لمعايير مجموعة العمل الدولية للخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (International TILs Working Group) [13]. تمّ تحديد المنطقة السدوية (أي المنطقة التي تشغلها خلايا غير سرطانية) مع استبعاد مواقع الخزعات السابقة، أو مناطق النخر، أو المناطق ذات النكف النسيجي. قُيِّمت مستويات TILs داخل المنطقة السدوية، وبلغت نسبتها من 0% إلى 100% من الأنسجة السدوية. بمعنى آخر تُعرَّف نسبة TILs السدوية بأنها: (مساحة السدى المحتوية على خلايا لمفاوية/المساحة الكلية للسدى)  $\times 100$ . ونظراً لعدم تحديد عتبات TILs المثلى فقد اعتمدنا التعريف المُعتمد في الدراسات التي تناولت TILs في سياق العلاج الكيميائي المساعد في تحديد TILs المرتفعة وهي  $\leq 30\%$  [14].

### التلوينات الكيميائية النسيجية المناعية (IHC):

أجريت التلوينات الكيميائية النسيجية المناعية باستخدام الأضداد وحيدة النسيلة التآلية مع ضبط التركيز والزمن حسب توصيات الشركة المُصنعة:

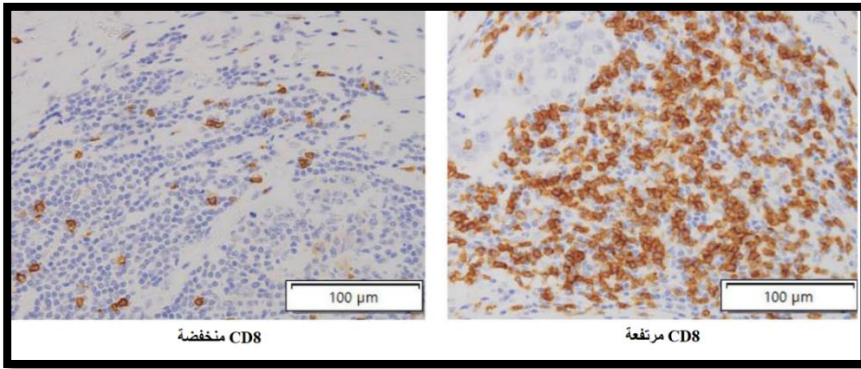
○ CD45 (LCA): (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

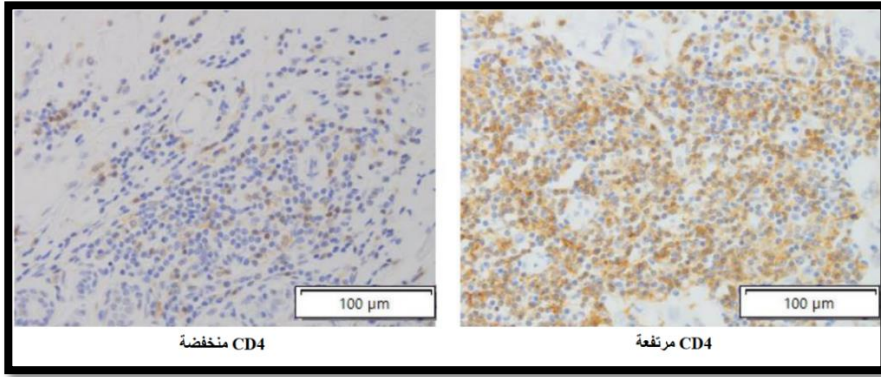
○ CD8 : (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

○ CD4 : (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

حُسِبَت أعدادُ الخلايا المفاوية CD4<sup>+</sup> و CD8<sup>+</sup> كعددِ الخلايا الإيجابية/مم<sup>2</sup> في سُدى الورم. رُصِدَت كُلُّ عَيْنَةٍ بالمجهرِ الضَّوئي مع تكبير 20× أو 40×. واختيرت المناطقُ العشرُ التي تحتوي على أكبرِ عددٍ من الخلايا المتلونة إيجابياً في السُدى. بعدَ ذلك، تمَّ حسابُ عددِ الخلايا الإيجابية لكلِّ مم<sup>2</sup> في هذه المناطق يدوياً. صُنِّفَت الأورام التي تضمُّ عدداً من الخلايا الإيجابية يساوي أو يفوقُ قيمةَ الرِّقم الوسيطِ على أنَّها مُرتفعةٌ، بينما اعتُبرت البقيةُ مُنخفضةً من أجلِ تحليلِ البُقايا الخالية من النَّكسِ (الأشكال 1، 2).



الشكل (1): مقطع بتكبير 400×، IHC يُظهر مستويات مرتفعة ومنخفضة من الخلايا CD8<sup>+</sup>



الشكل (2): مقطع بتكبير  $\times 400$ ، IHC يُظهر مستويات مرتفعة ومنخفضة من الخلايا  $CD4^+$

#### المتابعة والنتائج:

- مدّة المتابعة: ثلاث سنوات من تاريخ انتهاء العلاج الكيميائي.
- الفحوصات الدورية (كل 3-6 أشهر): فحص سريري، تصوير الثدي، تصوير مقطعي/رنين مغناطيسي عند الضرورة.
- تعريف النكس: أي ظهور موضعي، ناحي، أو نقائل بعيدة.
- معدّل البقايا الخالية من النكس لـ 3 سنوات (3 year RFS): نسبة المريضات اللواتي لم يحدث لديهنّ نكس من انتهاء العلاج الكيميائي وحتى 3 سنوات.

#### الدراسة الإحصائية:

جُمعت البيانات على استبانة خاصة لكل مشاركة، وأدخلت على برنامج Microsoft Excel 365، ومن ثمّ صُدّرت لإجراء التّحليل الإحصائي إلى برنامج IBM SPSS النسخة 26. اعتبرت القيمة التنبؤية التي تقل عن 0.05 ( $P \text{ value} < 0.05$ ) مهمة إحصائياً.

الإحصاء الوصفي (Description Statistical): للمتغيرات الفئوية، قمنا بالاعتماد على التكرار، والنسب المئوية، والأشكال البيانية. للمتغيرات المتواصلة، استُخدمت مقاييس النزعة المركزية (المتوسط الحسابي والانحراف المعياري، الوسيط والمدى الربيعي، المجال).

الإحصاء الاستدلالي (Inferential Statistical): بالنسبة لاختبار العلاقات الإحصائية بين الخصائص القاعدية قمنا باستخدام الأساليب الإحصائية التالية:

- ❖ اختبار كاي مربع ( $X^2$ -test): لاختبار الفروق القاعدية في المتغيرات الفئوية بين المجموعات.
- ❖ طريقة كابلان-ماير (Kaplan-Meier Method): لتقدير معدل البقاء الخالية من النكس (RFS) مع فواصل ثقة 95%. اختبار Log-rank للمقارنات الأحادية.
- ❖ انحدار مخاطر كوكس النسبية (Cox Proportional Hazards Regression).

#### النتائج:

بلغ عدد المريضات مع كثافة TILs مرتفعة 65 مريضة (59.6%)، وعدد المريضات مع كثافة TILs منخفضة 44 مريضة (40.4%). أظهرت المريضات ذوات الكثافة المرتفعة من TILs نسباً أعلى بشكلٍ مهمٍ إحصائياً من حيث: العمر الأصغر ( $p=0.009$ )، والأورام البدئية الأصغر حجماً ( $p=0.026$ )، وعدم إصابة العقد المفاوية ( $p=0.017$ )، ودرجة الورم النسيجية العالية ( $p=0.037$ ) مقارنةً بمجموعة الكثافة المنخفضة. بينما لم تُسجل فروق ذات دلالة إحصائية في توزيع المراحل التشريحية ( $p=0.224$ ). يعرض الجدول (1) مقارنةً للخصائص السريرية والورمية والعلاجية للمريضات وفقاً لكثافة TILs.

الجدول (1): الخصائص السريرية والورمية للمريضات وفقاً لكثافة TILs

المتغير	TILs مرتفعة (65 مريضة)	TILs منخفضة (44 مريضة)	X <sup>2</sup> -test	P-value
<b>الفئة العمرية</b>				
> 50 سنة	47 (72.3%)	21 (47.7%)	6.756	<b>0.009</b>
≤ 50 سنة	18 (27.7%)	23 (52.3%)		
<b>حجم الورم البدني (T)</b>				
T1-T2	50 (76.9%)	25 (56.8%)	4.941	<b>0.026</b>
T3-T4	15 (23.1%)	19 (43.2%)		
<b>فئة إصابة العقد اللمفاوية (N)</b>				
N0	27 (41.5%)	12 (27.3%)	10.18	<b>0.017</b>
N1	21 (32.3%)	14 (31.8%)		
N2	7 (10.8%)	15 (34.1%)		
N3	10 (15.3%)	3 (6.8%)		
<b>درجة الورم (G)</b>				
1	14 (21.5%)	19 (43.2%)	6.552	<b>0.037</b>
2	21 (32.3%)	13 (29.5%)		
3	30 (46.2%)	12 (27.3%)		
<b>مرحلة السرطان (stage)</b>				
IA	12 (18.5%)	5 (11.4%)	6.944	0.224
IIA	20 (30.8%)	10 (22.7%)		

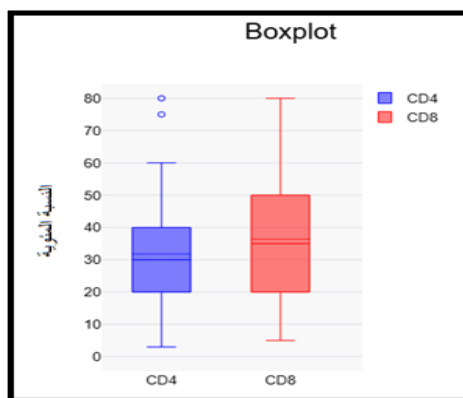
الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

IIB	12 (18.5%)	8 (18.2%)
IIIA	8 (12.3%)	12 (27.3%)
IIIB	2 (3%)	4 (9.1%)
IIIC	11 (16.9%)	5 (11.3%)

يوضّح الجدول (2) والشكل (1) تحليلاً كمياً لـ CD8+ و CD4+ في عينات الورم لمريضات البحث.

الجدول (2): توزيع المكونات الفرعية لـ TILs

المكوّن	المتوسط ± انحراف معياري (%)	الوسيط (المدى الربيعي)	مرتفع (≤ الوسيط)	مخفض (> الوسيط)
CD4+	15.2 ± 31.7	30 (20-40)	54 (49.5%)	55 (50.5%)
CD8+	18.3 ± 36.4	35 (20-50)	58 (53.2%)	51 (46.8%)



الشكل (3): توزُّع نسبِ المكوّناتِ الفرعيّةِ لـ TILs

بعدَ متابعةٍ لمُدّةٍ ثلاثِ سنوَاتٍ، لوحِظَ حدوثُ النَّكْسِ في 44 حالةً (ما يعادلُ 40.3% من العيّنة). وبالتالي، بلغَ معدّلُ البقيا الخاليةِ من النَّكْسِ لمُدّةٍ ثلاثِ سنوَاتٍ بينَ جميعِ المريضاَتِ 59.6% (فاصل ثقة 95%: 49.8-68.8). أمّا عندَ تحليلِ النَّتائِجِ وفقاً لكثافةِ الخلاياِ اللمفاويّةِ المُتسلّلةِ للورمِ (TILs)، فقد سُجّلتْ حالاتُ النَّكْسِ لدى 18 من المريضاَتِ ذواتِ الكثافةِ المُرتفعةِ من TILs (27.7%)، ولدى 26 من المريضاَتِ ذواتِ الكثافةِ المنخفضةِ من TILs (59.1%). يُبيِّنُ الجدولُ (3) العلاقةَ بينَ كثافةِ TILs والمُعدّلِ التّراكميِّ للنَّكْسِ.

الجدول (3): المعدّلُ التّراكميُّ لحدوثِ النَّكْسِ وفقاً لكثافةِ TILs

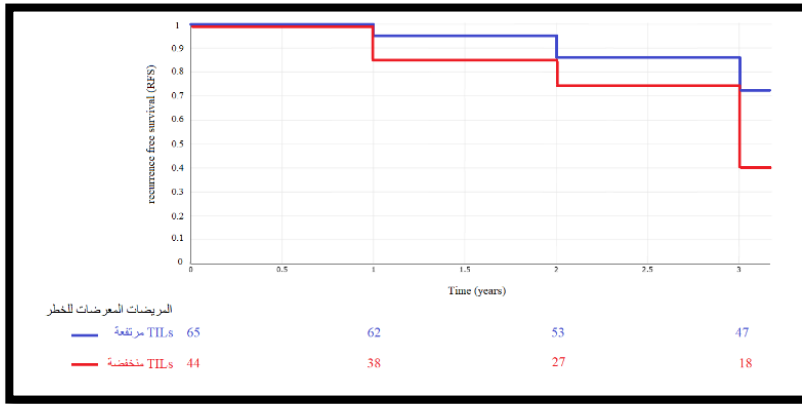
P-value	X <sup>2</sup> -test	TILs منخفضة (44 مريضة)	TILs مرتفعة (65 مريضة)	زمن النَّكْسِ من بدء العلاج
0.09	2.819	6 (13.6%)	3 (4.6%)	بعد سنة
0.139	2.179	11 (25%)	9 (13.8%)	بعد سنتين
0.001	10.74	26 (59.1%)	18 (27.7%)	بعد 3 سنوات

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

كان معدل حدوث النكس بعد ثلاث سنوات لدى مريضات TNBC ذوات كثافة TILs المنخفضة أعلى بفرق ذي دلالة إحصائية مقارنة بالمريضات ذوات كثافة TILs المرتفعة (P=0.001). كان معدل البقيا الخالية من النكس للمريضات مع كثافة TILs مرتفعة (72.3%) أعلى بفرق مهم إحصائياً مقارنة بالمريضات ذوات كثافة TILs المنخفضة (40.9%) (الجدول 4) (الشكل 2).

الجدول (4): مقارنة معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات وفقاً لكثافة TILs

Log-rank	TILs منخفضة	TILs مرتفعة	المتغير
P-value	(44 مريضة)	(65 مريضة)	
0.001	%40.9	%72.3	3-year RFS



الشكل (4): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النكس (RFS) وفقاً لكثافة TILs

### النتائج وفقاً لـ CD4<sup>+</sup>:

حدث النكس لدى 20 مريضة (37%) من المريضات ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المرتفعة، ولدى 24 مريضة (43.6%) من المريضات ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المنخفضة. يوضّح الجدول (5) العلاقة بين كثافة CD4<sup>+</sup> والمعدل التراكمي للنكس.

الجدول (5): المعدل التراكمي لحدوث النكس وفقاً لكثافة CD4<sup>+</sup>

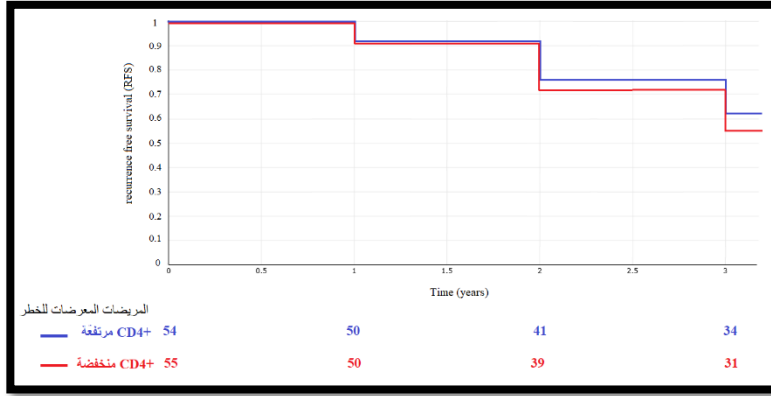
P-value	X <sup>2</sup> -test	CD4 <sup>+</sup> منخفضة (55 مريضة)	CD4 <sup>+</sup> مرتفعة (54 مريضة)	زمن النكس من بدء العلاج
0.749	0.102	5 (9.1%)	4 (7.4%)	بعد سنة
0.553	0.351	16 (29.1%)	13 (24.1%)	بعد سنتين
0.482	0.493	24 (43.6%)	20 (37%)	بعد 3 سنوات

لم يكن هنالك فرق مهم إحصائياً في المعدل التراكمي للنكس بعد سنة (P=0.749) وبعد سنتين (P=0.553)، وبعد ثلاث سنوات (P=0.482) بين مريضات TNBC في مراحله الباكرة ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المنخفضة وذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المرتفعة. كذلك لم يكن الفرق ذا دلالة إحصائية في معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات (3-year RFS) (63% مقابل 56.3%) (الجدول 6) و(الشكل 3).

الجدول (6): مقارنة معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات وفقاً لكثافة CD4<sup>+</sup>

Log-rank P-value	CD4 <sup>+</sup> منخفضة (55 مريضة)	CD4 <sup>+</sup> مرتفعة (54 مريضة)	المتغير
0.31	56.3%	63%	3-year RFS

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة



الشكل (5): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النكس (RFS) وفقاً لكثافة CD4+

النتائج وفقاً لـ CD8+

حدث النكس لدى 13 مريضة (22.4%) من المريضات ذوات كثافة CD8+ المرتفعة، ولدى 31 مريضة (60.8%) من المريضات ذوات كثافة CD8+ المنخفضة. يوضّح الجدول (7) العلاقة بين كثافة CD8+ والمعدّل التراكمي للنكس.

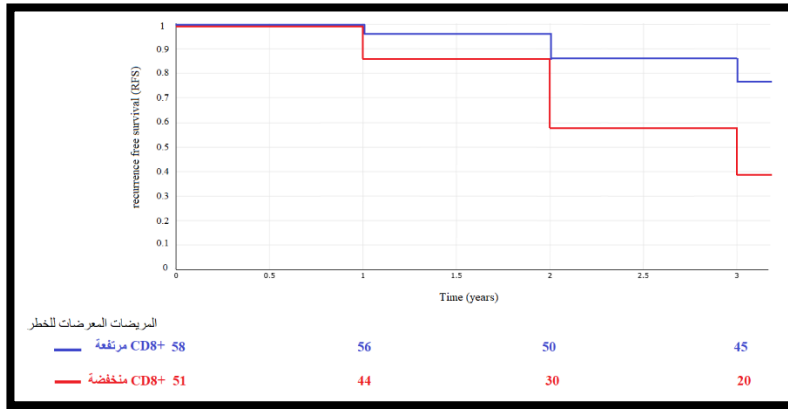
الجدول (7): المعدّل التراكمي لحدوث النكس وفقاً لكثافة CD8+

P-value	X <sup>2</sup> -test	CD8 <sup>+</sup> منخفضة (51 مريضة)	CD8 <sup>+</sup> مرتفعة (58 مريضة)	زمن النكس من بدء العلاج
0.051	3.784	7 (13.7%)	2 (3.4%)	بعد سنة
<b>0.001</b>	10.42	21 (41.2%)	8 (13.8%)	بعد سنتين
<b>0.0001</b>	16.59	31 (60.8%)	13 (22.4%)	بعد 3 سنوات

كان معدّل حدوث النّكس التّراكمي بعدَ سنتين وبعدَ ثلاثِ سنواتٍ في مجموعة مريضاتِ TNBC ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المنخفضةِ أعلى بفرقٍ مهمٍّ إحصائياً مقارنةً بالمريضاتِ ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المرتفعةِ (P=0.001) و(P=0.0001)، على التّوالي. كان معدّلُ البقيا الخاليةِ من النّكسِ لمدّةِ ثلاثِ سنواتٍ (3-year RFS) للمريضاتِ مع كثافةِ CD8<sup>+</sup> المرتفعةِ (77.6%) أعلى بفرقٍ مهمٍّ إحصائياً مقارنةً بالمريضاتِ ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المنخفضةِ (39.2%) (الجدول 8) (الشكل 4).

الجدول (8): مقارنة معدّل البقيا الخالية من النّكس لثلاثِ سنواتٍ وفقاً لكثافةِ CD8<sup>+</sup>

Log-rank	CD8 <sup>+</sup> منخفضة	CD8 <sup>+</sup> مرتفعة	المتغير
P-value	(51 مريضة)	(58 مريضة)	
0.008	%39.2	%77.6	3-year RFS



الشكل (6): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النّكس (RFS) وفقاً لكثافةِ CD8<sup>+</sup>

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

في التحليل أحادي المتغير للعوامل المؤثرة في حدوث النكس (الجدول 9)، كانت العوامل التي زادت من خطر حدوث النكس هي إصابة العقد اللمفاوية (N2 و N3) مقارنة بعدم إصابة العقد اللمفاوية (N0)، والمرحلة التشريحية المتقدمة (IIA-IIIB و IIB-IIIC) مقارنة بالمراحل (IA- IIA)، وحجم الورم البدني الكبير (T3-T4) مقارنة ب (T1-T2)، والدرجة الورمية (G III) مقارنة ب GI، وانخفاض كثافة TILs مقارنة بارتفاع كثافة TILs، وانخفاض كثافة CD8+ مقارنة بارتفاع كثافة CD8+. لم يكن لانخفاض كثافة CD4+ تأثير على حدوث النكس (P=0.41).

من أجل التحديد الدقيق للعوامل المستقلة المؤثرة في البقاء الخالية من النكس، أجرينا تحليل انحدار كوكس (Cox) متعدد المتغيرات شمل جميع المتغيرات ذات الدلالة الإحصائية في التحليل الأحادي (P<0.05). يعرض الجدول (10) النموذج النهائي للتحليل.

الجدول (9): التحليل أحادي المتغير للعوامل الباثولوجية السريرية المؤثرة في حدوث النكس

المتغير	العدد	حالات النكس	معدل 3- year RFS	نسبة الخطر	فاصل ثقة %95	P- value
<b>العمر</b>						
> 50 سنة	68	24	%64.7		فئة مرجعية	
≤ 50 سنة	41	20	%53.6	1.12	1.93-0.65	0.68
<b>حجم الورم البدني (T)</b>						
T1-T2	75	26	%65.3		فئة مرجعية	
T3-T4	34	18	%47.1	1.89	3.18-1.12	0.017
<b>إصابة العقد اللمفاوية (N)</b>						
N0	39	7	%82.1		فئة مرجعية	

0.12	4.7-0.83	1.97	%62.9	13	35	N1
<b>0.007</b>	7.1-1.37	3.12	%45.5	12	22	N2
<b>0.001 &gt;</b>	13.8-2.14	5.44	%7.7	12	13	N3
<b>الدرجة النسيجية (G)</b>						
	فئة مرجعية		%78.8	7	33	G I
0.2	3.36-0.78	1.62	%64.7	12	34	G II
<b>0.008</b>	4.89-1.27	2.49	%40.5	25	42	G III
<b>مرحلة السرطان (stage)</b>						
	فئة مرجعية		%87.2	6	47	IA-IIA
<b>0.01</b>	5.11-1.25	2.53	%50	20	40	IIB-III A
<b>0.001 &gt;</b>	11.3-2.32	5.12	%18.2	18	22	IIIB-III C
<b>TILS</b>						
	فئة مرجعية		%72.3	18	65	مرتفعة
<b>0.002</b>	4.32-1.38	2.44	%40.9	26	44	منخفضة
<b>CD4<sup>+</sup></b>						
	فئة مرجعية		%63	20	54	مرتفعة
0.41	2.23-0.72	1.27	%56.3	24	55	منخفضة
<b>CD8<sup>+</sup></b>						
	فئة مرجعية		%77.6	13	58	مرتفعة
<b>0.001 &gt;</b>	6.31-1.81	3.38	%39.2	31	51	منخفضة

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

الجدول (10): تحليل انحدار Cox متعدد المتغيرات للعوامل المؤثرة في حدوث النكس

المتغير	نسبة الخطر المعدلة	فاصل ثقة %95	P- value	التفسير
حجم الورم T3-T4 مقابل (T1-T2)	1.72	-1.12	0.013	تزيد الأورام الكبيرة (<5 سم) خطر النكس بنسبة 72% مقارنة بالأورام الصغيرة
إصابة العقد اللمفاوية (N2 مقابل N0)	2.85	-1.45	0.002	تزيد إصابة العقد (N2) خطر النكس تقريباً 3 مرات مقارنة بعدم الإصابة
إصابة العقد اللمفاوية (N3 مقابل N0)	4.91	-1.89	>	تزيد إصابة العقد (N3) خطر النكس تقريباً 5 مرات مقارنة بعدم الإصابة
الدرجة النسيجية (G III مقابل G I)	2.18	-1.25	0.006	الأورام عالية الدرجة (G III) أكثر عدوانية مع خطر نكس أعلى بمرتين
كثافة TILs (منخفضة مقابل مرتفعة)	2.05	-1.31	0.001	يرتبط انخفاض TILs بضعف الاستجابة المناعية وزيادة خطر النكس

كثافة CD8 <sup>+</sup>	3.12	-1.55	0.001	تلعب الخلايا التائية السامة
(منخفضة مقابل مرتفعة)		6.28		للخلايا (CD8 <sup>+</sup> ) دوراً حاسماً في السيطرة على الورم

أظهر النموذج النهائي (الجدول 10) أن إصابة العقد اللمفاوية (N2 مقابل N0، نسبة الخطر 2.85) و (N3 مقابل N0، نسبة الخطر 4.91)، وحجم الورم (T3-T4 مقابل T1-T2، نسبة الخطر 1.72)، والدرجة النسيجية العالية (G III مقابل GI، نسبة الخطر 2.18) ظلت مرتبطة ارتباطاً مستقلاً بزيادة خطر النكس. من الجدير بالذكر أن انخفاض كثافة TILs (نسبة الخطر 2.05) وانخفاض كثافة CD8<sup>+</sup> (نسبة الخطر 3.12) برزت كمؤشرات مناعية مستقلة قوية للنتائج السيئة، حتى بعد تعديل العوامل المربكة السريرية والمرضية.

تؤكد هذه النتائج أن العوامل المرضية التقليدية (حجم الورم، إصابة العقد، الدرجة النسيجية) تظل مؤشرات مستقلة قوية للتنبؤ بحدوث النكس. تمثل المؤشرات المناعية (CD8<sup>+</sup>، TILs) عوامل تنبؤية مستقلة تُضيف قيمة إلى النماذج التنبؤية التقليدية.

#### المناقشة:

كشفت هذه الدراسة أن 59.6% من مريضات TNBC بمراحله البكرة لديهن كثافة مرتفعة من TILs ( $\leq 30\%$ )، تتماشى هذه النتيجة مع النطاق العالمي. لا يوجد إجماع على نقطة الحد المثالية لتحديد TILs المرتفعة والمنخفضة [13]. وقد استخدمت الدراسات نقاطاً حديثة تتراوح من 20% إلى 75% لتعريف TILs المرتفعة مع نسب انتشار مختلفة تتراوح من 5% إلى 61% [6]. وعلى الرغم من أن TNBC هو النوع الأكثر تحفيزاً للمناعة بين الأنواع الفرعية

لسرطان الثدي، تشير الدراسات إلى أن غالبية الحالات تتميز بكثافة TILs منخفضة أو متوسطة [6]. قد يُعزى ارتفاع النسبة في دراستنا إلى ما يلي: أولاً، عمر المريضات الأصغر (متوسط 46.7 سنة) مقارنة بالدراسات الغربية (50-60 سنة)، حيث يرتبط العمر الأصغر بزيادة التسلسل المناعي [15]. ثانياً، ارتفاع نسبة الأورام عالية الدرجة (Grade III) (37.6%)، والتي ترتبط تقليدياً بزيادة كثافة TILs [16]. ثالثاً، استخدام عينات جراحية كاملة قبل العلاج الكيميائي بدلاً من عينات الخزعة أو العينات الجراحية بعد العلاج، مما يعكس التوزيع المناعي بدقة أكبر.

ارتبطت كثافة TILs المرتفعة بخصائص أفضل مثل العمر الأصغر، وحجم الورم الأصغر، وعدم إصابة العقد اللمفاوية، لكنها ارتبطت أيضاً بالدرجة النسيجية العالية. تتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة مثل دراسة Loi وزملائها (2019) [14]، ودراسة Denkert وزملائه [17]، ودراسة Pruneri وزملائه [18]. يُفسر الارتباط بين TILs والدرجة العالية بأن الأورام ذات الدرجة النسيجية العالية تتميز ما يلي: عدم الاستقرار الجينومي، مما يؤدي لمستضدات جديدة (neoantigens)، ومعدل تكاثر خلوي مرتفع (Ki67 عالي) مما يحفز موت الخلايا المناعي (immunogenic cell death)، وإفراز سيتوكينات التهابية تجذب الخلايا المناعية [19].

أثبتت دراستنا القيمة الإنذارية المستقلة لـ TILs في TNBC. فكان معدل البقاء الخالية من النكس لمدة 3 سنوات (3-year RFS) 72.3% في المريضات ذوات TILs المرتفعة مقابل 40.9% في ذوات TILs المنخفضة (P=0.001). في التحليل متعدد المتغيرات، كانت TILs المنخفضة عامل خطر مستقل للنكس (نسبة الخطر 2.05، P=0.001)، مما يؤكد أن هذه العلاقة ليست مجرد ارتباط عشوائي. تأتي هذه النتائج لتعزيز وتوسيع الأدلة من الدراسات الرائدة في هذا المجال. في عام 2010، أبلغ Denkert وزملاؤه لأول مرة عن العلاقة بين TILs وإنذار سرطان الثدي، والاستجابة السريرية لأنظمة العلاج الكيميائي المساعد الأولي القائمة على

الأنتراسايكلين-التاكسان، والتي ارتبطت ارتباطاً خطئياً [20]. وفيما يتعلّق بالعلاج الكيميائي المساعد:

أظهرت Loi وزملاؤها (2013) أنّ وجودَ TILs وقت التشخيص يرتبط ارتباطاً واضحاً بنتائج سريرية أفضل لدى مريضات TNBC، بغض النظر عن نوع العلاج الكيميائي المساعد، وأنّ ارتفاعَ TILs يرتبط ارتباطاً خطئياً بانخفاض خطر النكس والوفاة [21]. أفادت دراسة Sylvania وAdams وزملائها أنّ غالبية حالات TNBC تملكُ TILs، ووُجِدَت TILs المرتفعة (≤ 50%) لدى 4.4% فقط من المريضات. وبمتوسطٍ مُتَابَعَةٍ بلغَ 10.6 سنوات، ارتبطت كثافةُ TILs السُدويةِ الأعلى بإنذارٍ أفضل. فمع كلّ زيادةٍ بنسبة 10% في TILs السُدويةِ، لوحظَ انخفاضٌ بنسبة 14% في خطر النكس أو الوفاة، وانخفاضٌ بنسبة 18% في خطر النكس البعيد، وانخفاضٌ بنسبة 19% في خطر الوفاة. وأكّد التّحليلُ مُتعدّدُ المُتغيّراتِ أنّ TILs السُدويةِ تُعدُّ مؤشراً إنذارياً مستقلاً للبقيا الخالية من المرض، والبقيا الكلية، والفترة الرّمنيّة الخالية من النكس [22]. شملت دراسة Pruneri وزملائه 647 مريضةً مُصابةً بـ TNBC في مرحلته المُبكرة واللواتي تلقين العلاج الكيميائيّ المساعد. مع استخدام نقطةٍ حديّة (≤ 50%) كانت نسبة ارتفاع كثافة TILs هي 18%. أظهرت الدّراسةُ أنّه مع كلّ زيادةٍ بنسبة 10% في TILs السُدويةِ، انخفضَ خطرُ عودة السّرطان بنسبة 13%، وتحسّنَ كلّ من البقايا الخالية من المرض بنسبة 11%، والبقيا الخالية من النكس (RFS) بنسبة 16%، والبقيا الكلية بنسبة 17% [18]. مؤخراً، أكّدت سلسلة من تحليلات البيانات المُجمّعة الدّورَ الإنذاريّ القويّ لـ TILs السُدويةِ في TNBC بمراحله المُبكرة، معدّل البقايا المُمتازَ مع ارتفاع كثافة TILs بعد العلاج الكيميائيّ المساعد. قامت Loi وزملاؤها بتجميع بياناتٍ فريديّةٍ لـ 2148 مريضةً من تسع دراساتٍ، وبنى الباحثون نموذجاً مُتعدّد المُتغيّراتِ، حيثُ تُقابلُ كلّ زيادةٍ بنسبة 10% في TILs السُدويةِ نسبة خطرٍ تبلغُ 0.87 للبقيا الخالية من المرض، و0.83 للبقيا الخالية من النكس البعيد، و0.84 للبقيا الكلية. في

المرضى سلبيات العقد مع TILs  $\leq 30\%$ ، كانت نسبة البقايا الخالية من المرض لمدة 3 سنوات 92%، ونسبة البقايا الخالية من النكس البعيد 97%، ونسبة البقايا الكلية 99% [14].

أظهرت دراستنا أن CD8+ تمثل المكون الأكثر أهمية في TILs للتنبؤ بالإنذار. فالمرضى ذات CD8+ المرتفعة كان لديهم معدل بقايا خالية من النكس لمدة 3 سنوات يبلغ 77.6% مقابل 39.2% في ذات CD8+ المنخفضة ( $P=0.008$ ). في التحليل متعدد المتغيرات، كانت CD8+ المنخفضة أقوى عامل خطر مستقل للنكس (نسبة الخطر 3.12،  $P=0.001$ ). في المقابل، لم تظهر CD4+ قيمة إنذارية مستقلة في دراستنا ولم يختلف معدل البقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات بين مجموعتي CD4+ المرتفعة والمنخفضة (63% مقابل 56.3%،  $P=0.31$ ).

تتصدّر الخلايا المفاوية التائية السامة للخلايا (CD8+) الاستجابة المناعية المضادة للورم. هذه الخلايا هي المدافع الرئيسي ضد السرطان، ومهمتها التعرف المباشر على الخلايا السرطانية والقضاء عليها [23]. تكمن فعاليتها في علاج TNBC في عدة آليات رئيسية. يتمثل الدور الأساسي للخلايا CD8+ في الترسد المناعي وقتل الخلايا التي تظهر ببتيدات غير ذاتية أو ببتيدات ذاتية معدلة (أي، المستضدات الجديدة التي تعبر عنها الخلايا السرطانية وتعرضها على سطحها بواسطة جزيئات معقد التوافق النسيجي الكبير من الصنف الأول). تتعرف الخلايا CD8+ على هذه المستضدات وترتبط بها وتتسبب وتطلق ترسانتها السامة للخلايا، المكونة بشكل أساسي من البيروفرين (perforin)، الذي يكوّن مساماً في غشاء الخلية المستهدفة، والگرانزيمات (granzymes)، وهي بروتيازات تدخل عبر هذه المسام وتُحفّر شلال caspase، مما يؤدي إلى موت الخلايا المبرمج (apoptosis) [23]. إلى جانب القتل المباشر، تُفرز الخلايا CD8+ المنشطة السيتوكينات بفعالية، وأبرزها إنترفيرون-غاما ( $IFN-\gamma$ ). يُعزّز  $IFN-\gamma$  التعبير عن جزيئات معقد التوافق النسيجي الكبير من الصنف الأول على الخلايا السرطانية

المُحيطة. هذا يجعلها أكثر وضوحاً للخلايا CD8+ الأخرى. يُحفّز  $IFN-\gamma$  تفعيل البالعات المقوية للالتهاب والقادرة على بلعمة خلايا الورم وإنتاج أنواع جذور الأكسجين التفاعلية. يُمكن لـ  $IFN-\gamma$  أن يُببّط تكاثر بعض الخلايا السرطانية بشكلٍ مباشرٍ، ويُعزز تثبيط تكون الأوعية الدموية، ممّا يُقلّل من نمو الورم بشكل أكبر [9].

تُعدُّ الأهمية السريرية للخلايا التائية CD8+ قوية للغاية ومُحدّدةً لـ TNBC. وقد أظهرت العديد من الدراسات أن ارتفاع كثافة CD8+، يرتبط بشكلٍ كبيرٍ بتحسّن معدلات البقاء في TNBC، وهو ارتباط لم يُلاحظ في أنواع فرعيةٍ أخرى من سرطان الثدي. في دراسة Yazaki وزملائه، تمّ تحليل 125 مريضة مصابةً بـ TNBC في المراحل المبكرة ولم يتلقين العلاج الكيميائي [24]. ركز الباحثون على تقييم الواسمات الحيوية المناعية، بما في ذلك TILs، والبنى اللمفاوية التالتيّة (tertiary lymphoid structures) (TLS)، والتعبير عن بروتين PD-L1، وكثافة الخلايا CD8+ و CD20+. ارتبط ارتفاع كثافة الخلايا CD8+ بتحسّن البقاء الخالية من المرض (نسبة الخطر 0.69)، بينما ارتبط وجود PD-L1 بتفاقم الإنذار (نسبة الخطر 4.33). بشكلٍ ملحوظٍ، حققت المريضات ذوات (CD8+ المرتفعة/ PD-L1 السلبية) أفضل نتائج، بينما كانت النتائج أسوأ في المجموعة ذات (CD8+ المنخفضة/ PD-L1 الإيجابية). خلصت الدراسة إلى أنّ CD8+ و PD-L1 يُقدّمان معلوماتٍ إنذاريةً إضافيةً تفوق TILs في تقييم إنذار TNBC المُبكر [24].

على الرُغم من أنّ TILs أصبحت اسماً حيويّاً قوياً للتنبؤ بمسار سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC)، فإنّ دور الخلايا التائية من نوع CD4+ لا يزال محلّ جدلٍ. كشفت دراستنا عدم وجود ارتباطٍ ذي دلالةٍ إحصائيةٍ بين تسليّ الخلايا CD4+ السدوية والبقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات ( $P=0.41$ ). وأكّد التحليلُ مُتعدّد المُتغيّرات أنّ كثافة الخلايا CD4+ لم تكن

مؤشراً مستقلاً للتنبؤ بالنتيجة. تتفق هذه النتائج مع دراسة Jamiyan وزملائه [25] ودراسة Wang وزملائه [26].

هناك تباينٌ وظيفي كبير بين مجموعات الخلايا CD4+ الفرعية. فبينما تُعدُّ الخلايا CD8+ متجانسةً نسبياً في وظيفتها القاتلة للخلايا السرطانية، تنقسمُ الخلايا CD4+ إلى مجموعاتٍ فرعيةٍ مُتعارضةٍ الوظيفة، مثل الخلايا Th1 (المضادة للورم)، والخلايا Th2 (المحفزة للورم)، والخلايا التائية التنظيمية (Treg) (المثبطة للمناعة) [9]. أظهرت دراساتٌ أنّ التأثير الصافي للخلايا CD4+ يعتمدُ على المجموعة الفرعية الغالبة. فعلى سبيل المثال، ترتبطُ خلايا Th1 بتحسُّن النتائج، بينما يرتبطُ ارتفاعُ عددِ الخلايا Treg بسوء الإنذار [25]. وفي سياق سرطان الثدي ثلاثي السلبية، قد تقومُ البالعاتُ المرتبطةُ بالورم ( tumor-associated macrophages (TAMs) المنتجةُ لعاملٍ كيميائيٍّ يُسمى CCL18 بتحويلِ الخلايا CD4+ الساذجة إلى خلايا Treg، ممَّا يُلغي أيَّ تأثيرٍ إيجابيٍّ للخلايا Th1 [19]. يُضيفُ التوزيعُ التشريحيُّ للخلايا CD4+ داخلَ الورم مستوى آخر من التعقيد. فقد أظهرت دراسةُ Jamiyan وزملائه أنّ تسلُّلَ الخلايا CD4+ داخلَ الورم (وليس في السدى) ارتبطَ بنتائج أفضلَ في سرطان الثدي ثلاثي السلبية [25]، ممَّا يُشيرُ إلى أنّ موقعَ التسلُّلِ يلعبُ دوراً حاسماً في تحديدِ التأثيرِ البيولوجي. في دراسةِ Wang وزملائه لم ترتبط كثافةُ CD4+ السدى أو داخلَ الورم بالبقيا الخالية من النكس، ولكن ارتبطت نسبةُ الخلايا CD4+/CD8+ (التي تقلُّ عن 1) ببقيا خالية من النكس أفضل [26]. فضلاً عن ذلك، أظهرت مجموعة فرعية من الخلايا CD4+ وهي الخلايا التائية المُساعدة الجريبية (T follicular helper) (Tfh) قيمةً إنذاريةً مُستقلةً عن القياسات التقليدية للخلايا CD4+ [27].

الاستنتاجات:

تؤكد هذه الدراسة أنّ الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) ليست مجردَ واسمٍ ثانويٍّ، بل هي لاعبٌ مركزيٌّ في بيئة الورم المناعية، وفهمها قد يفتح الباب لعصرٍ جديدٍ من العلاجات المخصصة في سرطان الثدي ثلاثي السلبية. يبدو أنّ الإنذار الإيجابي المرتبط بارتفاع مستويات TILs ليس نتيجةً لاستجابة التهابية عامةٍ وغير نوعيةٍ، بل هو نتيجةٌ مباشرةٌ لهجمةٍ مناعيةٍ مضادةٍ للورم عالية التّظيم والوظيفة والتّكيف.

تمثّل TILs، وخاصةً الخلايا التائية السامة للخلايا ( $CD8^+$ )، مؤشراتٍ إنذاريةً مستقلةً لتحسين البقيا الخالية من النكس في سرطان الثدي الثلاثي السلي بمراحله المبكرة، ممّا يدعم دور المناعة المضادة للورم في تحديد مآل المرض.

### التوصيات والمقترحات:

يقترح تحسُّن البقيا الخالية من النكس بنسبة 31.4% في المجموعة ذات TILs المرتفعة التوصية بإدراج تقييم TILs (خاصةً  $CD8^+$ ) ضمن البروتوكولات التشخيصية المعيارية لمرضى سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC) بمراحله الباكرة، مع تحديد نقاط قطع واضحة (مثل:  $\leq 30\%$  لكثافة TILs السدوية). يجب أن يُجرى هذا التقييم على عينات الخزعة الأولية أو خزعات الاستئصال قبل العلاج الكيميائي ويُدرج في التقارير المرضية كعاملٍ إنذاريٍّ مستقلٍّ.

نوصي في هذه الدراسة بضرورة تعميق البحث في الآليات المناعية عبر تقنيات متقدمة. حيثُ يجبُ أن تركز الدراسات المستقبلية على تقييم التعبير عن  $FOXP3^+$  للتمييز بين الخلايا التائية المساعدة (Th) والخلايا التائية التّظيمية ( $T_{reg}$ ).

تشمل الآفاق المستقبلية لهذه الدراسة تطوير نماذج تنبؤية تدمج TILs ومكوناتها مع العوامل السريرية المرضية التقليدية (الحجم، العقد، الدرجة).

المراجع:

1. Arnold M, Morgan E, Runggay H, Mafra A, Singh D. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022; 66: 15–23.
2. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012; 490(7418): 61–70.
3. Pareja F, Geyer FC, Marchiò C, Burke KA, Weigelt B, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer: the importance of molecular and histologic subtyping, and recognition of low-grade variants. *NPJ Breast Cancer*. 2016; 2: 16036.
4. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer–Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies–An Updated Review. *Cancers*. 2021; 13(17): 4287.
5. Xiong N, Wu H, Yu Z. Advancements and challenges in triple-negative breast cancer: a comprehensive review of therapeutic and diagnostic strategies. *Front Oncol*. 2024; 14: 1405491.
6. Rosa ML, Reinert T, Pauletto MM, Sartori G, Graudenz M, Barrios CH. Implications of tumor-infiltrating lymphocytes in early-stage

- triple-negative breast cancer: clinical oncologist perspectives. *Transl Breast Cancer Res.* 2023; 5: 4.
7. El Bairi K, Haynes HR, Blackley E, Fineberg S, Shear J, Turner S, et al. The tale of TILs in breast cancer: A report from The International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. *NPJ Breast Cancer.* 2021; 7(1): 150.
  8. Pruneri G, Vingiani A, Denkert C. Tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer. *Breast.* 2018; 37: 207–214.
  9. Fan Y, He S. The Characteristics of Tumor Microenvironment in Triple Negative Breast Cancer. *Cancer Manag Res.* 2022; 14: 1–17.
  10. Lee S, Cho EY, Park YH, Ahn JS, Im YH. Prognostic impact of FOXP3 expression in triple-negative breast cancer. *Acta Oncol.* 2013; 52(1): 73–81.
  11. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* 2019; 30(8): 1194–1220.
  12. Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM, et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International

- Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. Ann Oncol. 2021; 32(10): 1216–1235.
13. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor–infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. Ann Oncol. 2015; 26(2): 259–271.
14. Loi S, Drubay D, Adams S, Pruneri G, Francis PA, Lacroix–Triki M, et al. Tumor–Infiltrating Lymphocytes and Prognosis: A Pooled Individual Patient Analysis of Early–Stage Triple–Negative Breast Cancers. J Clin Oncol. 2019; 37(7): 559–569.
15. Takada K, Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Morisaki T, Shibutani M, et al. Differences in tumor–infiltrating lymphocyte density and prognostic factors for breast cancer by patient age. World J Surg Oncol. 2022; 20(1):38.
16. de Moraes FCA, Souza MEC, Sano VKT, Moraes RA, Melo AC. Association of tumor–infiltrating lymphocytes with clinical outcomes in patients with triple–negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy: a systematic review and meta–analysis. Clin Transl Oncol. 2025; 27(3): 974–987.
17. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, et al. Tumor–infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human

- epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol.* 2015; 33(9): 983-991.
18. Pruneri G, Gray KP, Vingiani A, Viale G, Curigliano G, Criscitiello C, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 158(2): 323-331.
19. Ren Z, Xue Y, Liu L, Zhang X, Pei J, Zhang Y, et al. Tissue factor overexpression in triple-negative breast cancer promotes immune evasion by impeding T-cell infiltration and effector function. *Cancer Lett.* 2023; 565: 216221.
20. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28(1): 105-113.
21. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol.* 2013; 31(7): 860-867.

22. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol.* 2014; 32(27): 2959–2966.
23. Oshi M, Asaoka M, Tokumaru Y, Yan L, Matsuyama R, Ishikawa T, et al. CD8 T Cell Score as a Prognostic Biomarker for Triple Negative Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(18): 6968.
24. Yazaki S, Shimoi T, Yoshida M, Sumiyoshi-Okuma H, Arakaki M, Saito A, et al. Integrative prognostic analysis of tumor-infiltrating lymphocytes, CD8, CD20, programmed cell death-ligand 1, and tertiary lymphoid structures in patients with early-stage triple-negative breast cancer who did not receive adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2023; 197(2): 287–297.
25. Jamiyan T, Kuroda H, Yamaguchi R, Nakazato Y, Noda S, Onozaki M, et al. Prognostic impact of a tumor-infiltrating lymphocyte subtype in triple negative cancer of the breast. *Breast Cancer.* 2020; 27(5): 880–892.
26. Wang K, Shen T, Siegal GP, Wei S. The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* 2017; 69: 110–117.

27. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, de Wind A, et al. CD4<sup>+</sup> follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. J Clin Invest. 2013; 123(7): 2873–2892.

#### ملاحظات:

- 1- بحسب المعجم الطبي الموحد Lymph هو اللمف وليس اللمف. تم التصويب في كل المقالة.
- 2- سرطان الثدي الثلاثي السلبي (triple-negative breast cancer) (TNBC)، أعتقد تسميته (ثلاثي السلبية أكثر صحة ودقة لأنه يدل على السلبية للمستقبلات الثلاث.
- 3- تم البدء بترقيم الأشكال 1 و 2 ثم تم ترقيم المخططات البيانية بدءاً بـ 1 من جديد، فأعدت تسلسل الأرقام طالما سمي المخطط البياني شكلاً (وليس مخططاً بيانياً).
- 4- مُعَدِّدُ التَّوَاظِقِ النَّسِيجِيِّ الرَّئِيسِيِّ: هو بحسب المعجم الطبي الموحد مُعَدِّدُ التَّوَاظِقِ النَّسِيجِيِّ الكبير.
- 5- غابت فقرة التوصيات من المقالة، ويجب كتابتها.

## دراسة اللمفاويات كمشعر إنذاري في قصور القلب الاحتقاني

Study of lymphocytes as a prognostic marker in congestive heart failure

اسم الباحث: د. فريد محمد رياض الباقوني.

اسم المشرف: أ.د. عبد الله شيخ إبراهيم.

### الملخص:

**الخلفية والهدف:** يوجد اهتمام متجدد في إيجاد مشعرات مخبرية للمساعدة في التنبؤ بالوفيات وعود الاستشفاء في قصور القلب، هدف هذا البحث لتحديد العلاقة بين تعداد اللمفاويات المطلق ALC والإنذار والنتائج السريرية عند مرضى قصور القلب الاحتقاني المستشفين.

**الطرائق و المواد:** تم إدخال 57 مريضاً ممن لديهم قصور قلب احتقاني في هذه الدراسة الحشدية التحليلية (المستقبلية) بين أيلول عام 2023 وتشرين الثاني عام 2024 ممن قُبِلوا للاستشفاء في مستشفى اللاذقية الجامعي. تم تقسيم المرضى لثلاث مجموعات تبعاً لتعداد اللمفاويات المطلق، ضمت المجموعة الأولى المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق الطبيعي (أكثر من 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>)، وضمت المجموعة الثانية المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق المنخفض (بين 1000 و 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>)، أما المجموعة الثالثة فضمت المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق المنخفض بشدة (أقل من 1000 خلية/ملم<sup>3</sup>).

**النتائج:** كان العمر الوسطي للمرضى  $61.5 \pm 17.6$  سنة، كان السير السريري للمرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق المنخفض بشدة (المجموعة الثالثة) أسوأ أثناء الاستشفاء، كما كانت

فترة الاستشفاء لديهم أطول، وكانت وظيفة البطين الأيسر الانقباضية والانبساطية أسوأ، ومشعر نبضان وريد الباب أعلى، والاختلاطات أثناء الاستشفاء أكثر لديهم، كما كانت الزيادة في تعداد اللفوايات المطلق قبل التخريج أقل، وذلك مقارنة بمرضى المجموعتين الأولى والثانية. وجدنا أن القيمة الحدية cut-off لتعداد اللفوايات المطلق لحدوث لانظميات كانت 998.5 خلية/ملم<sup>3</sup>، والقيمة الحدية لحدوث الوفاة كانت 568 خلية/ملم<sup>3</sup>.

**الخلاصة:** يكون السير السريري وإنذار مرضى قصور القلب الاحتقاني ذوي تعداد اللفوايات المطلق الأقل من 1500 خلية/ملم<sup>3</sup> أسوأ، كما يكون هؤلاء المرضى بخطر وفاة أكبر.

#### كلمات مفتاحية:

قصور القلب الاحتقاني، تعداد اللفوايات المطلق، الالتهاب، الجهاز المناعي، الإنذار.

#### Abstract:

**Background:** There is renewed interest in finding readily available laboratory markers to predict mortality and readmission in heart failure. We aim to determine the relationship between absolute lymphocyte count (ALC) and prognosis and clinical outcomes in patients with heart failure hospitalization.

**Methods:** A total of 57 CHF patients admitted to Lattakia university hospital between September 2023 and November 2024 were enrolled in this analytical prospective cohort study. Patients were divided into three groups based on ALC, more than 1500 cells/mm<sup>3</sup>, between 1000 – 1500 cells/mm<sup>3</sup> and less than 1000 cells/mm<sup>3</sup>.

**Results:** Patients' mean age was 61.5 ± 17.6 years, patients with very low lymphocyte count on hospital admission (less than 1000 cells/mm<sup>3</sup>) had worse clinical course during hospitalization, longer length of stay, worse

diastolic and systolic functions, less increase in lymphocyte count at discharge, higher PVPI, and more complications during hospitalization. ALC cut-off for arrhythmias was 998.5 cells/mm<sup>3</sup>, ALC cut-off for death was 568 cells/mm<sup>3</sup>.

**Conclusions:** In patients with heart failure, ALC less than 1500 cells/mm<sup>3</sup> had a worse clinical course and a worse prognosis. Patients in lower groups of the ALC categories had a higher risk of mortality.

**Keywords:** Congestive Heart Failure, Absolute Lymphocyte Count, Inflammation, Immune System, Prognosis.

#### مقدمة:

قصور القلب هو متلازمة سريرية التهابية متطورة تنتهي بالموت، وتتصف باضطرابات هيموديناميكية، عصبية هرمونية واستقلابية. ينتج عن اضطراب بنوي وأو وظيفي في القلب يعيق امتلاء البطين أو قذفه للدم إلى الدوران الجهازى، أي هو فشل في تلبية المتطلبات الجهازية من الدوران. يشكّل المرحلة النهائية للعديد من الأمراض القلبية الوعائية، نسبة الوفيات فيه عالية وكذلك الحمل الاقتصادي عالٍ [1-2] حيث يُعتبر السبب الأساسي للوفيات والاستشفاء عالمياً لذلك يشغل قسماً هاماً من تكاليف الرعاية الصحية. ازداد معدل انتشاره خلال آخر ثلاثين سنة، ومايزال السبب الأشيع لعود الاستشفاء [1-2]. يمكن للعديد من الأمراض أن تسبب قصور قلب، وتعدّل إمرضية etiology قصور القلب خطة العلاج جزئياً، إلا أن معظم التوصيات العلاجية تعتمد على وجود قصور القلب بغض النظر عن سببه. يمكن أن ينقص قصور القلب السعة الوظيفية functional capacity للمريض بشدة، كما أنه

يزيد خطر الوفاة. من المهم جداً تشخيصه وعلاجه بشكل فعال وذلك لمنع الاستشفاءات المتكررة، تحسين نوعية الحياة، وتحسين إنذار المريض prognosis، لذا كان من الضروري استكشاف مشعرات سريرية ملائمة للمساعدة في تحديد المرضى ذوي الإنذار الأسوأ وعلاجهم بالشكل الأمثل.

#### هدف البحث:

إن الهدف الأساسي من البحث هو تسليط الضوء على دور الخلايا الالتهابية في قصور القلب الاحتقاني، وتحري دور تعداد المفاويات المطلق ALC في التنبؤ بالإنذار لدى هؤلاء المرضى، ما يمكننا من استخدام تحليل مخبري ذو تكلفة قليلة لمسح screen هؤلاء المرضى بحثاً عن المرضى عاليي الخطورة.

#### مواد وطرق البحث:

#### عينة الدراسة:

شملت عينة البحث 57 مريضاً من مرضى استشفاء قصور القلب الاحتقاني المقبولين ضمن الشعبة الداخلية القلبية أو ضمن العناية القلبية CCU في مستشفى اللاذقية الجامعي بين أيلول عام 2023 وتشرين الثاني عام 2024 والمحققين معايير الاشتمال في البحث.

#### تصميم الدراسة:

دراسة حشدية تحليلية مستقبلية (Analytical cohort Study (Prospective).

#### معايير الاشتمال:

المرضى الذين قُبلوا في مستشفى اللاذقية الجامعي يتفاحم قصور قلب احتقاني، وذلك سواءً في الشعبة القلبية أو في العناية القلبية.

#### معايير الاستبعاد:

- من لديهم آفة دموية.
- من لديهم سرطان فعّال أو سابق.
- من لديهم نقائل ورمية لنقي العظام.
- من لديهم إنتان فعّال.
- من لديهم داء التهابي مزمن.
- من لديهم قصور بطين أيمن بدئي.
- وجود حمل.
- من لديهم داء مناعي ذاتي.
- المعالجون بالقشرانيات السكرية خلال الثلاثة أشهر الأخيرة.

#### طريقة الدراسة:

تم استجواب المرضى المشاركين وفحصهم فحصاً سريرياً كاملاً، كما تم إجراء تعداد الدم الكامل CBC في المخبر المركزي لمستشفى اللاذقية الجامعي وذلك عند القبول وقبل التخريج من المستشفى. تم تسجيل جنس كل مريض وعمره وسوابقه المرضية (الداء السكري، ارتفاع التوتر الشرياني، والداء الشرياني الإكليلي)، كما تم تحديد الصف الوظيفي functional class لكل مريض قبل أسبوع من الاستشفاء، وذلك حسب جمعية نيويورك لأمراض القلب NYHA. تم كذلك تسجيل مدة الاستشفاء LOS لكل مريض، وتم اعتبارها مطوّلة إذا كانت أكثر من 5 أيام.

تم تسجيل الاختلاطات الحاصلة أثناء فترة الاستشفاء متمثلةً باللانظميات (وتم تصنيف اللانظميات لـ رجفان أذيني، نوب تسرع فوق بطيني SVT، تسرعات بطينية، رجفان بطيني، خوارج انقباض أذينية، خوارج انقباض بطينية، بطء جيبى، وحصار قلب) وحدوث صدمة قلبية أثناء الاستشفاء وحدوث الوفاة أثناء الاستشفاء.

تم إجراء إيكو قلب عبر جدار الصدر وتقييم الوظيفة الانقباضية والوظيفة الانبساطية للبطين الأيسر حسب توصيات الجمعية الأميركية لإيكو القلب. حيث تم إجراء إيكو قلب ثنائي الأبعاد 2D، M-mode، Pulse-wave Doppler، و Color flow Doppler باستخدام جهاز إيكو القلب الموجود في مستشفى اللاذقية الجامعي من نوع Siemens Acuson  $\times 300$  Premium، وتقييم الوظيفة الانقباضية بحساب الجزء المقذوف (EF%) باستخدام طريقة سيمبسون المعدلة، ومن ثم تقييم الوظيفة الانبساطية بطريقة الجريان عبر التاجي، وتم تقسيم سوء الوظيفة الانبساطية إلى 3 درجات بحسب الشدة من I إلى III باستخدام المشعرات التالية: النسبة (E/A)، زمن الانبساط اسوي الحجم (IVRT)، سرعة الموجة 'e' الحاجزية والوحشية، والنسبة (E/e')، ومشعر حجم الأذينة اليسرى LAVI، والسرعة القصوى لموجة مثلث الشرف  $TRV_{max}$ ، حسب توصيات الجمعية الأميركية لإيكو القلب ASE.

كما تم تقييم وظيفة البطين الأيمن بقياس الـ TAPSE، الذي يشير إلى مدى الحركة الطولية لحلقة الصمام مثلث الشرف أثناء انقباض البطين الأيمن، حيث تُقاس بوضع مؤشر الـ M-Mode على الجزء الوحشي من حلقة الصمام مثلث الشرف ومن ثم قياس المسافة التي تتزاحها هذه الحلقة. وقيمتها الطبيعية أكثر من 17 ملم.

تم تقييم مشعرات الاحتقان الصدمية المتمثلة بقطر الوريد الأجوف السفلي ومشعر نبضان وريد الباب PVPI، وذلك عند القبول وقبل التخريج (أي بعد استقرار الحالة السريرية للمريض، والعلاج المزيل للاحتقان بالمدرات البولية).

يملك قطر الوريد الأجوف السفلي حساسية جيدة للاحتقان الوريدي الجهازي حيث يوجد تناسب

correlation جيد بينه وبين ضغط الأذينة اليمنى RAP. يتم قياسه بالنافذة تحت القص، حوالي 2 سم تحت اتصاله بالأذينة اليمنى. قيمته الطبيعية أقل من 2.1 سم مع انخماص أكثر من 50% مع الشهيق.

كما تم استخدام مشعر نبضان وريد الباب PVPI، والذي أثبتت فائدته كمؤشر على احتقان وريد الباب وبالتالي الاحتقان الجهازى، كما أنه مؤشر على اضطراب وظيفة البطين الأيمن. يُحسب مشعر نبضان وريد الباب بالمعادلة التالية: [(السرعة القصوى  $V_{max}$  - السرعة الدنيا  $V_{min}$ ) / السرعة القصوى  $V_{max}$ ]، حيث تشير الـ  $V_{max}$  للسرعة القصوى للجريان عبر وريد الباب، وتشير الـ  $V_{min}$  للسرعة الدنيا للجريان عبر وريد الباب، ويُعتبر طبيعياً عندما يكون أقل من 30% ونعتبر بوجود احتقان عندما يكون أكبر أو يساوي 50%.

تم تقسيم المرضى لثلاث مجموعات وذلك حسب تعداد اللمفاويات المطلق ALC عند القبول في المستشفى، تشمل المجموعة الأولى المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق الطبيعي أي الأكثر من 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>، بينما تشمل المجموعة الثانية المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق المنخفض أي بين 1000 و 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>، أما المجموعة الثالثة فتشمل المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المطلق المنخفض بشدة أي الأقل من 1000 خلية/ملم<sup>3</sup>، علماً أن نقص اللمفاويات يُعرّف بتعداد لمفاويات مطلق أقل من 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>.

تمت متابعة المرضى أثناء فترة الاستشفاء وتسجيل الاختلالات الحاصلة لديهم وعلاقتها بتعداد اللمفاويات المطلق عند القبول، ومتابعة تحسن تعداد اللمفاويات المطلق أثناء فترة الاستشفاء، كما تمت متابعة العلاقة بين تعداد اللمفاويات المطلق ومشعرات الاحتقان الصدوية (قطر الوريد الأجويف السفلي IVC diameter ومشعر نبضان وريد الباب PVPI) عند القبول وعند التخريج.

كانت النتائج الأولية primary outcomes هي الوفاة لأي سبب، أما النتائج الثانوية secondary outcomes فقد كانت: مدة الاستشفاء والاختلالات أثناء الاستشفاء.

## الدراسة الإحصائية Statistical Study:

### 1- إحصاء وصفي Descriptive Statistics:

- التكرارات والنسب المئوية للمتغيرات النوعية.
- مقاييس النزعة المركزية ومقاييس التشتت للمتغيرات الكمية.

### 2- إحصاء استدلالي Inferential Statistics:

- اختبار One Way Anova لدراسة فروقات المتوسطات بين أكثر من مجموعتين مستقلتين.
- اختبار chi-square لدراسة العلاقات بين المتغيرات النوعية.
- معامل الارتباط Pearson Correlation لدراسة الارتباط بين المتغيرات الكمية.
- رسم منحنى Receiver Operation Characteristic (ROC Curve) لتحديد قدرة تعداد اللفوايات المطلق عند القبول في التنبؤ بحدوث لانظميات وكذلك في التنبؤ في الوفاة، وتم الاعتماد على المساحة تحت المنحنى Area Under the Curve (AUC) حيث تكون درجة الدقة عالية عندما تكون بين 0.9-1، واعتُبرت النتائج هامة إحصائياً مع  $p\text{-value} < 5\%$ .
- تم اعتماد برنامج IBM SPSS statistics (v.25) لحساب المعاملات الإحصائية وتحليل النتائج.

## النتائج:

### الخصائص القاعدية:

أُجريت الدراسة الحالية على 57 مريضاً، حيث تمت متابعتهم أثناء فترة الاستشفاء. دُكرت كلاً من الخصائص الديموغرافية القاعدية، النتائج المخبرية عند القبول وقبل التخريج، الصف الوظيفي لكل مريض قبل أسبوع من الاستشفاء وذلك حسب جمعية نيويورك لأمراض القلب NYHA، والخصائص الصدوية عند القبول وقبل التخريج وذلك في الجدول (1).

كان المرضى من الذكور بنسبة 56.1% (32 مريضاً)، بعمر وسطي  $61.5 \pm 17.6$  سنة. كان لدى نصف المرضى تقريباً داء شرياني إكليلي CAD، وكان لدى 66.7% منهم داء سكري، و 64.9% كان لديهم فرط توتر شرياني. كانت الغلبة للصف الوظيفي NYHA III (52.6%)، وكان الجزء المقذوف الوسطي للبطين الأيسر  $39.19 \pm 6.55$  mean LVEF%. كان تعداد اللقاويات المطلق الوسطي عند القبول  $1064.8 \pm 474.3$  خلية/ملم<sup>3</sup>، وكان 75.4% (n = 43) من المرضى المدروسين لديهم تعداد لمقاويات مطلق أقل من الحد الأدنى الطبيعي (والذي اعتبرناه في الدراسة الحالية 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>). كان التعداد الوسطي للمقاويات في المجموعة الأولى  $1812 \pm 224.1$  خلية/ملم<sup>3</sup>، وفي المجموعة الثانية  $1099.11 \pm 73.5$  خلية/ملم<sup>3</sup>، وفي المجموعة الثالثة  $748.17 \pm 142.1$  خلية/ملم<sup>3</sup>.

### الخصائص السريرية والمخبرية والصدوية تبعاً لمجموعات اللقاويات عند القبول: (الجدول 1)

كان المرضى ذوي التعداد المنخفض بشدة (المجموعة الثالثة) أكبر سناً (العمر  $70.44 \pm 5.5$  سنة مقارنة بـ  $67 \pm 6.7$  سنة في المجموعة الثانية و  $61.14 \pm 4.7$  في المجموعة الأولى)، مع  $p\text{-value} = 0.0001$ . كما كان قصور القلب لديهم أشد وإمراضياتهم أكثر مقارنةً بمرضى المجموعتين الثانية والأولى، حيث كانت نسبة الداء السكري (79.4%) والداء الشرياني الإكليلي (82.4%) لديهم أعلى من مرضى المجموعتين الثانية (66.7%) و الأولى (11.1%) على الترتيب (الأولى (0% و 0% على الترتيب)، مع  $p\text{-value} = 0.0001$ ). بالإضافة لذلك كان لمرضى المجموعة الثالثة LVEF أقل مقارنةً بالمجموعتين الثانية والأولى ( $35.44 \pm 5.3$  مقارنةً بـ  $42.44 \pm 4.9$  وبـ  $46.21 \pm 0.9$  على الترتيب مع  $p\text{-value} = 0.0001$ )، ووظيفة بطين أيمن أسوأ (حيث كانت الـ TAPSE  $14.05 \pm 1.2$  ملم مقارنةً بـ  $16.22 \pm 0.4$  ملم وبـ  $19.14 \pm 1.09$  ملم على الترتيب مع  $p\text{-value} =$

(0.0001)، وصف وظيفي أعلى تبعاً لـ NYHA (حيث كانت نسبة NYHA IV 17.6% و نسبة NYHA III 79.4% في المجموعة الثالثة مقارنةً بـ 0% و 33.3% على الترتيب في المجموعة الثانية و 0% و 0% على الترتيب في المجموعة الأولى مع  $p\text{-value} = 0.0001$ )، ودرجة أعلى من سوء الوظيفة الانبساطية (حيث كانت من الدرجة الثالثة عند 82.4% من مرضى المجموعة الثالثة مقارنةً بـ 11.1% من مرضى المجموعة الثانية و 0% من مرضى المجموعة الأولى مع  $p\text{-value} = 0.0001$ )، ومشعر نبضان وريد الباب PVPI أعلى ( $7.2 \pm 65.32\%$  مقارنةً بـ  $5.6 \pm 55.22\%$  و  $1.6 \pm 25.5\%$  على الترتيب).

#### تعداد اللمفاويات القاعدي (عند القبول):

لوحظ وجود تناسب هام بين تعداد اللمفاويات المنخفض بشدة (المجموعة الثالثة) وكلاً من: العمر، والإمراضيات المرافقة (خاصةً الداء السكري والداء الشرياني الإكليلي، كما ذكرنا)، والصف الوظيفي تبعاً لـ NYHA، والجزء المقذوف للبطين الأيسر LVEF، وسوء الوظيفة الانبساطية، ومشعرات الاحتقان الصدوية، وسوء وظيفة البطين الأيمن، ومدة الاستشفاء. كل الـ  $p\text{-values}$  أقل من 0.05.

تم إجراء معامل بيرسون بين مشعرات الاحتقان الصدوية وتعداد اللمفاويات المطلق عند القبول (الجدول 2)، حيث كان الـ PVPI عند القبول متناسباً بشكل هام مع تعداد اللمفاويات (معامل بيرسون = -0.94 مع  $p\text{-value} = 0.0001$ ). كما كان قطر الوريد الأجوف السفلي أيضاً متناسباً بشكل هام مع تعداد اللمفاويات (معامل بيرسون = -0.92 مع  $p\text{-value} = 0.0001$ ).

تغيرات تعداد اللمفاويات ومشعرات الاحتقان أثناء الاستشفاء:

تمت إعادة تقييم تعداد اللمفاويات عند المرضى قبل التخريج، لوحظت زيادة في تعداد اللمفاويات عند كل المرضى بعد العلاج المزيل للاحتقان (المدرات البولية).

كان تعداد اللمفاويات الوسطي عند التخريج عند مرضى المجموعة الثالثة  $1200.30 \pm 115.1$  خلية/ملم<sup>3</sup>، وعند مرضى المجموعة الثانية  $1553.66 \pm 219.3$  خلية/ملم<sup>3</sup>، وعند مرضى المجموعة الأولى  $2074.78 \pm 220.8$  خلية/ملم<sup>3</sup>.

وُجد أن ارتفاع تعداد اللمفاويات عند مرضى المجموعتين الأولى والثانية كان أكبر وأوضح مقارنةً بمرضى المجموعة الثالثة.

كذلك تم إجراء معامل بيرسون بين مشعرات الاحتقان الصدوية وتعداد اللمفاويات المطلق عند التخريج (الجدول 2)، حيث كان الـ PVPI عند التخريج متناسباً بشكل هام مع تعداد اللمفاويات (معامل بيرسون = 0.81 - مع  $p\text{-value} = 0.0001$ ). كما كان قطر الوريد الأجوف السفلي متناسباً أيضاً بشكل هام مع تعداد اللمفاويات (معامل بيرسون = 0.80 - مع  $p\text{-value} = 0.0001$ ).

#### النتائج الأولية والثانوية:

توفي 4 مرضى أثناء فترة الاستشفاء (بنسبة 7.01% من إجمالي مرضى الدراسة)، كانت كل الوفيات من ضمن المجموعة الثالثة، ولم تحدث أي وفاة ضمن المجموعة الأولى والثانية، مع  $p\text{-value} = 0.2$ .

كان لدى مرضى المجموعة الثالثة سير سريري أسوأ أثناء فترة الاستشفاء، كما كانت مدة استشفائهم أطول كما ذكرنا، وكانت الاختلاطات أثناء الاستشفاء أكثر لديهم.

لوحظ أن أشيع اختلاط كان اللانظميات أثناء الاستشفاء (خاصة الرجفان الأذيني وخارج الانقباض البطينية)، ثاني أشيع اختلاط كان الصدمة القلبية.

كانت هذه الاختلاطات أقل بشكل هام عند مرضى المجموعتين الأولى والثانية مقارنةً بمرضى المجموعة الثالثة.

كانت القيمة الحدية لتعداد المفاويات المطلق لحدوث اللانظميات 998.5 خلية/ملم<sup>3</sup>، و لحدوث الوفاة 568 خلية/ملم<sup>3</sup>. (الشكل 1 و 2)

**الجدول (1):** الخصائص الديموغرافية والسريرية القاعدية للمرضى حسب تعداد المفاويات المطلق عند القبول.

Variable	All patients	ALC > 1500	ALC = 1000-1500	ALC < 1000	p value
الجنس: ذكر	32(56.1%)	7(50%)	6(66.7%)	19(55.9%)	0.7
أنثى	25(43.9%)	7(50%)	3(33.3%)	15(44.1%)	
العمر (سنة): < 60	9(15.8%)	7(50%)	1(11.1%)	1(2.9%)	0.0001
60-70	29(50.9%)	7(50%)	5(55.6%)	17(50%)	
> 70	19(33.3%)	0(100%)	3(33.3%)	16(47.1%)	
Mean ± SD	67.6±6.7	61.14 ± 4.7	67 ± 6.7	70.44 ± 5.5	
الإمراضيات المرافقة فرط التوتر الشرياني	37(64.9%)	4(28.6%)	8(88.9%)	25(73.5%)	0.003
الداء السكري	38(66.7%)	5(35.7%)	6(66.7%)	27(79.4%)	0.01
الداء الشرياني الإكلبي	29(50.9%)	0(0%)	1(11.1%)	28(82.4%)	0.0001
الصف الوظيفي حسب NYHA					
II	21(36.8%)	14(100%)	6(66.7%)	1(2.9%)	0.0001
III	30(52.6%)	0(0%)	3(33.3%)	27(79.4%)	0.0001
IV	6(10.5%)	0(0%)	0(0%)	6(17.6%)	0.0001

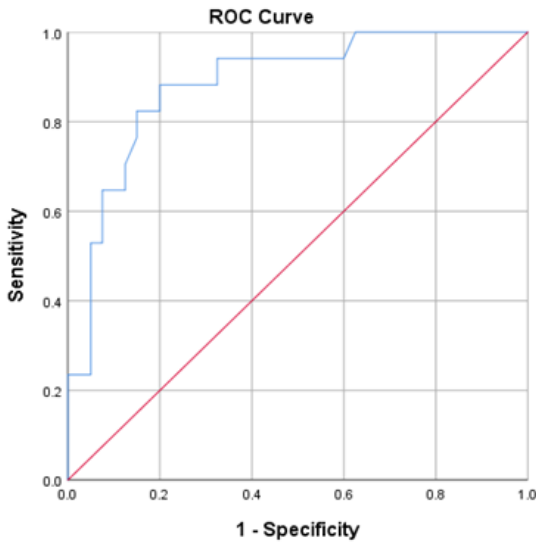
تعداد الكريات البيض عند القبول (خلية/ملم <sup>3</sup> ) Mean ± SD	10769.8± 2741.2	6776.85± 567.8	10508.33 ±1007.8	12483.20 ±1603.4	0.0001
تعداد اللمفاويات المطلق عند القبول (خلية/ملم <sup>3</sup> ) Mean ± SD	1064.8±4 74.3	1812±224 .1	1099.11± 73.5	748.17±1 42.1	0.0001
الخصائص الصدوية  EF % (Mean ± SD)	39.19 ± 6.55	46.21 ± 0.9	42.44 ± 4.9	35.44 ± 5.3	0.0001
سوء وظيفة انبساطية درجة أولى	4 (7%)	4(28.6%)	0(0%)	0(0%)	0.0001
سوء وظيفة انبساطية درجة ثانية	24 (42.1%)	10 (71.4%)	8(88.9%)	6(17.6%)	0.0001
سوء وظيفة انبساطية درجة ثالثة	29 (50.9%)	0(0%)	1(11.1%)	28(82.4%)	0.0001
TAPSE (ملم)	15.64 ± 2.43	19.14 ± 1.09	16.22 ± 0.4	14.05 ± 1.2	0.0001
قطر الوريد الأجوف السفلي عند القبول (سم)	2.44 ± 0.4	1.8 ± 0.09	2.47 ± 0.1	2.69 ± 0.1	0.0001
PVPI عند القبول (%)	53.94 ± 17.82	25.5 ± 1.6	55.22 ± 5.6	65.32 ±7.2	0.0001
قطر الوريد الأجوف السفلي عند التخريج (سم)	1.78 ± 0.57	1.52 ± 0.1	1.8 ± 0.2	2.13 ± 0.1	0.0001
PVPI عند التخريج (%)	32.4 ± 13.48	22.64 ± 1.4	29.44 ± 5.6	42.16 ± 7.03	0.0001
مدة الاستشفاء مطوّلة	38(66.6%)	0(0%)	4(44.4%)	34(100%)	0.0001
غير مطوّلة	19(33.3%)	14(100%)	5(55.6%)	0(0%)	

دراسة المفارويات كمشعر إنذاري في قصور القلب الاحتقاني

تعداد المفارويات المطلق عند التخريج (خلية/ملم <sup>3</sup> ) Mean ± SD	1491.3±4 10	2074.78± 220.8	1553.66± 219.3	1200.30± 115.1	0.0001
الاختلاطات أثناء الاستشفاء الرجفان الأذيني	26 (45.61%)	3(21.4%)	1(16.7%)	21(61.8%)	0.01
خوارج الانقباض الأذينية	17 (29.82%)	3(21.4%)	1(11.1%)	13(38.2%)	0.2
خوارج الانقباض البطينية	22 (38.59%)	1(7.1%)	3(33.3%)	17(50%)	0.01
التسرع فوق البطينية	5(8.77%)	0(0%)	1(11.1%)	4(11.8%)	0.4
التسرع البطيني	5(8.77%)	0(0%)	0(0%)	5(14.7%)	0.1
الرجفان البطيني	2(3.5%)	0(0%)	1(11.1%)	1(2.9%)	0.3
بطء القلب الجيبي	6(10.52%)	0(0%)	0(0%)	6(17.6%)	0.1
حصار القلب	3(5.26%)	0(0%)	0(0%)	3(8.8%)	0.3
الصدمة القلبية	15 (26.31%)	0(0%)	0(0%)	15(44.1%)	0.001
الموت	4(7.01%)	0(0%)	0(0%)	4(11.8%)	0.2

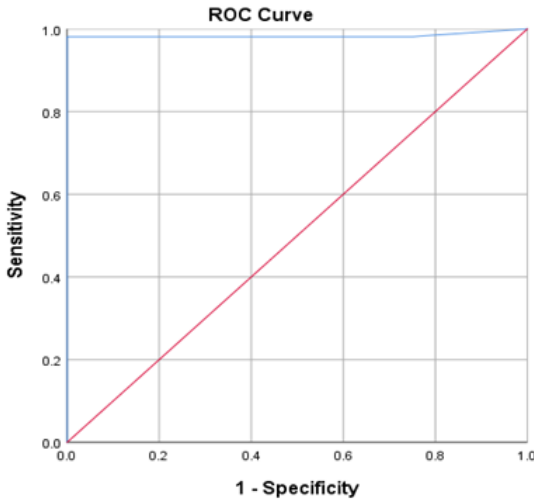
الجدول (2): معامل ارتباط بيرسون بين مشعرات الاحتقان الصدوية وتعداد المفارويات المطلق عند القبول وقبل التخريج.

مشعرات الاحتقان الصدوية	معامل بيرسون	P value
قطر الوريد الأجوف السفلي عند القبول (سم)	-0.92	0.0001
PVPI عند القبول (%)	-0.94	0.0001
قطر الوريد الأجوف السفلي قبل التخريج (سم)	-0.80	0.0001
PVPI قبل التخريج (%)	-0.81	0.0001



**AUC= 0.88 [0.80 – 0.97]  
P-value= 0.0001  
Sensitivity= 90.5% [81-95]  
Specificity= 88.9% [79-93]  
Cut Off= 998.5 cells/mm<sup>3</sup>**

الشكل (1): مخطط يمثل منحنى ROC لقيم تعداد اللمفاويات المطلق عند القبول للتنبؤ بحدوث لانظميات.



**AUC= 0.98 [0.86 – 1]  
P-value= 0.0001  
Sensitivity= 98.1% [89-100]  
Specificity= 100% [91-100]  
Cut Off= 568 cells/mm<sup>3</sup>**

الشكل (2): مخطط يمثل منحنى ROC لقيم تعداد للمفاويات المطلق عند القبول للتنبؤ بحدوث الوفاة.

### المناقشة:

يشكل قصور القلب الاحتقاني CHF المرحلة النهائية للعديد من الأمراض القلبية الوعائية، حيث أنه يمكن أن ينقص السعة الوظيفية functional capacity للمريض بشدة، كما أن نسبة الوفيات فيه عالية والحمل الاقتصادي عالٍ. [1-2] يُعتبر السبب الأساسي للوفيات والاستشفاء عالمياً لذلك يشغل قسماً هاماً من تكاليف الرعاية الصحية.

ازداد معدل انتشاره خلال آخر ثلاثين سنة، ومايزال السبب الأشيع لعود الاستشفاء. [1-2] لهذا فمن المهم جداً تشخيصه وعلاجه بشكل فعال وذلك لمنع الاستشفاءات المتكررة، تحسين نوعية الحياة، وتحسين إنذار المريض prognosis.

اقترحت عدّة آليات لتفسير نقص للمفاويات الحاصل في قصور القلب وربطه بسوء الإنذار، منها:

- دور كورتيزول المصل [3] والكاتيكول أمينات [4].
- انتشار redistribution للمفاويات في القلب المُلتهب وفي كل أنحاء الجسم. [5]
- تثبيط نقي العظام بالسيتوكينات [6] وجذور الأوكسجين التفاعلية ROS.
- قصر عمر للمفاويات بسبب الإجهاد التأكسدي.
- استهلاك للمفاويات أثناء الدفاع.
- خسارة للمفاويات عبر الأمعاء.
- التمدد الحاصل في حجم الدم في حالة الاحتقان، وبالتالي حدوث انخفاض نسبي في تعداد للمفاويات.

- دور المحور المعوي القلبي Gut-Heart Axis وعسر الحيوية dysbiosis.<sup>[7,8]</sup>

إن قصور القلب هو متلازمة سريرية التهابية متطورة تنتهي بالموت، وتتصف باضطرابات هيموديناميكية، عصبية هرمونية واستقلابية.

حيث أظهرت معايرة المشعرات الالتهابية عند مرضى قصور القلب الانقباضي (سواءً أكان إقفارياً أم غير إقفاري) ارتفاعاً في السيتوكينات الالتهابية المؤهبة للالتهاب pro-inflammatory (كـ TNF- $\alpha$  و IL-1 و IL-6 و galectin 3 و TNF receptor 1 و TNF receptor 2) أثناء تطور قصور القلب، وهذا ما يدعم فرضية أن الالتهاب يلعب دوراً هاماً في قصور القلب.<sup>[9]</sup> وقد أظهر مرضى قصور القلب الذين لديهم ارتفاع في تراكيز الـ TNF- $\alpha$  وفيات أعلى بشكل واضح.

تُظهر الدراسات أن الخلايا المناعية المقيمة resident والمُجنّدة recruited تلعب دوراً في الأذية القلبية، وتكون موجودة في النسيج القلبية باكراً أثناء المرض.<sup>[10]</sup> تفعل الخلايا المناعية المقيمة والمرتشحة بدايةً السبل الالتهابية/المُصلحة reparative، ويحدد التوازن النسبي بين السبل الالتهابية المرضية والعمليات المُصلحة للنسج (الالتهاب الفيزيولوجي) سير تطور قصور القلب. تنظّم الخلايا المناعية استجابات الخلايا العضلية القلبية والخلايا غير القلبية أثناء إعادة القولية المُعابة. لا تعدّل هذه الخلايا وظيفة الخلايا العضلية القلبية فحسب وإنما أيضاً استجابات الأذية المتضمنة إنتاج الندبة والتليف الخلالي، والتي تؤثر على الوظيفة القلبية. إذاً يلعب الجهاز المناعي بكل مكوناته دوراً هاماً للغاية في بدء وتطور قصور القلب الاحتقاني، وغالباً ما يتم إهمال قيم اللمفاويات عند تقييم مريض قصور القلب الاحتقاني، رغم سهولة الحصول عليها وكلفتها المنخفضة، حيث هدف هذا البحث لدراسة دور الجهاز المناعي بشكل عام واللمفاويات بشكل خاص في قصور القلب الاحتقاني وعلاقتها بالإندثار، وذلك لتقديم الرعاية الصحية المثلى لهؤلاء المرضى وتحسين نتائجهم وإنذارهم.

درس البحث الحالي العلاقة بين تعداد اللفوايات المطلق عند القبول في المستشفى ومشعرات الاحتقان الصدوية متمثلةً بقطر الوريد الأجوف السفلي ومشعر نبضان وريد الباب PVPI، حيث لوحظ وجود فروقات ذات دلالة إحصائية بين مجموعات البحث فيما يتعلق بمشعرات الاحتقان الصدوية.

تم - كما ذكرنا - تصنيف قصور القلب في السنوات الأخيرة بأنه متلازمة التهابية مع تفعيل مناعي [11]، بالفعل تمت ملاحظة وجود تبدلات وظيفية في الخلايا وحيدة النواة المحيطة في الحالات المتقدمة من قصور القلب، الأمر الذي يشير لوجود تفعيل مزمن للفاويات والوحدات بفعل المستويات العالية من السيتوكينات [11,12]. أحد أهم متواسطات هذا التفعيل المناعي الالتهابي - خاصة أثناء حالات انكسار معاوضة قصور القلب - هو انتقال الذايفانات الداخلية الجرثومية endotoxins بسبب تكاثر الجراثيم المعوية.

حيث ينتقل ضغط الأذينة اليسرى المرتفع عند مرضى قصور البطين الأيسر إلى الأوردة الرئوية، ويسبب عند إزمانه ارتفاعاً في التوتر الرئوي. يشكل هذا الارتفاع في التوتر الرئوي عبئاً على البطين الأيمن، الذي يصبح قاصراً مع تقدم المرض، فيتطور قصور كلا البطينين bi-ventricular failure.

وهذا ما وجدناه عند مرضى الدراسة الحالية حيث لاحظنا وجود فروقات ذات دلالة إحصائية بين مجموعات البحث فيما يتعلق بالقيم المتوسطة لـ TAPSE.

يزداد الضغط الهيدروستاتيكي الوريدي بدايةً عند هؤلاء المرضى ما يساهم في رشح السوائل خارج الوريدات، لاحقاً يقل الضغط الغرواني أيضاً بالإضافة لارتفاع الضغط الهيدروستاتيكي وهذا ما يفاقم الودمات.

يؤدي بدوره ارتفاع الضغوط الوريدية المركزية عند هؤلاء المرضى لارتفاع الضغوط ضمن الأوردة الحشوية وأهمها وريد الباب - والذي يتكون من التقاء الوريد المساريقي العلوي والسفلي والوريد الطحالي - ما يؤدي لحدوث احتقان معوي.

يؤدي الاحتقان المعوي لأمرين :

- أولهما هو زيادة النفاذية المعوية gut permeability للمايكروبيوتا الموجودة في الأمعاء

بسبب توسع الثقوب pores بين الخلايا المعوية نتيجة الوذمة المعوية، والنتيجة انتقال هذه العضويات إلى الدوران.<sup>[13]</sup>

- أما الأمر الثاني فهو نقص الإرواء المعوي ما يؤدي لإقفار مخاطي mucosal ischemia وبالتالي زيادة نمو المايكروبيوتا أو ما يُدعى بعُسر الحيوية dysbiosis.<sup>[14]</sup>

ويؤدي هذان الأمران لحدوث اضطراب في المايكروبيوتا المعوية وزيادة انتقال translocation هذه العضويات الدقيقة وانتقال ذيفاناتها الداخلية (ومنها الليببوليسكارايد LPS) إلى الدوران (بالتالي حدوث endotoxemia) كما تنتقل مستقبلاتها كالـ TMAO، وهذا يؤدي بدوره لتفعيل الجهاز المناعي وزيادة إفراز السيتوكينات والجذور الحرة وسوء وظيفة البطانة.<sup>[30]</sup> هذه الأمور مجتمعةً تفاقم قصور القلب.

يتلو انتقال العضويات الدقيقة وذيفاناتها حدوث تفعيل للاستجابة المناعية متضمنةً إفراز السيتوكينات المؤهبة للالتهاب، وفقاً لهذه الفرضية فإن التفعيل المؤهب للالتهاب يُحرّض كنتيجة لارتباط الذيفانات الداخلية (الليببوليسكارايد المنتجة من قبل الجراثيم سلبية الغرام) مع مستقبلات الـ CD14 في الخلايا المناعية، ما يؤدي لإطلاق العامل الذواب CD14 إلى الدوران والذي يلعب كمحرض لإنتاج الـ TNF- $\alpha$  والـ IL-6 وسيتوكينات أخرى مؤهبة للالتهاب. ويعتبر الـ TNF- $\alpha$  عاملاً مهماً في نقص اللمفاويات من خلال زيادة قابليتها للموت الخلوي المبرمج.<sup>[15]</sup>

كما تؤدي زيادة عبور الجراثيم وذيفاناتها عبر الأمعاء إلى تجنيد الكريات البيض - وأهمها اللمفاويات التي تعتبر خط الدفاع الأول في الأمعاء - للدفاع عن الجسم وما ينتج عنه من استهلاكٍ لها، إضافةً إلى أن فرط إفراز السيتوكينات يؤدي لتثبيط مباشر لنقي العظام ما يؤدي لنقص إنتاج اللمفاويات.

إن المحور المعوي القلبي gut-heart axis هو مفهوم حديث يصف العلاقة ثنائية الاتجاه بين السبيل الهضمي والجهاز القلبي الوعائي.

تبين أن عُسر الحيوية الحاصل في قصور القلب يؤثر على الالتهاب الجهازى والاستجابات المناعية، حيث يؤثر بشكل خاص على وظيفة الخلايا اللمفاوية. يعتبر أحد أهم نتائج اضطراب

المعي في قصور القلب هو اضطراب تنظيم للمفارقات، والذي يساهم في اضطراب التوازن المناعي الجهازى.

يمكن أن تسبب ضغوط امتلاء البطينين المرتفعة - وما يليها من احتقان حشوي - عند مرضى قصور القلب العرضيين ذوي الصف الوظيفي تبعاً لـ NYHA الأعلى خسارة معوية مباشرة للمفارقات، ما يساهم في نقصها عند هؤلاء المرضى.<sup>[16]</sup>

ويتوافق هذا الأمر مع نتائج الدراسة الحالية، حيث وُجدت فروقات ذات دلالة إحصائية بين مجموعات البحث المدروسة فيما يتعلق بالصف الوظيفي تبعاً لـ NYHA.

أثبتت الدراسات أن المرضى الذين لديهم نفس الاضطراب في وظيفة البطين الأيسر الانقباضية لديهم ساعات وظيفية مختلفة، حيث أُثبت أن عدم تحمل الجهد هو مؤشر على سوء الإنذار عند هؤلاء المرضى، وذلك بشكل مستقل عن الجزء المقذوف EF للبطين الأيسر.<sup>[17]</sup>

يُعتبر التفعيل المناعي إحدى ميزات قصور القلب المزمن<sup>[18]</sup>، مع وجود فرط تعبير عن السيتوكينات المؤهبة للالتهاب (كالـ  $TNF-\alpha$  و الـ IL-1 و الـ IL-6) في الدوران الجهازى<sup>[19]</sup> ومحلياً في العضلية القلبية القاصرة. يساهم فرط التعبير المستمر عن المتواسطات الالتهابية في تطور التظاهرات المركزية والمحيطية لمتلازمة قصور القلب المزمن.<sup>[18,19,20]</sup>

تؤثر السيتوكينات المؤهبة للالتهاب بشكل سلبي على وظيفة البطين الأيسر، وتسبب تأثيرات قلووية سلبية، كما تسبب اضطرابات في الاستقلاب القلبي والطاقة القلبية، وتعرض حدوث إعادة قولبة قلبية.<sup>[18,21]</sup>

والنتيجة هي حدوث فرط تنسج الخلية العضلية القلبية، ونخر وموت خلوي مبرمج، وحدوث تبدلات في الـ matrix العضلي القلبي خارج الخلوي.<sup>[22]</sup>

بالإضافة لذلك يحرض تفعيل الاستجابة المناعية تطور اضطراب البطانة، وحدوث هزال wasting معمم في الجسم، وموت خلوي مبرمج للعضلات الهيكلية، والقهم في قصور القلب المزمن.<sup>[19]</sup>

تُعتبر المستويات العالية من السيتوكينات المحرّضة للالتهاب ومستقبلاتها (IL-6 والـ TNF- $\alpha$  ومستقبلات TNF الذوابة 1 و 2) متنبئاً قوياً لزيادة الوفيات عند مرضى قصور القلب المزمن، وذلك بشكل مستقل عن المشعرات الإنذارية الاعتيادية.<sup>[23,24]</sup>

كما وُجد - وبشكل مثير للاهتمام - أن للسيتوكينات المحرّضة للالتهاب تأثيرات بيولوجية متنوعة، بعضها له دور حامي للجهاز القلبي الوعائي.<sup>[25]</sup>

حيث يثبط تفعيل سبيل إشارات IL-6-gp130 الموت الخلوي المبرمج المُحدث بالـ doxorubicin، كما يزيل تفعيل الـ caspase 3<sup>[26]</sup>، ويمنع التطور من فرط التنسج القلبي لقصور القلب في مرحلة باكراً من فرط الحمل الضغطي.

من المُقترح أن سبيل إشارات IL-6-gp130 يمكن أن يكون متدخلًا في الحفاظ على الاستتباب العضلي القلبي، وذلك بكونه عنصراً من آليات معقدة يسمح بالانتقال بين فرط التنسج القلبي والحماية العضلية القلبية والإصلاح الخلوي.<sup>[27]</sup>

وُجد أيضاً أن للـ TNF- $\alpha$  تأثيرات حامية للقلب في بعض الحالات، وتشارك إشارات NF- $\kappa$ B في بعض هذه التأثيرات.<sup>[25]</sup>

تتوافق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات العالمية المجراة سابقاً، والتي بحثت العلاقة بين اللمفاويات والإنذار في قصور القلب.

حيث أظهرت Nadia Bouabdallaoui<sup>[28]</sup> وزملاؤها عام 2020 وجود ترافق بين مشعرات الاحتقان الصدوية واضطراب وظيفة البطين الأيمن ونقص اللمفاويات عند مرضى قصور القلب.

كما أظهر Hasan Yücel<sup>[29]</sup> وزملاؤه عام 2015 أن نقص اللمفاويات يترافق بشكل قوي مع الصنف الوظيفي تبعاً لتصنيف الجمعية الأمريكية لأمراض القلب NYHA عند مرضى قصور القلب، وذلك بشكل مستقل عن عوامل الخطر القلبية الوعائية.

بحثت Caterina Delcea<sup>[30]</sup> وزملاؤها عام 2021 في العلاقة بين نسبة العدلات على المفاويات والإنذار عند مرضى قصور القلب، حيث وجدوا أنه يمكن استخدام هذه النسبة كمشعر متوفر بسهولة وقليل التكلفة للتنبؤ بالإنذار عند مرضى قصور القلب المستشفين.

كما بحث Monil Majmundar<sup>[31]</sup> وزملاؤه عام 2021 في كون تعداد المفاويات المطلق مشعراً تنبؤياً بالفويات وعود الاستشفاء عند مرضى قصور القلب المستشفين، ووجدوا أن نسبة الوفيات كانت أعلى لدى المرضى ذوي تعداد المفاويات المطلق الأقل من 1500 خلية/ملم<sup>3</sup>.

اعتُبر نقص المفاويات نتيجة مباشرة لارتفاع مستويات الكورتيزول والكاتيكول أمينات في المصل، والذي يحدث بسبب التنفيع الودي والإجهاد الحاصلين في قصور القلب الاحتقاني.<sup>[3,4]</sup> يترافق قصور القلب الاحتقاني مع تنفيع الجهاز العصبي الودي وجهاز الرينين أنجيوتنسين ألدوستيرون، كما يترافق مع إطلاق الببتيدات المدرة للصدويوم والإندوثيلين والسيوتوكينات والكورتيزول، يمكن أن تفعل هذه التبدلات الهرمونية العصبية المعقدة المحورَ الوطائي النخامي الكظري<sup>[32]</sup>، الأمر الذي يسمح للكاتيكول أمينات بتحفيز إنتاج السيوتوكينات، بشكل خاص الـ IL-6.<sup>[33]</sup>

يحفز الـ IL-6 الـ CRH الذي يقود لزيادة إفراز الكورتيزول مع مايتلوها من نقص في عدد المفاويات.

أكدت الدراسات أن مستويات الـ IL-6 تزداد مع التقدم بالعمر<sup>[34]</sup>، وتزداد في قصور القلب بسبب فرط إفراز الكاتيكول أمينات.<sup>[35]</sup>

هذا الانحراف في الكريات البيض باتجاه نقص المفاويات سببه غالباً زيادة في الموت الخلوي المبرمج للمفاويات<sup>[36]</sup>، نقص إنتاجها وتمايزها، وإعادة توزيعها redistribution ضمن الأجهزة المكونة للمفاويات.<sup>[37]</sup>

إضافةً لذلك تم إثبات حدوث احتجاز للمفاويات في العقد المفاوية نتيجةً للتنفيع غير الطبيعي للجهاز الودي في قصور القلب.<sup>[38,39]</sup> يمكن أن يكون للتبدلات في التعديل الودي تأثيرات هامة جداً على المفاويات الجائلة بين الدم والنسج في قصور القلب، حيث لوحظ حدوث ارتشاح كبير

للمفاويات في العضلية القلبية عند مرضى قصور القلب، الأمر الذي يشكل سبباً من أسباب نقص للمفاويات عند هؤلاء المرضى.

كما يلعب الموت الخلوي المبرمج دوراً هاماً للغاية في حدوث نقص للمفاويات، حيث لوحظت زيادة الموت الخلوي المبرمج للمفاويات مع التقدم بالسن [40] وفي الأمراض التي يلعب فيها الالتهاب دوراً هاماً كالتلازمة الإكليلية الحادة وقصور القلب وإنتان الدم. حيث يُفترض أن زيادة حساسية خلايا الـ  $CD_4^+$  والـ  $CD_8^+$  للموت الخلوي المبرمج المُحدث بالـ  $TNF-\alpha$  هو أحد التفسيرات الأكثر منطقية لذلك. [40]

تساهم الخلايا التائية  $CD_4^+CD_{25}^+$  النازمة  $T_{reg}$  في الحفاظ على التحمل الذاتي وتنشيط الاستجابات المناعية الشاذة أو المفرطة. [41] وقد اقترح أن فشل الخلايا التائية النازمة في ممارسة وظيفتها المنبّطة يمكن أن يحرض حالة  $Th_1/Th_2$  مؤهبة للالتهاب [42]، يليها حدوث تفعيل للجهاز المناعي بشكل مفرط، الأمر الذي يترافق مع توسع البطين الأيسر واضطراب الوظيفة الانقباضية وسوء الحالة الوظيفية للمريض. [43]

من الآليات الأخرى المقترحة لنقص للمفاويات هو تثبيط نقي العظام بالسيتوكينات وجذور الأوكسجين التفاعلية، حيث من المعروف وجود إجهاد تأكسدي في قصور القلب الاحتقاني، والذي من أهم أسبابه اضطراب المتقدرات القلبية. يؤثر الإجهاد التأكسدي بدوره بشكل سلبي على المكونات الخلوية ومنها المتقدرات، بالتالي تحصل حلقة معيبة. [41] كما يسبب الإجهاد التأكسدي قصراً في عمر للمفاويات.

على الرغم من وجود آليات عدة لنقص للمفاويات في قصور القلب إلا أنه يبدو أن زيادة الموت الخلوي المبرمج للمفاويات إحدى أهمها.

### الاستنتاجات:

إن تحديد مرضى قصور القلب ذوي الإنذار الأسوأ له أهمية كبيرة في تحسين إنذارهم على المدى البعيد، وتقليل الوفيات. أثبتت الدراسة الحالية أنه يمكن استخدام التعداد المطلق للمفاويات ALC كوسيلة غير مكلفة ومتوفرة بسهولة للتنبؤ بإنذار مرضى قصور القلب الاحتقاني.

كما وجدنا أن الالتهاب يلعب دوراً هاماً للغاية في قصور القلب، ويحثنا في العلاقة بين الأمعاء والقلب ودور المحور المعوي القلبي في تطور قصور القلب وإنذاره. خلصنا في البحث الحالي لقيمة تنبؤية للمفاويات، يمكن اعتبارها قيمة حدية لزيادة احتمالية حدوث لانظميات ووفاة عند مرضى قصور القلب، وهي تساوي 998.5 خلية/ملم<sup>3</sup> بالنسبة لللانظميات، و 568 خلية/ملم<sup>3</sup> بالنسبة للوفاة.

#### التوصيات:

- 1- الانتباه لتعداد اللمفاويات المطلق عند كل مريض لديه قصور قلب احتقاني، وتوثيق قيمته عند القبول في المستشفى، ومراقبتها أثناء فترة الاستشفاء.
- 2- مراقبة المرضى ذوي تعداد اللمفاويات المنخفض بشكل لصيق، وتقديم علاجات أكثر هجومية لهم (حسب كل حالة).
- 3- إجراء دراسات أخرى لاحقاً للتوسع في فهم المحور المعوي القلبي، وتأثيرات الأمعاء على الجهاز القلبي الوعائي، والبحث في دور مستقبلات المايكروبيوتا المعوية (كال TMAO) في قصور القلب خاصةً، وفي الأمراض القلبية الوعائية عامةً.

#### المراجع:

[1] McDonagh A. T., Metra M., et al., (2021), ESC Scientific Document Group, 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*, Volume 42, Issue 36, 21 September 2021, Pages 3599–3726  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>.

[2] Bui A.L., Horwich T.B., Fonarow G.C., (2011), Epidemiology and risk profile of heart failure, *Nat. Rev. Cardiol.* 8 (1) 30–41.

- [3] Yamaji M., Tsutamoto T., Kawahara C., et al., (2009), Serum cortisol as a useful predictor of cardiac events in patients with chronic heart failure: The impact of oxidative stress, *Circ. Hear. Fail.* 2 (6) 608–615, <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.868513>.
- [4] Maisel A.S., Knowlton K.U., Fowler P., et al., (1990) Adrenergic control of circulating lymphocyte subpopulations. Effects of congestive heart failure, dynamic exercise, and terbutaline treatment, *J. Clin. Invest.* 85 (2) 462–467, <https://doi.org/10.1172/JCI114460>.
- [5] Westermann, J.; Bode, U: (1999) Distribution of activated T cells migrating through the body: a matter of life and death. *Immunol. Today*, 20, 302-6.
- [6] Hofmeister, R., et al. (1999), The role of cytokines in apoptosis of lymphocytes in congestive heart failure. *International Journal of Molecular Medicine.* 3(6), 491–494. <https://doi.org/10.3892/ijmm.3.6.491>.
- [7] Tang, W. H., Kitai, T., Hazen, S. L. (2017), Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circ Res.* 120(7), 1183–1196. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715.
- [8] Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B. J. et al. (2011), Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472(7341), 57– 63. doi: 10.1038/nature09922.
- [9] Sharma R., Coats AJ., Anker SD. (2000), The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: Cytokines, nitric oxide, and endothelin-1. *Int J Cardiol*;72:175-86.
- [10] Bracamonte-Baran W. and Cihakova D., (2017), “Cardiac autoimmunity: myocarditis,” *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 1003, pp. 187–221.

- [11] Fildes JE, Shaw SM, Yonan N, Williams SG. (2009), The immune system and chronic heart failure: is the heart in control? J Am Coll Cardiol;53:1013–1020.
- [12] Tamariz L, Hare JM. (2010), Inflammatory cytokines in heart failure: Roles in aetiology and utility as biomarkers. Eur Heart J;31:768–770.
- [13] Odenwald MA, Turner JR. (2017), The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? Nat Rev Gastroenterol Hepatol 14: 9–21, .  
doi:10.1038/nrgastro.2016.169.
- [14] Pasini E, Aquilani R, Testa C, Baiardi P, et al. (2016), Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. JACC Heart Fail 4: 220–227. doi:10.1016/j.jchf.2015.10.009.
- [15] Gupta S., Gollapudi S., (2006), TNF-alpha-induced apoptosis in human naïve and memory CD8+ T cells in aged humans, Exp. Gerontol. 41 69–77, <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.10.001>.
- [16] Battin DL, Ali S, Shahbaz AU, et al. (2010), Hypoalbuminemia and lymphocytopenia in patients with decompensated biventricular failure. Am J Med Sci;339:31–5.
- [17] Bittner V, Weiner DH, Yusuf S, et al. (1993), Prediction of mortality and morbidity with a 6-minute walk test in patients with left ventricular dysfunction. SOLVD Investigators. JAMA;270:1702–7.
- [18] Diwan A, Tran T, Misra A, Mann DL. (2003), Inflammatory mediators and the failing heart: a translational approach. Curr Mol Med;3:161 – 82.

- [19] Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. (1990), Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. N Engl J Med;223:236– 41.
- [20] Shan K, Kurrelmeyer K, Seta Y, Wang F, et al. (1997), The role of cytokines in disease progression in heart failure. Curr Opin Cardiol;12:218– 23.
- [21] Valgimigli M, Curello S, Ceconi C, et al. (2001), Neurohormones, cytokines and programmed cell death in heart failure: a new paradigm for the remodeling heart. Cardiovasc Drugs Ther;15:529–37.
- [22] Yokoyama T, Nakano M, Mann DL, et al. (1997), Tumor necrosis factor-a provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. Circulation;95:1247– 52..
- [23] Torre-Amione G, Kapadia S, Mann DL, et al. (1996), Pro-inflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). J Am Coll Cardiol;27:1201– 6.
- [24] Deswal A, Petersen NJ, Mann DL, et al. (2001), Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analyses of cytokine database from the vesnarinone trial (VEST). Circulation;103:2055 –9.
- [25] Mann DL. (2003), Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. Annu Rev Physiol;65:81– 101.
- [26] Negoro S, Oh H, Tone E, et al. (2001), Glycoprotein 130 regulates cardiac myocyte survival in doxorubicin induced apoptosis through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt phosphorylation and Bcl-xL/caspase-3 interaction. Circulation;103: 555–561.

- [27] Wollert KC, Drexler H. (2001), The role of interleukin-6 in the failing heart. Heart Fail Rev;6:95– 103.
- [28] Nadia Bouabdallaoui , Martin G Sirois , William Beaubien-Souligny , et al. (2020), Lymphocytopenia During Hospitalization for Acute Heart Failure and Its Relationship With Portal Congestion and Right Ventricular Function, J Card Fail .Dec;26(12):1043-1049. doi: 10.1016/j.cardfail.2020.07.001.
- [29] Hasan Yücel, Meltem Refiker Ege, Ali Zorlu, et al. (2015), Lymphocytopenia is associated with poor NYHA functional class in chronic heart failure patients with reduced ejection fraction, Turk Kardiyol Dern Ars . Jul;43(5):427-33.doi:10.5543/tkda.2015.89439.
- [30] Delcea C., Vijan A., et al. (2021), Comparative role of hematological indices for the assessment of in-hospital outcome of heart failure patients. Scand Cardiovasc J. Aug;55(4):227-236. doi: 10.1080/14017431.2021.1900595.
- [31] Majmundar M., Kansara T., et al. (2022), Absolute lymphocyte count as a predictor of mortality and readmission in heart failure hospitalization. Int J Cardiol Heart Vasc. Mar 5:39:100981. Doi :10.1016/j.ijcha.2022.100981.
- [32] Aguilera G, Kiss A, Hauger R, et al. (1992), Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during stress: role of neuropeptides and neurotransmitters. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90665-A](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90665-A).
- [33] Papanicolau DA, Wilder RL, Manolagas SC, et al. (1998), The pathophysiological roles of interleukin-6 in human disease. Ann Intern

Med;128:127-37.

[34] Hager K, Machein U, Krieger S, et al. (1994), Interleukin-6 and selected plasma proteins in healthy persons of different ages. *Neurobiol Aging*;15:771-2.

[35] MacGowan GA, Mann DL, Kormos RL, et al. (1997), Circulating interleukin- 6 in severe heart failure. *Am J Cardiol*;79:1128-31.

[36] Cioca, D.P.; Watanabe, N.; Isobe, M: (2000), Apoptosis of peripheral blood lymphocytes is induced by catecholamines. *Jpn. Heart J.*, 41, 385-98.

[37] Swirski FK, Nahrendorf M. (2013), Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure. *Science*;339:161–6.

[38] Nakai A, Hayano Y, Furuta F, et al. (2014), Control of lymphocyte egress from lymph nodes through beta2-adrenergic receptors. *J Exp Med*;211:2583–98.

[39] Suzuki K, Hayano Y, et al. (2016), Adrenergic control of the adaptive immune response by diurnal lymphocyte recirculation through lymph nodes. *J Exp Med*;213:2567–74..

[40] Gupta, S.; Agrawal, A.; et al.: (2006), A paradox of immunodeficiency and inflammation in human aging: lessons learned from apoptosis. *Immun. Ageing.*, 2006, 3, 5.

[41] Aimo A., Castiglione V., et al. (2020), Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to

therapeutic strategies. European Journal of Preventive Cardiology, DOI: 10.1177/2047487319870344.

[42] Caliguri, G.; Nicoletti, A: (2006), Lymphocytes responses in acute coronary syndromes: lack of regulation spawns deviant behaviour. *Eur. Heart J.*, 27, 2485-6.

[43] Cheng, X.; Liao, Y.H.;et al.: (2005), TH1/TH2 functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation or myocardial inflammation. *J. Clin. Immunol.*, 25, 246- 53. DOI: 10.1007/s10875-005-4088-0.

## دراسة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة عن إسهال

### العجول

أشرف الصالح<sup>3</sup>

ماهر صالح<sup>2</sup>

عاصم الباكير<sup>1</sup>

### الملخص

هدفت هذه الدراسة الى عزل ودراسة انتشار عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية المعزولة عن اسهال العجول في البيئة. حيث اجريت هذه الدراسة في مخابر كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2024/7/2 و 2024/12/23 ، وقد تم عينات روث عن طريق إجراء مسحات شرجية من 60عجل مصاب بالإسهال في محافظة حماة، كما تم اجراء عزل عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية من مصادر بيئة مختلفة وبواقع 60 عينة من كل من (ارضية الحظائر و المستنقعات والتربة القريبة من مواقع تربية الحيوانات). أظهرت النتائج انتشار عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية بنسبة 100% في أراضي الحظائر وبنسبة 75% من المستنقعات وبنسبة 48.33% في عينات التربة. كما أظهرت وجود جراثيم الاشريكية القولونية بنسبة 100% في أرضية حظائر الحيوانات وبنسبة 100% في المستنقعات التي تم إثبات وجود العاثي فيها وبنسبة 82.75% في التربة التي تم إثبات وجود العاثي فيها. كما تبين أن معظم البيئات التي تم إثبات وجود فيها عاثيات الإشريكية القولونية كانت ذات تفاعل قلوي حيث بلغت نسبة البيئات ذات التفاعل القلوي 80% في أرضية الحظائر و 60% في المستنقعات و 75.86% في التربة. نستنتج من هذه الدراسة الأنتشار الواسع لعاثيات الإشريكية القولونية في البيئة إذ بلغ أعلى معدل انتشار في أرضية الحظائر يليه المستنقعات يليه التربة وأنتشار عاثيات الإشريكية القولونية بشكل أكبر في البيئات التي تحتوي العائل الجرثومي وأنتشار عاثيات الجراثيم في البيئات ذات التفاعل القلوي بشكل أكبر من البيئات ذات التفاعل الحمضي.

الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية، الإسهال، عاثيات الجراثيم، العجول

- (1) طالب دراسات عليا (دكتوراه) - قسم الصحة العامة والطب الوقائي - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.
- (2) أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة والطب الوقائي - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.
- (3) مدرس في قسم الأحياء الدقيقة - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

**A study on the prevalence of bacteriophages of Escherichia coli  
isolated from calf diarrhea**

**ASEEM AL-BAKER<sup>1</sup>**

**MAHER SALEH<sup>2</sup>**

**ASHRAF ALSALEH<sup>3</sup>**

**Abstract**

This study aimed to isolate and investigate the prevalence of bacteriophages specific to Escherichia coli bacteria, which were isolated from calf diarrhea in the environment.

The study was conducted in the laboratories of the Faculty of Veterinary Medicine at Hama University during the period from July 2, 2024, to December 23, 2024. Fecal samples were collected by performing rectal swabs from 60 diarrheic calves in Hama province. Concurrently, bacteriophages targeting Escherichia coli were isolated from different environmental sources, with a total of 60 samples collected from each of the following: barn floors, swamps, and soil near animal rearing sites.

The results revealed the prevalence of Escherichia coli bacteriophages at a rate of 100% on barn floors, 75% in swamps, and 48.33% in soil samples. Furthermore, Escherichia coli bacteria were detected at a rate of 100% on barn floors, 100% in swamps where the phage was confirmed, and 82.75% in soil samples where the phage was confirmed. It was also demonstrated that most environments where Escherichia coli bacteriophages were detected had an alkaline reaction, with alkaline environments accounting for 80% of barn floors, 60% of swamps, and 75.86% of soil samples. We conclude from this study the widespread prevalence of Escherichia coli bacteriophages in the environment, with the highest frequency found on barn floors, followed by swamps, and then soil. The prevalence of Escherichia coli bacteriophages was higher in environments containing their bacterial host. Furthermore, the bacteriophages were more prevalent in alkaline environments than in acidic ones

**Keywords:** *Escherichia coli*, Diarrhea, Bacteriophages, calves

- 1) Postgraduate Student (P.H.D) – Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.
- 2) PHD in Public Health and Preventive Medicine – Department of Public Health and Preventive Medicine –College of Veterinary Medicine – University of Hama.
- 3) PHD in Microbiology –Department of microbiology – College of Veterinary Medicine –University of Hama

المقدمة:

تُعد إسهال العجول حديثة الولادة أحد أهم الأمراض التي تصيب العجول خلال الأسابيع القليلة الأولى من عمرها (Abuelo et al., 2017)، أما الأنماط المرضية الأكثر شيوعاً لسلاطات الإشريكية القولونية المرتبطة بإسهال العجول حديثة الولادة فهي الإشريكية القولونية المفترزة للذيفان المعوي (ETEC) والإشريكية القولونية الممرضة المعوية (EPEC) ، والتي تشير الدراسات إلى أنها مسؤولة عن معدلات مرضية ووفيات عالية (Mainil and Fairbrother, 2014).

تُعد الإشريكية القولونية مسبباً مرضياً مهماً أظهر مقاومة للمضادات الميكروبية (Abuelo et al., 2017). يمكن للعلاج بالمضادات الحيوية شائعة الاستخدام أن يساهم بشكل كبير في كبح المناعة لدى العجول، مما يزيد من قابليتها للعدوى. كما قد يزيد من مقاومة البكتيريا، مما يجعل القضاء الفعال على المسببات المرضية أكثر صعوبة (Umpiérrez et al., 2017). لذلك، بالإضافة إلى العلاج بالمضادات الحيوية التقليدية، ناقشت العديد من الدراسات طرقاً بديلة للعلاج باستخدام مواد طبيعية (O'Flaherty et al., 2009; Urban-Chmiel et al., 2017).

يتم البحث عن طرق بديلة للقضاء على مسببات الأمراض، ويُعد علاج العجول المصابة بالإسهال باستخدام العاثيات بالاشتراك مع البروبيوتيك التي تمتلك قدرة مضادة للميكروبات أفضل بديل للمضادات الحيوية. وهذا يرجع إلى الفعل الكبير للعاثيات في تدمير بنية الغشاء الحيوي البكتيري (Yu et al., 2019).

نظراً للسلبات العديدة المرتبطة باستخدام المضادات الحيوية، اتخذ الاتحاد الأوروبي إجراءات حاسمة بحظر استخدامها كمحفزات للنمو وتقليل الاعتماد على أنواع معينة منها في قطاع الثروة الحيوانية (Millet et al., 2011). وفي الصين، تماشياً مع خطة العمل الوطنية للحد من استخدام المضادات الحيوية البيطرية (2021-2025) التي أعلنتها وزارة الزراعة والشؤون الريفية، تم تشديد الرقابة على استخدام هذه المضادات. نتيجة لذلك، أصبح اللجوء إلى الحلول

التقنية المبتكرة بديلاً متزايد الأهمية للتغلب على قيود المضادات الحيوية التقليدية. وقد شهدت السنوات الأخيرة دراسة عدد من العوامل المضادة للبكتيريا، مثل الببتيدات المضادة للميكروبات، والزيوت العطرية، والبروبيوتيك، والعائيات (Jiang et al., 2021; Rinaldi et al., 2021).

تعد العائيات فيروسات تتخصص في إصابة البكتيريا، تنتشر العائيات (أو الفاجات) انتشاراً واسعاً في المحيط الحيوي، حيث يفوق عددها التقديري أعداد البكتيريا بعشرة أضعاف (Hatfull, 2008). يرتبط التوزيع البيئي للعائيات ارتباطاً وثيقاً بوجود عوائلها البكتيرية المحددة (Zhan et al., 2015). على هذا الأساس، تُستخدم عائيات محددة، مثل العائيات القولونية، كأدوات حيوية لتتبع مصادر التلوث البرازي في المسطحات المائية المحيطة بالمناطق الزراعية المكثفة (Ravva et al., 2015).

في سياق آخر، أظهرت الدراسات انتشار العائيات المتخصصة في تحلل الإشريكية القولونية O157:H7 في قطعان الماشية، حيث سُجل معدل انتشار لها يقارب 20% في الحيوانات ذات الإفراز المنخفض، أي ضعف المعدل المسجل في الحيوانات ذات الإفراز الفائق، مما يشير إلى دور تكاملي محتمل للعائيات في تثبيط سلالات الإشريكية القولونية O157:H7 (Hallewell et al., 2014). ونظراً للتخصص العائلي الضيق للعائيات، تم عزل سلالات جديدة منها قادرة على تحلل مجموعات مصلية مختلفة من الإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيجا (STEC)، مع تركيز الجهود البحثية على الحيوانات المجترة والبيئات المرتبطة بها، كحظائر التسمين (Wang et al., 2015; Bumunang et al., 2019).

ونظراً لدور العائيات التي تصيب البكتيريا المعوية كـ STEC كعناصر أساسية في ميكروبيوم أمعاء المجترات (Handley et al., 2012)، فقد حظيت دراسة انتشارها في البيئات قليلة التلوث ببراز المجترات، مثل مزارع المحاصيل الزراعية، باهتمام أقل. في دراسة سابقة، تم جمع

عينات مياه سطحية من مواقع متعددة ضمن منطقة زراعية في وادي ساليناس بكاليفورنيا، وتم رصد انتشار العاثيات المحللة للمجموعات المصلية الأساسية لـ STEC مثل O45 و O145 و O157 وقد كشفت النتائج أن عوامل بيئية، مثل النشاط البشري ومستويات هطول الأمطار، أسهمت في ارتفاع معدلات انتشار العاثيات المتحللة لسلاسل STEC المختلفة. أدى وجود هذه العاثيات إلى فشل في عزل العوائل البكتيرية المقابلة لـ STEC من المواقع نفسها؛ ومع ذلك، لم يتم تحديد المصدر الأساسي لهذه العاثيات (Liao et al., 2018).

#### الهدف من هذه الدراسة:

- 1) دراسة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية في مصادر بيئية مختلفة.
- 2) تأثير بعض خواص البيئة على وجود عاثيات الإشريكية القولونية (وجود جراثيم الإشريكية القولونية، حموضة البيئة)

#### المواد وطرائق العمل:

جمعت العينات لإجراء الدراسة من مناطق مختلفة في محافظة حماة في الفترة ما بين 2024/7/2 إلى 2024/12/23 ويواقع 60 عينة على شكل مسحات من عجول مصابة بالإسهال تتراوح أعمارها من 1 يوم إلى 6 أشهر ووضعت الماسحات في الإنبوب الخاص حيث يحتوي على ماء البيبتون ثم تم نقل العينات إلى المختبر في نفس اليوم لإجراء الاختبارات.

**العزل الجرثومي:** زرعت العينات على وسط ماكونكي (HiMedia®) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة ثم اختيرت مستعمرات مخمرة للاكتوز وزرعت على وسط EMB (HiMedia®) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة وأختيرت المستعمرات الخضراء ذات اللمعة المعدنية المسودة (Gibbons et al., 2014). وتم إجراء صبغة غرام و

الأختبارات الكيميائية باستخدام ( Hi25™ Enterobacteriaceae Identification Kit )  
KB003). كما عزلت جراثيم الإشريكية القولونية من البيئة المختبرة.

عزل عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية: تم جمع 60 عينة لعزل فيروسات العاثيات الجرثومية من مصادر بيئية مختلفة (مستقعات، أرضية الحظائر، تربة قريبة من مواقع تربية الحيوانات) ونقلت الى المختبر إذ تم مزج العينات الصلبة ب 100 مل من ماء البيتون ورشح المزيج باستخدام ورق ترشيح ثم تم إجراء طرد مركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة من أجل التعجيل في تجميع الأجزاء الكبيرة ومن ثم التخلص منها، ثم أخذ الرائق وبرشح بواسطة مرشحات جرثومية ذات مسام بحجم 0.8 ميكروميتر ، 0.45 ميكروميتر ، 0.22 ميكروميتر على التوالي (Beaudoin et al.,2007).

تم تنمية جراثيم الأشرية القولونية المعزولة من حالات إسهال العجول على المرق المغذي (Nutrient Broth) وتم تحضين الأنابيب عند درجة حرارة 37 م° في حاضنة مظلمة، وتم استخدام هذه الجراثيم كوسط غذائي مضيف لتكاثر الفيروسات ومن أجل عزل العاثيات الجرثومية (Alexyuk et al., 2022).

تم استخدام طريقة تقنية الآغار المزوج لعزل عاثيات الجراثيم إذ تم تحضير اطباق من الآغار المغذي المضاف له نترات الكالسيوم كطبقة رقيقة أولى في اطباق بيتري عقيمة، ثم تم خلط 300 ميكرون من عينات رائق العاثيات و300 ميكرون من جراثيم الأشرية القولونية كل على حدى، وتحفظ لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 37م مع التحريك المستمر، ثم أضيفت الى 3مل من الآغار ويصب كطبقة علوية فوق طبقة الآغار السفلي ويترك حتى التصلب ثم حضن بدرجة حرارة 37 م لمدة 48 ساعة وعند انتهاء فترة الحضن تم ملاحظة مناطق تثبيط للنمو لويحات التحلل (Lytic zone or plaques) دلالة على وجود العاثي الجرثومي (Pallavali et al., 2017; Santos et al., 2009, Kobayashi and Palumbo, 2000)

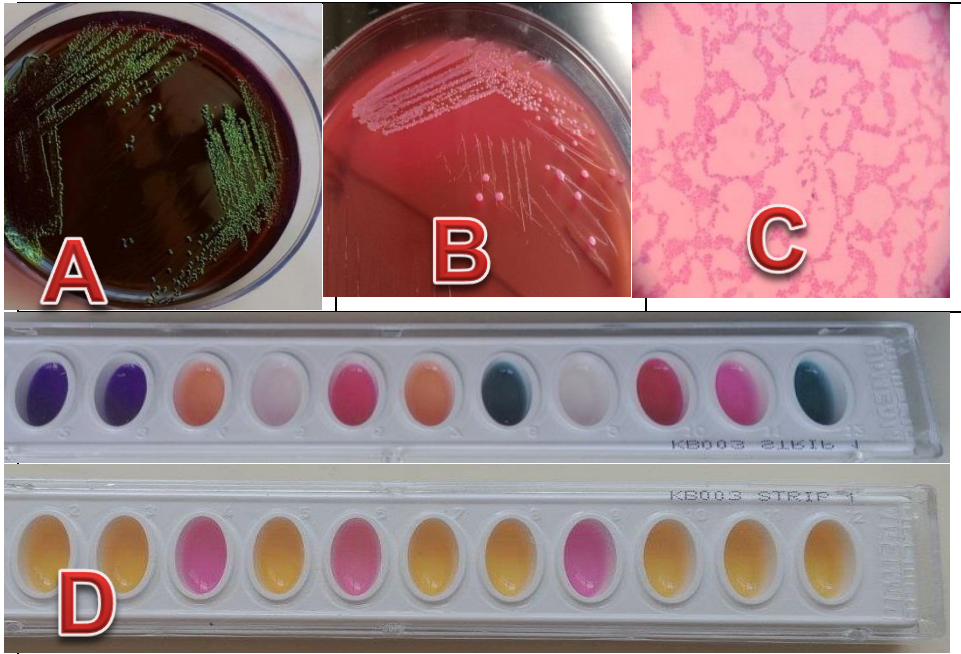
كما تم قياس درجة pH البيئة المدروسة باستخدام جهاز pHmeter.

التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج مايكروسوفت اكسل 2019 وبرنامج (vs,8.2.1) padgraph prism لمعالجة البيانات وتشكيل المخططات.

### النتائج والمناقشة:

تم عزل جراثيم الإشريكية القولونية من عجول مصابة بالإسهال وكانت نتائج الاختبارات الكيمياءحيوية في الجدول (1). صورة (1).



صورة رقم (1):

(A): الأشرىكية القولونية على وسط EMB (B): الأشرىكية القولونية على وسط ماكونكي

(C): الأشرىكية القولونية بصبغة غرام (D): الأختبارات الكيمياءحيوية للإشريكية القولونية.

الجدول رقم (1): نتائج الاختبارات الكيمياءحيوية للإشريكية القولونية المعزولة عن اسهال

العجول

Oxidase	ONPG	+	Escuin hydrolysis	-
	Lysine utilization	+	Arabinose	+
Ornithine utilization	Urease	+	Xylose	+
	Phenylalanine Deamination	-	Adonitol	-
Nitrate reduction	Rhamnose	+	Cellobiose	-
	H <sub>2</sub> S production	-	Melbiose	+
Citrate utilization	Saccharose	d		
	Voges-Proskauer	-	Raffinose	d
Methyl red	Trehalose	+		
	Indole	+	Glucose	+
Malonate utilization	Lactose	+		
		-		-

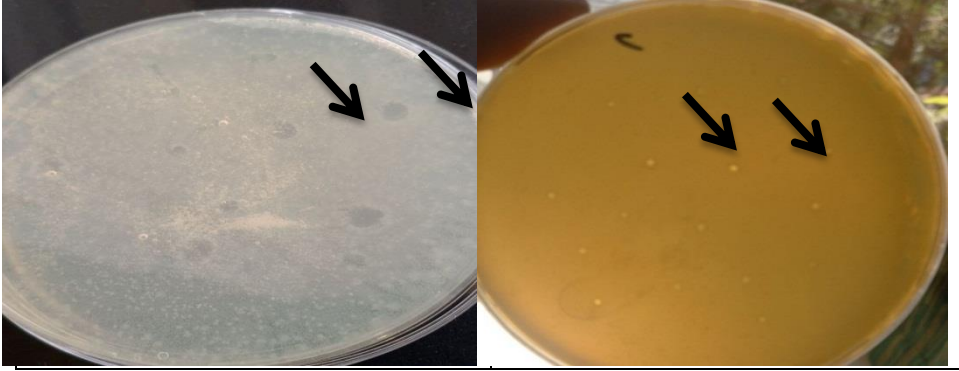
تنتشر جراثيم الإشريكية القولونية بشكل وبائي في حظائر تربية الأبقار، خاصة في الظروف التي لا تراعي أسس الرعاية الصحية والوقائية. تبدأ المشكلة مع تلوث البيئة المحيطة بالعجول (كالفراش، والأعلاف، وأدوات الشرب) ببراز حيوانات حاملة للمرض، أو من الأمهات نفسها. تنتقل الجرثومة إلى العجل حديث الولادة - الذي يعاني من جهاز مناعي غير مكتمل - عن طريق الفم أثناء الرضاعة أو من خلال التعامل المباشر مع الأسطح الملوثة (Divers and peek,2018).

كما يظهر الجدول رقم (2) نتائج انتشار نسبة تواجد عاثيات الإشريكية القولونية في البيئة حيث بلغت نسبة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية في أرضية حظائر الأبقار 100% بينما بلغت نسبتها في المستنقعات 75% أما في التربية فقد بلغت نسبتها 48.33% صورة رقم (2).

تحظى عاثيات الإشريكية القولونية (Coliphages) بانتشار واسع ومثير للاهتمام في بيئات متنوعة، بما في ذلك أرضية الحظائر، والمستنقعات، والتربة الزراعية. يعكس هذا الانتشار الواسع وجود مضيفه الجرثومي بكثافة في هذه البيئات، حيث تفرز الإشريكية القولونية بكميات كبيرة من خلال براز الحيوانات والإنسان، مما يخلق خزانات طبيعية غنية بالعاثيات التي تتطور وتتكاثر فيها (Sulakvelidze et al., 2001). وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها متقاربة مع ما وجدته (Niu et al., 2009) في أرضية الحظائر حيث بلغت نسبة عزل عاثيات الإشريكية القولونية 94%، وفي دراسة (Kouadio et al., 2022) فقد تم عزل عاثيات الإشريكية القولونية من مياه الصرف الصحي بنسبة بلغت 90% كما وجد (Martak et al., 2020) أن 80% من المستنقعات تحتوي على عاثيات الإشريكية القولونية، في حين وجد (Saeed et al., 2019) أن نسبة انتشار عاثيات الإشريكية القولونية في تربة مزارع الفروج بلغت 58.3% أما في تربة مزارع البياض فقد بلغت 66.6%.

الجدول رقم (2): نسبة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة

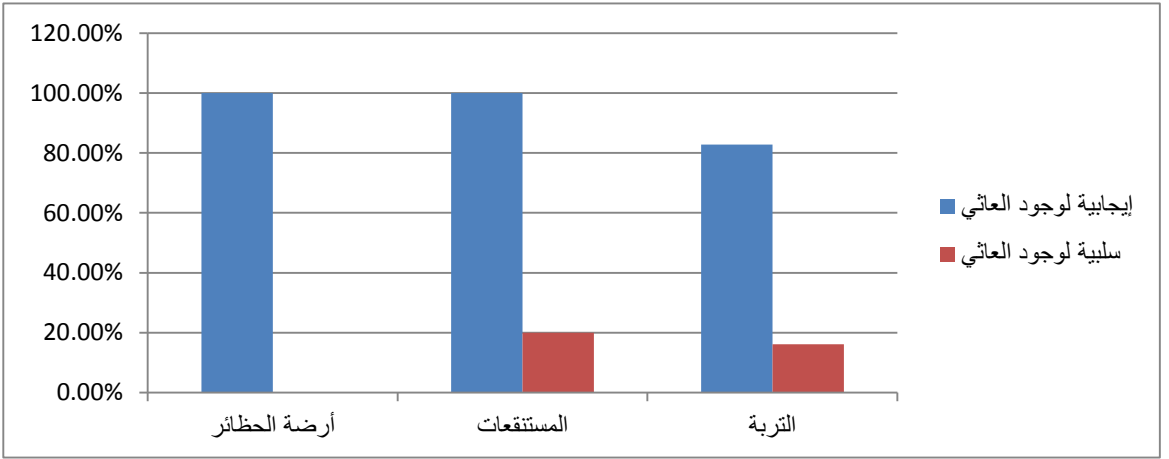
النسبة المئوية %	أرضية الحظائر	المستنقعات	التربة
100	75	48.33	



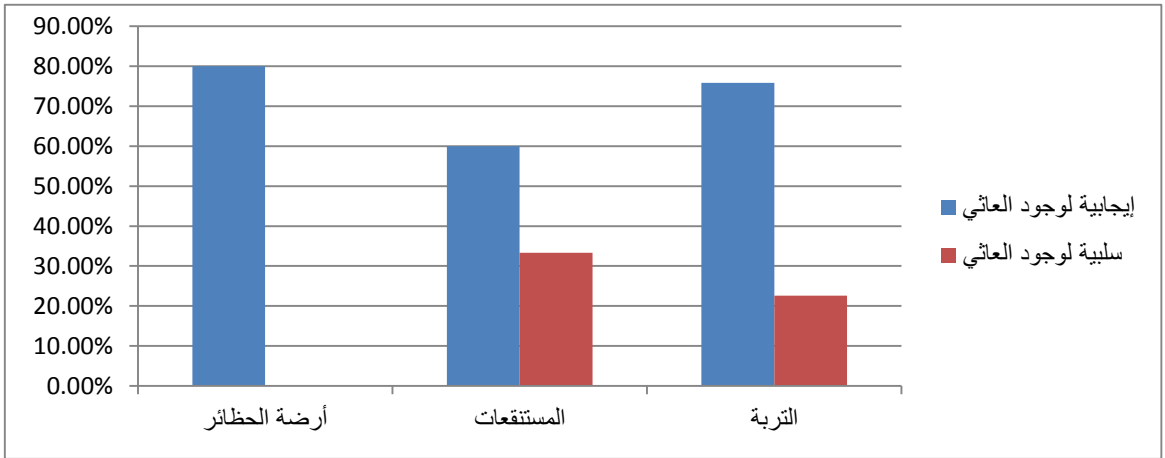
صورة رقم (2): تشير الأسهم إلى اللويحات على أطباق الآغار حيث مكان تواجد العاثيات

وبالكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة المدروسة تم الكشف عن وجودها بنسبة 100% في أرضية الحظائر و بنسبة 100% في المستنقعات التي تم إثبات وجود العاثي فيها، في حين تواجدت بنسبة 20% في المستنقعات التي لم يتم إثبات وجود العاثي فيها، كما أظهرت النتائج عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية بنسبة 82.75% في التربة التي تم إثبات وجود العاثي فيها، في حين تواجدت بنسبة 16.12% في التربة التي لم يتم إثبات وجود العاثي فيها مخطط رقم (1).

## دراسة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة عن إسهال العجول



مخطط رقم 1: يشير إلى نتائج الكشف عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة المدروسة كما يظهر المخطط رقم (2) نسبة البيئات التي أظهرت تفاعلاً قلوياً حيث ودراسة pH البيئة المدروسة تبين أن معظم البيئات التي تم إثبات وجود فيها عاثيات الإشريكية القولونية كانت ذات تفاعل قلوي حيث بلغت نسبة البيئات ذات التفاعل القلوي 80% في أرضية الحظائر و 60% في المستنقعات و 75.86% في التربة.



### المخطط رقم (2) نسبة الببئات التي أظهرت تفاعلاً قلوياً

تُعد الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) من البكتيريا السائدة في أرضيات حظائر الحيوانات، ويرجع ذلك أساساً إلى التلوث المستمر بفضلاتها، يشكل هذا التلوث بيئة مثالية لتكاثر العاثي وانتشاره (McMinn et al., 2020) ومع ذلك، فإن ديناميكية تفاعل العاثي مع العائل البكتيري في مثل هذه البيئات تتأثر بشدة بالظروف البيئية المحيطة. كما تلعب قلوية الوسط دوراً محورياً في تعديل استقرار العاثي ونشاطه. أظهرت الدراسات أن العديد من العاثيات تظهر ثباتاً ملحوظاً في نطاق الأس الهيدروجيني القلوي. حيث وجد (Zhou et al., 2023) أن العاثيات القولونية احتفظت بقدرتها المعدية في ظل ظروف قلوية (pH يصل إلى 9) لفترات طويلة، مما يدل على قدرتها على البقاء في بيئات مثل التربة المسمدة أو الأسطح المُنظّفة بمواد قلوية. يُعزى هذا الثبات إلى الطبيعة الهيكلية القوية للفيصصة الفيروسية، والتي توفر حماية للحمض النووي من التحلل القلوي.

بالمقابل، يمكن أن يؤثر الرقم الهيدروجيني بشكل غير مباشر على فعالية العاثي من خلال تأثيره على حالة العائل البكتيري نفسه. حيث يمكن لظروف القلوية أن تعدل من التعبير عن مستقبلات البكتيريا التي يرتبط بها العاثي، مما قد يقلل من كفاءة عملية العدوى (Khan et al., 2021) علاوة على ذلك، فإن ديناميكية العاثي في التربة الزراعية تتأثر بعوامل معقدة أخرى مثل استخدام مياه الري الملوثة أو الأسمدة العضوية (مثل السماد الطبيعي)، وخصائص التربة (الرطوبة، المحتوى العضوي)، والتي تتفاعل بدورها مع درجة الحموضة لتشكل المحصلة النهائية لاستقرار الفيروس وقدرته على إصابة مضيفه البكتيري (Syngouna et al., 2013).

#### الاستنتاجات:

- 1) الأنتشار الواسع لعاثيات الإشريكية القولونية في البيئة إذ بلغ أعلى معدل انتشار في أرضية حظائر يليه المستنقعات يليه التربة.
- 2) أنتشار عاثيات الإشريكية القولونية بشكل أكبر في البيئات التي تحتوي العائل الجرثومي
- 3) أنتشار عاثيات الجراثيم في البيئات ذات التفاعل القلوي بشكل أكبر من البيئات ذات التفاعل الحمضي.

#### التوصيات:

- 1) دراسة عوامل الخطورة المرافقة لإسهال العجول
- 2) دراسة الظروف الفيزيائية والكيميائية في البيئة المعزول منها العاثيات.
- 3) دراسة امكانية استخدام العاثيات في علاج حالات الإسهال عند العجول

### المراجع:

1. Abuelo, A. (2017) Investigation of an outbreak of neonatalcalf diarrhea in a dairy herd. Vet. Rec. Case Rep. 4, e000372.
2. Alexyuk, P., Bogoyavlenskiy, A., Alexyuk, M., Akanova, K., Moldakhanov, Y., & Berezin, V. (2022). Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages Active against Clinical Strains of E. coli and Development of a Phage Antimicrobial Cocktail. Viruses, 14 (11), 2381.
3. Beaudoin, R. ; DeCesaro, D. ; Durkee, D. and Barbaro, S. 2007. Isolation of a Bacteriophage From Sewage Sludge and characterization of its bacterial host cell. Rivier Academic Journal, 3(1),1-8.
4. Bumunang, E. W., McAllister, T. A., Stanford, K., Anany, H., Niu, Y. D., & Ateba, C. N. (2019). Characterization of Non-O157 STEC Infecting Bacteriophages Isolated from Cattle Faeces in North-West South Africa. Microorganisms, 7(12), pii: E615.
5. Divers, T. J., & Peek, S. F. (Eds.). (2018). *Diseases of dairy cattle* (3rd ed.). Elsevier.
6. Hallewell, J., Niu, Y. D., Munns, K., McAllister, T. A., Johnson, R. P., Ackermann, H. W., Stanford, K. (2014). Differing populations of endemic bacteriophages in cattle shedding high and low numbers of Escherichia coli O157:H7 bacteria in feces. Applied and Environmental Microbiology, 80(13), 3819-3825.

7. Handley, S. A., Thackray, L. B., Zhao, G., Presti, R., Miller, A. D., Droit, L. Virgin, H. W.(2012). Pathogenic simian immunodeficiency virus infection is associated with expansion of the enteric virome. *Cell*, 151(2), 253–266.
8. Hatfull, G. F. (2008). Bacteriophage genomics. *Current Opinion in Microbiology*, 11(5), 447– 453.
9. Jiang, Z., Li, W., Su, W., Wen, C., Gong, T., Zhang, Y., et al. (2021). Protective effects of bacillus amyloliquefaciens 40 against clostridium perfringens infection in mice. *Front. Nutr.* 8:733591.
10. Khan, M. A., Sathali, A. A. H., & Sabir, J. S. M. (2021). Bacterial surface receptor modulation by environmental pH and its impact on phage infectivity. *Environmental Microbiology Reports*, 13(4), 45–58.
11. Kobayashi, D.Y., and Palumbo, J.D. (2000). Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture. In ‘ Microbial Endophytes’. (Eds CW Bacon, JF White). Marcel Dekker, Inc., New York, USA .
12. Kouadio, K. K., Konan, K. M., Ouattara, D., & Traoré, O. (2022). Isolation and characterization of bacteriophages infecting Escherichia coli strains from sewage and lagoon waters in Côte d’Ivoire. *Virology Journal*, 19 (1), 77.
13. Liao, Y.–T., Liu, F., & Wu, V. C. H. (2018). Complete Genome Sequence of Escherichia Phage vB\_EcoM–Pr121LW, Isolated from Soil in an Organic Farm. *Microbiology Resource Announcements*, 7(20), e01236–01218.

14. Mainil, J. G., and Fairbrother, J. (2014) Pathogenic Escherichia coli in domestic mammals and birds. In Pathogenic Escherichia coli. Molecular and Cellular Microbiology, 1st ed. (Morabito, S., Ed.), pp 19– 44, Caister Academic Press, Norfolk.
15. Martak, D., Duperron, S., Boussekey, M., Le Bris, N., & Jacquet, S. (2020). High prevalence of human-associated Escherichia coli in low-anthropized wetlands: Sources and implications. *Frontiers in Microbiology*, 11, 552566.
16. McMinn, B. R., Korajkic, A., & Ashbolt, N. J. (2020). Bacteriophages as indicators of faecal pollution and viral water quality. In *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy* (pp. 1– 39). Springer, Cham.
17. Millet, S., and Maertens, L. (2011). The european ban on antibiotic growth promoters in animal feed: from challenges to opportunities. *Vet. J.* 187, 143–144.
18. Niu, Y. D., Stanford, K., Kropinski, A. M., Ackermann, H. W., Johnson, R. P., She, Y. M., & McAllister, T. A. (2009). Prevalence and impact of bacteriophages on the presence of Escherichia coli O157:H7 in feedlot cattle and their environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (5), 1271–1278.
19. O’Flaherty, S., Ross, R. P., and Coffey, A. (2009) Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 33, 801–819.
20. Pallavali, R.R.; Degati, V.L.; Lomada, D.; Reddy, M.C. and Durbaka, V.R. P. (2017). Isolation and in vitro evaluation of

- bacteriophages against MDRbacterial isolates from septic wound infections. *PloS one.*, 12(7), 1–16.
21. Ravva, S. V., Sarreal, C. Z., & Cooley, M. B. (2015). Male-specific coliphages for source tracking fecal contamination in surface waters and prevalence of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* in a major produce production region of the Central Coast of California. *Environmental Science. Processes & Impacts*, 17(7), 1249–1256.
22. Rinaldi, F., Maurizi, L., Conte, A. L., Marazzato, M., Maccelli, A., Crestoni, M. E., et al. (2021). Nanoemulsions of satureja Montana essential oil: antimicrobial and antibiofilm activity against avian *escherichia coli* strains. *Pharmaceutics*. 13. doi: 10.3390/pharmaceutics13020134
23. Saeed, F., Iqbal, M., & Riaz, M. (2019). Occurrence of bacteriophages against *Escherichia coli* in poultry farm soils. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 29 (6), 1692–1699.
24. Santos, S.B.; Carvalho, C. M.; Sillankorva, S.; Nicolau, A.; Ferreira, E. C.; and Azeredo, J.( 2009). The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. *BMC microbiology*, 9(1), 1–10.
25. Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 649–659.

26. Syngouna, V. I., & Chrysikopoulos, C. V. (2013). Cotransport of viruses and clay particles in saturated porous media. *Water Research*, 47(14), 4992–5000.
27. Umpiérrez, A., Bado, I., Oliver, M., Acquistapace, S., Etcheverría, A., Padola, N. L., Vignoli, R., and Zunino, P. (2017) Zoonotic Potential and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* in Neonatal Calves in Uruguay. *Microb. Environ.* 32, 275–282.
28. Urban–Chmiel, R., Puchalski, A., Dec, M., Nowaczek, A., and Wernicki, A. (2017) Alternatywne metody zwalczania biegunek u cieląt w pierwszych tygodniach życia. *Weterynaria w Terenie* 2, 22–40.
29. Wang, J., Niu, Y. D., Chen, J., Anany, H., Ackermann, H. W., Johnson, R. P., McAllister, T.A. (2015). Feces of feedlot cattle contain a diversity of bacteriophages that lyse non– O157 Shiga toxin–producing *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(7),467–475.
30. Yu, P., Wang, Z., Marcos–Hernandez, M., Zuo, P., Zhang, D., Powell, C., Pan, A. Y., Villagrán, D., Wong, M. S., and Alvarez, P. J. J. (2019). Bottom–up biofilm eradication using bacteriophage–loaded magnetic nanocomposites: a computational and experimental study. *Environ. Sci.: Nano* 6, 3539–3550.
31. Zhan, Y., Buchan, A., & Chen, F. (2015). Novel N4 Bacteriophages Preval in the Cold Biosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(15), 5196–5202.

32. Zhou, Y., Zhou, X., & Wang, Z. (2023). Persistence of F-specific coliphages in alkaline environments: Implications for environmental tracking and risk assessment. *Science of The Total Environment*, 858(Part 2), 159987