



جامعة كربلاء  
كلية التربية للعلوم الصرفة  
قسم علوم الحياة

دراسة مناعية لبعض الواسمات السطحية لدى مرضى سرطان الدم والمصابين  
بفايروس كورونا المستجد

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء  
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ علم الحيوان

كتبت بواسطة: رغد رضا كاظم

بإشراف: أ.م.د هيام عبد الرضا كريم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۚ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ ۚ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ ۚ

الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا

يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ ۚ نُورٌ عَلَى نُورٍ ۚ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ ۚ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ

لِلنَّاسِ ۚ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿﴾

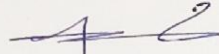
صدق الله العظيم

(سورة النور الآية ٣٥)

## إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (دراسة مناعية لبعض الواسمات السطحية لدى مرضى سرطان الدم والمصابين بفيروس كورونا المستجد) المقدمة من قبل الطالبة (رغد رضا كاظم) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير قسم علوم الحياة / مناعة واحياء مجهرية وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعلية نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

### رئيس لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. حوراء عبد الامير علي

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة الكوفة/كلية العلوم

التاريخ : 2022/ ٨ / ١٥

### عضوا و مشرفا

التوقيع : 

الاسم : د. هيام عبد الرضا كريم

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء /كلية التربية

للعلوم الصرفة

التاريخ : 2022/ ٨ / ١٦

### عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. ابتسام حبيب سعيد

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة القادسية /كلية الطب

التاريخ : 2022/ ٨ / ١٥

### عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. قيصر عبد السجاد محمد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء /كلية التربية

للعلوم الصرفة

التاريخ : 2022/ ٨ / ١٦

### مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع : 

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان


المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : جامعة كربلاء /كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 2022 / 8 / 21

## إقرار المشرف على الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة (دراسة مناعية لبعض الواسمات السطحية لدى مرضى سرطان الدم والمصابين بفايروس كورونا المستجد) قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء/ وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علم الحيوان / الأحياء المجهرية والمناعة.

التوقيع: 

الاسم: أ.م.د. هيام عبد الرضا كريم

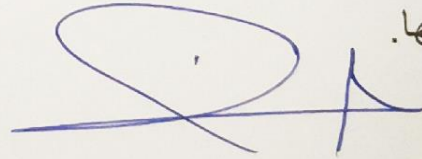
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: ٢٠٢٢ / ٨ / ١٦

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية اعلاه من الاستاذ المشرف، أُحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع: 

الاسم: أ.م.د. نصير ميرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: 2022/ ٨ / ١٦



## إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ إن هذه الرسالة الموسومة (دراسة مناعية لبعض الواسمات السطحية لدى مرضى سرطان الدم والمصابين بفيروس كورونا المستجد) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع: 

الاسم: عهد ثعبان يوسف

المرتبة العلمية: مدرس

الكلية والجامعة: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الإنسانية

التاريخ: ٢٠٢٢ / ٨ / ٢٤

## الإهداء

إلى من أختصهم الله لنفسه وأستخلصهم لحمل الأمانة

إلى الذين أذهب الله عنهم الرجس وطهرهم تطهيرا

إلى مصابيح الدجى وأعلام الهدى محمد(ص) واله الأطهار عليهم السلام

إلى من مد لي يد العون والمساعدة ومن كان قدوتي في الحياة .. المرحوم الطبيب

**الدكتور محمد صادق مهدي الموسوي**

إلى من أحمل أسمه بكل أفتخار .. ومن هو نبراسا وعونا لي .. والدي العزيز

إلى من كان دعائها سر نجاحي .. ينبوع المحبة ورمز التضحية .. أُمي الغالية

إلى من أنسني في دراستي وشاركني همومي .. خالاتي الحنونات

إلى من بهم أشد أزري وسندي في الحياة .. أختي الوحيدة وأختي أدامهم الله لي عزا

إلى أساتذتي وأصدقائي ومن يسعدهم نجاحي ومن أحب ..

أهدي ثمرة جهدي ونجاحي المتواضع

**رغد رضا كاظم**

## شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه ومن أتبعهم بإحسان إلى يوم الدين وبعد ...

فأني أشكر الله تعالى على منه حيث أتاح لي أنجاز هذا العمل بفضله.

أتقدم بخالص شكري وتقديري الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وإلى قسم علوم الحياة من أساتذة ومنتسبين لإتاحة الفرصة لي لإكمال متطلبات الدراسة.

وبوافر التقدير والاحترام أتقدم بالشكر والدعاء إلى مشرفتي الأستاذة الجليلة الدكتورة هيام عبد الرضا العواد، لمواقفها العلمية وآرائها السديدة، ولما قدمته لي من نصائح قيمة، ومساندتي وارشادي، متمنية لها دوام التوفيق.

كما أتوجه بشكري للدكتور محمد صادق مهدي الموسوي (رحمه الله) اختصاص امراض دم ولعائلته الكريمة لما قدموه لي من دعم ومساندة.

كما وأتوجه بالشكر والامتنان لكل من الطبيب الدكتور رياض المسعودي والدكتور جعفر صادق الموسوي لما قدماه لي من العون والتوجيه لخروج هذه الرسالة العلمية بالشكل الذي ظهرت عليه.

والشكر موصول لأعضاء لجنة المناقشة الكرام والمتمثلة بالدكتورة حوراء عبد الأمير علي والدكتورة ابتسام حبيب سعيد والدكتور قيصر عبد السجاد محمد على تفضلهم بقبول مناقشة رسالة الماجستير هذه.

ويسرني أن أوجه شكري لكل من نصحني أو أرشدني أو وجهني أو أسهم معي في إعداد هذا البحث وبالأخص الباحث محمد عباس يونس والباحث كرار عبد علي جاهل.

وأخيرا فاني أتقدم بوافر امتناني وشكري الى كل من كان نورا في حياتي....عائلتي.

رغد رضا كاظم

## قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	ت
	الفصل الأول	
1	Introduction المقدمة	1
	الفصل الثاني	
4	Literature Review أستعراض المراجع	2
4	COVID-19(SARS- 19- نبذة تاريخية عن مرض فايروس كورونا-19- COV-2)	1-2
5	Structure of coronavirus تركيب فايروس كورونا	2-2
7	Classification of فايروس كورونا العلمي لتصنيف coronavirus	3-2
7	Coronavirus Entry اليات دخول فايروس كورونا Mechanisms	4-2
10	اعراض وطرق الإصابة والوقاية من فايروس كورونا Symptoms and methods of infection and prevention of coronavirus	5-2
11	The role of دور اللقاحات للحماية من فايروس كورونا vaccines to protect against coronavirus	6-2
11	Coronavirus detection الكشف عن فايروس كورونا	7-2



11	Coronavirus and immune system فايروس كورونا والجهاز المناعي	8-2
12	Effect of corona virus in innate Immunity تأثير فايروس كورونا في المناعة الفطرية	1-8-2
13	Effect of corona virus in adaptive Immunity تأثير فايروس كورونا في المناعة التكيفية	2-8-2
14	White blood cells خلايا الدم البيضاء	9-2
15	Granular White blood cells كريات الدم البيضاء الحبيبية	1-9-2
17	NON- Granular White blood cells كريات الدم البيضاء غير الحبيبية	2-9-2
21	Hematological malignancies الأورام الدموية الخبيثة	10-2
21	Leukemia ابيضاض الدم	1-10-2
23	Lymphomas الأورام اللمفاوية	2-10-2
25	Cell surface markers الواسمات السطحية للخلايا	11-2
	الفصل الثالث	
29	Materials and methods المواد وطرائق العمل	3
29	Materials المواد	1-3
29	Equipments and Instruments الأجهزة والمعدات المستخدمة	1-1-3

30	الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة Chemical materials	2-1-3
30	عدة فحص CD3,CD4,CD16,CD56,CD19	3-1-3
31	المرضى Patients	2-3
31	بيانات المرضى Data Patients	1-2-3
31	تصميم الدراسة Study Design	2-2-3
31	مجموعة السيطرة (الأصحاء) Control Group	3-2-3
31	مجموعة المرضى Patient Group	4-2-3
32	تصميم التجربة Study chart	3-3
33	طرائق العمل Methods	4-3
33	عينات الدراسة Samples of the study	1-4-3
33	جمع عينات الدم Collection of blood samples	2-4-3
35	طريقة العمل Procedure	5-3
35	طريقة قياس مستوى كل من الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16 and CD56 في الدم باستخدام جهاز flow cytometry	1-5-3
36	التحليل الاحصائي Statistical analysis	6-3
	الفصل الرابع	
37	النتائج والمناقشة Results and Discussion	4

37	الدراسة المظهرية المناعية بتقنية الجريان الخلوي بالتدفق Immunophenotyping	1-4
38	الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16 and CD56 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين : مجموعة السيطرة G1 ، مجموعة مرضى سرطان الدم المصابين بفيروس كورونا (G2) ، مجموعة المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير سرطان الدم (G3)	2-4
45	توزيع مرضى فيروس كورونا وتبعاً للجنس Gender distribution	3-4
48	توزيع مرضى فيروس كورونا على وفق العمر Age distribution	4-4
56	الاستنتاجات Conclusion	
57	التوصيات Recommendation	
58	المصادر Reference	
74	الملاحق Appendics	

## قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	ت
28	جدول (1-3) الأجهزة والمعدات المستخدمة	1
29	جدول (2-3) الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة	2
29	جدول (3-3) عدة فحص CD3,CD4.CD16,CD56,CD19	3
39	جدول رقم (1-4) يوضح الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD3 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين	4
40	جدول رقم (2-4) يوضح الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD4 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين	5
41	جدول رقم (3-4) يوضح الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD19 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين	6
42	جدول رقم (4-4) يوضح الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD16 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين	7
43	جدول رقم (5-4) يوضح الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD56 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين	8
45	جدول (6-4) قيمة الواسمات السطحية (CD3,CD4,CD16,CD56,CD19) في مجموعات الدراسة الثلاثة الملقحين في الذكور	9

46	جدول (7-4) قيمة الواسمات السطحية (CD3,CD4,CD16,CD56,CD19) في مجموعات الدراسة الثلاثة الملقحين في الأنث	10
48	جدول رقم ( 8-4) يبين قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56.CD19 في الفئات العمرية (16-25)	11
49	جدول رقم ( 9-4) يبين قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56.CD19 في الفئات العمرية (26-35)	12
50	جدول رقم ( 10-4) يبين قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56.CD19 في الفئات العمرية (36-45)	13
51	جدول رقم ( 11-4) يبين قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56.CD19 في الفئات العمرية (46-55)	14
52	جدول رقم ( 12-4) يبين قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56.CD19 في الفئات العمرية الأكثر من 55	15



## قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	ت
5	مخطط (1-2) يوضح تاريخ تسمية الفايروس التاجي	1
6	شكل (1-2) هيكل SARS-COV-2	2
8	شكل رقم (2-2) SARS-COV-2 يدخل الى خلايا المضيف بالاعتماد على NRP-1	3
9	شكل رقم (3-2) دورة حياة SARS-COV-2 والأرتباط بمستقبل ACE2	4
28	مخطط (2-2) لجهاز التدفق الخلوي	5
32	شكل ( 1-3 ) مجاميع الدراسة والاختبارات	6
44	شكل (1-4) يوضح العلاقة الخطية بين العينات للمجموعات الثلاثة الملحقين والمعدل	7
54	شكل رقم (2-4) يبين توزيع معدل الواسمات السطحية (CD3,CD4,CD16,CD56,CD19) حسب الفئات العمرية	7

## قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح	ت
ALL	acute lymphocytic leukemia	1
RAAS	Renin- Angiotensin- aldosterones	2
ACE2	angiotensin-converting enzyme 2	3
CLL	chronic lymphocytic leukemia	4
CD	Cluster of differentiation	5
DIC	Disseminated intravascular coagulation	6
ESCWA	Encomic and Social Commission for Western Asia	7
E	Envelope protein	8
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate	9
FDP	Fibrin Degradation Product	10
FITC	Fluorescein isothiocyanate	11
FSC	Forward scatter	12
HLA	Human leukocyte antigen	13
IgG	Immunoglobulin G	14

IgM	Immunoglobulin M	15
IP-10	Induced protein-10	16
IL	Interleukin	17
LDH	Lactate dehydrogenase	18
LSD	Least significant difference	19
M	Membrane	20
NK	Natural killer cell	21
NRPS	Neuropilins	22
N	Nucleocapsid	23
Percp	Peridinin-chlorophyll protein becton dickinson	24
PE	Phycoerythrin	25
RT-PCR	Reverse –Polymerase chain reactin transcription	26
PCT	Procalcitonin	27
RBC	Red blood cell	28
RNA	Ribonucleic acid	29
SSC	Side scatter	30
S	Spike	31
Th-1	T helper cell-1	32

Th-2	T helper cell-2	33
TMPRSS2	Transmembrane protease serines 2	34
TNF	Tumor necrosis factor	35
UN	United nation	36
VEGF	Vascular endothelial growth factor	37
WBC	White blood cell	38

## الخلاصة Summary

هدفت هذه الدراسة إلى مقارنة مستويات الواسمات السطحية CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 في مرضى سرطان الدم اللمفاوي المصابين بفيروس كورونا ومرضى فايروس كورونا غير المصابين بسرطان الدم اللمفاوي ومجموعة الأصحاء .

تم إجراء كشف باستخدام تقنية الجريان الخلوي بالتدفق flow cytometry عن مستويات المجموعات الفرعية من الخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي لـ (90) شخص من الذكور والإناث ضمن الفئة العمرية من 16-60 سنة، حيث تم جمع العينات من أشخاص ملقحين، وتمثلت بواقع 60 عينة من المرضى المصابين بالفايروس منهم (30) شخص مصاب بفيروس كورونا من غير سرطان الدم اللمفاوي ( G3 )، و(30) شخص من مرضى سرطان الدم اللمفاوي والمصابين بمرض فايروس كورونا-19 ( G2 )، بالإضافة إلى (30) شخص من مجموعة الأصحاء ( G1 ) .

جمعت كل عينات الدم والبيانات المتاحة من المرضى المصابين بفيروس كورونا، من مركز الزهراء للوفدين ومركز الأورام وامراض الدم في مدينة الإمام الحسين(ع) الطبية في محافظة كربلاء المقدسة و مركز معالجة الأورام و امراض الدم في مستشفى مرجان التعليمي في محافظة بابل ومركز الفرات الأوسط للأورام السرطانية في محافظة النجف الاشرف، وبالمشاركة مع مختبرات المراكز الطبية ومختبر الجوادين الأهلي، للمدة ما بين شهر تشرين الأول 2021 الى شهر نيسان 2022.

تم دراسة الأنماط المظهرية المناعية للواسمات السطحية CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 للعينات باستخدام تقنية الجريان الخلوي بالتدفق ، إذ بينت النتائج وجود انخفاضاً معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0,05$  في الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16, وCD56 في المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 ؛ وتم تقسيم العينات حسب نوع الجنس إلى ذكر واثني ، لتقييم مستويات الواسمات السطحية لدى الجنسين ، فقد أظهرت الدراسة حدوث انخفاضاً في مستوى الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16 وCD56 في مرضى G2 ؛ بالإضافة إلى انخفاضاً عالي في مستوى الواسمات السطحية في مرضى G3 ، كما بينت النتائج زيادة نسبة الإصابة لدى الإناث عن الذكور ، كما قسمت عينات المرضى المصابين بفيروس كورونا ومجموعة الأصحاء تبعاً للعمر إلى خمسة فئات عمرية (16-25)،(26-35)،(36-45)،(46-55)، من سنة 56 فأكثر ، أما في الأعمار التي تتراوح بين 46-55 والاعمار الأكثر من 56 سنة أظهرت عدم وجود انخفاضاً معنوياً ذات دلالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0,05$  في مستويات الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16 و CD56 مقارنة مع الفئات العمرية الأخرى ، حيث أظهرت النتائج انخفاضاً عالي في مستوى الواسمات السطحية في الفئة العمرية 16-25 سنة مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، كما بينت النتائج انخفاضاً معتدل في الفئات العمرية



26-35 سنة حيث تميزت بوجود انخفاضاً في مستوى الواسمات السطحية CD4,CD16 وCD56 مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، كذلك أظهرت نتائج الفئات العمرية 36-45 سنة انخفاضاً معتدلاً في مستوى الواسمات السطحية CD4,CD16 و CD56 ؛ إذ بينت وجود انخفاضاً في معدلات الواسمات السطحية CD4,CD16 و CD56 مقارنة مع مجموعة الأصحاء .

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها ضعف المناعة التكميلية في المرضى الذين يعانون من امراض سرطان الدم اللمفاوي والمصابين بفيروس كورونا بشكل ملحوظ مقارنة مع المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير مرضى سرطان الدم ؛ إذ يظهر المرضى انخفاضاً في مستوى الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16 وCD56؛ مما أدى إلى ضعف الاستجابة المناعية الخلوية لفيروس كورونا الناجم عن انخفاض مستويات الخلايا التائية (CD3,CD4) ، والبائية (CD19) ، والخلايا القاتلة الطبيعية (CD16,CD56) ، وهذا يستدعي مزيداً من التحقيق في هذه المجموعات المرضية من مرضى فيروس كورونا .

# **Chapter One:**

## **Introduction**

Covid-19 مرض فايروس كورونا-19: وهو مرض معد يسببه فايروس SARS-COV2 ؛ إذ يتطور هذا الفايروس باستمرار مع حدوث تغييرات في الشفرة الجينية (الطفرات الجينية) في أثناء تكرار الجينوم ، كما ظهرت السلالات الجينية لفايروس سارس كوفيد-2، وانتشرت في جميع انحاء العالم منذ بداية جائحة فايروس كورونا (Zhou et al., 2021) ، ويمكن أن يسبب الفايروس التهابات تنفسية خفيفة إلى شديدة لدى البشر ؛ ونظرا لكونه شديد العدوى ؛ فقد تجاوز وبشكل ساحق السارس ومتلازمة الشرق الأوسط التنفسية MERS من حيث عدد المصابين والمدى المكاني لمناطق الوباء (Hu et al., 2021) .

قلة المعلومات المتوافرة حول SARS-COV2 أدى إلى عدم القدرة على السيطرة السريعة على الوباء خاصة فيما يتعلق ببيولوجية الفايروس والاستجابة المناعية للمضيف ؛ تشير الدورة السريعة التي شوهدت في فايروس كورونا إلى أن العدوى في المرضى الذين لا تظهر عليهم أعراض أو المرضى الذين يعانون من مرض خفيف ربما ترجع إلى الاستجابة المناعية الفطرية ؛ تحتوي المناعة الفطرية المضادة للفايروسات على مكونات خلطية منها (الإنترفيرون ، والاجسام المضادة ) والمكونات الخلوية (الخلايا القاتلة الطبيعية ، والخلايا للمفاوية ) ، ونظرا لأن SARS-COV2 جديد على البشر لا يتوقع حدوث استجابة تكيفية فعالة إلا بعد حوالي 2-3 من أسابيع الاتصال بالفايروس ؛ سيؤدي فشل هذا النظام إلى تمهيد الطريق لتكاثر الفايروسات غير المنضبط في الشعب الهوائية وتزايد الاستجابة المناعية التكيفية ويحتمل تضخمها عن طريق سلسلة التهابية ، ويبدو أن فايروس كورونا الشديد لا يرجع فقط إلى العدوى الفايروسية ، ولكن أيضا إلى الاستجابة المناعية والالتهابية غير المنتظمة (Boechat et al., 2020) أن نشاط الاستجابة المناعية المضادة للفايروس التاجي الجديد ، يؤدي إلى فرط في إنتاج السايكوكينات المسببة للالتهابات ؛ هذه الحالة قد تؤدي إلى حدوث قلة في اللمفاويات واختلال وظائف الخلايا للمفاوية ، والذي بدوره يسبب تعرض المرضى لمزيد من العدوى والصدمة الإنتانية وخلل شديد في العديد من الأعضاء ؛ لذلك فإن المعرفة الدقيقة في هذه المسألة مهمة لتوجيه استراتيجيات علاجية جديدة للمرضى المصابين بفايروس كورونا (Delshad et al., 2021) .

تلعب الخلايا للمفاوية والمجموعات الفرعية للخلايا التائية (CD4+T و CD8+T) ، والخلايا البائية CD19 ، والخلايا القاتلة الطبيعية (CD16 و CD56) دورا مهما في الحفاظ على وظيفة الجهاز المناعي. بعد الإصابة بالفايروس يتغير إجمالي عدد الخلايا للمفاوية والمجموعات الفرعية باختلاف أنواع الفايروسات ، مما يشير إلى وجود ارتباط محتمل بين تغيير المجموعة الفرعية للخلايا للمفاوية والليات المسببة للأمراض الفايروسية ، وقد أشارت الدراسات الحديثة إلى انخفاض واضح في الخلايا للمفية المحيطة في مرضى فايروس كورونا ؛ وقد يكون السبب هو التعلق بالفايروس أو بشكل غير مباشر بسبب الإصابات المناعية من الوسائط الالتهابية ومن الممكن أن يؤدي إفراز الخلايا للمفاوية المنتشرة في أنسجة الرئة الالتهابية أيضا إلى قلة اللمفاويات ، وبإمكان العدوى

الفايروسية أن تسبب خلل في مستويات مجموعات الخلايا اللمفاوية الفرعية ، وتشارك جزيئات السطح الخلوي للخلايا التائية CD3,CD4 وCD8 ، والخلايا البائية CD19 ، والخلايا القاتلة الطبيعية CD16 وCD56 في المناعة الخلطية والسامة للخلايا ضد العدوى الفايروسية ؛ إذ لوحظ انخفاض في مستوى هذه الخلايا بشكل أقل في الحالات الشديدة مقارنة بالحالات الخفيفة (Wang et al., 2020) .

كثيرا ما يعاني المرضى المصابين بالسرطان بما في ذلك الأورام الخبيثة الدمويه ، من ضعف في الحالة المناعية والعديد منها أيضا يتعرض لعوامل خطر الإصابة بمرض بفايروس كورونا-19. تنتج الأورام الدموية الخبيثة عن النمو غير المنضبط لخلايا الدم غير الطبيعية مما يمنع الدم من أداء العديد من الوظائف مثل مكافحة العدوى أو منع النزيف الخطير (Q. Q. Wang et al., 2021). أظهرت الدراسة المختبرية أن المرضى المصابين بأورام الدم السرطانية لديهم معدل إصابة بفايروس كورونا مماثل للمرضى غير المصابين بأورام الدم السرطانية ؛ فقد لوحظ وجود تغيرات في المجموعات الفرعية من الخلايا التائية ، والخلايا البائية ، والخلايا القاتلة الطبيعية أثناء عدوى فايروس كورونا ؛ فقد لوحظ وجود انخفاض في نسبة CD4 و CD8 في مرضى الدم مقارنة بغيرهم من المرضى المتأثرين بفايروس كورونا ، كما وجد عدد أقل من خلايا CD16+CD56+NK في مرضى أمراض الدم مقارنة بالمرضى غير المصابين بأمراض الدم المصابين بفايروس كورونا ؛ مما يدل على ضعف المناعة التكيفية في المرضى الذين يعانون من أورام الدم السرطانية والذي يؤدي إلى ضعف الاستجابة المناعية الخلوية (Ni et al., 2020) .

قد يكون المرضى الذين يعانون من acute lymphocytic و chronic lymphocytic leukemia و leukemia معرضين لخطر الإصابة الشديدة ، إذا أصيبوا بفايروس SARS-COV2 ، والذي قد يكون بسبب التأثير المشترك لنقص المناعة المرتبط بالمرض والمكوث الطويل في المستشفى لغرض تلقي العلاج ومع ذلك لا يبدو أن نمط الاستجابة الخلطية والخلوية يختلف اختلافا كبيرا مقارنة بالسكان غير المتأثرين ب ALL , CLL ، كما وتشير الدراسات السابقة إلى أن مناعة الخلايا التائية والخلايا البائية القوية قد تحدث في معظم مرضى CLL,ALL بعد الإصابة بفايروس كورونا (Blixt et al., 2021) , (Buyuktas et al., 2021) .

أما المرضى الذين يعانون من سرطان الغدد اللمفاوية lymphomas فهم معرضون بشكل خاص للإصابة بعدوى سارس كوفيد-2 ، ويرجع ذلك جزئيا إلى الآثار الضارة لأنظمة مكافحة الأورام (العلاج الكيميائي , مثبطات المسار , الأجسام المضادة وحيدة النسيلة ) على الجهاز المناعي ؛ إذ كشفت الدراسات الحالية أن هناك خطرا متزايدا للإصابة بأحداث خطيرة مرتبطة بفايروس كورونا في المرضى الذين يعانون من الأورام اللمفاوية الخبيثة مقارنة بالمرضى غير المصابين بالسرطان ، وهذا يؤكد الضعف الشديد لهؤلاء المرضى في الوباء الحالي ، ينقسم سرطان الغدد اللمفاوية الى لمفومه هودجكين hodgkin lymphoma ولمفومة اللاهودجكين non-hodgkin lymphoma ، إذ يعاني المرضى في الهودجكين واللاهودجكين من نقص المناعة بسبب السمات البيولوجية في

حد ذاته (قلة العدلات ، قلة اللمفاويات ، ونقص غاما كلوبولين الدم) وعلاجاته ؛ مما يؤدي إلى زيادة حدوث العدوى وشدتها (Bonuomo et al., 2021) .

قياس التدفق الخلوي هو تقنية توفر تحليلاً سريعاً متعدد الواسمات للخلايا المفردة في المحلول ، تستخدم أجهزة قياس التدفق الخلوي أشعة الليزر كمصادر ضوئية لإنتاج إشارات ضوئية متناثرة وفلورية يتم قراءتها بواسطة أجهزة الكشف ، مثل: الصمامات الثنائية الضوئية أو الأنابيب المضاعفة الضوئية . يتم تحويل هذه الإشارات إلى إشارات إلكترونية يتم تحليلها بواسطة الكمبيوتر وكتابتها إلى ملف بيانات بتنسيق قياسي ، يمكن تحليل مجموعات الخلايا وتنقيتها بحسب خصائص الفلورسنت أو تشتت الضوء . يتم استخدام مجموعة متنوعة من الكواشف الفلورية في قياس التدفق الخلوي؛ وتشمل هذه الأجسام المضادة المترافقة الفلورية، والأصبغ الرابطة للحمض النووي ، وأصبغ مؤشر الأيونات ، وبروتينات التعبير الفلوري . لقد شهد تطورات هائلة على مدى الثلاثين عاماً الماضية ، مما سمح بتفاصيل غير مسبوقة في دراسات الجهاز المناعي ومجالات أخرى (Mckinnon, 2019) .

بسبب حداثة المرض وعدم تسليط الضوء على علاقته مع بقية الأمراض جاءت الدراسة الحالية التي تهدف إلى: دراسة الفروق في الاستجابة المناعية للمفاوية عند الإصابة بفيروس كورونا المستجد لكل من المرضى المصابين بأمراض دم سرطانية والمرضى غير المصابين بأمراض الدم السرطانية. وهذا الهدف يتم تحقيقه عن طريق:

دراسة التغيرات المناعية الخلوية للخلايا المناعية للمفاوية (CD3 و CD19,CD56,CD16,CD4) للمرضى المصابين بفيروس كورونا ، ومرضى سرطان الدم المصابين بفيروس كورونا المستجد باستخدام تقنية FLOW CYTOMETRY ، بالإضافة إلى دراسة تأثير العمر والجنس في المرضى ومقارنتها بالأصحاء.



**Chapter Two:  
Review of the  
Related  
Literature**

## 1-2 نبذة تاريخية عن مرض فايروس كورونا-19 (SARS-COV-2)

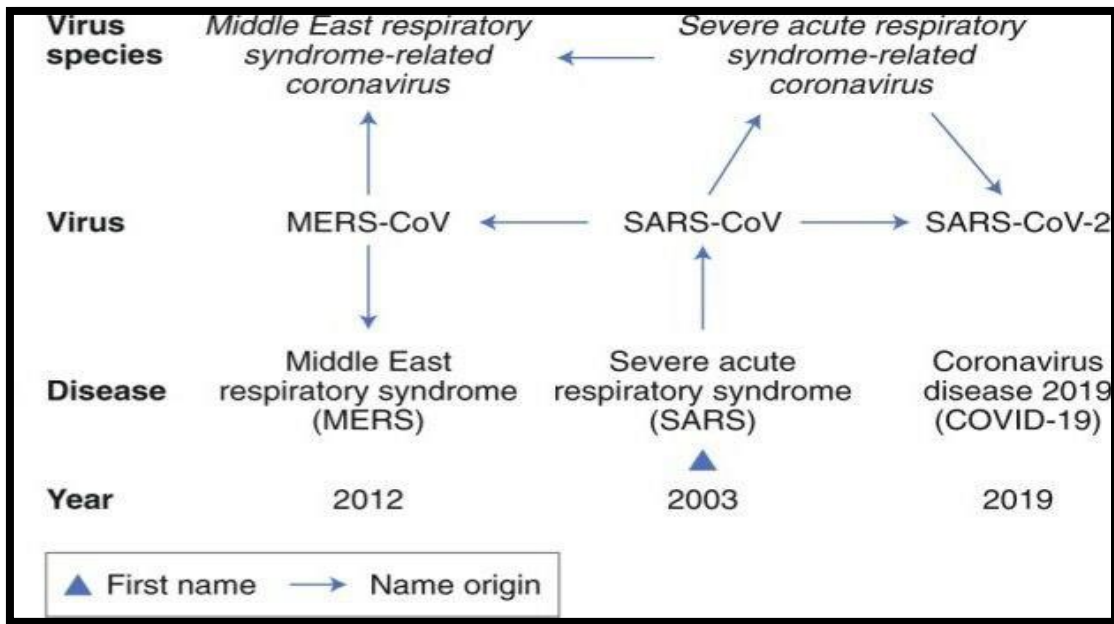
كورونا corona لفظه لاتينية تعني التاج crown باللغة الإنكليزية ؛ إذ يشير الاسم الى مظهر الفايروس المميز الذي يحمل بروزات سطحية على شكل تاج لتملاً سطح الفايروس كما وجد انه يصيب الفقاريات فقط حتى الان ، ومن الممكن ان يسبب امراضا في الجهاز التنفسي ، والجهاز الهضمي ، والجهاز العصبي لدى الحيوان والانسان على حد سواء (Bhatt et al., 2021) .

وفي الحقيقة معظم الفايروسات التي تصيب الانسان قادمة من فايروسات يمكن ان يحملها الحيوان , حين يحدث تحور في الفايروسات الحيوانية بإمكانها ان تصيب الانسان وتم الاستشهاد بالظهور الأول للفايروس في الثلاثينات من القرن الماضي نسبت الى التسبب بعدوى الجهاز التنفسي في الدجاج ، وقد لوحظ المرض الفايروسي التاجي البشري بشكل بارز في حوالي الستينات وفي شهر تشرين الثاني عام 2002 في مقاطعة غواندونغ في الصين ظهر نوع جديد من الفايروسات التاجية او ما يطلق عليه SARS-COV الذي انتشر عام 2003 ؛ إذ كان مرتبطا بمتلازمة الالتهاب الرئوي الحاد او الوخيمة ، ونتيجة الانتشار السريع لهذا الوباء ؛ فقد استمرت الأبحاث حول الفايروس مع تقدم وتطور طرق التشخيص الجزيئي (Subramanian et al., 2021) .

ومع توالي الأبحاث في العام 2012 في المملكة العربية السعودية ؛ تم تشخيص نوع جديد من فايروس كورونا ؛ إذ انتقلت من الابل الى البشر ولوحظ عند رجل يعاني من إصابة رئوية حادة مترافقة مع قصور كلوي ؛ إذ اطلق عليه اسم الفايروس التاجي المرتبط بمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية Middle East respiratory syndrome (Kumar et al., 2020) .

في مطلع شهر كانون الأول وبالتحديد في مدينة ووهان الصينية لوحظ وجود تجمع مرضي لإصابات بذات الرئة فايروسية مجهولة ؛ إذ سجل ظهور للأعراض على اول مريض مشخص في 1 كانون الأول 2019 في بداية الامر لم يتم ملاحظة أي ارتباط بين المريض والتجمع المرضي اللاحق في سوق ووهان للمأكولات البحرية ؛ لكن فيما بعد تم إيجاد ادلة تربط ثلثي افراد هذا التجمع ؛ وقد نسب السبب الى فايروس كورونا (سارس كوفيد 2) فيما بعد سجل اكثر من 194 مليون إصابة بكوفيد2 في اكثر من 188 دولة ، وبسبب ظهور تأثيرات ومخاطر كبيرة يسببها الفايروس على صحة و حياة الفرد ونظرا لانتشار العدوى على نطاق واسع إضافة الى معدلاته المرتفعة أدى الى إعلان منظمة الصحة العالمية رسميا في 30 كانون الثاني 2020 ان تفشي الفايروس يشكل حالة طوارئ صحية عامة تبعت على الفلق الدولي واكدت على تحول الفاشية الى جائحة يوم 11 اذار، تم تحديد فايروس كورونا وهو فايروس جديد من نفس عائلة فيروس سارس – كوفد و متلازمة الشرق الأوسط التنفسية التاجية عن طريق الحمض النووي الريبي في أوائل كانون الثاني عام 2020 كسبب لوباء الالتهاب الرئوي ، الذي أصاب مدينة ووهان الصينية

عاصمة مقاطعة هوبي حيث انتشر في كل انحاء الصين بعد إصابة و وفاة الاف الأشخاص في الصين حتى وصل  
 الفايروس الى كل انحاء العالم (Khoo, 2020) .

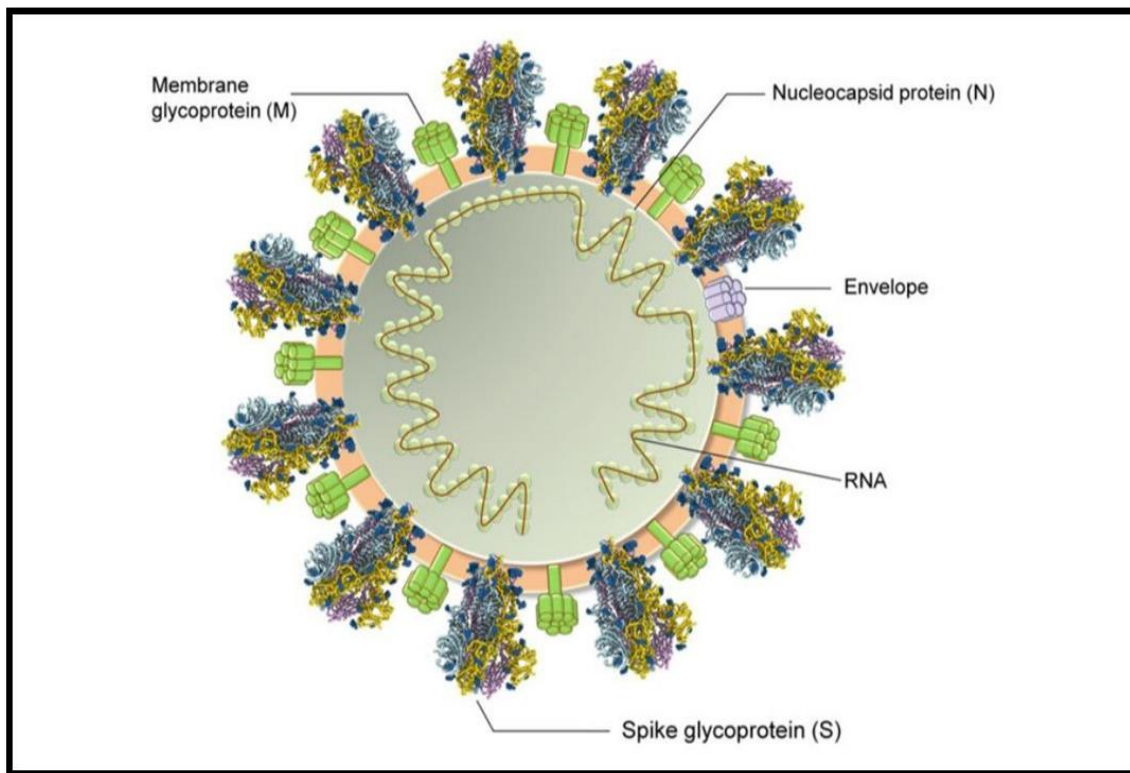


مخطط (1-2) يوضح تاريخ تسمية الفايروس التاجي (Gorbalenya et al., 2020) .

## 2-2 تركيب فايروس كورونا Structure of corona virus

قطر الفايروس يتراوح من (50 الى 200 نانومتر) فهو يتكون من اربعة بروتينات هي : بروتينات الأشواك السكرية (Spike glyco protein) ، التي تشكل النتوءات الشوكية الموجودة على سطح الفيروس التي تمنحه الشكل التاجي المميز فهي المسؤولة عن السماح للفيروس بالارتباط بغشاء الخلية المضيفة عن طريق مستقبلات موجودة على غشاء الخلية تعرف ب الأنزيم المحول للأنجيوتنسين الثاني (angiotensin-converting enzyme (ACE2)) (2) ، ويعد هذا الانزيم بروتينا سكريا يحفز تحويل الانجيوتنسين الأول الى الانجيوتنسين الثاني ، ويوجد على اسطح كثير من الخلايا والانسجة خاصة خلايا الجهاز التنفسي ، والجهاز الهضمي ، والقلب ، والكلى ، والكبد والاعوية الدموية ، أما بروتينات الغلاف Envelope protein ، وبروتينات العلبه (Nucleocapsid phospho protein) ، وبروتينات الغشاء (Membrane glyco protein) ؛ فتشكل هذه البروتينات معا الغلاف الفيروسي ، وتحتوي الجسيمة الفيروسية في وسطها على المادة الوراثية (الحمض النووي الريبي RNA(Ribonucleic acid) احادي النسيلة الذي يتواجد بشكل حلزوني ، وبإمكان الفيروس ان ينسخ نفسه داخل الخلية بعد دخوله إليها بدون الحاجة الى ان يكون معه انزيم النسخ ، وبما ان فايروس سارس كوفيد 2 محاط بغلاف دهني فإنه يذوب بدرجات الحرارة العالية ويستفاد الفيروس من إمكانات الخلية منها المايكوتونديريا وغيرها من المكونات الحيوية التي تساعده

على نشاطه وتضاعفه والحفاظ على بقائه ؛ فهو يخترق ويندمج مع جينوم الكائن الحي ، الذي يمثل مضيفا له ويسخر كل تلك الخلايا التابعة للمضيف لأجل بقائه وتضاعفه (Singh et al., 2020) .



شكل (1-2) هيكل SARS-COV-2 (Saxena, 2020) يحتوي SARS-COV-2 على بروتينات فيروسية سطحية , وهي البروتين السكري (S) , الذي يتوسط التفاعل مع مستقبل سطح الخلية ACE2 . يتم تضمين البروتين السكري الغشائي (M) والمغلف (E) الخاص بـ SARS-COV-2 في طبقة ثنائية من الدهون المشتقة من غشاء المضيف تغلف الكابسيد النووي الحلزوني الذي يشتمل على الحمض النووي الريبي الفيروسي .

ومن المهم معرفة ان الفيروس يمكن ان يعيش في درجة حرارة 60 درجة سليزية ، لكن مع ارتفاع درجات الحرارة تنخفض مقاومة الفيروس ، كما ان انخفاض درجة حرارة الجو وارتفاع نسبة الرطوبة في الهواء يزيدان من فترة بقاءه على الاسطح التي يتواجد عليها ؛ إذ يمكن ان يعيش بدرجة حرارة 60 تحت الصفر ، إضافة الى ان الفيروس حساس للأشعة فوق البنفسجية اما بالنسبة لرقم الأس الهيدروجيني الأمثل لتضاعفها هو 7.2 ؛ إذ لا تتحمل الاحماض ولا القلويات ، وهناك بعض المركبات الدهنية التي تمتلك الفعالية على قتل الفيروس هي (الكلور المطهر، وحمض البيروكسيتيك ، والكلوروفورم ، إيثر ثنائي الإيثيل ، والكحول الإيثيلي بتركيز 75% ) اما المركب كلور هيكسيدين فليس له القدرة على قتل الفيروس (Swelum et al., 2020) .

## 3-2 التصنيف العلمي لفايروس كورونا Classification of corona virus

يعود فيروسات كورونا الى:

Category: Coronaviruses

Kingdom: Riboviria

Order: Nidovirales

Sub order: Cornidovirineae

Family: Coronaviridae

Sub family: Orthocoronavirinae

Genus: alpha,beta,delta,gama,omicron coronavirus

Sub genus: Sarbecovirus

Species: Sever acute respiratory syndrome-related coronavirus

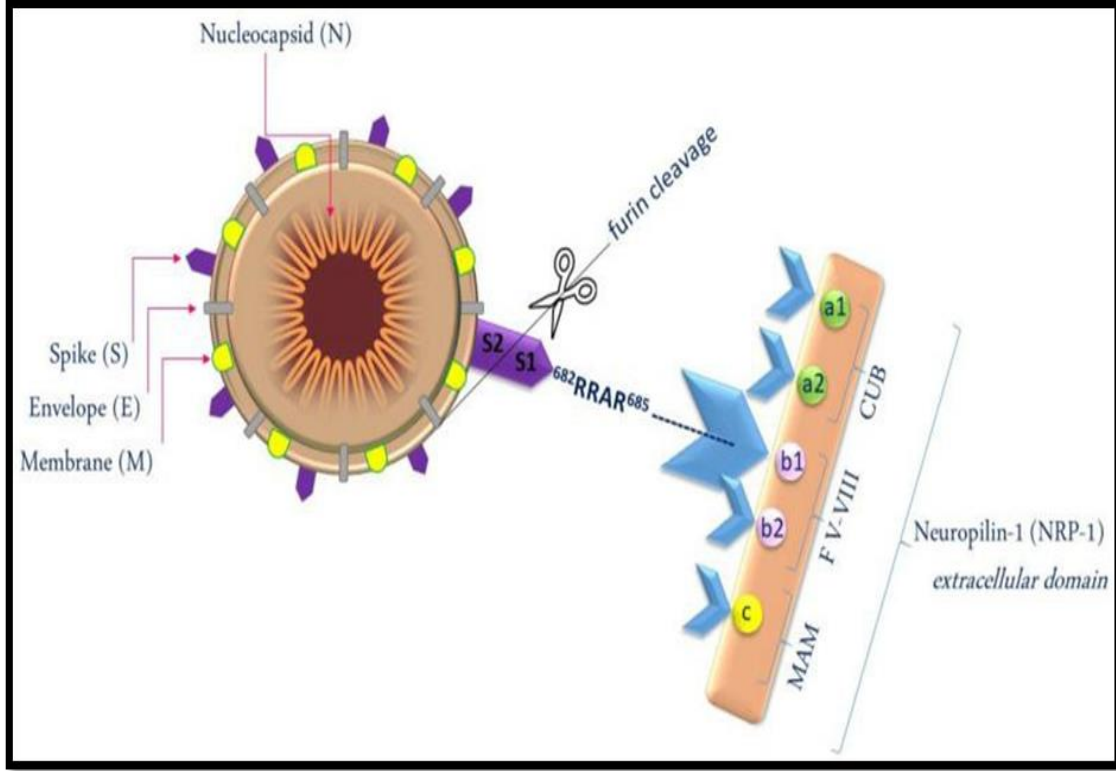
( Arafat *et al.*, 2020 ؛ Gorbalenya *et al.*, 2020 )

## 4-2 اليات دخول فايروس كورونا Coronavirus Entry Mechanisms

يعد فهم كيفية دخول سارس كوفيد-2 الى الخلايا البشرية له اولوية كبيرة ؛ وذلك للحد من انتشاره ، تم مؤخرا عرض نيوروبيلين (Neuropilin) هي مستقبلات عابرة للغشاء وتعتمد على مستقبلات ، مثل: مستقبلات عامل نمو بطانة الاوعية الدموية(VEGF)(Vascular endothelial growth factor) أو(Plexins) من الصنف الثالث ، لنقل الإشارة ، (NRPS) مهمة في تكوين الأوعية الدموية وتكوين الأوعية للمفاوية وتوجيه المحور العصبي ، وتتكون عائلة (NRPS) من عضوين هما: نيوروبيلين-1 (Neuropilin-1) ونيوروبيلين-2 (Neuropilin-2) . (Schellenburg *et al.*, 2017)

يعمل (Neuropilin-1) كعامل دخول ويقوي عدوى فايروس SARS-COV-2، فهي مرتبطة في العديد من جوانب العدوى بما في ذلك الانتشار المحتمل عن طريق البصلة الشمية (Olfactory bulb) والى الجهاز العصبي المركزي (Central nervous system) ، ومن الجدير بالذكر أنه تم الكشف عن زيادة تنظيم (NRP-1 و-NRP) في أنسجة الرئة من مرضى فايروس كورونا الحاد . يحتوي ال (Neuropilins-1) على شكلين: شكل مبتور ومفرز (Trancated ,Secreted form) من المعروف ان الشكل المفرز يثبط وظيفة NRP-1 ، وشكل عبر

الغشاء (Tansmembrane form) يتفاعل مع SARS-COV-2، عند الإصابة بـ SARS-COV-2 يتم شق بروتين الأشواك Spike بواسطة بروتياز الفورين (Protease furin) الخلية المضيفة الى S1 and S2 بولي ببتيدات Polypeptide ؛ إذ يرتبط البروتين S1 للـ SARS كوفيد-2 بـ NRP-1 ، ويزيد من العدوى بالفايروسات (Daly *et al.*, 2020)

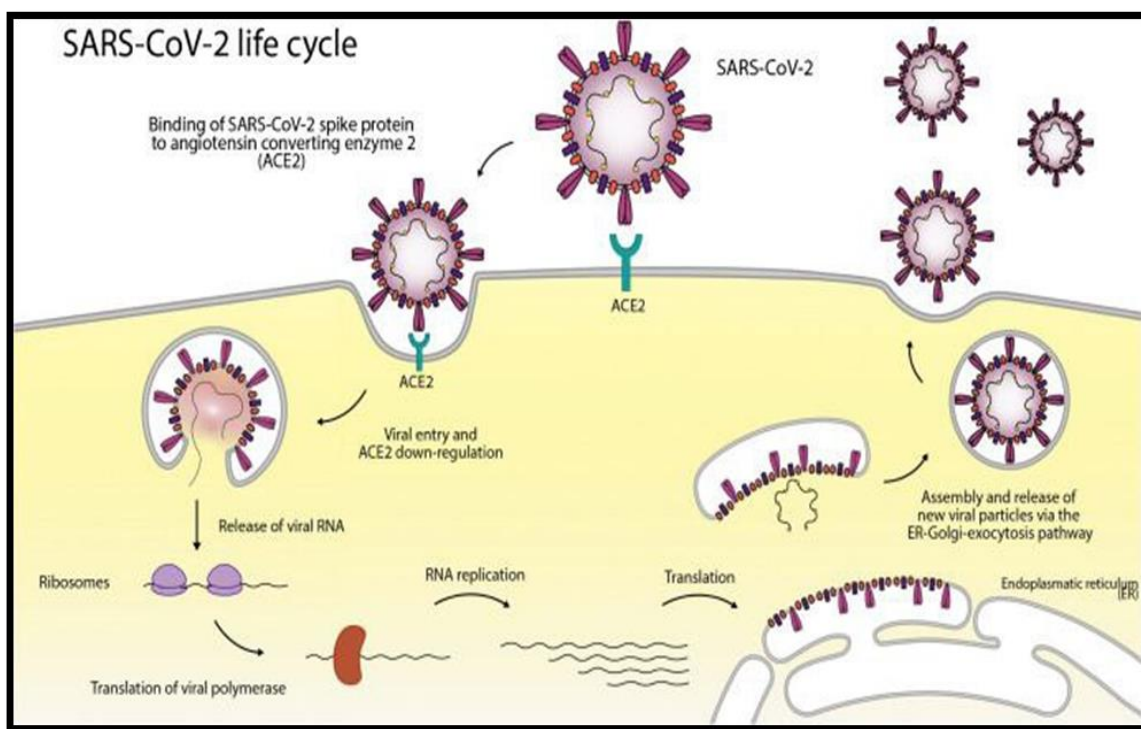


شكل رقم (2-2) SARS-COV-2 يدخل الى خلايا المضيف بالاعتماد على NRP-1

(Gudowska-Sawczuk&Mroczko,2021 )

يتوسط بروتين الأشواك ( Spike protein ) الموجود على سطح الفايروس دخول SARS-COV-2 الى داخل الخلية ليبدأ عملية النسخ المتماثل ؛ إذ يرتبط بمستقبلاته البشرية التي تتمثل بالأنزيم المحول للانجيوتنسين 2 ( Angiotensin converting enzyme 2 ) : وهو بروتين موجود على اسطح العديد من أنواع الخلايا , كما انه انزيم يولد بروتينات صغيرة عن طريق البروتين الأكبر الأنجيوتنسينوجين angiotensinogen ، الذي ينتقل بعد ذلك الى تنظيم الوظائف في الخلية . ويوجد ACE2 في العديد من أنواع الخلايا والانسجة بما في ذلك الرئتين ، والقلب ، والاعوية الدموية ، والكلى ، والكبد ، والجهاز الهضمي ، أي انه موجود في الخلايا الظهارية التي تبطن انسجة معينه وتخلق حواجز واقية , يحدث التبادل الغازي بين الرئتين والاعوية الدموية عبر هذه البطانة الظهارية

في الرئة ( يكون ACE2 موجود في ظهارة الانف والفم والرئتين ) ACE2 ومتوفر بكثرة في الخلايا الرئوية من النوع 2 (وهو نوع مهم من الخلايا موجود في حجرات داخل الرئة تسمى: الحويصلات الهوائية alveoli ؛ إذ يتم امتصاص الأوكسجين وأطلاق نفايات ثاني أوكسيد الكربون ) ، يعد ACE2 عنصرا حيويا في مسار كيميائي حيوي لتنظيم العمليات مثل ضغط الدم ، والتئام الجروح ، والالتهابات ويسمى مسار نظام الرينين renin- انجيوتنسين (aldosterone – الألدوستيرون) وبعد دخول فايروس كورونا-19 للجسم وارتباطه ب ACE 2 يتطلب انقسام بروتين سبايك بواسطة البروتياز (Protease) مثل: البروتياز الغشائي سيرين 2 Transmembrane 2 serine (protease) أو باختصار TMPRSS2 ) الذي يتم التعبير عنه بسهولة في أنسجة الرئة ليندمج مع غشاء الخلية ؛ مما يؤدي الى دخول سارس كوفيد-2 وتكرارها في الخلايا المستهدفة ، ومع ذلك قد لا يكون TMPRSS2 موجودا في كل مكان في النسيج البشري وبالتالي فان تحضير بروتين الأشواك (S) قد يعتمد على عوامل أخرى من البروتياز (Protease) (Rodrigues & de Oliveira, 2021) ، (Ni et al., 2020) .



شكل رقم (3-2) دورة حياة SARS-COV-2 والارتباط بمستقبل ACE2 (Beyerstedt et al., 2021).

## 5-2 اعراض وطرق الإصابة والوقاية من فايروس كورونا Symptoms and methods of infection and prevention of corona virus

تظهر الأعراض بعد الإصابة بعدوى كورونا في المدة من يوم واحد وحتى 14 يوما، على وفق منظمة الصحة العالمية، ومما يجدر ملاحظته أن بعض الأشخاص لا تظهر عليهم أي علامات تدل على الإصابة، إضافة الى ان المصاب بعد 7-21 أيام من ظهور الأعراض لا يصبح المريض قادرا على نقل العدوى للآخرين وسوف نجد ان المرضى من كبار السن او المرضى الذين يعانون من امراض مزمنة يكونون أكثر عرضة للإصابة بالعلامات الشديدة بالفايروس.

الاعراض الأكثر شيوعا عند بداية المرض هي: (السعال الجاف، الحمى، فقدان الشهية، التعب، ضيق الصدر، الاسهال، الدوخة ) ، اما الاعراض الأقل شيوعا هي (الغثيان، الصداع، والام العضلات ، والتهاب البلعوم، والام البطن، والقيء، وضيق التنفس، ونقص السمع ) (Handayani et al., 2020).

ينتقل الفايروس من الشخص المصاب الى الشخص السليم عن طريق:

المخالطة القريبة جدا عن طريق القطيرات المتناثرة من عطاس او سعال المصاب بالفايروس او اثناء التحدث ، ومن الممكن ان ينتقل الفايروس محمولا في الهواء عندما تبقى جزيئات الفيروس الدقيقة عالقة في الهواء لعدة دقائق او ساعات ؛ وبذلك تنتقل العدوى الى الأشخاص المتواجدين في المكان نفسه وان كان المصاب بعيدا عنهم او قد توجه الى مكان آخر ، كما ينتقل الفايروس عبر الأسطح التي يلامسها المصابون بالفايروس ؛ ولكن ذلك يعد اقل شيوعا . (Pascarella et al., 2020)

ومن المهم ذكر الارشادات الوقائية ؛ فهي حجر الأساس في توفير الرعاية والحماية من انتشار أو انتقال العدوى لذلك يجب : تعقيم اليدين عن طريق استخدام محلول كحولي او غسلهما باستمرار بالماء والصابون ، وضع مسافة آمنه لتجنب العدوى من عطاس او سعال الشخص المصاب ، استخدام الكمادات التي تساعد بمنع انتقال الفايروس من شخص لآخر ، عدم لمس الانف والعينين والفم عند العطاس او السعال ، يجب تغطية الانف والفم بمنديل ورقي ؛ واذا لم يتوفر ذلك بالإمكان استخدام كوعك ، في حالة الشعور بالمرض يجب مراجعة اقرب مركز صحي للتأكد في ما اذا كانت الاعراض لفايروس كورونا او لمرض آخر ، عند الإصابة المؤكدة يجب ملازمة المنزل واخذ العلاج اللازم ، اما في الحالات الشديدة يجب البقاء في المستشفى لتلقي الرعاية الكاملة ، لضمان التهوية الجيدة ، وتجنب الازدحام ، والابتعاد عن التقارب جسديا ( Just, 2021) .



## 6-2 دور اللقاحات للحماية من فايروس كورونا The role of vaccines to protect against corona virus

يعد الوصول الى لقاحات آمنة وفعالة أمر بالغ الأهمية كأداة لإنقاذ ملايين الأرواح كل عام ، تعمل اللقاحات عن طريق تدريب واعداد دفاعات الجسم الطبيعية (جهاز المناعة) للتعرف على الفيروسات والبكتريا التي تستهدفها ومكافحتها بعد التطعيم ، اذا تعرض الجسم لاحقا لتلك الجراثيم المسببة للأمراض يكون الجسم جاهزا على الفور لتدميرها والوقاية من المرض ، ومن اللقاحات الخاصة بفايروس كورونا التي قد استوفت المعايير اللازمة بعد تقييمها بواسطة منظمة الصحة العالمية بتاريخ ( 3 ) حزيران 2021 : (لقاح أسترازينيكا /أكسفورد ، جونسون وجونسون ، موديرنا ، فايزر/بيون تك ، سينوفارم ، سينوفاك ) وهذه اللقاحات آمنة لمعظم الأشخاص الذين تبلغ أعمارهم (18) عاما فما فوق ؛ بما في ذلك الأشخاص الذين يعانون من اضطرابات المناعة الذاتية وتشمل : ( السكري من النوع الأول، والربو ، وامراض الرئة ، والكبد ، والكلى ؛ بالإضافة الى الالتهابات المزمنة المستقرة ) ( Billon-Denis & Tournier, 2020) .

واما الاثار الجانبية البسيطة الطبيعية بعد التطعيم فهي : (الم الذراع ، حمى خفيفة ، التعب ، الصداع ، آلام في العضلات أو المفاصل ) ( Zhu et al., 2020) .

## 7-2 الكشف عن فايروس كورونا Corona virus detection

يتم الكشف عن الفايروس باستخدام اختبار تفاعل البلمرة التسلسلي للنسخ العكسي (RT-PCR) ، وهي تقنية لعمل نسخ متعددة من تسلسل قصير من الحمض النووي المستهدف للفايروس ؛ مما يؤدي الى تضخيم الحمض النووي لفايروس كورونا عن طريق اخذ عينة بيئية مثل الاسطح المختلفة او سريرية مثل البلغم والمخاط تقيس هذه الطريقة عدد نسخ ال RNA للفايروس في العينة ؛ ويعد هذا الاختبار الأكثر حساسية للكشف عن العدوى النشطة ونتائج دقيقة للغاية ، كما تعد أجهزة الكشف المبكر للأجسام المضادة (IgG,IgM) عن طريق الدم فحوصات تكميلية وتخدم أغراض مختلفة ؛ إذ يمكن عن طريقها معرفة ما إذا كانت هناك إصابة بالفايروس ، ولاينصح باستخدام فحص الاجسام المضادة الا بعد ( 14 ) يوما على الأقل من بدأ الإصابة ( Chaimayo et al., 2020) .

## 8-2 فايروس كورونا والجهاز المناعي Corona virus and immune system

يعد الجهاز المناعي شبكة معقدة من الخلايا والأنسجة والأعضاء التي تساعد الجسم على محاربة العدوى والأمراض الأخرى عن طريق امتلاكه الحواجز الميكانيكية (مثل الجلد والاعشية المخاطية ) ، التي تمثل خط الدفاع الأول ضد الجراثيم من خارج الجسم ، والحواجز الكيميائية (مثل المادة الحامضية في المعدة ) ، والحواجز البيولوجية

(مثل الميكروبات المتعايشة) التي تحمي الجسم ، وفي حالة تجاوز او اختراق الحواجز يتم تنشيط الجهاز المناعي الفطري ثم الجهاز المناعي المكتسب ، ويتميز جهاز المناعة البشري بقدرته على التمييز ما بين الخلايا الذاتية Self-Cell عن الخلايا غير الذاتية non Self-Cell ؛ وذلك عن طريق معرفة البنية التركيبية لخلايا الجسم الذاتية (Lewis et al ., 2019) ، ويمثل ظهور فايروس (SARS COV-2) والمتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة والمضاعفات الناجمة عن مرض فايروس كورونا 2019 (COVID-19) تحديا عالميا للصحة العامة ؛ إذ تشبه الفيزيولوجيا المرضية لعدوى (SARS COV-2) عن كذب حالات وباء السارس 2002-2003 مع استجابات النهائية عنيفة أدت إلى تلف ألرئتين .لا ترجع شدة المرض إلى العدوى الفايروسية فقط ، بل تتأثر بشدة خصائص الأستجابة المناعية للمضيف ؛ من ثم تؤدي إلى عدوى SARS COV-2 التي تدمر خلايا الرئة إلى استجابة الخلايا المناعية الفطرية والخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا الوحيدة ؛ إضافة إلى اطلاق السايوتوكينات الذي يؤدي إلى استجابة مناعية تكيفية من الخلايا التائية والخلايا البائية وفي معظم الحالات تكون هذه الاستجابة المناعية قادرة على علاج العدوى ، ومع ذلك في بعض الحالات يمكن أن يؤدي الى الإنتاج المفرط للسايوتوكينات والمعروفة أيضا باسم (عاصفة السايوتوكين Cytokine storme) (Damiot et al., 2020) .

## 1-8-2 تأثير فايروس كورونا في المناعة الفطري Effect of corona virus in innat

### Immune

مما تجدر الإشارة اليه ان المناعة الفطرية موجودة بشكل طبيعي في الفرد عند الولادة (متوارثة) وقبل التعرض لمسببات الامراض ، والتي تنتج عن التحسس المسبق لمستضد على سبيل المثال من أصابة أو لقاح ، وتشمل المناعة الفطرية مثلا (الجلد السليم ، والإنزيمات اللعابية ، والعدلات ، والخلايا القاتلة الطبيعية ، والمكملات) التي توفر استجابة أولية ضد العدوى ؛ إذ يمثل هذا الجهاز الخط الوقائي الأول الذي يدافع عن الجسم ضد الكائنات الغازية ويتميز بكونه غير متخصص أي ان كل خلية او جزيء يعمل ضد أنواع واعداد كبيرة من الممرضات ؛ فضلا عن ذلك لا يحتوي على ذاكرة مناعية ، وتخدم الاستجابة الفطرية ثلاثة أغراض رئيسية (تقييد تضاعف الفايروس داخل الخلية المصابة ، إنشاء حالة مضادة للفايروسات في بيئة الانسجة المحلية بما في ذلك تجنيد الخلايا المستجيبة للجهاز المناعي الفطري التمهيد للاستجابة المناعية التكيفية) ، وبطبيعة الحال مثل العديد من الفايروسات فان فايروس سارس كوفيد-2 طور استراتيجية للتحايل على الكشف المناعي الفطري ، والتي تتضمن (تطور واخفاء RNA ، إضافة الى تثبيط في مسارات الانترفيرون Interferon) ؛ مما يسمح للفايروس بالتضاعف والانتشار داخل المضيف ؛ إذ يستخدم هذا الفايروس ACE2 كمستقبل خلوي عابرا عن طريقه على الظهارة في انسجة الجهاز الهضمي ، والكلى ، والقلب ، والاعوية الدموية ، والخصيتين ، والخلايا الرئوية ، وبطانة الاوعية الدموية (Dalan et al., 2020) ؛ مما يؤدي الى انتاج أنواع الاوكسجين التفاعلية والتليف ، وترسب الكولاجين والبيئة المسببة ،

للالتهابات بما في ذلك انتاج انترلوكين 6- (IL-6) وانترلوكين 8- (IL-8) بواسطة الخلايا البلعمية وتجديد العدلات ؛ وبالتالي من المرجح ان يكون ربط دخول SARS-COV-2 عبر ACE2 هو الخطوة الأولى في خط الاستجابة المناعية الفطرية ، وتفعيل الجسيمات الالتهابية ، والخلية القاتلة الطبيعية ، والعدلات والخلايا التائية وتحريض العاصفة الخلوية (Amor et al., 2020) .

## 2-8-2 تأثير فايروس كورونا على المناعة التكيفية Effect of corona virus in adaptive Immune

تتطور المناعة التكيفية خلال حياة الكائن الحي بعد تعرضه للإصابة او اللقاح ؛ إذ تعمل بطريقة انتقائية ومتخصصة أي ان كل خلية او جزيء يعمل ضد عامل ممرض واحد خلافا للمناعة الفطرية ، فبعد مهاجمة الكائنات الغازية للجهاز المناعي يتعرف عليها على انها مواد غير ذاتية (مستضدات) ، وبعد ذلك تبدأ مرحلة تعلم المناعة التكيفية كأفضل وسيلة لمهاجمة كل مستضد وتأخذ وقتا لتظهر بعد اول تعرض لمستضد جديد اي بعد 6-10 أيام من التهيئة ، بسبب متطلبات الوقت المتأصلة للتكاثر والتمايز الواسع للخلايا غير البالغة الى خلايا فاعلة ، بمجرد تكاثر وتمايز مجموعات كافية من الخلايا التائية المستجيبة (الخلايا التائية المساعدة والخلايا التائية السامة للخلايا ) والخلايا البائية (الخلايا التي تفرز الاجسام المضادة والخلايا البلازما) فأنها تعمل غالبا معا لإزالة الخلايا المصابة بسرعة ، يمكن للأجسام المضادة والخلايا المساعدة CD4+T والخلايا القاتلة للخلايا CD8+T أن يكون لكل منها دور وقائي في السيطرة على الالتهابات الفايروسية لكن هذه الأدوار وأهمية كل مكون من مكونات المناعة التكيفية تختلف باختلاف العدوى الفايروسية في بعض حالات العدوى ، حيث تشير بعض الدراسات الى ان الإصابات بعدوى السارس كوفيد-2 تؤدي الى استنفاد الخلايا التائية وضعفها ؛ إذ كشف تشريح الجثث عن مستويات عالية من الفايروسات في الجهاز التنفسي والانسجة الأخرى ، مما يشير الى استجابات مناعية غير فعالة ، ومع ذلك فان الافراد الذين لم يدخلوا المستشفى والذين تعافوا من فايروس كورونا لديهم دليل على ذاكرة الخلايا التائية الخاصة بالفايروس ، وتم أيضا العثور على الاجسام المضادة في الأشخاص الذين تم شفائهم (Sette & Crotty, 2021) .

كما اشارت بعض الأبحاث الى معدلات وقيم الاجسام المضادة المنتجة من الخلايا B Cell الخاص ب SARS COV-2 بعد 6الى 8 يوم من الإصابة ؛ إذ لوحظ انتاج أولا الاجسام المضادة IgM ، والتي تختفي بعد أسابيع قليلة ثم في نفس الوقت او بعد 2الى 3 يوم يتم انتاج الاجسام المضادة IgG والتي تكون طويلة الأمد ؛ إذ تبقى لعدة اشهر او سنة ؛ إذ أظهرت الدراسة بعد المتابعة لمدة 3 اشهر للمرضى المصابين بالفايروس انه في غضون 17-19 يوما بعد ظهور الاعراض يمكن ان يكون IgM و IgG الخاص بالفايروس إيجابي 100% ، والذي يمكن عده طريقة تشخيصية موثوقة ، ومن الجدير بالذكر لوحظ انخفاض مستوى الIgG بشكل كبير في المرضى المصابين بأمراض

خطيرة وحرارة إضافة الى ارتفاع الـ IgM مقارنة بالمرضى العاديين لكن بعد مرور 3 اشهر لوحظ انخفاض في المعدلات الإيجابية للـ IgM و IgG على التوالي (Liu et al., 2020) .

ويلحظ أيضا وبشكل تدريجي وبمستوى اعلى في بعض المرضى المصابين بامراض خطيره و حرارة ومنهم مرض فايروس كورونا ارتفاع في السيتوكينات من الانترلوكين 6 و 8 ، وعامل النخر الورمي الفا (-TNF, IL8, IL-6) ، والخلايا التائية المساعدة من الفئة الاولى TH-1، والتي تشمل انترفيرون كاما ، وانترلوكين 2 (IL-2 and ) (a IFN-g ) ، والسيتوكينات المنظمة للخلايا التائية انترلوكين 10 (IL-10) ، والسيتوكينات الخلايا التائية المساعدة Th 17 المتمثلة بانترلوكين 17 (IL-17) ، والسيتوكينات الخلايا التائية من الفئة الثانية Th2 ، وانترلوكين 4 (IL-4) من حين لآخر إضافة الى استحثاث بروتين 10 (IP-10) ، ويمكن ان تؤدي عواصف السيتوكينات الى تعفن الدم الفيروسي وإصابة الرئة الناجمة عن الالتهاب الرئوي ومتلازمة الضائقة التنفسية الحادة وفشل الجهاز التنفسي والصدمة وفشل الأعضاء وربما الوفاة نتيجة الاستجابة المناعية والافراز المفرط على الرغم من ان هذه الوسائط تشارك بشكل أساس في الإشارات الفسيولوجية ويشكلون جزءا من نظام المناعة المنظم بدقة لمراقبة وإزالة الأجسام الغريبة من الجسم ، وقد يؤدي الأطلاق غير المقيد لهذه العوامل استجابة للعدوى إلى استجابة مناعية مبالغ فيها تؤثر سلبا على الخلايا المضيفة (Hirawat et al., 2021) .

## 9-2 خلايا الدم البيضاء White blood cells

هي احدى خلايا الدم الرئيسية ومن خلايا نظام المناعة التي تشارك في حماية الجسم ضد كل الامراض المعدية ، ويتم انتاج جميع خلايا الدم البيضاء ومشتقاته من خلايا متعددة القدرات في نخاع العظم ، وتم إيجاد الكريات البيضاء في جميع انحاء الجسم بما في ذلك الدم ، والجهاز اللمفاوي ، وجميع خلايا الدم البيضاء لها نواة ، والتي تميزها عن غيرها من الخلايا (منها كريات الدم الحمراء منزوعة النواة والصفائح الدموية ) وكثيرا ما يكون عدد كريات الدم البيضاء في الدم مؤشرا على المرض ، ففي حالة تعرض الجسم الى المستضدات يرتفع هذا العدد قليلا ، اما في حالات ابيضاض الدم (Leukemia) يكون العدد اعلى من الحد الطبيعي وعند حدوث نقص الكريات البيضاء يكون العدد اقل بكثير ، وعن طريق مراجعة لسلسلة من الحالات المرضية للأشخاص المصابين ب سارس كوفيد-2 وجد زيادة في عدد الكريات الدم البيضاء والخلايا العدلة ، كما تسبب عائلة الفيروس التاجي استنفاد اوقلة في الخلايا اللمفاوية ( CD4 T و CD8 T ) ، والخلايا القاتلة الطبيعية NK ، وتعداد خلايا B ، والخلايا الحمضة والقعدة الطبيعية في المرضى المصابين ، وقد تكون الآلية ناجمة عن هجوم مباشر من فيروس كورونا على الخلايا اللمفاوية او عن طريق موت الخلايا المبرمج المناعي للخلايا اللمفاوية (Chu et al., 2016) .

## 1-9-2 كريات الدم البيضاء الحبيبية Granular White blood cells

يوجد ثلاثة أنواع منها: (الخلايا المتعادلة Neutrophils، الخلايا الحمضية Eosinophils، الخلايا القاعدية Basophils)، والتي تتكون في نخاع العظم الأحمر .

### أولاً: الخلايا العدلة Neutrophils:

هي احد أنواع خلايا الدم البيضاء الحبيبية والتي تعتبر الأولى في الاستجابة المناعية والأكثر غزارة ، والتي تشكل قسماً رئيسياً من الجهاز المناعي ، كما وتعمل مصائد العدلات خارج الخلية (شبكة العدلات ) التي يمكنها التقاط او تعطيل أنواع مختلفة من الكائنات الدقيقة ، بما في ذلك الفايروسات ، أظهرت الأدلة ان تراكم شبكة العدلات يؤدي الى تأثيرات سامة مباشرة للخلايا (على الخلايا البطانية والظهارية ) فان الإنتاج الضخم ل شبكة العدلات يعيق المسالك الهوائية ويزيد من شدة المرض (Diniz et al., 2021).

تعد الرئة اول عضو يهاجمه SARS-COV-2 فبعد الوصول الى الحويصلات الهوائية يطلق SARS-COV-2 استجابات مناعية فطرية عن طريق تنشيط البلاعم السخية (هي خلايا بلعمية تلعب دوراً مهماً في التوازن ، ودفاع المضيف ، وإعادة تشكيل الانسجة كما يمكنها اطلاق العديد من الافرازات لتتفاعل مع الخلايا والجزيئات الأخرى باستخدام عدة مستقبلات سطحية ) ؛ إضافة الى تحفيز هجرة العدلات الى موقع الإصابة كجزء من الخط الأول للاستجابة المناعية الفطرية ، وتؤدي العدلات المنشطة أدواراً وقائية في حالات العدوى المختلفة عن طريق البلعمة ، والتحلل ، وتشكيل شبكة العدلات ؛ علاوة على ذلك فان العدلات المنشطة جنبا الى جنب مع البلاعم مسؤولة عن افراز الساييتوكينات المسببة للالتهاب مثل: انترلوكين 6-8 (IL-6, IL-8) ، وعامل النخر الورمي الفا (TNF-a) وغيرها ، واطهرت الدراسة التي أجريت على امراض الانسجة الرئوية والفشل التنفسي الحاد في عدوى فايروس كورونا-19 وجود تلف نسجي واضح ، وتشكل جلطات في الاوعية الدموية الرئوية المحيطة ؛ بسبب دور العدلات في الاستجابات المناعية المرتبطة بفايروس كورونا ؛ إذ يحفز على تكوين شبكة من العدلات السليمة في موقع الإصابة حيث تلعب هذه الشبكات دوراً محورياً في تطور المرض ؛ إذ توفر دعامة لانحباس الصفائح الدموية ، مما يؤدي الى مضاعفات التخثر في الاوعية الدموية الدقيقة الرئوية ؛ إذ كشف التحليل النسجي للأوعية الرئوية لدى مرضى فايروس كورونا عن تجلط واسع النطاق مع اعتلال الاوعية الدقيقة ، فمن الموثوق جيداً ان العدلات هي عوامل رئيسية في عاصفة الساييتوكينات ومضاعفات التخثر التي يعاني منها مرضى فايروس كورونا (Iliadi et al., 2021).

كما أظهرت الدراسة المخبرية ان في الحالات الشديدة لعاصفة السيتوكينات Cytokine storme يستحث تنشيط شلال التخثر ، مما يتسبب في حدوث ظاهرة التخثر فهناك صلة قوية بين معاملات التخثر غير الطبيعية (D-dimer ومنتجات تحلل الفايبرين FDP) والوفيات في المرضى المصابين بالفايروس ؛ إذ ارتفعت معدلات الوفيات في

الأشخاص الذين يعانون من ارتفاع مستوى الـ D-dimer (وهو احد أجزاء البروتين التي يتم انتاجها عند اذابة جلطة دموية في الجسم أي احد منتجات تحلل الفايبرين النهائية) ، كما لوحظ ان انتشار التخثر داخل الاوعية الدموية يحصل بشكل متكرر في حالات DIC (التخثر المنتشر داخل الاوعية Disseminated intravascular coagulation ، وهو اضطراب خطير ؛ إذ تصبح البروتينات التي تتحكم في تخثر الدم اكثر نشاطا ) ، مما يشير الى ان DIC تحدث بشكل متكرر في حالات الإصابة الشديدة بالفايروس (Dolhnikoff et al., 2020) .

## ثانيا: الخلايا القاعدية Basophils:

هي مجموعة فرعية صغيرة من الخلايا المحببة التي تمثل جزءا من الخلايا المناعية الاقل شيوعا ؛ إذ تعمل هذه الخلايا على منع التقاط الفايروس ونقله ، كما تشارك في التفاعلات الالتهابية المختلفة والدفاع ضد مسببات الأمراض (Jiang et al., 2015) .

ويمكن أن يرتفع مستوى الخلايا القاعدية عند وجود اضطرابات التكاثر النقوي ( يشير إلى مجموعة من الحالات التي تسبب إنتاج كثير من خلايا الدم البيضاء أو خلايا الدم الحمراء أو الصفائح الدموية في نخاع العظم ) على الرغم من ندرتها يمكن أن تتطور هذه الاضطرابات إلى ابيضاض الدم (وهو سرطان يصيب خلايا الدم البيضاء) ، أما انخفاض مستوى الخلايا القاعدية ؛ فيحدث بسبب العدوى التي تحصل عند دخول البكتيريا أو الفايروس والمواد الضارة الأخرى إلى الجزء المصاب ؛ فضلا عن ذلك يبدو أن الخلايا القاعدية تلعب دورا نشطا في الاستجابة المناعية لسارس كوفيد-2 ، في الواقع يتم تضخيم الاستجابة المناعية التكيفية المنسقة لسارس كوفيد-2 بواسطة الخلايا القاعدية ؛ إذ لوحظ أن كمية الخلايا القاعدية تكون اقل في أثناء المرض الحاد وأن درجة هذا النضوب هي محدد مهم لاستجابة الجسم المضاد للفيروس ، ومما تجدر الإشارة إليه أن استنفاد الخلايا القاعدية قد يضعف من فعالية استجابات الكلوبولين المناعي G ( IgG ) لسارس كوفيد-2. كما ويمكن ان تعزز الخلايا القاعدية من وجهة نظر شاملة الاستجابة المناعية التكيفية المنسقة لسارس كوفيد-2 التي يمكن قمعها من خلال تفاعل شديد الالتهاب عن طريق المرحلة الحادة من فايروس كورونا (Murdaca et al., 2021) .

ومن المثير للاهتمام ان الخلايا القاعدية والخلايا البدنية من المحتمل ان تكون متورطة في التسبب في مرض فايروس كورونا-19 ؛ فالأول يمارس دورا وقائيا والأخير قد يلعب دورا رئيسيا في التسبب بالمرض ، وبإمكان الخلايا القاعدية ان تعمل بشكل تآزري مع الخلايا المتغصنة كخلايا تقدم المستضد للخلايا التائية المساعدة+CD4 وتعزز استجابة الخلايا البائية عن طريق تحريض تمايز الخلايا المساعدة الثانية Th-2، ومن المحتمل أن تلعب الخلايا القاعدية دورا مهما في تعزيز استجابة الجسم المضاد بفضل قدرتها على اطلاق الانترلوكين-4 ( IL-4 ) ؛ وقد يمثل هذا الانترلوكين سايتوكينا مركزيا في التسبب في الالتهابات الرئوية الوخيمة لمرضى فايروس كورونا؛

علاوة على ذلك يبدو أن سارس كوفيد-2 يعزز تلف الرئة عن طريق مشاركة أعلى في استجابة الخلايا التائية المساعدة Th-2 (Skaria et al., 2016) .

### ثالثا: الخلايا الحامضية Eosinophilia:

وهي خلية متخصصة في جهاز المناعة وتتطور الحمضات من الخلايا السلفية متعددة القدرات في نخاع العظم التي تتميز تحت سيطرة السايكوكينات المختلفة بما في ذلك انترلوكين 3 و 5 (IL-3, IL-5) وعامل تحفيز الخلايا البلعمية الحبيبية ؛ إذ تتحرك الى المناطق الملتهبة بمجرد اطلاقها في الدورة الدموية ، و تشير البيانات الحديثة الى ان الحمضات لا تشارك فقط في وظائف المستجيب المناعي ؛ ولكنها أيضا تؤدي وظائف حماية الانسجة ، وتنظيم المناعة التي تسهم بنشاط في الحفاظ على التوازن ، وإنتاج الاجسام المضادة ، وتنشيط الانسجة الدهنية ، وإعادة تشكيل الانسجة (Simon et al., 2020) .

أن العوامل السريرية والدموية ، والتي تتضمن الحمضات بمعدل اقل من خمسة لكل مايكرومتر من بين المعايير المستخدمة لتحديد المرضى المصابين بفيروس كورونا ، فإن قلة الحمضات تعود الى انخفاض انتاج و/أو إطلاق الحمضات من نخاع العظم ، وزيادة الحبس داخل الاوعية الدموية ، وزيادة الهجرة الى الانسجة الجسدية ، و/أو انخفاض البقاء على قيد الحياة في الدورة الدموية الطرفية ، وكانت مستويات الحمضات اقل بشكل ملحوظ في مرضى فيروس كورونا المصابون بأمراض خطيرة مقارنة بأولئك الذين يعانون من امراض متوسطة وشديدة ، كما وترتبط مستويات الحمضات في مرضى فيروس كورونا بشكل كبير وايجابي بالعلامات الحيوية لاضطراب التخثر ، وتلف الانسجة ، وفشل الأعضاء المتعدد بالإضافة الى وجود علاقة إيجابية كبيرة بين تعداد الحمضات ونسبها والصفائح الدموية ؛ إذ تتفاعل مع بعضها بعض ، فقد تبين ان الحمضات المصابة بالفايروسات يمكن ان تعمل كخلايا محترفة تقدم المستضد ، وتحفز الاستجابة المناعية بواسطة الخلايا التائية السامة CD8+ المضادة للفايروسات في الجسم الحي ، وهذا مهم لأنه اذا لعبت الحمضات دورا في الدفاع المناعي ضد SARS-COV-2 ؛ فان هناك ما يبرر استراتيجيات تصحيح قلة الحمضات في مرضى فيروس كورونا لمنع الوفاة (Yan et al., 2021)

### 2-9-2 كريات الدم البيضاء غير الحبيبية NON- Granular White blood cells

وتشمل (الخلايا اللمفية Lymphocytes و الخلايا الوحيدة Monocytes) التي توجد في الانسجة اللمفاوية كالطحال ، والكبد ، والغدد اللمفاوية .

## 1- الخلايا اللمفاوية Lymphocytes :

نوع من الخلايا المناعية يتكون في نخاع العظم ؛ إذ تكون الزيادة في تركيز الخلايا اللمفاوية علامة على وجود أصابه فايروسيه ، وفي بعض الحالات النادرة يتم العثور على ابيضاض الدم عن طريق ارتفاع عدد الخلايا اللمفاوية بشكل غير طبيعي ، كما قد يكون بسبب سرطان الغدد اللمفاوية (والذي هو عبارة عن ارتفاع عدد الخلايا اللمفاوية مع انخفاض عدد العدلات ) ويرتبط انخفاض تركيز الخلايا اللمفاوية بزيادة معدلات الإصابة بعد الجراحة او الصدمة ، تعد الخلايا اللمفاوية جزءا بارزا من مرض فايروس كورونا-19 الحاد ، والذين أظهروا انخفاضا في عدد الخلايا اللمفاوية مقارنة بالمرضى ، الذين تكون اصابتهم غير شديدة ؛ وهذا الانخفاض يعرف بالايمنوبينيا Lymphopenia والمعروف بأن يكون فيها عدد الخلايا اللمفاوية اقل من الحد الطبيعي ، ويرتبط وجود الايمنوبينيا بزيادة خطر الإصابة بعدوى فايروس كورونا-19 الشديدة بمقدار (3 اضعاف) تقريبا (Huang & Pranata, 2020) .

الا ان هناك فرضية تفيد بان : أولا- الخلايا اللمفاوية تعبر عن مستقبل ACE2 قد تكون هدفا مباشرا لعدوى SARS-COV-2 . ثانيا- زيادة الساييتوكينات المؤيدة للالتهابات في مرضى فايروس كورونا وخاصة الانترلوكين-6 (IL-6) ؛ وبهذا يمكن ان تحفيز المزيد من تقليل الخلايا اللمفاوية (Lin et al., 2020) .

### أولا: الخلايا التائية T-CELL:

تمثل الخلايا التائية جزءا من جهاز المناعة ، فهي مسؤولة عن تنسيق جوانب متعددة من الاستجابة المناعية التكيفية ، بما في ذلك الاستجابات لمسببات الامراض ومسببات الحساسية والاورام ، ويمكن ان تكون مسؤولة عن الامراض الالتهابية او امراض المناعة الذاتية ، وأن تمييز الخلايا التائية عن الخلايا الأخرى عن طريق وجود مستقبلات الخلايا التائية T Cell Receptor على سطح الخلية ، ولا يتم تنشيطها حتى تجد مستضدها المحدد ، ويمكن ان تتحول الخلايا التائية الى خلايا ذاكرة memory cell تساعد في القضاء على المستضد (B. V. Kumar et al., 2018) .

عن طريق الدراسة المستفيضة حدد ارتباطا إيجابيا بين درجة انخفاض عدد الخلايا اللمفاوية التائية وشدة فايروس كورونا ؛ إذ لوحظ مع استمرار مسار تقدم المرض تنخفض الخلايا المساعدة (CD4+T) والخلايا القاتلة (CD8+T) بشكل كبير في المرضى المصابين بأمراض خطيرة وحادة وبشكل أقل في المرضى بالحالات المتوسطة ، وان التنشيط المفرط للخلايا التائية بعد الإصابة مرتبط بالإفراط في (TH17) ، وهو ما يفسر ملاحظات التلف المناعي لدى المرضى ؛ كما يؤدي تنشيط الخلايا المرضية للـ(TH1) إلى زيادة الانترلوكين 6 (IL-6) ؛ مما يتسبب في عمل الخلايا الوحيدة الالتهابية وتكاثرها ، من المتوقع أن يمنع تثبيط عامل تحفيز مستعمرة الخلايا البلعمية المحببة أو IL-6 الضرر المناعي ، وهو آلية محتملة تشارك في تدهور المرض ، قد يكون إطلاق عامل تحفيز



مستعمرة الخلايا البلعمية المحببة و IL-6 بواسطة الخلايا للمفاوية التائية والوحيدات هو المفتاح لعاصفة السايكوتوكين Cytokine storm التي يسببها فايروس كورونا-19 (Yang et al., 2021) .

### ثانيا: الخلايا البائية B-CELL:

هي نوع من الخلايا للمفاوية المسؤولة عن عنصر المناعة الخلطية في جهاز المناعة التكيفي ؛ إذ تنتج هذه الخلايا الاجسام المضادة ، والتي تلعب دورا رئيسيا في المناعة ؛ إذ تعمل على منع المواد الغريبة من إيذاء الجسم ، وتحتوي على سطحها مستقبلات الخلايا البائية B Cell Receptor ، والتي تستخدمها للارتباط ببروتين معين وبمجرد ان ترتبط الخلايا البائية بالبروتين المسمى بالمستضد ؛ فأنها تطلق اجساما مضادة تلتصق بالمستضد ، وتمنعه من إيذاء الجسم ، وتقدمه فريسة للخلايا التائية ، فتبتلعه وتهضمه ، وتقضي على هذا الدخيل ، بعد ذلك تفرز السيتوكينات لجذب الخلايا المناعية الأخرى ، إضافة لوظيفته البارزة في مجال امراض الدم ( Lebien & Tedder, 2008 )

يزداد تواتر CD19 في الخلايا البائية في حالات فايروس كورونا الشديدة مقارنة بالحالات الخفيفة ، كما ان هذه الخلايا للمفاوية يمكن أن تكون بمثابة مؤشرات حيوية محتملة وحتى مشاركين نشطين في الاستجابات التكيفية المضادة للفايروس ضد سارس كوفيد-2 ، ومن المتوقع أن تؤدي الاستجابة المناعية الخلطية التي تتركز بشكل أساس على انتاج اجسام مضادة معادلة بواسطة خلايا البلازما وظيفية وقائية عن طريق التحكم في العدوى في مراحل المرض اللاحقة وربما منع إعادة العدوى في المستقبل ( Sosa-Hernández et al., 2020 ) .

### ثالثا: الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cell:

تعد نوعا من الخلايا للمفاوية السامة ولها دور مشابه لدور (الخلايا التائية السامة للخلايا CD8+T) في الاستجابة المناعية التكيفية ، توفر الخلايا القاتلة الطبيعية استجابات سريعة للخلايا المصابة بالفايروس ومسببات الامراض الأخرى ؛ إذ تشكل جسرا بين الاستجابات المناعية الفطرية والتكيفية ، ومع ذلك فهذه الخلايا فريدة من نوعها لأنها تمتلك القدرة على التعرف على الخلايا المجهدة ، وقتلها في حالة غياب الاجسام المضادة ومعقد التوافق النسيجي الكبير ، مما يسمح برد فعل مناعي اسرع بكثير ، وتشتهر الخلايا القاتلة الطبيعية بالكشف عن العلامات المبكرة للسرطان والسيطرة عليها ( Eissens et al., 2012 ) .

كما وأظهرت الدراسة انخفاضا ملحوظا في المجموعات الفرعية للخلايا القاتلة الطبيعية في المرضى المصابين بفايروس كورونا عن الأشخاص الاصحاء ؛ إذ ارتبط تغيير المجموعة الفرعية للخلايا للمفاوية المحيطة بالخصائص السريرية لفايروس كورونا-19 (Wan et al., 2020) .

مما تجدر الإشارة إليه ان الانخفاض في عدد الجزيئات السطحية (CD4,CD8,NK) في المرضى المصابين بـ SARS-COV-2 عن الحد الطبيعي يكون بشكل اقل في الحالات الشديدة عن الحالات المعتدلة والخفيفة ؛ إذ ارتبطت نسبة CD8,CD4,NK سلبا بالمؤشرات الالتهابية عن طريق وجود زيادة في مستويات الانترلوكين 6 (IL-6) ، والانترلوكين 10 (IL-10) ، والبروتين التفاعلي سي (C-Reaction Protein)(CRP) وهو بروتين يصنعه الكبد يتم ارساله الى مجرى الدم استجابة للالتهاب عند حدوث إصابة بعدوى ما ، اضافة الى زيادة في معدل ترسيب كرات الدم الحمراء (ESR)(Erythrocyte Sedimentation Rate) في المرضى المصابين بالفايروس والذي يكشف عن وجود عدوى نشطة في الجسم كما يساعد على تشخيص الالتهاب او متابعة تقدم المرض من خلال معرفة سرعة تثقل كريات الدم الحمراء (F. Wang et al., 2020) .

عن طريق التجارب السابقة تم الاستدلال عن زيادة في مستوى الفيريتين Ferritin(وهو عبارة عن بروتين دموي يحتوي على الحديد ) في معظم مرضى فايروس SARS-COV-2 بدرجات متفاوتة , إضافة الى وجود علاقة بين انزيم ال LDH (الذي يعد انزيم نازع لهيدروجين اللاكتات Lactate dehydrogenase ) ، والذي يتواجد في كل خلايا الجسم بما في ذلك الدم ، والعضلات ، والمخ ، والكلى ، والبنكرياس فهو المسؤول عن تحويل السكر إلى طاقة ويفرز هذا الانزيم عندما يحدث تلف في انسجة الجسم ؛ إذ بينت بعض الأبحاث زيادة في مستوى هذا الانزيم عند الإصابة بفايروس كورونا وعند اجراء اختبار (procalcitonin) ، الذي يستخدم للكشف عن نسبة البروكالسيتونين(وهو ببتيد ابتدائي لهرمون الكالسيتونين الذي يلعب دورا مهما في توازن الكالسيوم داخل الجسم ) ؛ إذ يكون مستواه قليل جدا في الأشخاص الاصحاء ، بينما يرتفع مستواه في الدم عند وجود تحفيز التهابي وينتج في هذه الحالة في الرئة والامعاء كذلك يمكن ان يرتفع مستواه عند حدوث عدوى حادة بسبب تغيرات تحدث استجابة لتلك العدوى حيث ظهر ارتفاعه في المرضى المصابين بفايروس كورونا خاصة عندما تكون هناك استجابة التهابية ، وتكون اكثر وضوحا في المرضى ذوي الحالات الحرجة ، وقد يكون هذا الارتفاع ؛ بسبب عدوى بكتيرية ثانوية ، وان زيادة كل من البروتين التفاعلي C ، ومعدل ترسيب كريات الدم الحمراء ، والفرتين ، وانزيم LDH وال PCT يكون بمستوى اعلى في المرضى الذين يعانون من امراض خطيرة وحرارة وخاصة كبار السن ؛ كما ارتبطت هذه الزيادة بشكل إيجابي مع شدة المرض لدى المرضى المصابين بكورونا-19(Yuan et al., 2020) .

## 2-الخلايا الوحيدة Monocyte :

تتكون في نخاع العظم وتنتقل عبر انسجة الجسم ؛ إذ يمكنها ان تتمايز الى بلاعم , وتتميز بقدرتها على التعرف على إشارات الخطر عبر مستقبلات التعرف على الأنماط ، ويمكن ان يقتلوا الخلايا السرطانية وينظمون مناعة الجسم ضد المواد الغريبة , كما أن الوحيدات هي المسؤولة عن مهاجمة وتحطيم الجراثيم والبكتريا التي تدخل الجسم كما تسهل عملية الشفاء والإصلاح ، ومن الملاحظ ان الزيادة في عدد هذه الخلايا يشير الى وجود عدوى مزمنة او

امراض المناعة الذاتية او امراض السرطان ، اما انخفاض هذه الخلايا فيكون عند انخفاض اجمالي عدد خلايا الدم البيضاء في بعض حالات التعرض للعدوى ، او الخضوع لجلسات العلاج الكيماوي ، او حدوث اضطراب في نخاع العظم (Dávila-Collado *et al.*, 2021) .

من البيانات التي تم الحصول عليها من الأبحاث على المرضى المصابين بفيروس كورونا أظهرت ارتفاع في الخلايا الوحيدة , فمن المعروف ان المرضى الذين لديهم عدد خلايا أحادية أعلى من 7 لديهم ميول لتطوير اعراض فيروس كورونا مقارنة بالمرضى الذين يعانون من تعداد الخلايا الأحادية في المعدل الطبيعي ؛ لذلك يعتقد ان الخلايا الأحادية يمكن ان تكون واحدة من العوامل القوية التي يمكن أن توجه تشخيص فيروس كورونا ، وتم تحديد الاستجابة الالتهابية المفرطة لفيروس SARS-COV-2 على أنها السبب الرئيسي لشدة المرض والوفاة ، وقد ارتبطت بالمستويات المنتشرة من الساييتوكينات وتسلسل الخلايا اللمفاوية ، وتسلسل الخلايا أحادية النواة في الرئتين ، والقلب ، والطحال ، والعقد اللمفاوية ، والكلية ، ويظهر المظهر الخلوي الجهازى ، الذي لوحظ في مرضى فيروس كورونا أوجه تشابه مع متلازمة تنشيط البلاعم مصحوبة بزيادة إنتاج الساييتوكينات (الانترلوكين IL-66 ، الانترلوكين IL-7 ، وعامل النخر الورمي TNF ) ، يسهم التنشيط غير المنتظم للخلايا البلعمية ووحيدة النوى في حدوث التهاب مفرط لفيروس كورونا ويرتبط به عند فحص السائل القصي السخي للمرضى المصابين بإصابة شديدة بالفيروس ؛ إذ وجد أن محتوى البلعميات ووحيدات النوى يبلغ 40-80% ، وتشير هذه الحالة إلى أن الأمراض لتسلسل البلاعم يمكن أن تنشر وتسبب التهابا حادا وتتماشى مع المضاعفات الليفية التي لوحظت في المرضى الذين يستخدمون التهوية الميكانيكية ، بينما الذين يعانون من اعراض خفيفة يكون تسلسل الخلايا الوحيدات للخلايا الالتهابية في السائل القصي السخي ضئيلا (Desdiani *et al.*, 2021) .

## 10-2 الأورام الدموية الخبيثة Hematological malignancies

مجموعة من السرطانات التي تنشأ من التحول الخبيث لخلايا نخاع العظم أو الجهاز اللمفاوي ، والتي تشمل سرطان الدم ، والأورام اللمفاوية ، وخلل التنسج في خلايا البلازما . (Ugwu & Nwannadi, 2020)

### 1-10-2 ابيضاض الدم Leukemia :

هو مجموعة غير متجانسة من السرطانات لمكونات الدم ، والتي تضم عددا من المجموعات الفرعية المتنوعة والمتميزة بيولوجيا , وينجم عن فرط إنتاج خلايا الدم البيضاء غير الناضجة ، فعندما تتراكم الخلايا البيضاء تتداخل مع وظائف الأعضاء الحيوية ، بما في ذلك إنتاج خلايا الدم السليمة ، أن أسباب ابيضاض الدم غير معروفة , ولكن قد تكون العوامل غير الطبيعية في الكروموسومات ، والتعرض للتلوث ، والتعرض المطول للإشعاع ، وتدخين

التبغ من العوامل التي تسبب الأفرط في إنتاج خلايا الدم البيضاء (Miranda-Filho *et al.*, 2018) ، وتصنف ابيضاض الدم على أنها حادة أو مزمنة .

### أولاً: ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن Chronic Lymphocytic Leukemia:

وهو نوع من سرطانات الدم الذي يتم تشخيصه كثير بعد اكتشاف كثرة اللمفاويات العرضية في تعداد الدم الروتيني ، يأتي مصطلح (مزمن) في ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن من حقيقة أن ابيضاض الدم يتطور بشكل ابطاً من الأنواع الأخرى من ابيضاض الدم (Sarma & Patten, 2021).

ومن المعروف عن الأسباب التي تؤدي الى ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن أن شيئاً ما يحدث ويسبب تغيرات (طفرات) في الحمض النووي للخلايا المنتجة للدم ، يحتوي الحمض النووي للخلية على المعلومات التي توجه الخلية بما يجب فعله ؛ بينما تؤدي التغيرات (الطفرات) الى إنتاج خلايا لمفاوية غير طبيعية وغير فعالة والى جانب كونها غير فعالة تستمر هذه الخلايا اللمفاوية غير الطبيعية في العيش والتكاثر عندما تموت الخلايا اللمفاوية السليمة ، تتراكم الخلايا اللمفاوية غير الطبيعية في الدم وبعض الأعضاء ؛ مما يؤدي إلى حدوث مضاعفات ، وقد تترام الخلايا السليمة خارج نخاع العظم وتتداخل مع إنتاج خلايا الدم ، ونتيجة لذلك فقد أظهرت الأبحاث السابقة ارتفاع في نسبة الخلايا القاتلة الطبيعية ، والخلايا التائية والخلايا البائية (Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 2010) .

### ثانياً: ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد Acute Lymphocytic Leukemia:

هو ثاني أكثر أنواع ابيضاض الدم شيوعاً بين البالغين ؛ إذ تتواجد أكثر من 6500 حالة سنوياً في الولايات المتحدة وحدها ، والسمة المميزة لـ(ALL) هي تشوهات الكروموسومات ، والتغيرات الجينية التي تشارك في تمايز ، وانتشار الخلايا السلفية اللمفاوية ، في البالغين تتطور 75% من الحالات من سلالات سلالة الخلايا البائية ، بينما تتكون بقية الحالات من سلالات الخلايا التائية الخبيثة (Terwilliger & Abdul-Hay 2017) .

يحتوي الحمض النووي للخلية على التعليمات بكل ما يجب أن تفعله الخلية عادة ؛ إذ تنمو الخلية بمعدل محدد وتموت في وقت محدد ، لكن في ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد تسبب التغيرات (الطفرات) في مواصلة النمو والانقسام فعندما يحدث هذا يصبح إنتاج خلايا الدم خارج السيطرة ، ينتج نخاع العظم خلايا غير ناضجة تتطور إلى خلايا الدم البيضاء والتي تسمى الارومات اللمفاوية هذه الخلايا غير طبيعية ، وغير قادرة على العمل بشكل صحيح ، ويمكنها أن تتراكم وتترام الخلايا السليمة ؛ مما يوضح ظهور ارتفاع في عدد الخلايا التائية (CD4,CD8) ، والخلايا البائية ، والخلايا القاتلة الطبيعية (Luczynski *et al.*, 2004) .

## تأثيرات فيروس كورونا على مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد والمزمن Effect of corona virus in acut and chronic leukemia

أظهرت دراسة متعددة المراكز عن وجود خلل ملحوظ في نظام المناعة عن طريق انخفاض في أعداد الخلايا التائية (CD4,CD8) والخلايا القاتلة الطبيعية في المرضى الذين يعانون من أمراض الدم والمصابين بفيروس كورونا , ويتميز المرضى المصابون بأمراض الدم الخبيثة المتأثرة بفيروس كورونا بزيادة في الخلايا اللمفاوية التائية المنشطة (CD3+HLA-DR) و(CD3+CD8+HLA-DR) في المراحل المبكرة من إصابة SARS-COV-2 مع ما يصاحب ذلك من انخفاض في نسبة CD4/CD8 مقارنة بالمرضى غير المصابين بأمراض الدم ، كما لوحظ انخفاضا في CD25+T وخلايا CD16+CD56+NK في المرضى المصابين بأمراض الدم مقارنة بالمرضى غير المصابين بأمراض الدم المصابين بفيروس كورونا. يرتبط قلة اللمفاويات التائية أثناء الإصابة بفيروس كورونا بضعف الاستجابة الالتهابية والتي تتجلى عن طريق زيادة السايوتوكينات المنشطة للالتهاب (IL-10,IL-2,IL-4,TNFa,TNFg) ، والتي بدورها يمكن أن تسبب إصابة رئوية شديدة أثناء عدوى السارس ، وقد تشمل الأسباب المحتملة لنضوب الخلايا اللمفاوية في سياق عدوى SARS-COV-2 قمع نخاع العظم ، وهجرة الخلايا التائية إلى الأنسجة الملتهبة مباشرة بواسطة مستقبلات ACE2 وغير مباشرة عن طريق تحفيز السايوتوكينات المسببة للالتهابات (IL-6,TNFa) أو إنتاج جزيئات التمثيل الغذائي مثل حمض اللاكتيك , وتدمير الخلايا اللمفاوية (Kalicińska et al., 2021) .

### 2-10-2 الأورام اللمفاوية Lymphomas :

مجموعة من الامراض الخبيثة التكاثرية اللمفاوية التي تنشأ من الخلايا التائية والخلايا البائية في الجهاز اللمفاوي ، وتوجد هذه الخلايا في الغدد اللمفاوية ، والطحال ، ونخاع العظم وأجزاء أخرى من الجسم , ومن المهم أن نلاحظ أن سرطان الغدد اللمفاوية يمثل أيضا أكثر أنواع السرطانات غير الظهارية التي يتم تشخيصها شيوعا لدى المراهقين والشباب فعندما يكون لديهم سرطان الغدد اللمفاوية تتغير الخلايا اللمفاوية وتنمو خارج نطاق السيطرة ، وتصنف على مجموعتين : سرطان الغدد اللمفاوية هودجكين ، وسرطان الغدد اللمفاوية اللاهودجكين (Practice & V, 2021).

وفضلا عن ذلك تكشف بعض الأبحاث أن هناك خطرا متزايدا للإصابة بأحداث خطيرة مرتبطة بفيروس كورونا في المرضى الذين يعانون من الأورام اللمفاوية مقارنة بمرضى فيروس كورونا غير المصابين بالسرطان ؛ إذ تؤكد الضعف الشديد لهؤلاء المرضى في الوباء الحالي ؛ مما يشير الى ضعف الاستجابة الخلية لدى مرضى سرطان الغدد اللمفاوية خاصة بعد العلاج بعلاجات تحتوي مضادات CD20 (Bonuomo et al., 2021)

## أولاً: سرطان الغدد اللمفاوية هودجكين Hodgkin lymphoma :

هو ورم خبيث نادر في الجهاز اللمفاوي يمثل ما يقرب 15% من جميع الأورام اللمفاوية ويصيب في الغالب المرضى الصغار ، كما شوهدت في المرضى الذين تزيد أعمارهم عن 60 عاما ، يتميز المرض بقلّة عدد الخلايا الخبيثة المشتقة من الخلايا اللمفاوية البائية ، وبيئة ميكروية التهابية واسعة النطاق ، في بعض المرضى يعد فايروس إبشتاين بار عاملا ذا صلة في التسبب بالمرض ، وتم وصف عوامل وراثية معينة ، و عدوى فايروس العوز المناعي البشري بأنها عوامل خطر مستقلة (Momotow et al., 2021) .

## ثانياً: سرطان الغدد اللمفاوية اللاهودجكين Non-Hodgkin lymphoma :

هو الورم الدموي الخبيث الأكثر شيوعا في جميع أنحاء العالم ويمكن ان يحدث في أي عمر كثيرا ما تتميز بالعقد اللمفاوية التي تكون أكبر من المعتاد ؛ إذ يشير سرطان الغدد اللمفاوية اللاهودجكين الى فئة متنوعة من تكاثر الخلايا البائية والخلايا التائية ، وتقسّم على أنواع عدوانية سريعة النمو وأخرى متبلدة بطيئة النمو ، عادة تكون هذه الأورام اللمفاوية بعد زرع نخاع العظم أو زرع الخلايا الجذعية (García Zueco & Delgado, 2021) .

## تأثير فايروس كورونا على مرضى الأورام اللمفاوية Effect of corona virus in lymphoma patients

أشارت الدراسة المختبرية عن مرضى الأورام اللمفية المصابين بفايروس SARS-COV-2 إلى انخفاض واضح في الخلايا اللمفاوية المحيطة، والخلايا التائية، والخلايا البائية، والخلايا القاتلة الطبيعية في مرضى فايروس كورونا المصابين بالأورام اللمفاوية؛ وقد تؤدي البيئة الميكروية الالتهابية إلى تغيير التوازن لتقليل وظائف المستجيب للخلايا اللمفاوية؛ إذ كشف قياس التدفق للدم المحيطي عن انخفاض في

CD19, CD3,CD5,CD56,CD2,CD7,CD45,CD34,CD38,CD16,CD4, من 70% الى 4,2% ، وكانت هناك زيادة في نسبة الخلايا ذات الإمكانات السامة للخلايا بما في ذلك CD8 ذات الصلة بمستضد كريات الدم البيضاء البشرية HLA-DR ، كما تسبب SARS-COV-2 في إطلاق كميات كبيرة من السايتوكينات المسببة للالتهابات بما في ذلك IL-6,IL-2,IL-10,TNF-a الذي يعزز الاستجابة المناعية غير الكافية ؛ كما لوحظ انخفاض الخلايا اللمفاوية بنسبة اقل في المرضى المصابين بحالات شديدة عن المرضى في الحالات المتوسطة (Pasin et al., 2020) .

## 11-2 الواسمات السطحية للخلايا Cell surface markers

عناقيد (مجاميع) التمايز (CD) cluster of differentiation تستخدم لتحديد جزيئات سطح الخلية الموجودة في الكريات البيض والتحقيق فيها مما يوفر أهدافا للتميط المناعي للخلايا من حيث علم وظائف الأعضاء، يمكن لجزيئات مجموعات التمايز أن تعمل بعدة طرق وكثيرا ما تعمل كمستقبلات او روابط (الجزء الذي ينشط مستقبلا) مهمة للخلية (Zola et al., 2005).

**أولاً: الواسم السطحي CD3:** هو بنية بروتينية متجانسة سطحية مرتبطة بمستقبلات الخلايا التائية TCR لتشكيل معقد يشارك في التعرف على المستضد ونقل الإشارة (Yang et al., 2005) يعتبر مستضد CD3 فريدا بالنسبة لسلسلة الخلايا التائية؛ إذ أظهرت دراسة كيميائية مناعية أن CD3 يتم التعبير عنه مبدئيا في سايتوبلازم الخلايا التوتية قبل تمايز الخلايا التوتية وهجرته إلى غشاء سطح الخلية حيث تم العثور عليه مرتبطا بأغشية جميع الخلايا التائية الناضجة (Chetty & Gatter, 1994)، ويتألف CD3 من أربع سلاسل متميزة في الندييات هي: سلسلة CD3 $\gamma$  وسلسلة CD3 $\delta$  وسلسلتين CD3 $\epsilon$ ، حيث ترتبط هذه السلاسل بمستقبلات الخلايا التائية، وسلسلة CD3-z لتوليد إشارات تنشيط في الخلايا التائية، يمكن استخدام CD3 لتمييز أورام الخلايا التائية عن أورام الخلايا البائية والأورام النخاعية المتشابهة مظهريا لكونه يبقى موجودا في جميع الأورام اللمفاوية التائية وسرطان الدم تقريبا (Dong et al., 2019)

**ثانياً: الواسم السطحي CD4:** وهو بروتين سكري أحادي الغشاء تساعد على تنسيق الاستجابة المناعية عن طريق تحفيز الخلايا المناعية الأخرى مثل: الخلايا البلعمية، والخلايا اللمفاوية البائية، والخلايا اللمفاوية التائية السامة CD8، وتعتبر الخلايا CD4-T حاسمة في تحقيق استجابة مناعية فعالة منظمة لمسببات الأمراض، وان استنفاد هذه الواسمات في اثناء الإصابة الفايروسية؛ يؤدي الى ضعف جهاز المناعة، يتم تنشيط خلايا CD4-T الساذجة بعد التفاعل مع مركب المستضد -معقد التوافق النسيجي الكبير MHC والتفريق إلى أنواع فرعية محددة اعتمادا بشكل أساسي على السايوتوكينات في البيئة الميكروية والتي تتمثل ب-T-helper1,2,17 بالإضافة الى مجموعات فرعية أخرى بما لافي ذلك الخلية التائية التنظيمية T-regulatory cells والخلية التائية المساعدة للجريب Follicular helper T cell و T-helper-9 ولكل منها دور خلوي مميز (Luckheeram et al., 2012)

تعد اللمفاويات واحدة من النتائج المختبرية الرئيسية في المرضى الذين يعانون من فايروس كورونا مع إمكانات تشخيصية واندازية؛ إذ تشارك الاستجابات المناعية غير المنظمة في التسبب في مرض فايروس كورونا؛ إذ

اظهرت نتائج الأبحاث الميل لانخفاض في قيم الواسمات السطحية CD3,CD4 مع زيادة شدة المرض ؛ إذ لوحظ انخفاض طفيف في المرضى الذين يعانون من اعراض خفيفة الى معتدلة وانخفاض شديد في الأشخاص الذين يعانون من شدة في الإصابة مقارنة بالأشخاص الاصحاء (Bobcakova et al., 2021) .

**ثالثا: الواسم السطحي CD19:** هو بروتين عبر الغشاء الموجودة على اسطح الخلايا البائية ، ويلعب دورين رئيسيين في الخلايا البشرية ؛ إذ يعمل كبروتين محول لتجنيد بروتينات الإشارة السائتوبلازمية للغشاء ومن ناحية أخرى يعمل كمحسن لإشارات التنشيط ، ونوعيا يعزز البقاء ؛ إضافة لذلك يمثل هذا الواسم علامة بيولوجية لتطور الخلايا اللمفاوية ، وتشخيص سرطان الغدد اللمفاوية ، ويمكن استخدامها كهدف للعلاجات المناعية لسرطان الدم ، يتم التعبير عن CD19 على نطاق واسع خلال جميع مراحل تطور الخلايا البائية حتى التمايز النهائي في خلايا البلازما ، ففي أثناء تكوين الخلايا اللمفاوية للخلايا البائية يبدأ التعبير السطحي لـ CD19 أثناء إعادة ترتيب الجين المناعي (Ig) ، والتي تتزامن مع تكوين الخلايا البائية من الخلايا الجذعية المكونة للدم ، خلال عملية التطوير يتم تنظيم كثافة سطح CD19 بدرجة عالية ، يكون تعبير CD19 في الخلايا البائية الناضجة أعلى بثلاثة أضعاف من التعبير في الخلايا البائية غير الناضجة (K. Wang et al., 2012).

تشير الدراسة المخبرية إلى أن هذه الخلايا اللمفاوية يمكن أن تكون بمثابة مؤشرات حيوية محتملة ومشاركين نشطين في الاستجابة المضادة لفايروس كورونا ؛ إذ يزداد تواتر CD19 في حالات الإصابة الخفيفة إلى المتوسطة بفايروس كورونا مقارنة بالحالات الشديدة ؛ إذ تنخفض مع شدة المرض (Sosa-Hernández et al., 2020) .

**رابعا: الواسم السطحي CD16:** عبارة عن مجموعة من جزيئات التمايز الموجودة على سطح الخلايا القاتلة الطبيعية ، والعدلات ، والوحيدات والضامة ، ويعمل كمستقبل عبر الغشاء كما يشارك في نقل الإشارة ، ولها سمية خلوية طبيعية منخفضة ، ويلعب هذا الواسم أيضا دورا مهما في التنشيط المبكر للخلايا القاتلة الطبيعية (NK) ، فبعد ارتباطه بالروابط مثل الجسم المضاد IgG يعمل على تحفيز النسخ الجيني لجزيئات تنشيط السطح مثل IL-2 والسائتوكينات الالتهابية مثل TNF, IFN-g ، كما يعتبر تقليل تنظيم CD16 طريقة ممكنة لتعديل استجابات الخلايا القاتلة الطبيعية والحفاظ على التوازن المناعي في كل مسارات الإشارات المعتمدة على الخلايا التائية والأجسام المضادة ، وغالبا ما يتم استخدام CD16 كعلامة إضافية لتحديد مجموعات فرعية مختلفة من الخلايا البشرية بشكل موثوق (Cooper et al., 2001).



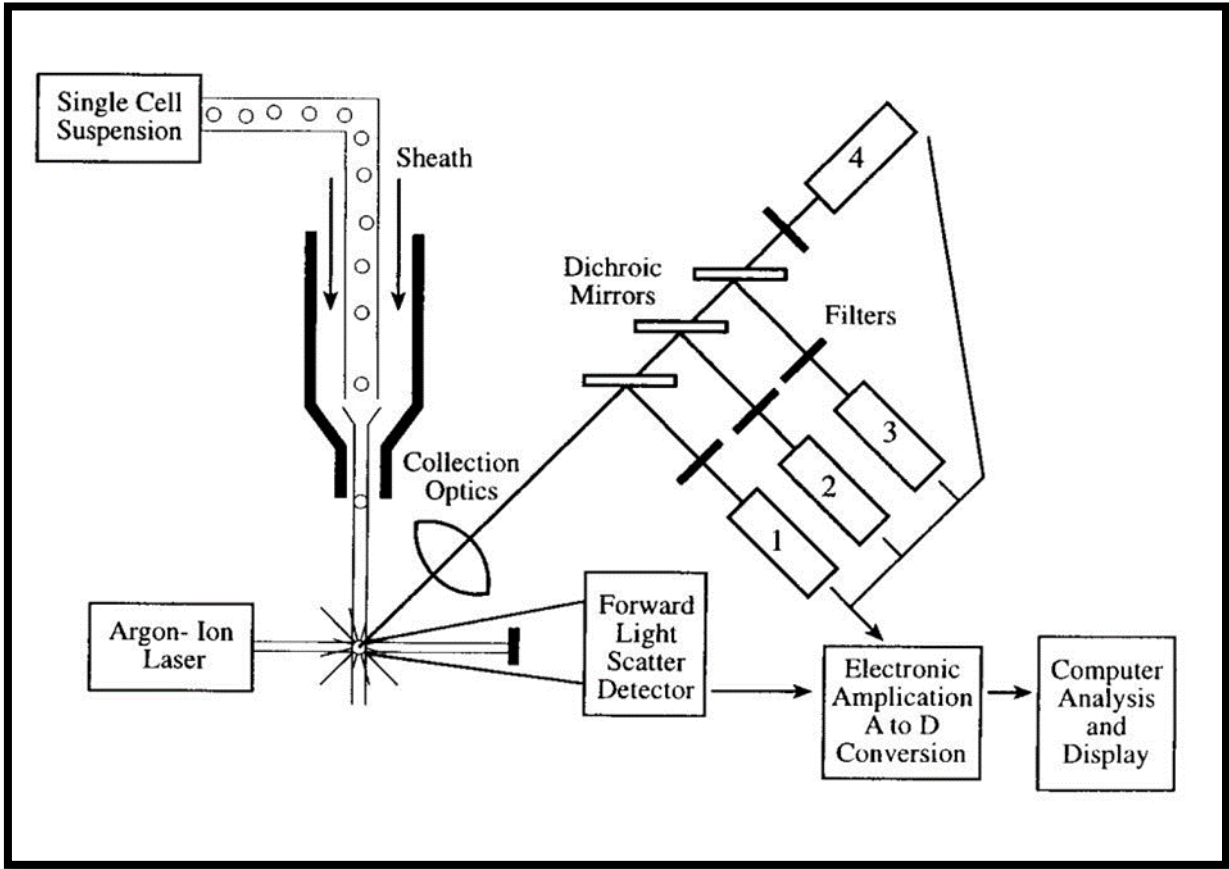
**خامسا: الواسم السطحي CD56:** هو بروتين سكري متجانس يرتبط بشكل كبير بالخلايا القاتلة الطبيعية وكذلك الخلايا المتغصنة , كما يتم التعبير عنه على اسطح الخلايا العصبية ، والدبقية ، والعضلات الهيكلية ، وينظر الية كجزء التصاق الخلايا العصبية لما له من دور في التصاق الخلايا ، وعوامل التغذية العصبية ، والتعلم ، والذاكرة ، كما تلعب دورا مهما في الدفاع ضد العدوى ، وتهدة الورم ، والحمل الطبيعي ، وعادتا ما تكون الأورام الخبيثة التي تعبر عن CD56 عدوانية مع احتمال أكبر لورم خبيث ، يتم التعبير عن CD56 في جميع المجموعات الفرعية للخلايا القاتلة الطبيعية البشرية باستثناء جزء صغير (Van Acker et al., 2017) .

بينت الدراسة أن الخلايا القاتلة الطبيعية تظهر اختلال وظيفي في المرضى المصابين بفايروس كورونا ؛ إذ تنخفض قيم CD16 وCD56 ، ويرتبط هذا الانخفاض تبعا لكثافة الالتهاب ، وقد ينتج عن موت الخلية المبرمج الناجم عن SARS-COV-2 (Bi, 2022) .

### يتم حساب مجموعات التمايز باستخدام جهاز مقياس التدفق الخلوي Flow cytometry :

إذ تعد التقنية الادق المستخدمة لاكتشاف وقياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمجموعات من الخلايا أو الجسيمات (Picot et al., 2012) وتقوم بتحليل الخلايا المفردة أو الجزيئات بسرعة في أثناء مرورها عبر حزمة ليزر واحد أو عدد من الحزم الليزرية في أثناء تعليقها في محلول قائم على الملح ، يتم تحليل كل جسيم من أجل تشتت الضوء المرئي الواحد او عدة معلمات ، يتم قياس تشتت الضوء المرئي في اتجاهين مختلفين ، الاتجاه الأمامي (مبعثر للأمام forward scatter أو FSC ) ، والذي يمكن أن يشير إلى الحجم النسبي للخلية ، وعند 90 درجة (مبعثر جانبي side scatter أو SSC ) ؛ مما يشير إلى التعقيد الداخلي أو دقة الخلية علما ان تشتت الضوء مستقل عن التآلق ، يتم تحضير العينات لقياس التآلق عن طريق تعداد وتعبير البروتينات الفلورية (مثل البروتين الفلوري الأخضر) أو التلوين باستخدام الأصباغ الفلورية (على سبيل المثال البروبيديوم ايوديد) أو التلوين باستخدام الأجسام المضادة المترافقة الفلورية (على سبيل المثال CD3FITC ) (Misha, 2014) ، تطورت الأجهزة المستخدمة لقياس التدفق الخلوي على مدى العقود العديدة الماضية ؛ فقد أدت الزيادة في الكواشف المتاحة خلال السنوات الماضية إلى نمو هائل في عدد المعلمات المستخدمة في تجارب قياس التدفق الخلوي ؛ إذ كانت هناك زيادة كبيرة في الفلوروكرومات المستخدمة لاقتران الأجسام المضادة وحيدة النسيلة مثل الأصباغ الترادفية وأصباغ البوليمر ؛ بالإضافة إلى ذلك كانت هناك زيادة في البروتينات الفلورية المتاحة ؛ وقد أدت التطورات في الفلوروكرومات والأجهزة إلى تجارب مع إمكانية 30 معلمة . يعد قياس التدفق الخلوي أداة قوية لها تطبيقات في تخصصات متعددة مثل: علم المناعة ، وعلم الفايروسات ، والبيولوجيا الجزيئية ، وبيولوجيا السرطان ، ومراقبة الامراض المعدية ، ويسمح بالتوصيف المتزامن لمجموعات مختلطة من الخلايا من الدم ونخاع العظم وكذلك الانسجة الصلبة التي يمكن

فصلها الى خلايا مفردة مثل: العقد اللمفاوية ، والطحال ، والانسجة المخاطية ، والأورام الصلبة وما إلى ذلك ؛ بالإضافة إلى تحليل مجموعات الخلايا ، والعد المطلق للخلايا ، وقياس التدفق الخلوي (Mckinnon, 2019) .



مخطط (2-2) لجهاز التدفق الخلوي (Brown& Wittwer, 2000)

# **Chapter Three:**

# **Methodology**

1-3 المواد Materials

1-1-3 الأجهزة والمعدات المستخدمة : Equipments and Instruments

جدول (1-3) الأجهزة والمعدات المستخدمة

المنتشأ	الشركة المصنعة	الأجهزة والمعدات	ت
China	Mindray	Flow cytometry جهاز	-1
Germany	-----	جهاز الطرد المركزي الدقيق Micro centrifuge	-2
Japan	-----	جهاز رج الأنابيب Tube vortex	-3
Germany	Heraeus	الحاضنة Incubater	-4
China	Zahrat alrawan	أنابيب اختبار EDTA	-5
China	ALLE	محاقن طبية Disposable Syringes	-6
Japan	Human	ماصات دقيقة Micro pipettes	-7
Germany	Walter	نهايات ماصات دقيقة Disposable micro pipette	-8
China	REF	انابيب ابندروف Eppendorf Tube	-9
China	-----	انابيب اختبار بلاستيكية Can tube	-10
China	PFF2	كمادات KN95	-11
Malaysia	Apollo	كفوف طبية	-12
Turkey	Ercelic	الثلاجة Refrigerator	-13

### 3-1-2 الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة : Reagent and Chemical materials

جدول (2-3) الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة	المنشأ
-1	Erythrocyte (Reagent A) 50مل lysing	Lyse	Japan
-2	Erythrocyte (Reagent B) 500مل Lysing		
-3	Buffer Solution (PBS)	-----	العراق
-4	Methanol %70	الكفيل	

### 3-1-3 عدة فحص CD3,CD4,CD16,CD56 and CD19 : CD3,CD4,CD16,CD56 and CD19

جدول (3-3) عدة فحص CD3,CD4,CD16,CD56 and CD19

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة	المنشأ
-1	CD3 PE Kit		
-2	CD4 PE Kit		
-3	CD16 FITC Kit	Thermo fisher	Japan
-4	CD56 FITC Kit		
-5	CD19 PerCP Kit		

## 2-3 المرضى Patients

### 1-2-3 بيانات المرضى Data Patients :

جمعت كل البيانات المتاحة حول المرضى المصابين بفايروس كورونا والمسجلين في مركز الزهراء للوفدين، ومركز الأورام، وامراض الدم في مدينة الأمام الحسين(ع) الطبية في محافظة كربلاء المقدسة، ومركز معالجة الأورام وامراض الدم في مستشفى مرجان التعليمي في محافظة بابل، ومركز الفرات الأوسط للأورام السرطانية في محافظة النجف الاشرف وشملت اسم المريض، العمر، الجنس، الحالة الطبية، التلقيح، الإقامة، دونت المعلومات المرضية لجميع المرضى بعد الموافقة من المرضى وطبيب الأورام المعالج (ملحق رقم 1)

### 2-2-3 تصميم الدراسة Study Design:

دراسة استهدفت مجموعة من المرضى المصابين بفايروس كورونا ومرضى سرطان الدم اللمفاوي المصابين بفايروس كورونا من المسجلين والمراجعين لمركز الزهراء، ومركز طب الأورام، وامراض الدم في مدينة الحسين الطبية، ومركز الفرات الأوسط للأورام وامراض الدم، ومركز الاورام وامراض الدم في مستشفى مرجان التعليمي للمدة ما بين شهر تشرين الأول 2021 الى شهر نيسان 2022 وشملت 60 مريضا مسجلين 30 مريضا مصابين بفايروس كورونا، و30 مريضا من مرضى سرطان الدم اللمفاوي المصابين بفايروس كورونا، وتمت هذه الدراسة بالمشاركة بين مراكز طب الأورام وامراض الدم، ومختبرات المراكز الطبية، ومختبر الجوادين الأهلي، وقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة.

### 3-2-3 مجموعة السيطرة (الأصحاء) Control Group :

شملت 30 من الأشخاص الأصحاء ظاهريا من الكادر الطبي، وبعض المتبرعين بالدم، والمتقاربين مع المرضى من حيث العمر والجنس.

### 4-2-3 مجموعة المرضى Patient Group :

شملت 60 مريض، قسمت الى مجموعتين: الأولى شملت 30 شخص من المرضى المصابين بسرطان الدم وفايروس كورونا، أما المجموعة الثانية فشملت 30 شخص مصاب بفايروس كورونا من غير سرطان الدم.

(مخطط يوضح تفاصيل عينات الدراسة والاختبارات التي أجريت عليها )



**شكل ( 1-3 ) مجاميع الدراسة والاختبارات**

حيث يمثل G1 مجموعة الأصحاء، G2 مجموعة مرضى سرطان الدم والمصابين بفيروس كورونا، أما G3 فتتمثل مجموعة المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير سرطان الدم.

### 1-4-3 عينات الدراسة :Samples of the study

شملت الدراسة (90) شخصا في ثلاثة مجاميع ، وتراوحت أعمارهم بين (16 – 60 سنة ) ؛ إذ قسمت إلى خمس فئات عمرية هي: (16-25)، (26-35)، (36-45)، (46-55)، الأكثر من 55، تضم المجموعة الأولى (30) حالة مرضية من المرضى المصابين بفيروس كورونا والمؤكد إصابتهم بالفيروس بواسطة إجراء فحص ( RT-PCR ) ، والمجموعة الثانية شملت (30) حالة من مرضى سرطان الدم ( حيث تم الاعتماد على تقارير تشخيصية سابقة في سجلات المرضى في مراكز الأمراض السرطانية ) ، والذين تم تأكيد إصابتهم بفيروس كورونا بواسطة إجراء فحص ( RT-PCR ) ، أما المجموعة الثالثة فتمثلت بمجموعة السيطرة ، وقد اشتملت على (30) شخص من الاصحاء ظاهريا ؛ إذ تم جمع عينات الدراسة من مركز الزهراء للوفدين ، ومراكز الأورام السرطانية وامراض الدم في كربلاء والنجف وبابل بعد تشخيصهم عن طريق الفحوصات السريرية والمختبرية ، للمدة من تشرين الأول 2021 إلى نيسان 2022 بعد الحصول على الموافقات الرسمية وبمساعدة الكادر الطبي المشرف على المرض في هذه المؤسسات ، واختيرت مجموعة السيطرة (الأصحاء) بصورة مماثلة من ناحية العمر والجنس وبواقع (30) عينة .

### 2-4-3 جمع عينات الدم Collection of blood samples

سحب من كل فرد مشمول بالدراسة (1 مل) دم بطريقة وخزة الوريد (Venipuncture) وبواسطة محقنة طبية نابذة (Disposable syringe) سعة (3 مل) ، تم نقل (1مل) من الدم إلى أنابيب اختبار حاوية على مانع تخثر EDTA TUBE لغرض إجراء اختبار CD3,CD4,CD16,CD56,CD19 ، تركت العينات في درجة حرارة الغرفة ؛ إذ استعملت العينة لأجراء التحليل الكمي بجهاز التدفق الخلوي ، ويتم تحديد النمط المظهري المناعي للواسمات السطحية ( CD3,CD4,CD16,CD56 and CD19 ) بتقنية الجريان الخلوي بالتدفق وفق التالي:

#### 1- المبدأ Principle :

يعتمد دراسة النمط المظهري المناعي للواسمات السطحية باستعمال جهاز قياس الجريان الخلوي بالتدفق ذي الستة ألوان على قياس الضوء المنتشر بواسطة الجسيمات ويلحظ التآلق عندما يتم تمرير هذه الجسيمات في تيار عبر شعاع الليزر ، ينتج تشتت الضوء عندما يحرف جسيم ضوء الليزر الساقط ، وهذا يعتمد على مدى حدوث ذلك على الخصائص الفيزيائية للجسيم أي حجمه وتعقيده الداخلي ، يتناسب الضوء المبعثر إلى الامام -Forward-scattered light (FSC) مع مساحة سطح الخلية أو حجم الخلية ، أي أنه قياس للضوء المنعرج في الغالب ويكشف عن الأشعة الموجودة خارج محور شعاع الليزر الساقط المنتشر في الاتجاه الأمامي بواسطة الثنائي الضوئي ، يشير



الضوء المنتشر الجانبي (SSC) Side-scattered light إلى حجم الخلية أو التعقيد الداخلي للخلايا والمنعكس في الغالب ، والذي يحدث في أي واجهة داخل الخلية ؛ إذ يوجد تغيير في معامل الانكسار ، تستخدم قياسات FSC,SSC للتمايز بين أنواع الخلايا في مجموعات خلايا غير متجانسة . كما تستخدم الواسمات الفلورية للكشف عن تعبير الجزيئات الخلوية مثل: البروتينات أو الأحماض النووية في النظام ؛ إذ يمتص المركب الفلوري الطاقة الضوئية عبر نطاق من الأطوال الموجية المميزة لهذا المركب ؛ ويؤدي امتصاص الضوء هذا إلى رفع إلكتروني في مركب الفلورسنت إلى مستوى طاقة أعلى ، يتحلل الإلكترون المثير سريعا إلى حالته الأساسية وينبعث منه الطاقة الزائدة على شكل مضان يتم تجميعه بعد ذلك بواسطة أجهزة الكشف ، في مجموعة مختلطة من الخلايا يمكن استخدام الفلوروكرومات Fluorochrome المختلفة للتمييز بين مجموعات فرعية منفصلة ، ويمكن استخدام نمط التألق لكل مجموعة سكانية فرعية لتحديد الخلايا جنبا إلى جنب مع بيانات FSC,SSC الموجودة في العينة وإحصاء النسب المئوية النسبية ، يقوم النظام الإلكتروني بعد ذلك بتحويل الإشارات الضوئية إلى إشارات إلكترونية يمكن معالجتها بواسطة الكمبيوتر (Büscher, 2019) .

## 2- إعداد العينة Sample preparation:

قبل تشغيل أجهزة قياس التدفق الخلوية، يتم تحضين الخلايا في انابيب اختبار أو ألواح مع أجسام مضادة مترافقة الفلورسنت وتحليلها عن طريق جهاز التدفق الخلوي.

## 3- تصبغ الجسم المضاد Antibody Staining :

بمجرد تحضير العينة يتم تغليف الخلايا بأجسام مضادة مترافقة مع الفلوروكروم الخاص بالواسمات السطحية الموجودة على الخلايا المختلفة (أضافة الحجم المناسب من الأجسام المضادة أحادية النسيلة monoclonal antibodies المترافقة مع الجسم المتفلور ؛ إذ تم استخدام الاجسام المتفلورة التالية ( fluorescein ) و phycoerythrin و isothiocyanate و peridin-chlorophyll protein becton dickinson ) ، ويمكن القيام بذلك إما عن طريق التلوين المباشر (يتم تحضين الخلايا بجسم مضاد مترافق مباشرة مع حامل الفلور) أو غير المباشر ، ثم يتم تصبغ الخلايا بالأجسام المضادة .

### 3-5 طريقة العمل Procedure

تضمنت عملية الفحص المختبري إجراء قياس مستوى بعض المعايير المناعية

(CD3,CD4,CD16,CD56,CD19) باستخدام تقنية FLOW CYTOMETRY لكل مجاميع الدراسة ، تم اتباع الطريقة الموضحة من قبل الشركة المصنعة لعدة القياس ، وذلك بحسب الخطوات التالية :

### 3-5-1 طريقة قياس مستوى كل من الواسمات السطحية CD3,CD4,CD19,CD16andCD56 في الدم باستخدام جهاز flow cytometry :

1. تم وضع ( 100 مايكرو لتر) من الدم في أنبوبة أبندروف Eppendorf tube .
2. ثم إضافة ( 5 مايكرو لتر) من احد الاجسام المضادة المتفلورة التالية:  
(CD3 KIT, CD16 KIT,CD56 KIT,CD19 KIT, CD4 KIT,) إلى الأنبوبة الحاوية على الدم
3. تم وضع العينة في جهاز vortex لمدة خمس ثواني.
4. وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30-45 دقيقة.
5. تم إضافة (100مايكرو لتر) من Erythrocyte lysing (reagent A) ووضعت العينة في جهاز vortex لمدة خمس ثواني، وتركت العينة لمدة (10) دقائق في غرفة مظلمة للتخلص من (RBC) في العينة.
6. تم إضافة (1ملي لتر) من Erythrocyte lysing (reagent B) إلى العينة ووضعت العينة في جهاز vortex لمدة خمس ثواني، ثم تركت في غرفة مظلمة بدرجة حرارة الغرفة لمدة (20)دقيقة
7. وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة خمس دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة .
8. بعد ذلك حصلنا على راسب وراشح، الراشح هو(WBC)، والراسب هو(RBC)
9. تم التخلص من الراسب (RBC)
10. إضيف (1ملي لتر) من محلول الغسل Buffer solution إلى العينة.
11. وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة خمس دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة لغرض التخلص من الشوائب.
12. وبعد التخلص من الشوائب تم إضافة (600مايكرو لتر) من محلول buffer solution الى الراسب.
13. تم نقل العينة إلى أنبوبة اختبار بلاستيكية أو ما يسمى كان تيوب can tube.
14. وضعت العينة في جهاز Flow cytometry.
15. تم قراءة النتيجة في أقل من دقيقة واحدة.

### 6-3 التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم إجراء جميع التحليلات باستخدام البرنامج (Statistical package for the social science) (SPSS.V.28) واستخدمت الاختبارات التالية:

1. تحليل التباين الثلاثي Ancova.
2. تحليل التباين الأحادي Anova.
3. اختبار الفرق المعنوي الأصغر. Least significant differences.

# **Chapter Four: Results and Analysis**

شملت الدراسة الحالية (90) شخص من الملقحين وكان من ضمنهم (60) مريضا قسموا على مجموعتين ، مجموعة مرضى سرطان الدم والمصابين بفيروس كورونا ، ومجموعة المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير سرطان الدم ، بالإضافة الى (30) فردا يمثلون مجموعة السيطرة (الأشخاص الأصحاء) ، جمع 1مل من عينات دم المرضى الذين تم تشخيص إصابتهم بفيروس كورونا المستجد عن طريق إجراء فحص ال(RT-PCR) إضافة إلى مرضى يعانون من أورام الدم الخبيثة ومصابين بفيروس كورونا المستجد ومجموعة السيطرة ، لدراسة الأنماط المظهرية المناعية لبعض الواسمات السطحية (Immunological Markers) باستخدام تقنية الجريان الخلوي بالتدفق (Flow cytometry) لجميع العينات ، تم الحصول على المعلومات الشخصية لكل مريض ، والتي تشمل : الاسم ، والعمر ، والجنس ، والإقامة ، التلقيح ، الحالة الطبية ، دونت المعلومات المرضية لجميع المرضى بعد الموافقة من المرضى وطبيب الأورام المعالج .

### 1-4 الدراسة المظهرية المناعية بتقنية الجريان الخلوي بالتدفق Immunophenotyping

أن دور تقنية الجريان الخلوي بالتدفق يكمن في تشخيص الأنماط المظهرية المناعية، وتقييم نتائج توزيع تعبير بعض الواسمات السطحية في الدم المحيطي لعدد من المرضى المصابين بفيروس كورونا ومنهم مرضى سرطان الدم المصابين بفيروس كورونا، والمسجلين بالمؤسسات الصحية ومقارنتهم بعدد من الأفراد الأصحاء ظاهريا لغرض تقييم القيمة التنبؤية للواسمات CD3,CD4,CD16,CD56 وCD19.

مرض فيروس كورونا-19 هو مرض تنفسي شديد العدوى يسببه فايروس (SARS-COV-2) ينتشر من شخص لآخر عن طريق الرذاذ المنبعث عندما يسعل الشخص المصاب أو يعطس أو يتحدث، وهناك خمسة متغيرات سائدة تنتشر بين سكان العالم (متغير ألفا، متغير بيتا Beta، متغير جاما Gamma، متغير دلتا Delta، ومتغير أوميكرون Omicron). ويسبب مرض فيروس كورونا-19 حدوث تغيرات مناعية في حالات الإصابة المعتدلة أو الشديدة تبعا للاختلاف في الاستجابة المناعية من شخص لآخر ؛ إذ أظهرت النتائج حدوث قلة اللمفاويات التدريجي واستنفاد المجموعات الفرعية من الخلايا اللمفاوية ، بالإضافة إلى تأثير بعض الأمراض الأخرى في زيادة شدة الإصابة ، ويمكن لبعض الأشخاص ان يصابوا بأعراض شديدة للمرض على الرغم من أنهم لايزالون في سن الشباب وذلك نتيجة الاستجابة المناعية العنيفة ( García-González et al., 2021 ).

الأورام الخبيثة الدموية Hematological Malignancies وهي من أنواع السرطانات التي تصيب الدم ونخاع العظام والعقد اللمفاوية، ونظرا لأن الثلاثة مرتبطين ارتباطا وثيقا عن طريق جهاز المناعة فإن المرض الذي يصيب أحد الثلاثة سيؤثر كثيرا على الآخرين أيضا، وعلى الرغم من أن الأورام اللمفاوية تقنيا مرض يصيب الغدد اللمفاوية، فإنه ينتشر كثيرا إلى نخاع العظام ويؤثر على الدم. بينت الدراسة الحالية صحة البحوث السابقة التي أشارت إلى انخفاض في مستويات الواسمات السطحية والمتمثلة بـ CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 بشكل أكبر في مرضى سرطان الدم اللمفاوي والمصابين بفيروس كورونا عن سواهم من المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير المصابين بأمراض الدم، كما ويظهر ارتفاع معدل استنفاد الخلايا اللمفاوية تبعا لشدة الإصابة بالفيروس، ومن المعروف أيضا أن المرضى الذين يعانون من أمراض الدم السرطانية لديهم مستويات أعلى من كبت المناعة، وقد يصابون بعدوى فيروسية تنفسية أكثر شدة (Jain et al., 2021) وكثيرا ما يكون لديهم المزيد من الأمراض المصاحبة مثل أمراض القلب، والأوعية الدموية، والسكري والسمنة؛ بالإضافة إلى علاجات السرطان وإجراءات الزرع، كما تؤثر الأورام الدموية السرطانية على إنتاج خلايا الدم ووظيفتها في مكافحة العدوى وكثيرا ما يعاني المرضى المصابون بأمراض الدم السرطانية من اختلالات مناعية متعددة في الجهاز المناعي الفطري والتكيفي، كما قد يؤثر دور العوامل الاجتماعية والاقتصادية وأنماط الحياة في احتمالية الإصابة بعدوى فيروس كوروناهم في مرضى سرطان الدم (Wang et al., 2021).

**2-4 الواسمات السطحية CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين : مجموعة الأصحاء (G1)، مجموعة مرضى سرطان الدم والمصابين بفيروس كورونا (G2) ومجموعة المرضى المصابين بفيروس كورونا من غير سرطان الدم (G3).**

بينت الدراسة الحالية انخفاضا في الخلايا اللمفاوية المحيطية في مرضى كورونا (Fan et al., 2020) تم تقييم التغييرات في المجموعة اللمفاوية الفرعية؛ لاسيما الفرق بين مجموعة الأصحاء G1 و مرضى سرطان الدم المصابين بفيروس كورونا G2 والمرضى المصابين بفيروس كورونا من غير سرطان الدم G3، عند قياس المجموعات الفرعية من الخلايا اللمفية (CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56) بواسطة قياس التدفق الخلوي متعدد الألوان باستخدام الكواشف التالية (CD19 PERCP و CD3 PE,CD4 PE,CD16 FITC,CD56 FITC)؛ إذ كان لدى المرضى المصابين بفيروس كورونا بشكل عام عدد خلايا لمفاوية اقل مقارنة بالأشخاص الأصحاء (Chan et al., 2020).

أظهرت نتائج الاختبار في الجدول (1-4) وجود انخفاضا معنويا تبعا للعينه وكذلك تبعا للعمر ذات دالة احصائية عند مستوى  $P \leq 0.05$  في نسبة CD3 في G2,G3 مقارنة مع G1؛ إذ انخفض مستوى CD3 في عينات المرضى مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، وهذا الانخفاض انخفاضا معنويا.

### جدول رقم (1-4) الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD3 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين

العدد	الانحراف المعياري	المعدل	الفئة العمرية	الجنس	العينه
6	5.06	54.24	16-25	ذكر	G1
2	0.00	66.70	26-35		
4	1.79	49.45	36-45		
2	0.00	48.70	46-55		
2	0.00	51.40	اكثر من ٥٥		
16	6.38	53.55	Total		
4	13.78	64.07	16-25	انثى	
4	1.33	67.15	26-35		
4	16.63	69.20	36-45		
2	0.00	42.90	اكثر من ٥٥		
14	13.69	63.39	Total		
30	11.40	58.14	Total		
5	5.39	50.56	16-25	ذكر	G2
1		53.30	26-35		
3	13.01	44.43	36-45		
3	8.65	48.90	46-55		
4	11.07	35.13	اكثر من ٥٥		
16	10.42	45.41	Total		
5	7.64	41.96	16-25	انثى	
1		45.10	26-35		
3	11.75	44.27	36-45		
2	7.71	29.15	46-55		
3	9.51	50.80	اكثر من ٥٥		
14	10.11	42.74	Total		
30	10.19	44.17	Total		
5	12.52	49.74	16-25	ذكر	G3
3	9.41	48.37	26-35		
4	4.12	47.50	36-45		
1		39.00	46-55		
3	11.43	43.40	اكثر من ٥٥		
16	9.18	47.06	Total		
5	11.80	42.76	16-25	انثى	
3	4.94	40.90	26-35		
2	2.62	52.15	36-45		
1		34.20	46-55		
3	8.87	43.60	اكثر من ٥٥		
14	8.89	43.27	Total		
30	9.10	45.29	Total		
30	11.32	50.23	16-25	Total	
14	12.17	54.87	26-35		
20	12.88	51.75	36-45		
9	10.25	41.73	46-55		
17	9.79	43.68	اكثر من ٥٥		
			4.65	العينات Isd	
			7.69	فئات العمر Isd	

توصلت الدراسة الحالية المبينة في الجدول (2-4) وجود انخفاضاً معنوياً تبعاً للعينة ذات دالة احصائية عند مستوى  $P \leq 0.05$  في نسبة CD4 في G2, G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ مستوى التعبير عن الواسم السطحي CD4 قد انخفض في عينات المرضى مقارنة مع مجموعة الأصحاء وهذا الانخفاض انخفاضاً معنوياً .

### جدول رقم (2-4) الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD4 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين

N	S. D	Mean	الفئة العمرية	الجنس	العينة
6	9.85	35.63	16-25	ذكر	G1
2	0.00	37.80	26-35		
4	3.75	33.95	36-45		
2	0.00	29.30	46-55		
2	0.00	29.80	أكثر من ٥٥		
16	6.59	33.96	Total		
4	10.45	36.75	16-25	انثى	
4	12.12	44.40	26-35		
4	9.30	47.65	36-45		
2	0.00	27.10	أكثر من ٥٥		
14	11.46	40.67	Total		
30	9.64	37.09	Total		
5	4.93	23.32	16-25	ذكر	G2
1		27.60	26-35		
3	7.58	21.17	36-45		
3	9.30	20.40	46-55		
4	4.89	16.90	أكثر من ٥٥		
16	6.30	21.03	Total		
5	8.37	20.90	16-25	انثى	
1		21.00	26-35		
3	9.14	20.00	36-45		
2	4.03	9.45	46-55		
3	10.60	20.73	أكثر من ٥٥		
14	8.34	19.04	Total		
30	7.26	20.10	Total		
5	7.92	25.44	16-25	ذكر	G3
3	8.51	23.70	26-35		
4	5.26	22.55	36-45		
1		18.70	46-55		
3	11.01	22.50	أكثر من ٥٥		
16	7.16	23.42	Total		
5	8.89	19.76	16-25	انثى	
3	5.95	21.27	26-35		
2	2.83	25.20	36-45		
1		13.90	46-55		
3	3.46	20.93	أكثر من ٥٥		
14	6.27	20.69	Total		
30	6.79	22.15	Total		
30	10.36	26.93	16-25	Total	
14	12.47	31.19	26-35		
20	12.10	29.53	36-45		
9	8.77	19.03	46-55		
17	7.28	21.99	أكثر من ٥٥		
90	10.98	26.45	Total		
			4.02	العينات Isd	
			4.03	فئات العمر Isd	



أما بالنسبة للنتائج الموضحة في الجدول (3-4) تبين وجود انخفاضاً معنوياً تبعاً للعينة وكذلك تبعاً للعمر ذات دالة إحصائية عند مستوى  $P \leq 0.05$  في نسبة CD19 في G2, G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ انخفض مستوى CD19 في عينات المرضى مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، وهذا الانخفاض انخفاضاً معنوياً.

### جدول رقم (3-4) الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD19 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين

العدد	الانحراف المعياري	المعدل	الفئة العمرية	الجنس	العينة
6	13.20	21.50	16-25	ذكر	G1
2	0.00	18.00	26-35		
4	2.25	5.75	36-45		
2	0.00	11.00	46-55		
2	0.00	3.70	أكثر من ٥٥		
16	10.82	13.59	Total		
4	4.10	14.05	16-25	انثى	
4	9.01	15.60	26-35		
4	1.39	21.20	36-45		
2	0.00	8.50	أكثر من ٥٥		
14	6.42	15.74	Total		
30	8.95	14.59	Total		
5	2.16	10.52	16-25	ذكر	G2
1		9.40	26-35		
3	2.76	10.37	36-45		
3	1.66	11.27	46-55		
4	1.90	8.98	أكثر من ٥٥		
16	2.02	10.18	Total		
5	2.45	8.12	16-25	انثى	
1		11.70	26-35		
3	0.38	9.17	36-45		
2	0.64	1.95	46-55		
3	2.50	11.00	أكثر من ٥٥		
14	3.44	8.34	Total		
30	2.88	9.32	Total		
5	1.65	9.62	16-25	ذكر	G3
3	0.80	8.67	26-35		
4	0.90	8.45	36-45		
1		7.90	46-55		
3	3.01	6.80	أكثر من ٥٥		
16	1.79	8.51	Total		
5	2.38	8.70	16-25	انثى	
3	2.01	9.20	26-35		
2	0.21	9.85	36-45		
1		5.60	46-55		
3	1.77	8.67	أكثر من ٥٥		
14	1.96	8.74	Total		
30	1.84	8.62	Total		
30	7.70	12.33	16-25	Total	
14	5.81	12.36	26-35		
20	5.64	11.00	36-45		
9	4.10	8.13	46-55		
17	2.75	8.22	أكثر من ٥٥		
			2.37	العينات Isd	
			2.98	فئات العمر Isd	

كما أظهرت نتائج الجدول (4-4) وجود انخفاضا معنويا تبعا للعينة وكذلك تبعا للعمر عند مستوى  $P \leq 0.05$  في نسبة CD16 في G2,G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ انخفض مستوى CD16 في عينات المرضى مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، وهذا الانخفاض انخفاضا معنويا .

جدول رقم (4-4) الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD16 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين

العدد	الانحراف المعياري	المعدل	الفئة العمرية	الجنس	العينة
6	3.57	11.93	16-25	ذكر	G1
2	0.00	13.50	26-35		
4	0.70	8.30	36-45		
2	0.71	7.80	46-55		
2	0.14	7.70	اكثر من ٥٥		
16	3.10	10.18	Total		
4	5.60	14.65	16-25	انثى	
4	0.61	11.05	26-35		
4	0.81	10.20	36-45		
2	0.07	11.55	اكثر من ٥٥		
14	3.31	11.91	Total		
30	3.26	10.98	Total		
5	2.12	10.12	16-25	ذكر	G2
1		7.70	26-35		
3	2.02	6.17	36-45		
3	2.80	8.47	46-55		
4	3.14	7.68	اكثر من ٥٥		
16	2.63	8.31	Total		
5	2.38	5.10	16-25	انثى	
1		11.70	26-35		
3	3.17	7.40	36-45		
2	1.91	5.35	46-55		
3	3.84	7.60	اكثر من ٥٥		
14	3.05	6.64	Total		
30	2.91	7.53	Total		
5	3.17	8.66	16-25	ذكر	G3
3	3.02	9.10	26-35		
4	2.16	9.70	36-45		
1		6.00	46-55		
3	3.31	6.57	اكثر من ٥٥		
16	2.81	8.44	Total		
5	4.16	8.56	16-25	انثى	
3	1.01	6.30	26-35		
2	1.56	10.40	36-45		
1		4.90	46-55		
3	2.85	9.93	اكثر من ٥٥		
14	3.17	8.37	Total		
30	2.93	8.41	Total		
30	4.34	9.81	16-25	Total	
14	2.79	9.77	26-35		
20	2.20	8.72	36-45		
9	2.19	6.96	46-55		
17	2.95	8.32	اكثر من ٥٥		
			1.44	العينات Isd	
			1.66	فئات العمر Isd	

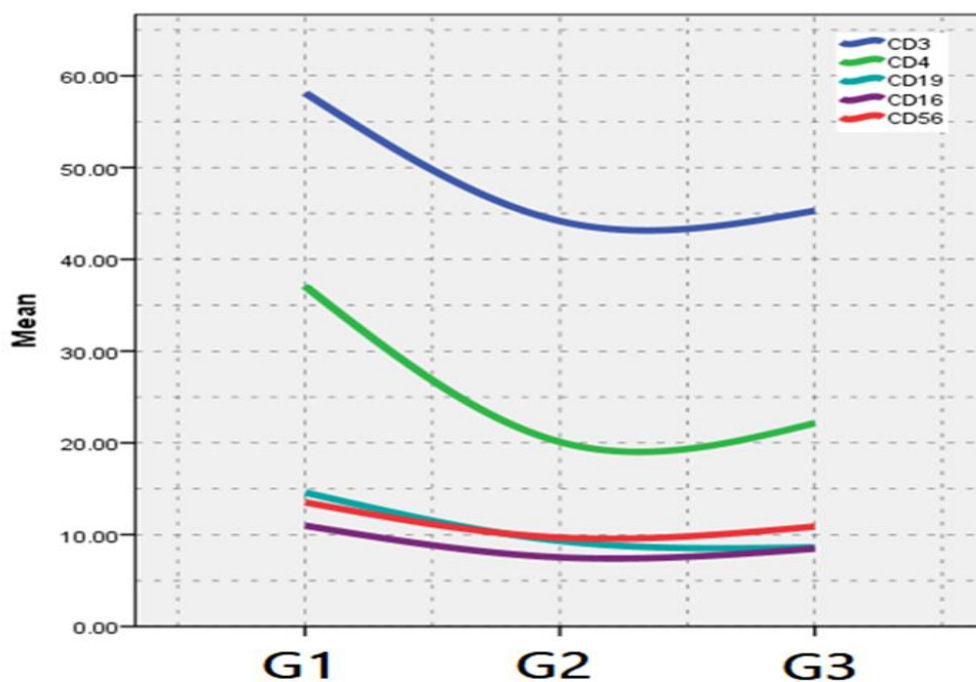
أظهرت نتائج الاختبار في الجدول (4-5) وجود انخفاضا معنويا تبعا للعينة وكذلك تبعا للعمر ذات دالة احصائية عند مستوى  $P \leq 0.05$  في نسبة CD56 في G2,G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ انخفض مستوى CD56 في عينات المرضى مقارنة مع مجموعة الأصحاء وهذا الانخفاض انخفاضا معنويا.

### جدول رقم (4-5) الفروق المسجلة بين قيم الواسم السطحي CD56 في المجموعات التجريبية الثلاثة الملقحين

العدد	الانحراف المعياري	المعدل	الفئة العمرية	الجنس	العينة
6	0.98	15.40	16-25	ذكر	G1
2	1.34	13.25	26-35		
4	0.78	13.30	36-45		
2	0.57	10.90	46-55		
2	0.78	10.75	اكثر من ٥٥		
16	2.00	13.46	Total		
4	1.40	14.45	16-25	انثى	
4	0.95	13.03	26-35		
4	2.22	14.60	36-45		
2	0.21	11.05	اكثر من ٥٥		
14	1.85	13.60	Total		
30	1.89953	13.5267	Total		
5	2.93	8.90	16-25	ذكر	G2
1		12.90	26-35		
3	2.75	10.97	36-45		
3	2.75	12.17	46-55		
4	3.48	7.23	اكثر من ٥٥		
16	3.29	9.73	Total		
5	2.49	8.50	16-25	انثى	
1		13.60	26-35		
3	1.42	9.87	36-45		
2	2.47	6.05	46-55		
3	0.76	12.33	اكثر من ٥٥		
14	2.85	9.63	Total		
30	3.04	9.68	Total		
5	3.41	12.20	16-25	ذكر	G3
3	2.30	12.27	26-35		
4	2.09	12.75	36-45		
1		9.80	46-55		
3	4.11	8.37	اكثر من ٥٥		
16	3.13	11.48	Total		
5	2.70	9.14	16-25	انثى	
3	2.03	10.50	26-35		
2	0.07	13.95	36-45		
1		3.70	46-55		
3	4.72	11.07	اكثر من ٥٥		
14	3.51	10.14	Total		
30	3.33	10.86	Total		
30	3.63	11.49	16-25	Total	العينات Isd
14	1.73	12.39	26-35		
20	2.31	12.65	36-45		
9	3.61	9.32	46-55		
17	3.34	9.87	اكثر من ٥٥		
			1.23		
			1.37		

أظهرت الدراسة الحالية خلايا ملحوظا في نظام المناعة عن طريق انخفاض أعداد

الخلايا التائية ( CD3 و CD4 ) ، والخلايا البائية ( CD19 ) ، والخلايا القاتلة الطبيعية ( CD16 و CD56 ) في المرضى الذين يعانون من امراض الدم الخبيثة اللمفاوية والمصابين بفيروس كورونا والمرضى المصابين بفيروس كورونا من دون امراض الدم ؛ إذ يتميز المرضى الذين يعانون من امراض الدم والمصابين بالفيروس بانخفاض في اعداد الواسمات السطحية بنسبة اعلى مقارنة مع المرضى المصابين بفيروس كورونا وغير المصابين بأمراض الدم ( Kalicińska et al., 2021 ) ، وقد تكون آلية انخفاض أو قلة الخلايا اللمفاوية ناجمة عن هجوم مباشر لفيروس كورونا على الخلايا اللمفاوية أو عن طريق موت الخلايا المبرمج apoptosis المناعي للخلايا اللمفاوية ( chu et al., 2016 ) ، كما تتطلب الاستجابة المناعية الطبيعية المضادة للفيروسات تنشيط المسارات الالتهابية لجهاز المناعة ؛ مما يؤدي إلى الإنتاج المفرط للسايوتوكينات المنشطة للالتهابات ؛ والتي تؤدي إلى استنفاد الخلايا اللمفاوية ، وتفاقم متلازمة الضائقة التنفسية الحادة ، وتلف الأنسجة على نطاق واسع ؛ مما يؤدي إلى فشل أعضاء متعددة ( Ragab et al., 2020 ) ، وقد تشمل الأسباب المحتملة لنضوب الخلايا اللمفاوية في سياق عدوى SARS-COV-2: قمع نخاع العظم ، وهجرة الخلايا التائية إلى الأنسجة الملتهبة ، مباشرة ( عن طريق مستقبلات ACE-2 ) وغير مباشرة ( عن طريق تحفيز السايوتوكينات المسببة للالتهابات IL-6 و TNFa أو إنتاج جزيئات أفضية مثل حمض اللاكتيك ؛ مما قد يثبط تكاثر الخلايا اللمفاوية ) ، تدمير الخلايا اللمفاوية ( Tan et al., 2020 ) ، كما ان الخلايا اللمفاوية تعبر عن مستقبل ACE2 وبهذا تكون هدفا مباشرا لعدوى SARS-COV-2 ويمكن ان تحفيز على المزيد من تقليل الخلايا اللمفاوية ( Lin et al., 2020 ).



شكل (1-4) العلاقة الخطية بين العينات للمجموعات الثلاثة الملقحين والمعدل.

### 3-4 توزيع مرضى فايروس كورونا تبعا للجنس Gender distribution

تم تقسيم عينات الدراسة تبعا إلى تأثير الجنس على مجموعتين، هما: مجموعة الذكور ومجموعة الإناث؛ إذ أظهرت النتائج في وقت الدراسة أن معدل الإصابة لدى النساء أعلى من معدل الإصابة لدى الذكور ، مما يشير إلى رجحان الإصابة لدى الإناث بمرض فايروس كورونا-19 .

أظهرت نتائج الجدول (6-4) وجود انخفاضا معنويا ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في مستوى  $CD3, CD4$  و  $CD56$  في الذكور المرضى  $G2, G3$  مقارنة مع  $G1$ ، أي أن نوع الجنس يؤثر في مستوى  $CD3, CD4$  و  $CD56$ . كما بينت نتائج الجدول (6-4) عدم وجود فروق معنوية ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في مستوى  $CD16$  و  $CD19$  في الذكور المرضى  $G2, G3$  مقارنة مع  $G1$ ، أي أن نوع الجنس لا يؤثر في مستوى  $CD16$  و  $CD19$ .

جدول (6-4) قيمة الواسمات السطحية (  $CD3, CD4, CD16, CD56$  و  $CD19$  ) في مجموعات الدراسة الثلاثة الملحقين في الذكور .

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	control	16	53.55	6.38	1.59	.030	6.11
	hematology	16	45.41	10.42	2.61		
	covid-19	16	47.06	9.18	2.29		
CD4	control	16	33.96	6.59	1.65	.000	4.64
	hematology	16	21.03	6.30	1.58		
	covid-19	16	23.42	7.16	1.79		
CD19	control	16	13.59	10.82	2.70	.087	
	hematology	16	10.18	2.02	0.50		
	covid-19	16	8.51	1.79	0.45		
CD16	control	16	10.18	3.10	0.77	.130	
	hematology	16	8.31	2.63	0.66		
	covid-19	16	8.44	2.81	0.70		
CD56	control	16	13.46	2.00	0.50	.003	1.98
	hematology	16	9.73	3.29	0.82		
	covid-19	16	11.48	3.13	0.78		

أظهرت نتائج الجدول (7-4) وجود انخفاضاً معنوية ذات دلالة أحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في مستوى CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 في الإناث المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 ، أي أن نوع الجنس يؤثر في مستوى CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 .

جدول (7-4) قيمة الواسمات السطحية ( CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 ) في مجموعات الدراسة الثلاثة في الإناث .

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	14	63.39	13.69	3.66	.000	8.21
	G2	14	42.74	10.11	2.70		
	G3	14	43.27	8.89	2.38		
CD4	G1	14	40.67	11.46	3.06	.000	6.63
	G2	14	19.04	8.34	2.23		
	G3	14	20.69	6.27	1.68		
CD19	G1	14	15.74	6.42	1.71	.000	3.22
	G2	14	8.34	3.44	0.92		
	G3	14	8.74	1.96	0.52		
CD16	G1	14	11.91	3.31	0.88	.000	2.35
	G2	14	6.64	3.05	0.82		
	G3	14	8.51	3.14	0.84		
CD56	G1	14	13.60	1.85	0.50	.001	2.1
	G2	14	9.63	2.85	0.76		
	G3	14	10.19	3.54	0.95		

إذ تتفق هذه النتائج مع دراسة أجرتها هيئة الأمم المتحدة والإسكوا في العراق ( UN Women&ESCWA, 2021) ، الذين سجلوا بدراستهم أن تزايد الضغوطات الاقتصادية والاجتماعية والسياسية على النساء بشكل خاص ، والفجوات القائمة بين الجنسين ، أدى إلى زيادة الآثار السلبية لهذه الجائحة عليهن حيث كانت النساء أكثر عرضة لمخاطر الإصابة، وفي دراسة لمناطق معينة في العراق لمنظمة اوكسفام بينت أن النساء يواجهن زيادة في عبء العمل المنزلي ومسؤوليات الرعاية ، وزيادة خطر العنف الأسري والعنف القائم على النوع الاجتماعي ، كما يواجهون صعوبات أكبر في الوصول إلى خدمات الرعاية الصحية ، والدعم خاصة في المناطق الريفية ؛ بسبب القيود المفروضة على الحركة والأعراف الاجتماعية التقييدية ، ويفتقرون إلى المعلومات المتعلقة بفيروس كورونا نفسه ؛ وبهذا فهن أكثر عرضة للإصابة (oxfam International, 2020) ، كما بينت دراسة في ألمانيا أن خطر الإصابة بالعدوى بين النساء يكون أكثر شيوعاً في سن العمل منه لدى الرجال ( Dörre & Doblhammer, 2020) ، ومما يجدر الإشارة إليه دور فيتامين D في تقليل خطر الإصابة بالعدوى وتقليل تركيزات الساييتوكينات المحفزة للالتهابات حيث يعاني أكثر النساء من نقص في فيتامين D نتيجة قلة تعرضهم لأشعة الشمس أو نتيجة سوء التغذية الصحية ؛ مما يزيد من مخاطر الإصابة بالفايروس (Basaran et al., 2021). ومن الأسباب التي يعتقد بأن لها دور في رفع الإصابة لدى النساء هي : أن معدل الإصابة بأمراض المناعة الذاتية لدى النساء أكثر منه لدى الرجال ، مما يجعلهن أكثر عرضة لخطر الإصابة بالفايروس (Ngo et al., 2014) ؛ بالإضافة إلى أن الإصابة بسرطان الدم اللمفاوي يكون أعلى لدى النساء والأطفال منه لدى الرجال (Tevfik Dorak & Karpuzoglu, 2012) ، وكذلك الهرمونات الجنسية والحمل وما لها من تأثير على الاستجابة المناعية لدى النساء (Ortona et al., 2019). وهذا لا يتفق مع دراسات أجريت في بعض الدول الغربية ، والتي تظهر فيها الخصائص السريرية ؛ إذ بينت أن القابلية للإصابة بعدوى فايروس كورونا متساوية بين الذكور والاناث ، كما تظهر النتائج السريرية أن الذكور يعانون من شدة وفيات أعلى بفايروس كورونا مقارنة بالنساء (Mukherjee & Pahan, 2021) ، وفي دراسة أخرى تشير إلى أن مرض فايروس كورونا-19 أكثر فتكا للرجال المصابين به من النساء (Gebhard et al., 2020) .

#### 4-4 توزيع مرضى فايروس كورونا على وفق العمر Age distribution

على وفق الدراسة الحالية تم تقسيم المرضى على خمس فئات عمرية ؛ إذ كان الأشخاص جميعهم من الملقحين ، لكون الدراسة قد أجريت في فترة انتشار اللقاح ضد مرض فايروس كورونا-19 ؛ فقد اظهر اللقاح تأثيره في خفض فعالية الفايروس على الاستجابة المناعية للمرضى ، وكذلك خفض شدة الاصابة وانتشار العدوى (Vitiello et al., 2021) .

أظهرت نتائج الجدول (4-8) وجود انخفاضا معنويا ذات دالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (16-25) في عينات المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 بالفئات العمرية المدروسة .

جدول رقم ( 4-8) قيم الواسمات السطحية CD19 و CD3,CD4,CD16,CD56 في الفئات العمرية (16-25).

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	10	58.17	10.16	3.21	.019	8.88
	G2	10	46.26	7.71	2.44		
	G3	10	46.25	12.05	3.81		
CD4	G1	10	36.08	9.52	3.01	.001	7.27
	G2	10	22.11	6.60	2.09		
	G3	10	22.60	8.48	2.68		
CD19	G1	10	18.52	10.82	3.42	.004	5.71
	G2	10	9.32	2.52	0.80		
	G3	10	9.16	1.99	0.63		
CD16	G1	10	13.02	4.41	1.40	.009	3.31
	G2	10	7.61	3.39	1.07		
	G3	10	8.81	3.43	1.08		
CD56	G1	10	15.02	1.19	0.38	.000	2.22
	G2	10	8.70	2.57	0.81		
	G3	10	10.74	3.35	1.06		



أظهرت نتائج الجدول (9-4) وجود انخفاضاً معنوياً ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (26-35) في عينات المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 في الواسمات السطحية CD3,CD4 و CD16؛ إذ يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD3,CD4 و CD16 بالفئات العمرية المدروسة. كما بينت الدراسة عدم وجود فروق معنوية ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (26-35) في عينات المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 في الواسمات السطحية CD19 و CD56؛ إذ لم يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD19 و CD56 بالفئات العمرية المدروسة.

جدول رقم ( 9-4 ) قيم الواسمات السطحية CD19,CD3,CD4,CD16,CD56 في الفئات العمرية (26-35) .

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الأحرف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	6	67.00	1.05	0.43	.000	6.37
	G2	2	49.20	5.80	4.10		
	G3	6	44.63	7.87	3.21		
CD4	G1	6	42.20	9.99	4.08	.004	9.32
	G2	2	24.30	4.67	3.30		
	G3	6	22.48	6.70	2.74		
CD19	G1	6	16.40	7.09	2.89	.061	
	G2	2	10.55	1.63	1.15		
	G3	6	8.93	1.40	0.57		
CD16	G1	6	11.87	1.35	0.55	.019	3.38
	G2	2	9.70	2.83	2.00		
	G3	6	7.70	2.53	1.03		
CD56	G1	6	13.10	0.96	0.39	.175	
	G2	2	13.25	0.49	0.35		
	G3	6	11.38	2.17	0.89		

بينت نتائج الجدول (10-4) وجود انخفاضا معنويا ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (36-45) في عينات المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 في الواسمات السطحية CD4,CD16 و CD56 ؛ إذ يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD4,CD16 و CD56 بالفئات العمرية المدروسة . كما بينت الدراسة عدم وجود فروق معنوية ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (36-45) في عينات المرضى G2,G3 مقارنة مع G1 في الواسمات السطحية CD3 و CD19 ؛ إذ لم يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD3 و CD19 بالفئات العمرية المدروسة.

جدول رقم ( 4-10 ) قيم الواسمات السطحية CD3,CD4,CD16,CD56 و CD19 في الفئات العمرية ( 36-45 ) .

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الأحرف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	8	59.33	15.21	5.38	.074	
	G2	6	44.35	11.09	4.53		
	G3	6	49.05	4.16	1.70		
CD4	G1	8	40.80	9.83	3.48	.000	8.36
	G2	6	20.58	7.54	3.08		
	G3	6	23.43	4.48	1.83		
CD19	G1	8	13.48	8.44	2.98	.280	
	G2	6	9.77	1.88	0.77		
	G3	6	8.92	1.01	0.41		
CD16	G1	8	9.25	1.23	0.44	.021	1.96
	G2	6	6.78	2.47	1.01		
	G3	6	9.93	1.85	0.75		
CD56	G1	8	13.95	1.69	0.60	.007	1.92
	G2	6	10.42	2.05	0.84		
	G3	6	13.15	1.74	0.71		

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (4-11) عدم وجود فروق معنوية ذات دالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية (46-55) في عينات المرضى G2, G3 مقارنة مع G1 ؛ إذ لم يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD19 و CD3, CD4, CD16, CD56 بالفئات العمرية المدروسة .

جدول رقم ( 4-11 ) قيم الواسمات السطحية CD19 و CD3, CD4, CD16, CD56 في الفئات العمرية (46-55) .

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	2	48.70	0.00	0.00	.549	
	G2	5	41.00	13.01	5.82		
	G3	2	36.60	3.39	2.40		
CD4	G1	2	29.30	0.00	0.00	.175	
	G2	5	16.02	9.13	4.08		
	G3	2	16.30	3.39	2.40		
CD19	G1	2	11.00	0.00	0.00	.585	
	G2	5	7.54	5.25	2.35		
	G3	2	6.75	1.63	1.15		
CD16	G1	2	7.80	0.71	0.50	.580	
	G2	5	7.22	2.78	1.24		
	G3	2	5.45	0.78	0.55		
CD56	G1	2	10.90	0.57	0.40	.550	
	G2	5	9.72	4.07	1.82		
	G3	2	6.75	4.31	3.05		

كما بينت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (4-12) عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.05$  في الفئات العمرية الأكثر من 56 في عينات المرضى G2, G3 مقارنة مع G1؛ إذ لم يتأثر مستوى الواسمات السطحية CD19 و CD3, CD4, CD16, CD56 بالفئات العمرية المدروسة.

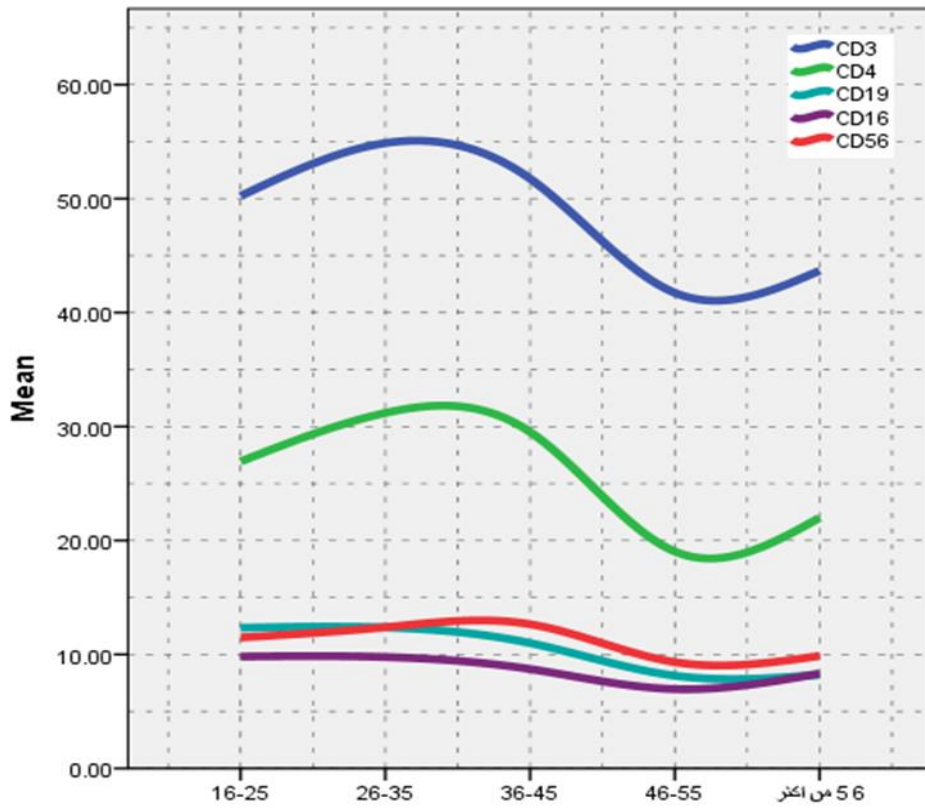
جدول رقم ( 4-12 ) قيم الواسمات السطحية CD19 و CD3, CD4, CD16, CD56 في الفئات العمرية الأكثر من

. 56

المؤشر	العينة	العدد	المعدل	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	قيمة الاحتمالية	lsd
CD3	G1	4	47.15	4.91	2.45	.714	
	G2	7	41.84	12.71	4.80		
	G3	6	43.50	9.15	3.74		
CD4	G1	4	28.45	1.56	0.78	.086	
	G2	7	18.54	7.32	2.77		
	G3	6	21.72	7.35	3.00		
CD19	G1	4	6.10	2.77	1.39	.072	
	G2	7	9.84	2.25	0.85		
	G3	6	7.73	2.43	0.99		
CD16	G1	4	9.63	2.22	1.11	.590	
	G2	7	7.64	3.14	1.19		
	G3	6	8.25	3.32	1.36		
CD56	G1	4	10.90	0.50	0.25	.790	
	G2	7	9.41	3.70	1.40		
	G3	6	9.72	4.23	1.73		

إذ بينت النتائج في الجدول (4-8) أن الفئة العمرية 16-25 سنة هي التي سجلت الانخفاض الأعلى في الواسمات السطحية (CD3,CD4,CD16,CD56 و CD19) من مرضى فيروس كورونا مقارنة مع الفئات العمرية الأخرى ، مما يؤدي إلى ضعف في الاستجابة المناعية لديهم ، تليها الفئة العمرية 26-35 في الجدول (4-9) والفئة العمرية 36-45 في الجدول (4-10) ؛ إذ تظهر الفئتين انخفاضاً أقل من الفئة الأولى مقارنة بمجموعة السيطرة ، وقد يعزى سبب هذا الانخفاض إلى معانات بعض الشباب والمراهقين في فترة الوباء من ازدياد أعراض الاكتئاب ، والقلق ، والأعراض الجسدية ؛ لاسيما بين الإناث ؛ مما يؤثر سلباً على المناعة (Hawes et al., 2021) ؛ بالإضافة إلى تأثير الأمراض الوراثية والمزمنة المصاحبة لدى بعض الشباب ، كما بينت بعض الدراسات أن نمط الحياة والاضطرابات الاقتصادية ، والضغوط الاجتماعية السابقة للوباء لها تأثير أكثر على الشباب والبالغين من حيث التعرض للمخاطر الصحية المرتبطة بفيروس كورونا (Shanahan et al., 2020) ، كما تعتبر السمعة عاملاً خطراً مستقلاً محتملاً على تفشي فيروس كورونا ، ولدخول المستشفى ، والحاجة إلى العناية المركزة خاصة بالبالغين الذين تبلغ أعمارهم (45) عاماً ومادون (Steinberg et al., 2020) ، ويمكن أن يسبب التدخين إختلال وظيفي في إزالة الأغشية المخاطية الهدبية وضعف المناعة الرئوية ؛ مما يؤدي إلى عدوى أكثر شدة في مرضى فيروس كورونا (Clift et al., 2022) ؛ إذ يزيد استخدام التبغ من مخاطر الإصابة بأمراض عديدة بما في ذلك أمراض الجهاز التنفسي (Baker et al., 2022) ، ويرتبط استهلاك الكحول بأمراض متعددة ، وقد يسهم في التعرض للإصابة بعدوى فيروس كورونا-19 ، ويمكن أن يحفز أيضاً تفاقم الأمراض العقلية والعضوية ويؤهب للسلوكيات التي تزيد من خطر الإصابة بالعدوى وشدة المرض (Calina et al., 2021) .

أما الفئات العمرية الأقل انخفاضاً في مستوى الواسمات السطحية (CD3,CD4,CD16,CD56 و CD19) فكانت الفئة العمرية (46-55) في الجدول (4-11) والفئة العمرية الأكثر من 56 في الجدول (4-12) وهذا يتوافق مع دراسة أجريت في البرازيل ؛ والتي بينت ان الاهتمام والعناية المركزة لكبار السن واولية التلقيح لديهم أظهر انخفاضاً واضحاً في شدة الإصابة بالفيروس ، وقلة بحالات الإصابة (Villela et al., 2021) ، كما أظهرت دراسة أخرى انخفاضاً أقل في مستوى الواسمات السطحية وكذلك في شدة الإصابة والأعراض ، لكون هذه الفئات العمرية من الملقحين ، وأكثر كبار العمر كانوا ضمن فترة العلاج والرعاية الصحية في المراكز الخاصة بمرضى فيروس كورونا في المستشفيات الحكومية ؛ مما أظهر استجابة مناعية أفضل لديهم ضد المرض (Moghadas et al., 2021) ، كما أظهرت بعض الدراسات أثر اللقاح ودوره في تقليل شدة الإصابة في مرضى سرطان الدم اللمفاوي والمصابين بالفيروس ؛ بالإضافة إلى تأثيره في تحسين استجابة المناعة لدى مرضى سرطان الدم اللمفاوي (Thakkar et al., 2021)؛ بينما أظهرت الدراسة في المرضى غير الملقحين أن الفئات العمرية الأكبر سناً وخاصة أصحاب الأمراض المزمنة هم الأكثر شدة بالإصابة وانخفاضاً في مستوى الخلايا اللمفاوية وخاصة أصحاب الأمراض المزمنة والخطيرة ، أما الفئات العمرية الأقل سناً تكون أقل شدة وانخفاضاً في مستوى الخلايا اللمفاوية (Löhr et al., 2021)



شكل رقم (2-4) توزيع معدل الواسمات السطحية ( CD19وCD3,CD4,CD16,CD56 ) حسب الفئات العمرية .

# **Chapter Five:**

## **Discussion, Conclusion, and Recommendation**

## الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendation

### الاستنتاجات:

- 1- ومن الممكن أن يكون للتنميط المظهري المناعي باستعمال الواسمات السطحية CD3, CD4, CD16, CD56 وCD19 بتقنية الجريان الخلوي للتدفق قيمة تنبؤية جيدة لحالة المرضى المصابين بفيروس كورونا ، ومرضى سرطان الدم اللمفاوي المصابين بفيروس كورونا.
- 2- أن مرض فايروس كورونا-19 يسبب تغيرات ملحوظة في مستويات الواسمات السطحية CD3, CD4, CD16, CD56 وCD19 في الدم المحيطي ؛ إذ لوحظ انخفاض في معدلات الواسمات السطحية في مرضى السرطان المصابين بفيروس كورونا أكثر من المرضى المصابين بفيروس كورونا لا يعانون من السرطان.
- 3- على الرغم من تأثير فايروس كورونا في خفض مستوى الواسمات السطحية، من الممكن أن يكون هناك دور فعال للقاح في الحد من انتشار الإصابة وتقليل شدتها، خاصة في كبار السن وأصحاب الأمراض المزمنة والخطيرة، ومنهم مرضى سرطان الدم اللمفاوي.
- 4- أوضحت الدراسة أن مستوى الواسمات السطحية المدروسة تأثرت بنوع الجنس، حيث لوحظ زيادة معدل الإصابة في الإناث عن الذكور.
- 5- وأيضا تأثرت مستويات الواسمات السطحية بالعمر من بين الفئات العمرية المدروسة ؛ إذ أظهرت النتائج انخفاضا أعلى في مستويات الواسمات السطحية في الفئة العمرية 16-25 سنة.



## التوصيات:

- 1- إجراء العديد من البحوث باستخدام تقنية الجريان الخلوي بالتدفق لغرض قياس مستويات الواسمات السطحية في مرضى فايروس كورونا.
- 2- دراسة أنواع أخرى من الواسمات السطحية وعلاقتها بمرضى سرطان الدم لدى المصابين بفايروس كورونا.
- 3- دراسة كفاءة الاستجابة المناعية ودور الواسمات السطحية في تشخيص الأمراض.
- 4- دراسة علاقة أنواع أخرى من سرطان الدم مع مرض فايروس كورونا-19.
- 5- القيام بمزيد من الدراسات عن دور اللقاح وتأثيره في خفض شدة الإصابات بفايروس كورونا وتقليل انتشاره.
- 6- إجراء المزيد من الأبحاث عن تأثير مرض فايروس كورونا-19 في الأشخاص المصابين بالأمراض المزمنة الأخرى مثل: مرض الربو، السكري، وأمراض القلب، والكلى.

# REFERENCES

1. Amor, S., Fernández Blanco, L., & Baker, D. (2020). Innate immunity during SARS-CoV-2: evasion strategies and activation trigger hypoxia and vascular damage. *Clinical and Experimental Immunology*, 202(2).  
<https://doi.org/10.1111/cei.13523>
2. Arafat, O., Khalil, K., & Khalil, S. (2020). SARS-CoV-2: taxonomy, origin and constitution. 99.(5)
3. Baker, J., Krishnan, N., Abroms, L. C., & Berg, C. J. (2022). The Impact of Tobacco Use on COVID-19 Outcomes: A Systematic Review. *Journal of Smoking Cessation*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5474397>
4. Basaran, N., Adas, M., Gokden, Y., Turgut, N., Yildirmak, T., & Guntas, G. (2021). The relationship between vitamin D and the severity of COVID-19. *Bratislava Medical Journal*, 122(3). [https://doi.org/10.4149/BLL\\_2021\\_034](https://doi.org/10.4149/BLL_2021_034)
5. Beyerstedt, S., Casaro, E. B., & Rangel, É. B. (2021). COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 40(5), 905–919. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6>
6. Bhatt, T., Kumar, V., Pande, S., Malik, R., Khamparia, A., & Gupta, D. (2021). A Review on COVID-19. In *Studies in Computational Intelligence* (Vol. 924).  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-60188-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-60188-1_2)
7. Bhatt, T., Kumar, V., Pande, S., Malik, R., Khamparia, A., & Gupta, D. (2021). A Review on COVID-19. In *Studies in Computational Intelligence* (Vol. 924).  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-60188-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-60188-1_2)
8. Bi, J. (2022). NK cell dysfunction in patients with COVID-19. *Cellular and Molecular Immunology*, 19(2), 127–129. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00825-2>
9. Billon-Denis, E., & Tournier, J.-N. (2020). COVID-19 et vaccination : une dérégulation globale. *Médecine/Sciences*, 36(11).  
<https://doi.org/10.1051/medsci/2020203>

10. Blixt, L., Bogdanovic, G., Buggert, M., Gao, Y., Hober, S., Healy, K., Johansson, H., Kjellander, C., Mravinacova, S., Muschiol, S., Nilsson, P., Palma, M., Pin, E., Smith, C. I. E., Stromberg, O., Sällberg Chen, M., Zain, R., Hansson, L., & Österborg, A. (2021). Covid-19 in patients with chronic lymphocytic leukemia: clinical outcome and B- and T-cell immunity during 13 months in consecutive patients. *Leukemia*, June, 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01424-w>
11. Bobcakova, A., Petriskova, J., Vysehradsky, R., Kocan, I., Kapustova, L., Barnova, M., Diamant, Z., & Jesenak, M. (2021). Immune Profile in Patients With COVID-19: Lymphocytes Exhaustion Markers in Relationship to Clinical Outcome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(April), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.646688>
12. Boechat, J. L., Chora, I., Morais, A., & Delgado, L. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 .
13. Bonuomo, V., Ferrarini, I., Dell’Eva, M., Sbisà, E., Krampera, M., & Visco, C. (2021). COVID-19 (SARS-CoV-2 infection) in lymphoma patients: A review. *World Journal of Virology*, 10(6), 312–325. <https://doi.org/10.5501/wjv.v10.i6.312>
14. Bonuomo, V., Ferrarini, I., Dell’Eva, M., Sbisà, E., Krampera, M., & Visco, C. (2021). COVID-19 (SARS-CoV-2 infection) in lymphoma patients: A review. *World Journal of Virology*, 10(6), 312–325. <https://doi.org/10.5501/wjv.v10.i6.312>
15. Brown, M., & Wittwer, C. (2000). Flow cytometry: Principles and clinical applications in hematology. *Clinical Chemistry*, 46(8 II). <https://doi.org/10.1093/clinchem/46.8.1221>
16. Büscher, M. (2019). Flow Cytometry Instrumentation – An Overview. *Current Protocols in Cytometry*, 87(1). <https://doi.org/10.1002/cpcy.52>
17. Buyuktas, D., Acar, K., Sucak, G., Toptas, T., Kapucu, I., Bekoz, H., Erdem, S., Nalcaci, M., Atalay, F., Akay, M. O., & Ferhanoglu, B. (2021). COVID-19 infection in patients with acute leukemia; Istanbul experience. *American Journal*

of Blood Research, 11(4), 427–437.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34540352><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8446830>

18. Calina, D., Hartung, T., Mardare, I., Mitroi, M., Poulas, K., Tsatsakis, A., Rogoveanu, I., & Docea, A. O. (2021). COVID-19 pandemic and alcohol consumption: Impacts and interconnections. *Toxicology Reports*, 8(March), 529–535. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.005>
19. Chaimayo, C., Kaewnaphan, B., Tanlieng, N., Athipanyasilp, N., Sirijatuphat, R., Chayakulkeeree, M., Angkasekwinai, N., Sutthent, R., Puangpunngam, N., Tharmviboonsri, T., Pongraweevan, O., Chuthapisith, S., Sirivatanauksorn, Y., Kantakamalakul, W., & Horthongkham, N. (2020). Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. *Virology Journal*, 17(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01452-5>
20. Chan, S. S. W., Christopher, D., Tan, G. B., Chong, V. C. L., Fan, B. E., Lin, C. Y., & Ong, K. H. (2020). Peripheral lymphocyte subset alterations in COVID-19 patients. *International Journal of Laboratory Hematology*, 42(5), e199–e203. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13276>
21. Chetty, R., & Gatter, K. (1994). CD3: Structure, function, and role of immunostaining in clinical practice. In *The Journal of Pathology* (Vol. 173, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/path.1711730404>
22. Chu, H., Zhou, J., Wong, B. H. Y., Li, C., Chan, J. F. W., Cheng, Z. S., Yang, D., Wang, D., Lee, A. C. Y., Li, C., Yeung, M. L., Cai, J. P., Chan, I. H. Y., Ho, W. K., To, K. K. W., Zheng, B. J., Yao, Y., Qin, C., & Yuen, K. Y. (2016). Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Efficiently Infects Human Primary T Lymphocytes and Activates the Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Pathways. *Journal of Infectious Diseases*, 213(6). <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv380>
23. Chu, H., Zhou, J., Wong, B. H. Y., Li, C., Chan, J. F. W., Cheng, Z. S., Yang, D., Wang, D., Lee, A. C. Y., Li, C., Yeung, M. L., Cai, J. P., Chan, I. H. Y., Ho, W. K., To, K. K. W., Zheng, B. J., Yao, Y., Qin, C., & Yuen, K. Y. (2016). Middle

- East Respiratory Syndrome Coronavirus Efficiently Infects Human Primary T Lymphocytes and Activates the Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Pathways. *Journal of Infectious Diseases*, 213(6). <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv380>
24. Clift, A. K., von Ende, A., Tan, P. S., Sallis, H. M., Lindson, N., Coupland, C. A. C., Munafò, M. R., Aveyard, P., Hippisley-Cox, J., & Hopewell, J. C. (2022). Smoking and COVID-19 outcomes: an observational and Mendelian randomisation study using the UK Biobank cohort. *Thorax*, 77(1), 65–73. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2021-217080>
25. Cooper, M. A., Fehniger, T. A., & Caligiuri, M. A. (2001). The biology of human natural killer-cell subsets. In *Trends in Immunology* (Vol. 22, Issue 11). [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)02060-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)02060-9)
26. Daly, J. L., Simonetti, B., Klein, K., Chen, K. E., Williamson, M. K., Antón-Plágaro, C., Shoemark, D. K., Simón-Gracia, L., Bauer, M., Hollandi, R., Greber, U. F., Horvath, P., Sessions, R. B., Helenius, A., Hiscox, J. A., Teesalu, T., Matthews, D. A., Davidson, A. D., Collins, B. M., ... Yamauchi, Y. (2020). Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science*, 370(6518), 861–865. <https://doi.org/10.1126/science.abd3072>
27. Damiot, A., Pinto, A. J., Turner, J. E., & Gualano, B. (2020). Immunological Implications of Physical Inactivity among Older Adults during the COVID-19 Pandemic. *Gerontology*, 66(5), 431–438. <https://doi.org/10.1159/000509216>
28. Dávila-Collado, R., Jarquín-Durán, O., Solís-Vallejo, A., Nguyen, M. A., & Espinoza, J. L. (2021). Elevated monocyte to lymphocyte ratio and increased mortality among patients with chronic kidney disease hospitalized for COVID-19. *Journal of Personalized Medicine*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/jpm11030224>
29. Delshad, M., Tavakolinia, N., Pourbagheri-Sigaroodi, A., Safaroghli-Azar, A., Bagheri, N., & Bashash, D. (2021). The contributory role of lymphocyte subsets, pathophysiology of lymphopenia and its implication as prognostic and therapeutic opportunity in COVID-19. *International Immunopharmacology*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107586>

30. Desdiani, D., Putri, S. A., & Fadilah, F. (2021). COVID-19 detection in limited hospital facilities: The role of monocytes. *European Journal of Molecular and Clinical Medicine*, 8(2), 1801–1812.  
[https://ejmcm.com/article\\_7989\\_33f675f28a6b0914047668c8109baa10.pdf%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emexb&NEWS=N&AN=2011094456](https://ejmcm.com/article_7989_33f675f28a6b0914047668c8109baa10.pdf%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emexb&NEWS=N&AN=2011094456)
31. Diniz, L. F. A., Matsuba, B. K., Souza, P. S. S., Lopes, B. R. P., Kubo, L. H., Oliveira, J., & Toledo, K. A. (2021). Effects of neutrophil extracellular traps during human respiratory syncytial virus infection in vitro. *Brazilian Journal of Biology*, 83. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.248717>
32. Dolhnikoff, M., Duarte-Neto, A. N., de Almeida Monteiro, R. A., da Silva, L. F. F., de Oliveira, E. P., Saldiva, P. H. N., Mauad, T., & Negri, E. M. (2020). Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(6), 1517–1519.  
<https://doi.org/10.1111/jth.14844>
33. Dong, D., Zheng, L., Lin, J., Zhang, B., Zhu, Y., Li, N., Xie, S., Wang, Y., Gao, N., & Huang, Z. (2019). Structural basis of assembly of the human T cell receptor–CD3 complex. *Nature*, 573(7775), 546–552.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1537-0>
34. Dörre, A., & Doblhammer, G. (2020). The Effect of Gender on Covid-19 Infections and Mortality in Germany: Insights From Age- and Sex-Specific Modelling of Contact Rates, Infections, and Deaths. *MedRxiv*.
35. Eissens, D. N., Spanholtz, J., van der Meer, A., van Cranenbroek, B., Dolstra, H., Kwekkeboom, J., Preijers, F. W. M. B., & Joosten, I. (2012). Defining early human NK cell developmental stages in primary and secondary lymphoid tissues. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030930>
36. Fan, B. E., Chong, V. C. L., Chan, S. S. W., Lim, G. H., Lim, K. G. E., Tan, G. B., Mucheli, S. S., Kuperan, P., & Ong, K. H. (2020). Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. In *American Journal of Hematology* (Vol. 95, Issue 6). <https://doi.org/10.1002/ajh.25774>

37. García Zueco, J. C., & Delgado, P. (2021). Epidemiology of non-Hodgkin's lymphomas. *Sangre*, 39(4), 267–275. <https://doi.org/10.3390/medsci9010005>
38. García-González, P., Tempio, F., Fuentes, C., Merino, C., Vargas, L., Simon, V., Ramirez-Pereira, M., Rojas, V., Tobar, E., Landskron, G., Araya, J. P., Navarrete, M., Bastias, C., Tordecilla, R., Varas, M. A., Maturana, P., Marcoleta, A. E., Allende, M. L., Naves, R., ... Osorio, F. (2021). Dysregulated Immune Responses in COVID-19 Patients Correlating With Disease Severity and Invasive Oxygen Requirements. *Frontiers in Immunology*, 12(October), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.769059>
39. Gebhard, C., Regitz-Zagrosek, V., Neuhauser, H. K., Morgan, R., & Klein, S. L. (2020). Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. In *Biology of Sex Differences* (Vol. 11, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13293-020-00304-9>
40. Gonzalez-Rodriguez, A. P., Contesti, J., Huergo-Zapico, L., Lopez-Soto, A., Fernández-Guizn, A., Acebes-Huerta, A., Gonzalez-Huerta, A. J., Gonzalez, E., Fernandez-Alvarez, C., & Gonzalez, S. (2010). Prognostic significance of CD8 and CD4 T cells in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia and Lymphoma*, 51(10). <https://doi.org/10.3109/10428194.2010.503820>
41. Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
42. Gudowska-Sawczuk, M., & Mroczko, B. (2021). The role of neuropilin-1 (Nrp-1) in sars-cov-2 infection: Review. *Journal of Clinical Medicine*, 10(13), 1–8. <https://doi.org/10.3390/jcm10132772>
43. Handayani, D., Hadi, D. R., Isbaniah, F., Burhan, E., & Agustin, H. (2020). Corona Virus Disease 2019. *Jurnal Respirologi Indonesia*, 40(2). <https://doi.org/10.36497/jri.v40i2.101>



44. Hawes, M. T., Szenczy, A. K., Klein, D. N., Hajcak, G., & Nelson, B. D. (2021). Increases in Depression and Anxiety Symptoms in Adolescents and Young Adults during the COVID-19 Pandemic. *Psychological Medicine*.  
<https://doi.org/10.1017/S0033291720005358>
45. Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141–154.  
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
46. hu, F. C., Li, Y. H., Guan, X. H., Hou, L. H., Wang, W. J., Li, J. X., Wu, S. P., Wang, B. Sen, Wang, Z., Wang, L., Jia, S. Y., Jiang, H. D., Wang, L., Jiang, T., Hu, Y., Gou, J. B., Xu, S. B., Xu, J. J., Wang, X. W., ... Chen, W. (2020). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*, 395(10240). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
47. Huang, I., & Pranata, R. (2020). Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): Systematic review and meta-analysis. *Journal of Intensive Care*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00453-4>
48. Iliadi, V., Konstantinidou, I., Aftzoglou, K., Iliadis, S., Konstantinidis, T. G., & Tsigalou, C. (2021). The emerging role of neutrophils in the pathogenesis of thrombosis in covid-19. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/ijms22105368>
49. International, O. (2020). Gender analysis of the covid-19 pandemic in iraq. OXFAM GB. [www.oxfam.org](http://www.oxfam.org)
50. Jain, A., Nayak, L., Kulkarni, U. P., Mehra, N., Yanamandra, U., Kayal, S., Damodar, S., M John, J., Singh, S., Mehta, P., Munot, P., Selvarajan, S., Radhakrishnan, V., Kapoor, R., Dubashi, B., Ram S, B., Jain, H., PK, J., Lakshmanan, J., ... Malhotra, P. (2021). Covid-19 Infection in Hematological Malignancies: Registry Data from India. *Blood*, 138(Supplement 1).  
<https://doi.org/10.1182/blood-2021-149100>

51. Jiang, A.-P., Jiang, J.-F., Guo, M.-G., Jin, Y.-M., Li, Y.-Y., & Wang, J.-H. (2015). Human Blood-Circulating Basophils Capture HIV-1 and Mediate Viral trans -Infection of CD4 + T Cells . *Journal of Virology*, 89(15).  
<https://doi.org/10.1128/jvi.01021-15>
52. Just, W. (2021). How dangerous is COVID-19? And what do the numbers really mean? In *COVID-19 Unmasked*. [https://doi.org/10.1142/9789811233609\\_0003](https://doi.org/10.1142/9789811233609_0003)
53. Kalicińska, E., Szymczak, D., Andrasiak, I., Bogucka-Fedorczuk, A., Zińczuk, A., Szymański, W., Biernat, M., Rymko, M., Semeńczuk, G., Jabłonowska, P., Rybka, J., Simon, K., & Wróbel, T. (2021). Lymphocyte subsets in haematological patients with COVID-19: Multicentre prospective study. *Translational Oncology*, 14(1). <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100943>
54. Kalicińska, E., Szymczak, D., Andrasiak, I., Bogucka-Fedorczuk, A., Zińczuk, A., Szymański, W., Biernat, M., Rymko, M., Semeńczuk, G., Jabłonowska, P., Rybka, J., Simon, K., & Wróbel, T. (2021). Lymphocyte subsets in haematological patients with COVID-19: Multicentre prospective study. *Translational Oncology*, 14(1). <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100943>
55. Khoo, S. (2020). COVID-19 Pandemic Ignorance and the ‘Worlds’ of Development. In *COVID-19 in the Global South*.  
<https://doi.org/10.2307/j.ctv18gfz7c.8>
56. Kumar, B. V., Connors, T. J., & Farber, D. L. (2018). Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity*, 48(2), 202–213. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>
57. Kumar, D., Malviya, R., & Sharma, P. K. (2020). Corona Virus: A Review of COVID-19 History and Origin. *Eurasian Journal of Medicine and Oncology*, 4.(1)
58. LeBien, T. W., & Tedder, T. F. (2008). B lymphocytes: How they develop and function. *Blood*, 112(5), 1570–1580. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-078071>

59. Lewis, S. M., Williams, A., & Eisenbarth, S. C. (2019). Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*, 4(33), 1–3.  
<https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6085>
60. Lin, L., Lu, L., Cao, W., & Li, T. (2020). Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. In *Emerging Microbes and Infections* (Vol. 9, Issue 1).  
<https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1746199>
61. Liu, C., Dun, Y., Liu, P., You, B., Shu, K., Luo, H., Ripley-Gonzalez, J. W., Liu, S., Liu, J., & Li, B. (2020). Associations of medications used during hospitalization and immunological changes in patients with COVID-19 during 3-month follow-up. *International Immunopharmacology*, Hirawat, R., Saifi, M. A., & Godugu, C. (2021). Targeting inflammatory cytokine storm to fight against COVID-19 associated severe complications. In *Life Sciences* (Vol. 267).  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118923>
62. Löhr, P., Schiele, S., Arndt, T. T., Grützner, S., Claus, R., Römmele, C., Müller, G., Schmid, C., Dennehy, K. M., & Rank, A. (2021). Impact of age and gender on lymphocyte subset counts in patients with COVID-19. *Cytometry Part A*, 2(March), 1–9. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24470>
63. Luckheeram, R. V., Zhou, R., Verma, A. D., & Xia, B. (2012). CD4 +T cells: Differentiation and functions. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012.  
<https://doi.org/10.1155/2012/925135>
64. Luczynski, W., Stasiak-Barmuta, A., & Krawczuk-Rybak, M. (2004). Immunologic Monitoring of Maintenance Therapy for Acute Lymphoblastic Leukaemia in Children - Preliminary Report. *Pediatric Blood and Cancer*, 42(5).  
<https://doi.org/10.1002/pbc.20018>
65. MCKINNON, K. M. (2019). Flow cytometry: an overview. *Cell Vision : The Journal of Analytical Morphology*, 5(1), 56–61. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0623-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0623-0_1)

66. MCKINNON, K. M. (2019). Flow cytometry: an overview. *Cell Vision : The Journal of Analytical Morphology*, 5(1), 56–61. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0623-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0623-0_1)
67. Miranda-Filho, A., Piñeros, M., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Monnereau, A., & Bray, F. (2018). Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *The Lancet Haematology*, 5(1). [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(17\)30232-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(17)30232-6)
68. Misha, R. (2014). Introduction to Flow Cytometry Introduction to Flow Cytometry. In *Methods (San Diego, Calif.)* (Vol. 21, Issue 3)
69. Moghadas, S. M., Vilches, T. N., Zhang, K., Wells, C. R., Shoukat, A., Singer, B. H., Meyers, L. A., Neuzil, K. M., Langley, J. M., Fitzpatrick, M. C., & Galvani, A. P. (2021). The Impact of Vaccination on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreaks in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 73(12), 2257–2264. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab079>
70. Momotow, J., Borchmann, S., Eichenauer, D. A., Engert, A., & Sasse, S. (2021). Hodgkin lymphoma—review on pathogenesis, diagnosis, current and future treatment approaches for adult patients. *Journal of Clinical Medicine*, 10(5), 1–17. <https://doi.org/10.3390/jcm10051125>
71. Mukherjee, S., & Pahan, K. (2021). Is COVID-19 Gender-sensitive? In *Journal of Neuroimmune Pharmacology* (Vol. 16, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09974-z>
72. Murdaca, G., Di Gioacchino, M., Greco, M., Borro, M., Paladin, F., Petrarca, C., & Gangemi, S. (2021). Basophils and mast cells in COVID-19 pathogenesis. In *Cells* (Vol. 10, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/cells10102754>
73. Ngo, S. T., Steyn, F. J., & McCombe, P. A. (2014). Gender differences in autoimmune disease. In *Frontiers in Neuroendocrinology* (Vol. 35, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.04.004>
74. Ni, W., Yang, X., Yang, D., Bao, J., Li, R., Xiao, Y., Hou, C., Wang, H., Liu, J., Yang, D., Xu, Y., Cao, Z., & Gao, Z. (2020). Role of angiotensin-converting

- enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Critical Care*, 24(1), 1–10.  
<https://doi.org/10.1186/s13054-020-03120-0>
75. Ni, W., Yang, X., Yang, D., Bao, J., Li, R., Xiao, Y., Hou, C., Wang, H., Liu, J., Yang, D., Xu, Y., Cao, Z., & Gao, Z. (2020). Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Critical Care*, 24(1), 1–10.  
<https://doi.org/10.1186/s13054-020-03120-0>
76. Ortona, E., Pierdominici, M., & Rider, V. (2019). Editorial: Sex hormones and gender differences in immune responses. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Issue MAY). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01076>
77. Pascarella, G., Strumia, A., Piliago, C., Bruno, F., Del Buono, R., Costa, F., Scarlata, S., & Agrò, F. E. (2020). COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 288, Issue 2, pp. 192–206). <https://doi.org/10.1111/joim.13091>
78. Pasin, F., Calveri, M. M., Pizzarelli, G., Calabrese, A., Andreoli, M., Bongiovanni, I., Cattaneo, C., & Rignanese, G. (2020). Oncolytic effect of SARS-CoV2 in a patient with s lymphoma. *Acta Biomedica*, 91(3), 1–3.  
<https://doi.org/10.23750/abm.v91i3.10141>
79. Picot, J., Guerin, C. L., Le Van Kim, C., & Boulanger, C. M. (2012). Flow cytometry: Retrospective, fundamentals and recent instrumentation. In *Cytotechnology* (Vol. 64, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s10616-011-9415-0>
80. Practice, C., & V, G. L.-. (2021). Clinical Practice Guideline LYHE-002 V16
81. Ragab, D., Salah Eldin, H., Taeimah, M., Khattab, R., & Salem, R. (2020). The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. *Frontiers in Immunology*, 11(June), 1–4. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01446>
82. Rodrigues, R., & de Oliveira, S. C. (2021). The impact of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression levels in patients with comorbidities on COVID-19 severity: A comprehensive review. *Microorganisms*, 9(8).  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9081692>

- 83.Sarma, A., & Patten, P. E. (2021). Chronic lymphocytic leukaemia. In *Medicine (United Kingdom)* (Vol. 49, Issue 5).  
<https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2021.02.006>
- 84.Saxena, S. K. (2020). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Therapeutics. In *A & A Practice* (Vol. 1, Issue 6).
- 85.Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. In *Cell* (Vol. 184, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.007>
- 86.Shanahan, L., Steinhoff, A., Bechtiger, L., Murray, A. L., Nivette, A., Hepp, U., Ribeaud, D., & Eisner, M. (2020). Emotional Distress in Young Adults during the COVID-19 Pandemic: Evidence of Risk and Resilience from a Longitudinal Cohort Study. *Psychological Medicine*.  
<https://doi.org/10.1017/S003329172000241X>
- 87.Simon, H. U., Yousefi, S., Germic, N., Arnold, I. C., Haczku, A., Karaulov, A. V., Simon, D., & Rosenberg, H. F. (2020). The Cellular Functions of Eosinophils: Collegium Internationale Allergologicum (CIA) Update 2020. In *International Archives of Allergy and Immunology* (Vol. 181, Issue 1).  
<https://doi.org/10.1159/000504847>
- 88.Singh, H., Jakhar, R., & Sehrawat, N. (2020). Designing spike protein (S-Protein) based multi-epitope peptide vaccine against SARS COVID-19 by immunoinformatics. *Heliyon*, 6(11).  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05528>
- 89.Skaria, T., Burgener, J., Bachli, E., & Schoedon, G. (2016). IL-4 causes hyperpermeability of vascular endothelial cells through Wnt5A signaling. *PLoS ONE*, 11(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156002>
- 90.Sosa-Hernández, V. A., Torres-Ruíz, J., Cervantes-Díaz, R., Romero-Ramírez, S., Páez-Franco, J. C., Meza-Sánchez, D. E., Juárez-Vega, G., Pérez-Fragoso, A., Ortiz-Navarrete, V., Ponce-de-León, A., Llorente, L., Berrón-Ruiz, L., Mejía-Domínguez, N. R., Gómez-Martín, D., & Maravillas-Montero, J. L. (2020). B Cell Subsets as Severity-Associated Signatures in COVID-19 Patients. *Frontiers*

in *Immunology*, 11(December), 1–12.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.611004>

91. Sosa-Hernández, V. A., Torres-Ruíz, J., Cervantes-Díaz, R., Romero-Ramírez, S., Páez-Franco, J. C., Meza-Sánchez, D. E., Juárez-Vega, G., Pérez-Fragoso, A., Ortiz-Navarrete, V., Ponce-de-León, A., Llorente, L., Berrón-Ruiz, L., Mejía-Domínguez, N. R., Gómez-Martín, D., & Maravillas-Montero, J. L. (2020). B Cell Subsets as Severity-Associated Signatures in COVID-19 Patients. *Frontiers in Immunology*, 11(December), 1–12.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.611004>

92. Steinberg, E., Wright, E., & Kushner, B. (2020). In young adults with COVID-19, obesity is associated with adverse outcomes. *Western Journal of Emergency Medicine*, 21(4), 752–755. <https://doi.org/10.5811/westjem.2020.5.47972>

93. Subramanian, A. K., Nivethigaa, B., & Narayanan, V. (2021). The corona chronicle-from history to hitherto-A perspective. *International Journal of Dentistry and Oral Science*, 8(1). <https://doi.org/10.19070/2377-8075-21000273>

94. Swelum, A. A., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., El-Saadony, M. T., Elsify, A., Abdo, M., Taha, A. E., Abdel-Moneim, A. M. E., Al-Gabri, N. A., Almaiman, A. A., Saleh Al-wajeeh, A., Tufarelli, V., Staffa, V. N., & Abd El-Hack, M. E. (2020). COVID-19 in Human, Animal, and Environment: A Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(September), 1–13.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00578>

95. Tan, L., Wang, Q., Zhang, D., Ding, J., Huang, Q., Tang, Y. Q., Wang, Q., & Miao, H. (2020). Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 16–18. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4>

96. Terwilliger, T., & Abdul-Hay, M. (2017). Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer Journal*, 7(6), e577.

<https://doi.org/10.1038/bcj.2017.53>

97. Tevfik Dorak, M., & Karpuzoglu, E. (2012). Gender differences in cancer susceptibility: An inadequately addressed issue. *Frontiers in Genetics*, 3(NOV), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00268>
98. Thakkar, A., Gonzalez-Lugo, J. D., Goradia, N., Gali, R., Shapiro, L. C., Pradhan, K., Rahman, S., Kim, S. Y., Ko, B., Sica, R. A., Kornblum, N., Bachier-Rodriguez, L., McCort, M., Goel, S., Perez-Soler, R., Packer, S., Sparano, J., Gartrell, B., Makower, D., ... Halmos, B. (2021). Seroconversion rates following COVID-19 vaccination among patients with cancer. *Cancer Cell*, 39(8). <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.06.002>
99. Ugwu, N., & Nwannadi, I. (2020). Haematological Malignancies in Nigeria: Challenges in Diagnosis and Management – A Systematic Review. *Journal of BioMedical Research and Clinical Practice*. <https://doi.org/10.46912/jbrcp.168>
100. UN Women, E. (2021). policies responding to COVID-19 on gender equality in Iraq. UN Woman Iraq. <https://publication.unescwa.org/projects/icwi/index.html>
101. Van Acker, H. H., Capsomidis, A., Smits, E. L., & Van Tendeloo, V. F. (2017). CD56 in the immune system: More than a marker for cytotoxicity? *Frontiers in Immunology*, 8(JUL), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00892>
102. Villela, D. A. M., Xavier, D. R., Saldanha, R., Barcellos, C., Freitas, C. M. De, & Guimar, R. (2021). increasing impact of covid-19 on young adults: evidence from hospitalisations in brazil. *Elsevier*, January, 297–300.
103. Vitiello, A., Ferrara, F., Troiano, V., & La Porta, R. (2021). COVID-19 vaccines and decreased s10787-021-00847-2 transmission of SARS-CoV-2. *Inflammopharmacology*, 29(5), 1357–1360. <https://doi.org/10.1007/>
104. Wan, S., Yi, Q., Fan, S., Lv, J., Zhang, X., Guo, L., Lang, C., Xiao, Q., Xiao, K., Yi, Z., Qiang, M., Xiang, J., Zhang, B., Chen, Y., & Gao, C. (2020). Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *British Journal of Haematology*, 189(3), 428–437. <https://doi.org/10.1111/bjh.16659>



105. Wang, F., Nie, J., Wang, H., Zhao, Q., Xiong, Y., Deng, L., Song, S., Ma, Z., Mo, P., & Zhang, Y. (2020). Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in covid-19 pneumonia. *Journal of Infectious Diseases*, 221(11), 1762–1769. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAA150>
106. Wang, F., Nie, J., Wang, H., Zhao, Q., Xiong, Y., Deng, L., Song, S., Ma, Z., Mo, P., & Zhang, Y. (2020). Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in covid-19 pneumonia. *Journal of Infectious Diseases*, 221(11), 1762–1769. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAA150>
107. Wang, K., Wei, G., & Liu, D. (2012). CD19: a biomarker for B cell development, lymphoma diagnosis and therapy. *Experimental Hematology & Oncology*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2162-3619-1-36>
108. Wang, Q. Q., Berger, N. A., & Xu, R. (2021). When hematologic malignancies meet COVID-19 in the United States: Infections, death and disparities. *Blood Reviews*, 47(November 2020), 100775. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100775>
109. Yan, B., Yang, J., Xie, Y., & Tang, X. (2021). Relationship between blood eosinophil levels and COVID-19 mortality. *World Allergy Organization Journal*, 14(3), 100521. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100521>
110. Yang, G., Feng, F., Li, X., Zhang, T., Li, X., & Li, B. (2021). Changes of lymphocyte subsets in patients with COVID-19 and clinical significance: a case-control observational study. *Journal of Bio-X Research*, 4(1), 36–39. <https://doi.org/10.1097/jbr.0000000000000089>
111. Yang, H., Parkhouse, R. M. E., & Wileman, T. (2005). Monoclonal antibodies that identify the CD3 molecules expressed specifically at the surface of porcine  $\gamma\delta$ -T cells. *Immunology*, 115(2), 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02137.x>
112. Yuan, X., Huang, W., Ye, B., Chen, C., Huang, R., Wu, F., Wei, Q., Zhang, W., & Hu, J. (2020). Changes of hematological and immunological parameters in COVID-19 patients. *International Journal of Hematology*, 112(4), 553–559. <https://doi.org/10.1007/s12185-020-02930-w>

113. Zhou, B., Thao, T. T. N., Hoffmann, D., Taddeo, A., Ebert, N., Labrousseau, F., Pohlmann, A., King, J., Steiner, S., Kelly, J. N., Portmann, J., Halwe, N. J., Ulrich, L., Trüeb, B. S., Fan, X., Hoffmann, B., Wang, L., Thomann, L., Lin, X., ... Beer, M. (2021). SARS-CoV-2 spike D614G change enhances replication and transmission. *Nature*, 592(7852), 122–127. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03361-1>
114. Zola, H., Swart, B., Nicholson, I., Aasted, B., Bensussan, A., Boumsell, L., Buckley, C., Clark, G., Drbal, K., Engel, P., Hart, D., Horejsí, V., Isacke, C., Macardle, P., Malavasi, F., Mason, D., Olive, D., Saalmueller, A., Schlossman, S. F., ... Warren, H. (2005). CD molecules 2005: Human cell differentiation molecules. *Blood*, 106(9), 3123–3126. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1338>

# Appendices

ملحق رقم 1  
قائمة بيانات المرضى

الاسم: .....

العمر: .....

الجنس: .....

الإقامة: .....

ملقح / غير ملقح: .....

(الحالة الطبية) مصاب بسرطان الدم / غير مصاب بسرطان الدم: .....

الملاحظات:

## Summary :

This study aimed to compare the levels of surface markers CD3, CD4, CD16, CD56 and CD19 in lymphoid leukemia patients infected with covid-19 , covid-19 patients without lymphocytic leukemia and a healthy group.

detection was made using flow cytometry technique on the levels of subgroups of lymphocytes in the peripheral blood of (90) males and females in the age group of 16-60 years. The samples were collected from vaccinated persons, and they consisted of 60 samples Patients infected with the virus, including 30 people infected with the Corona virus without lymphocytic leukemia (G3), and 30 people with lymphocytic leukemia patients infected with the disease Corona-19 G2 virus), in addition to (30) people from the healthy group (G1).

All blood samples and available data were collected from patients infected with corona virus-19, from Al-Zahraa center for expatriates, the center for Oncology and Hematology in the Imam Al-Hussein (peace be upon him) Medical City in the Holy Karbala Governorate, the Oncology and Hematology Center at Marjan Teaching Hospital in Babel Governorate and Al-Furat Center for Cancerous Tumors in Najaf Governorate, in partnership with the laboratories of medical centers and Al-Jawadeen National Laboratory, for the period from October 2021 to April 2022.

The immunophenotypic patterns of CD3, CD4, CD16, CD56 and CD19 of the samples were studied using the flow cytometry technique. The results showed a significant statistically significant decrease at the significance level of  $P \leq 0.05$  in the surface markers, CD16, CD3, CD4, CD19 and CD56 in patients G2,G3 compared with G1; The samples were divided by gender into male and female, to assess the levels of surface markers in both sexes. The study showed a decrease in the level of surface markers CD3, CD4, CD19, CD16 and CD56 in G2 patients; In addition to a significant decrease in the level of surface markers in patients with G3 .

The results also showed an increase in the rate of infection among females than males, and the samples of patients infected with Corona virus and the healthy group

were divided according to age into five age groups (16-25), (26-35), (36-45), (46-55), 56 years and over, and in the ages ranging between 46-55 and ages over 56 years, there was no significant statistically significant decrease at the significance level of  $P \leq 0.05$  in the levels of surface markers CD3, CD4, CD19, CD16 and CD56 compared with other age groups. Where the results showed a high decrease in the level of surface markers in the age group 16-25 years compared to the healthy group, and the results showed a moderate decrease in the age groups 26-35 years, which was characterized by a decrease in the level of surface markers CD4, CD16 and CD56 compared with the healthy group , Also, the results of the age groups 36-45 years showed a moderate decrease in the level of surface markers CD4, CD16 and CD56; It showed a decrease in the rates of surface markers CD4, CD16 and CD56 compared to the healthy group .

The results obtained show that the adaptive immunity is significantly impaired in patients with lymphocytic leukemia and infected with MERS-CoV compared with MERS-CoV patients without leukemia patients; Patients show low levels of the surface markers CD3, CD4, CD19, CD16 and CD56; Which led to the weakening of the cellular immune response to the Corona virus caused by the low levels of T cells (CD3,CD4), B cells (CD19), and natural killer cells (CD16, CD56), and this calls for further investigation in these disease groups of Corona virus patients .



**University of Kerbala  
College of Education for  
Pure Sciences  
Department of Biology**

**Immunological study of some surface markers in leukemia  
patients and those infected with the new corona virus**

**A thesis Submitted to the council of Collage of Education for  
Pure Sciences University of Kerbala in partial  
Fulfillment of the requirements for the degree of  
Master of Biology-Zoology  
Writed By**

**Raghad Ridha Kadhem**

**Supervised by  
Ass. Prof.Dr.**

**Hiyam Abdel Ridha Kareem**