



جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة جزيئية للتحري عن نسب الاصابة بداء المقوسات الكوندية في النساء
المصابات بسرطان الثدي الورمي بنوعيه الخبيث والحميد في مدينة كربلاء
المقدسة

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

عقيلة صباح أحمد عبد الواحد

(بكالوريوس تربية علوم صرفة-علوم حياة/جامعة كربلاء-2020)

بإشراف

أ. د. كوثر عبد الحسين مهدي الموسوي

الطبيب الاستشاري حيدر جبر كحيوش

كانون الأول 2024م

جمادي الآخر 1446هـ

﴿بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ﴾

شَهِدَ اللَّهُ أَنَّهُ لَا إِلَهَ إِلَّا هُوَ وَالْمَلَائِكَةُ وَأُولُو الْعِلْمِ قَائِمًا
بِالْقِسْطِ ۚ لَا إِلَهَ إِلَّا هُوَ الْعَزِيزُ الْحَكِيمُ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة آل عمران/ آية (18)

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة: (دراسة جزئية للتحري عن نسب الإصابة بداء
المفوسات الكوندية في النساء المصابات بسرطان الثدي الورمي بنوعيه الخبيث والحميد في
مدينة كربلاء المقدسة) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /
جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

المشرف الأول

التوقيع: 

الاسم: د. كوثر عبد الحسين مهدي الموسوي

المرتبة العلمية : أستاذ

مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ: 17/12/2024

المشرف الثاني

التوقيع: 

الاسم: د. حيدر جابر كحيش

المرتبة العلمية : طبيب استشاري

مكان العمل: مدينة الامام الحسين (عليه السلام) الطبية

التاريخ: 17/12/2024

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها
وبيان الرأي فيها .

التوقيع: 

الاسم : د. علاء حسين مهدي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : 2024/12/17

﴿إقرار المقوم اللغوي﴾

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة جزيئية للتحري عن نسب الإصابة بداء المقوسات الكوندية في النساء المصابات بسرطان الثدي الورمي بنوعيه الخبيث والحميد في مدينة كربلاء المقدسة) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (عقيلة صباح أحمد عبد الواحد) 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: د. مسلم مالك الاسدي

المرتبة العلمية: أستاذ

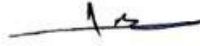
العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم الإسلامية

التاريخ: 28/12/2024

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ (دراسة جزيئية للتحري عن نسب الاصابة بداء المقوسات الكوندية في النساء المصابات بسرطان الثدي الورمي بنوعيه الخبيث والحميد في مدينة كربلاء المقدسة) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي قدمتها الطالبة (عقيلة صباح احمد عبد الواحد) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير، وبعد اجراء المناقشة العلنية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

عضو اللجنة

التوقيع: 

الاسم: د. لقاء حصون صكبان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ 12/3/2025

عضواً ومشرفاً

التوقيع: 

الاسم: د. كوثر عبد الحسين مهدي الموسوي

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ 11/3/2025

عضواً ومشرفاً

التوقيع: 

الاسم: د. حيدر جبر كحيوش

المرتبة العلمية: طبيب استشاري

مكان العمل: مدينة الامام الحسين (عليه السلام) الطبية

التاريخ 20/2/2025

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع: 

الاسم: د. احسان محمد صليبي

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري

التاريخ 17/3/2025

عضو اللجنة

التوقيع: 

الاسم: احسان خضير عباس

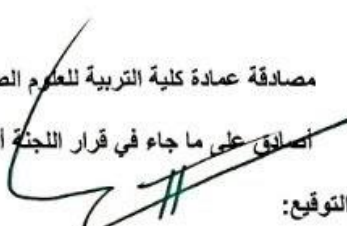
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة القادسية / كلية التمريض

التاريخ 18/3/2025

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصالح على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع: 

الاسم: حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 6/4/2025

الإهداء

إلى رسول الله وآله الاطهار (عليهم أفضل الصلاة والسلام)

إلى جميع شهدائنا الأبرار.....

إلى كل من علمني حرفاً واحداً في جميع رحلتي الدراسية.....

إلى معلمتي الأولى والدتي الغالية.....

إلى سندي الثابت وعزي الدائم والدي الغالي.....

إلى من شد الله بهم عضدي أخوتي... أخواتي....

إلى بهجة أيامي وسعادتي أصدقائي.....

الباحثة عقيلة العيداني

الشكر والتقدير

الحمد لله كما هو أهله والصلاة والسلام على أشرف الخلق والمرسلين رسوله الكريم محمد (ﷺ)، أشكر الله العلي القدير الذي أنعم عليّ بنعمة العقل والدين القائل في محكم التنزيل (عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ).

أتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى رئاسة جامعة كربلاء وإلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة وقسم علوم الحياة وأساتذته الأفاضل.

إعترافاً مني بالجميل أتقدم بجزيل الشكر إلى الذين لم يدخروا جهداً في مساعدتي بمجال البحث العلمي وأخص بالذكر أستاذتي الفاضلة أ.د. كوثر عبد الحسين مهدي الموسوي وأستاذي الفاضل الطبيب الاستشاري في الامراض النسجية حيدر جبر كحيوش، على جهودهم المبذولة في أعداد هذه الرسالة واستمرارهم في توجيهي ومساعدتي في تجميع المادة البحثية.

كما أخص بالشكر الجزيل الاستاذ الدكتور حيدر علي محمد الكرعاوي (كلية الطب البيطري)، لمساهمته الكبيرة في تقديم المساعدة في الجانب العملي والنظري في مجال بحثي العلمي.

كما أتوجه بالشكر الجزيل إلى كادر مختبر التقطيع النسيجي في مدينة الامام الحسين (عليه السلام) الطبية ومستشفى الكفيل التخصصي لمدهم يد العون والمساعدة في جمع العينات وإجراء الجانب النسيجي، وأخص بالشكر والتقدير مركز الفحص المبكر لكشف سرطان الثدي لتقديمه المعلومات القيمة لإتمام هذا البحث العلمي. ولا يفوتني ان اوجه شكري وأمتناني إلى زملائي طلبة الدراسات العليا فجزاهم الله عني خير الجزاء.

الباحثة عقيلة العيداني

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمقارنة نسبة الإصابة بداء المقوسات الكوندية لدى المصابات بسرطان الثدي بنوعيه الحميد والخبيث في محافظة كربلاء المقدسة ,اجريت الدراسة في شهر تشرين الاول من سنة 2023 إلى شهر حزيران لسنة 2024 إذ تم جمع 150 عينة من أنسجة سرطان الثدي الورمية الخبيثة والمطمورة بشمع البارافين Paraffin Embedded Tissue والمشخصة من قبل الطبيب المختص و50 عينة من الأنسجة الورمية الحميدة، وتم جمع هذه العينات من مختبر التقطيع النسيجي في مدينة الإمام الحسين (عليه السلام) الطبية ومختبر مستشفى الكفيل التخصصي ومختبر السجاد التخصصي للفحوصات النسجية والخلوية وتشخيص الأورام في كربلاء المقدسة.

شملت عينات الدراسة ثلاث مجاميع، المجموعة الأولى 66 أمراً مصابة بسرطان الثدي لم يخضعن للعلاج الكيميائي، المجموعة الثانية 84 امرأة مصابة بسرطان الثدي ممن خضعن للعلاج الكيميائي، والمجموعة الثالثة 50 امرأة مصابة بالورم الحميد، أذ تراوحت أعمار المريضات من 54-25، تم اجراء تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chaine reaction (PCR) كما تم التعرف على أكثر الأنماط الوراثية لطيفلي داء المقوسات بواسطة تقنية Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) على الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA في عينات النسيج المصابة بسرطان الثدي لكافة المجاميع قيد الدراسة وذلك بالاعتماد على تضخيم جينات *SAG1, B1, SAG3* أذ تم أستعمال أنزيمات قطع خاصة لمعرفة النمط الوراثي لطيفلي المقوسات الكوندية *Toxoplasma gondii* أذ استعمل الانزيم *HhaI* لمعرفة النمط الجيني الثاني عند حجم 221bp واستعمل أنزيم *Sau3AI* لمعرفة النمط الجيني الثالث عند حجم 241bp, والفحص النسيجي .

وبينت النتائج أن معدل الإصابة بداء المقوسات في مريضات سرطان الثدي 11.3% ومقابل الإصابة 4% في النساء المصابات بالورم الحميد، وأن نسبة الإصابة في النساء اللواتي تلقين العلاج 76.5% أما في النساء اللواتي لم يتلقين العلاج بلغت نسبة الإصابة 23.5%, ونسبة خطر الإصابة تزيد من احتمالية إصابة النساء المصابات بسرطان الثدي بنسبة 3.7% مما يصيب الاصحاء، كما بينت الدراسة الحالية أكثر الفئات العمرية المصابة بداء المقوسات الكوندية كانت الفئة >56 إذ بلغت نسبة الإصابة في هذه الفئة 37.3%, ووضحت النتائج أكثر الأنماط الوراثية التي ظهرت في مجاميع الدراسة هو النمط الوراثي الثاني والنمط الوراثي الثالث، أما نتائج الفحص النسيجي لم تظهر اي تغيرات نسجية واضحة في أنسجة المجاميع الدراسية .

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
XIV	قائمة الجداول	
XIV	قائمة الاشكال الصور	
XVII	قائمة المختصرات	
الفصل الأول		
المقدمة		
1	المقدمة Introduction	1-1
2	هدف الدراسة	2-1
الفصل الثاني		
استعراض المراجع		
3	نبذة تاريخية لطفيلي المقوسات الكوندية <i>Toxoplasma gondii</i>	1-2
4	تصنيف الطفيلي Parasite classification	2-2
5	الشكل والتركيب Morphology & Structure	3-2
5	الطور سريع التكاثر Tachyzoite	1-3-2
6	الطور بطيء التكاثر او الاكياس النسيجية Bradyzoite or tissue cysts	2-3-2
7	طور كيس البيض Oocyst	3-3-2
8	دورة الحياة Life cycle	4-2
8	الدورة داخل معوية (دورة القطط) Enteric Cycle (feline cycle)	1-4-2

9	الدورة خارج المعوية (دورة الإنسان) Exoenteric (Cycle)	2-4-2
10	العلاقة بين طفيلي المقوسات وخلية المضيف	5-2
12	Genotypes of parasite الأنماط الوراثية للطفيلي	6-2
13	Epidemiology الوبائية	7-2
14	Features Pathogenesis and الإمبراضية والأعراض السريرية Clinical	8-2
14	Types of <i>Toxoplasmosis</i> أنواع داء المقوسات	9-2
15	Congenital Toxoplasmosis داء المقوسات الخلقي	1-9-2
15	Ocular Toxoplasmosis داء المقوسات العيني	2-9-2
15	داء المقوسات في المرضى ذوي النقص المناعي Toxoplasmosis in Immunocompromised patients	3-9-2
16	Acquired Toxoplasmosis داء المقوسات المكتسب	4-9-2
16	Diagnosis Toxoplasmosis تشخيص داء المقوسات	10-2
17	Serologic Tests الاختبارات المصلية	1-10-2
20	Rapid Tests اختبار الكشف السريع	9-10-2
20	الكشف عن DNA الطفيلي	10-10-2
23	Cancer السرطان	11-2
24	العلاقة بين الإصابات الطفيلية والسرطان	12-2
25-26	علاقة داء المقوسات الكوندية بالسرطان	13-2
27	Breast cancer سرطان الثدي	14-2
27-28	Histological discription of breast الوصف النسجي للثدي	1-14-2

الفصل الثالث		
المواد وطرائق العمل		
30	المواد	1-3
30	الاجهزة	1-1-3
30	الأدوات	2-1-3
31	المواد الكيميائية والمحاليل	3-1-3
31	العدد المستعملة في هذه الدراسة	4-1-3
31	طرائق العمل Laboratory Methods	2-3
31	جمع العينات Samples Collection	1-2-3
33	طريقة التشخيص Diagnostic Methods	2-2-3
33	الاختبارات الجزيئية Molecular Test	3-2-3
40	الدراسة النسجية Histological study	3-3
41	التحليل الاحصائي	4-3
الفصل الرابع		
النتائج والمناقشة		
42	الدراسة الجزيئية لعينات أنسجة سرطان الثدي	1-4
44	مجاميع الدراسة	1-1-4
45	نسبة الاصابة بداء المقوسات وفقاً للفئات العمرية	2-1-4
46	نوع النمط الوراثي للمقوسات الكوندية في مريضات سرطان الثدي	3-1-4
47	نسبة تأثير العلاج الكيميائي على المصابات بداء المقوسات الكوندية	4-1-4
48	علاقة داء المقوسات الكوندية مع نوع سرطان الثدي	5-1-4
49	علاقة المقوسات الكوندية مع درجة سرطان الثدي	6-1-4

51	نتائج تحليل تتابع القواعد النيتروجينية للنمط الوراثي الثاني	2-4
53	نتائج تحليل تتابع القواعد النيتروجينية للنمط الوراثي	3-4
55	الفحص النسيجي لطفيلى المقوسات الكوندية فى انسجة سرطان الثدي	4-4
الفصل الخامس الاستنتاجات والتوصيات		
59	Conclusions الاستنتاجات	1-5
60	Recommendations التوصيات	2-5
الفصل السادس المصادر		
61	المصادر العربية	1-6
59	المصادر الاجنبية	2-6
الملاحق		
Abstract		

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
30	الأجهزة المستعملة حسب المنشأ والشركة	1-3
30	الأدوات المستعملة حسب الشركة والمنشأ	2-3
31	المواد الكيميائية والمحاليل المستعملة حسب الشركة والمنشأ	3-3
31	العُدد المستعملة فى استخلاص الحمض النووي	4-3
33	مكونات العدة المستعملة فى أستخلاص الحمض النووي الريبوزي DNA	5-3

36	مكونات Master Mix لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل	6-3
37	تسلسل البوادي المستعملة في الدراسة الجزيئية	7-3
37	مكونات تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل	8-3
38	البرنامج المستعمل لجين B1 في جهاز PCR	9-3
38	البرنامج المستعمل لجين SAG1 في جهاز PCR	10-3
39	البرنامج المستعمل لجين SAG3 في جهاز PCR	11-3
44	مجاميع الدراسة المستعملة في الفحص الجزيئي لطفي المقوسات الكوندية	1-4
46	علاقة المقوسات الكوندية مع الفئات العمرية في المريضات	2-4
47	النمط الوراثي للمقوسات الكوندية في مريضات سرطان الثدي	3-4
48	تأثير العلاج الكيميائي على المصابات بداء المقوسات الكوندية	4-4
49	علاقة داء المقوسات الكوندية مع نوع سرطان الثدي	5-4
49	علاقة المقوسات الكوندية مع درجة سرطان الثدي	6-4

قائمة الاشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
7	شكل (أ) الطور سريع التكاثر Tachyzoites (ب) الطور بطيء التكاثر Bradyzoite	1-2
8	شكل (A) الكيس النسيجي Tissue cyst و (B) كيس البيض Oocyst	2-2
10	شكل دورة حياة طفيلي المقوسات الكوندية	3-2
29	شكل البنية التشريحية للثدي	4-2
29	شكل انواع سرطان الثدي الاكثر شيوعاً	5-2
32	شكل تصميم التجربة	1-3
42	شكل الترحيل الكهربائي لجين B1 لطفي المقوسات الكوندية	1-4
43	شكل الترحيل الكهربائي لجين SAG1 لطفي المقوسات الكوندية	2-4

43	شكل الترحيل الكهربائي لجين <i>SAG1</i> في النساء المصابات بسرطان الثدي الحميد	3-4
43	شكل الترحيل الكهربائي لجين <i>SAG3</i> لطفي المقوسات الكوندية	4-4
53	شكل درجات التشابه والاختلاف للعزلة LC848443 لهذه الجينات مع بيانات بنك الجينات NCBI للنمط الوراثي الثاني لطفي المقوسات الكوندية	5-4
56	شكل درجات التشابه والاختلاف للعزلة LC848444 لهذه الجينات مع بيانات بنك الجينات NCBI للنمط الوراثي الثالث لطفي المقوسات الكوندية	6-4
56	شكل (a) مقطع نسيجي لسرطان الثدي مصاب بطفي المقوسات الكوندية داخل الخلايا البلعية Macrophage cells، (b) مقطع نسيجي لسرطان ثدي غير مصاب بطفي المقوسات الكوندية (1000x H&E).	7-4

قائمة المختصرات

المختصرات	المصطلحات
ANA	Anti-nuclear antibodies
GRA	Densgranules
DPX	Disterin Plasticizer Xylene
DT	Dye test
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
RFLP	Fragment length polymorphism
IHAT	Indirect hemoaggluation test
HIV	Immunodeficiency Virus
IFAT	Indirect fluorescent Antibody test
IHA	Indirect hemagglutination
IFN-Y	Interferon gamma

IL-12	Interleukin12
IL-2	Interleukin-2
MIC	Micronemes
MAT	Modified Agglutination test
NKC	Natural killer cells
PCR	Polymerase chain reaction
N-PCR	Nasted Polymerase chaine reaction
PVM	Primary Vacuoles membrane
R.B.Cs	Red blood corpuscles
RF	Rheumatoid factor
ROP	Rohoptry
TDLUS	Terminal Ductal Lobular Units
T-h1	T-helper

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

1-1 المقدمة Introduction

يعد داء المقوسات من الأمراض حيوانية المنشأ يسببه طفيلي المقوسات الكوندية *Toxoplasma gondii* الذي هو من الحيوانات الابتدائية الاجبارية الداخل خلوية إذ يصيب الإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار كمضائف وسطية، بينما العديد من أفراد العائلة السنورية تعمل كمضائف نهائية ووسطية للطفيلي (Mahmood et al., 2022). يصيب الطفيلي الانسان من خلال تناول الطعام أو الماء الملوث مع أكياس البيض Oocyst المطروحة مع براز القطط المصابة أو بوساطة استهلاك اللحوم النيئة أو المطبوخة بشكل غير جيد الحاوية على الأكياس النسجية Tissue cysts ويمكن أن ينتقل خلقيا من الأم المصابة إلى الجنين (Addo et al., 2023).

تكون الإصابة بداء المقوسات عالمية الانتشار بين البشر إذ يكون متغيراً من منطقة إلى أخرى وحوالي ثلث سكان العالم معرض للإصابة بالطفيلي، تكون الإصابة عادة بدون اعراض في الأشخاص المؤهلين المناعة Immunocompetent individuals بينما تكون الإصابة حادة وخطرة في الأشخاص غير المؤهلين المناعة Immunocompromised على سبيل المثال النساء الحوامل والأشخاص المصابين بالايذر Ali & HIV (AL-warid, 2021) ينتقل الطفيلي من الأم الحامل المصابة إلى الجنين عبر المشيمة ويسبب التشوهات الخلقية والاجهاضات، ولاسيما إذا حدثت الإصابة خلال الأشهر الثلاثة الأولى First trimesters من الحمل أما إذا حدثت الإصابة في الأشهر الثلاثة الأخيرة Third trimesters من الحمل فإنه ربما لا تسبب علامات سريرية في الأطفال في المراحل المبكرة من العمر لكن مع تقدم عمر الطفل ربما قد تتطور علامات أخرى على سبيل المثال التهاب الشبكية المشيمية أو داء المقوسات العيني، تحدد شدة المرض عن طريق بضعة عوامل تشمل مناعة المضيف، سلالة الطفيلي، حجم الجرعة المعدية ونوع الاستجابة المناعية للمضيف (Mahmood et al., 2022).

يعد السرطان أحد الأسباب الرئيسة للوفاة في انحاء العالم جميعاً (Jemal et al., 2011) على الرغم من التشخيص الدقيق لهذا الورم الخبيث، إلا أنه السبب الأكثر شيوعاً للوفاة المرتبطة بالسرطان Kalantari (et al., 2015) خلال العقدين الماضيين سجلت زيادة واضحة في معدلات الإصابة بسرطان الثدي (Alwan, 2010) وهو النوع الثاني من أنواع السرطانات الشائعة بعد سرطان الرئة والأكثر سيادة بين الامراض الخبيثة التي تصيب النساء حول العالم (Mc Pherson et al., 2000). اثبتت الدراسات وجود علاقة كامنة بين داء المقوسات والامراض الخبيثة بما في ذلك سرطان الدماغ وسرطانات الفم (Zhou et al., 2018)، علاوة على ذلك في إيران تم اكتشاف الحمض النووي لطفيلي المقوسات الكوندية في أنسجة سرطان الثدي المثبتة بالفورمالين وشمع البارافين (Kalantari et al., 2017). كما

أشارت بعض الدراسات إلى امكانية ارتباط داء المقوسات بالإصابة بأنواع أخرى من السرطان مثل سرطان الدم والمبيض والرئة (Ahmad Pour et al.,2015).

يعد التشخيص والوصف الوراثي لطيفلي المقوسات الكوندية مهم في التشخيص السريري وكذلك في التقصي الوبائي ومكافحة الطفيلي والسيطرة عليه في الإنسان والحيوان (Gomes et al.,2020). يستعمل تفاعل البلمرة المتسلسل الـ Polymerase chaine reaction (PCR) على نطاق واسع في الكشف عن الإصابة بداء المقوسات الكوندية منذ استعماله لأول مرة من قبل، Burg et al (1989) لاستهداف جين B1 (Marques et al.,2020)، كما يتم استعمال الـ PCR في استهداف الجينات ذات النسخة الواحدة مثل جين SAG1, SAG2, SAG3 و GRA1 في الإنسان والحيوانات (Switaj et al.,2005).

يعد تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR التقنية الأكثر أهمية وحساسية في تشخيص عدوى داء المقوسات وتحديد النمط الجيني في العينات السريرية للبشر، لأول مرة عام 1991 تم استعمال تقنية الـ PCR داخل جسم الكائن الحي لتحديد الجين B1 داخل طيفلي المقوسات الكوندية (Weiss et al.,1991)، وقد انصب الاهتمام الرئيسي على مستضد السطح (SAG) للطيفلي في كل من مرحلتى التكاثف السريع Tachyzoite والبطيء Bradyzoite والتي تسمى SAG1 و SAG2 و SAG3 و SAG4 (AL-Tamemmi et al.,2019)، أذ تعد مجموعة مهمة من البروتينات السطحية ذات الصلة بنيوياً، ولكنها متميزة من الناحية المستضدية، والتي تسمى بروتينات التسلسل المرتبط بـ SAG1 (SRS)، هي مفتاح النجاح في دخول الطيفلي إلى خلايا المضيف. تتألف هذه العائلة الفائقة من 20 بروتيناً متماثلاً على الأقل (Hartati et al.,2006).

تعد الدراسات المتعلقة بارتباط هذا الطفيلي مع مرض سرطان الثدي سواء في العراق أو العالم مازالت تحتاج إلى احصائيات دقيقة ودراسات مستفيضة لبيان دور الطفيلي وتأثيره على مرضى السرطان إذ أن توافر الاحصائيات الدقيقة يسهم في توضيح العلاقة ما بين الإصابة بالطفيلي ومرض سرطان الثدي.

2-1: هدف الدراسة

نظراً لكون طيفلي داء المقوسات الكوندية من الطفيليات الانتهازية ويؤثر بشكل كبير على المصابين بالسرطان بسبب ضعف الجهاز المناعي لديهم لذا تمحورت الدراسة على عدة أهداف أهمها:

1- تقصي الإصابة بداء المقوسات لدى النساء المريضات بسرطان الثدي بنوعيه الخبيث والحميد.

2- معرفة الأنماط الوراثية لطيفلي المقوسات الكوندية الأكثر شيوعاً.

3- معرفة مدى تأثير العلاج الكيميائي بنسبة الإصابة بداء المقوسات.

4- معرفة التغيرات النسجية التي من الممكن ان يسببها طيفلي المقوسات الكوندية.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature review

2- استعراض المراجع Literatures Review

1-2: نبذة تاريخية لطيفلي المقوسات الكوندية *Toxoplasma gondii*

تتمثل نقطة البداية باكتشاف طيفلي المقوسات الكوندية لأول مرة من قبل العالم Laveran عام 1900 في دم طائر أمريكي، واكتشف العالمان Nicholle & Manceau عام 1908 العامل المسبب في أحد القوارض الأفريقية الذي يعرف باسم *Cremodactylus gondii* في مختبرات لويس باستور في تونس واعطاء الاسم العلمي *Toxoplasma gondii*، وفي السنة نفسها عثر Splendar على الطيفلي في الارنب في البرازيل (Ferguson , 2009).

كان بين عام 1908-1937 هناك الكثير من البحوث التي ذكرت العثور على كائنات تشبه المقوسات الكوندية في العديد من أنواع الحيوانات، وفي عام 1927 أعلن العالم Torres عن وجود الطيفلي في الكثير من أنسجه الإنسان وكذلك في الجهاز العصبي المركزي Mahbodfar et al (2015).

وصف العالم Levaditi في عام 1928 بعض البوغيات على انها طيفلي المقوسات الكوندية بينما اقترح Wolf & Cowen في عام 1938 إن الطيفلي هو العامل المسبب لالتهاب الدماغ عند حديثي الولادة، وقدموا أول تقرير عن الانتقال الخلقي للطيفلي. سجلت أول إصابة بداء المقوسات الكوندية في العراق من قبل Machattie سنة 1938 عند فحص مسحة مأخوذة من الطحال والرئتين من الكلاب السائبة في بغداد (Gillespie & Pearson, 2001)، Pinkerton & Weinman سنة 1940 سجل أول حالة وفاة بسبب داء المقوسات في البالغين، أما Sabin في عام 1940 فقد وصف علامات الثالوث (التهاب شبكية مشيمية Retinochoroiditis، تضخم الراس Hydrocephalus تكلس الدماغ Cerebral calcification) في الرضع المصابين بداء المقوسات الخلقي (Hill & Dubey, 2018).

وصف Slim في عام 1952 الشكل الغدي Gl&ular من الاصابة بداء المقوسات المكتسب، تمكن Jacobs وجماعته في عام 1954 من عزل الطيفلي من عين مريض يعاني من التهاب الشبكية المشيمية، وفي نفس العام توصل Weinman & Ch&ler الى أن انتقال الطيفلي ربما يحدث بسبب اكل لحوم الخنازير غير المطبوخة.

اكتشف Jacobs & Remington إن الأكياس النسجية مقاومة للأنزيمات المحللة (Weiss & Kim, 2020). Hutchinson. في عام 1965-1969 اكتشف الطيفلي في براز القطط واقترح أن القطط المضيف النهائي للطيفلي (Wallace 1969) بواسطة اجراء دراسة وبائية لسكان

بعض جزر المحيط الهادي توصل الى اهمية القطط في نقل الاصابة للإنسان. Dubey & Frenkel (1970) وجدت الأطوار الجنسية وأكياس البيض في الأمعاء الدقيقة للقطط (Joynson & Wreghitt, 2001). وفي عام 1982 سجل أول حالة لداء المقوسات في الجهاز العصبي المركزي في مرضى الأيدز بينما في عام 1984 تم التعرف على ان الطفيلي هو مرض انتهازى في فئة مرضى الأيدز أنفسهم (Tenter *et al.*, 2000).

2-2: تصنيف الطفيلي Parasite classification

يعود طفيلي المقوسات الكوندية وحسب تصنيف Levine (1977) إلى شعبة معقدات القمة Apicomplexa وهي مجموعة قديمة تضم 5000 نوعا من الطفيليات الابتدائية صنف الكرويات في عائلة Eimeridae وضع الطفيلي من قبل مصنفين آخرين بعد اكتشاف دورة حياة في عوائل Sarcocystidae و Toxoplasmatidae وجاء التصنيف النهائي حسب ما ذكره (Hill & Dubey, 2014) الى:

Kingdon: Protista

Phylum: Apicomplexa

Class: Sporozoasida

Subclass: Coccidiasina

Order: Eucoccidiida

Sub order: Eimerorina

Family :Toxoplasmatidae

Genus: *Toxoplasma*

Species: *T.gondii*

3-2 الشكل والتركيب Morphology and Structure

توجد ثلاثة أطوار معدية لطفيلي المقوسات الكوندية عند تواجده في الأعضاء والأنسجة أثناء دورة حياته (Hill & Dubey, 2018) وهذه الأشكال هي:

- 1- الطور السريع التكاثر Tachyzoite
- 2- الطور البطيء التكاثر (الأكياس النسيجية) Bradyzoite (Tissue cysts)
- 3- الطور كيس البيض Oocyst.

1-3-2: الطور سريع التكاثر Tachyzoite

يشتق اسم الطفيلي *Toxoplasma* شكل القوس من الشكل الهلالي Crescent لهذا الطور، طور نشط سريع الانقسام والتضاعف يوجد عادة خلال الإصابة الحادة (Ortega & Sterling, 2018). ويطلق عليه عادة بالطور النشط المتغذي Trophozoite (Ferguson & Dubremetz, 2014). يمتاز بكونه هلالي الشكل ذو نهاية امامية نقطية مدببة ونهاية خلفية عمياء مدورة ، يبلغ حجمه تقريباً $2 \times 6 \mu$ والنواة تقع في الوسط تقريباً كما في الشكل (1-2). يكون هذا الطور محاط بجليد Pellicle ويمتلك عضيات شعبة ذوات المعقد القمي التي هي الأنبيبات الدقيقة Microtubules Subpellicular والحلقة القطبية Polar ring والمخروط Conid, 5-12 من عضيات ذات شكل الكأس تدعى Rhoptries والقليل من Micronemes والعديد من الحبيبات الكثيفة Denes granules والقليل من حبيبات متعدد السكر Polysaccharide granules ، هذه العضيات تساهم في عملية غزو واختراق خلية المضيف (Sastry & Bhat, 2014; Wiess & Kim, 2007) كذلك يمتلك بضعة عضيات داخلية أخرى كالرايبوسومات والميتوكوندريا وشبكة الاندوبلازمية الخشنة والملساء وجهاز كولجي ، البلاستيدة القمية Apicoplast. يدخل ضمن تركيب الجليد بروتينات محركة تدعى A-Myosin & F-actin التي تمنح الطفيلي الحركة الأنزلاقية Gliding التي تساهم في اختراق خلية المضيف Walochnik & (Duchene, 2016).

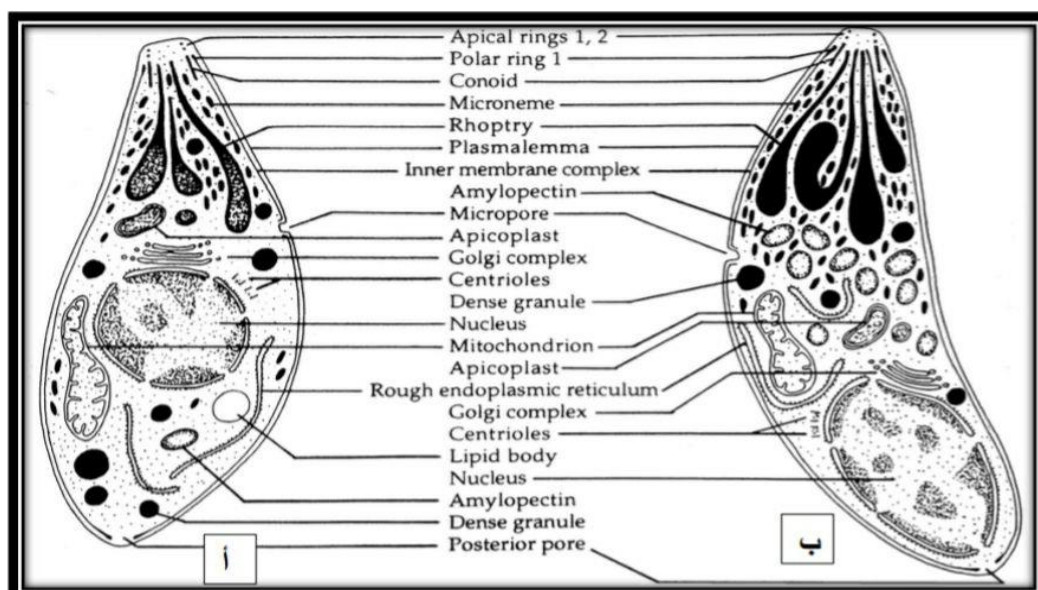
يصيب الطور سريع التكاثر جميع انواع خلايا اللبائن ذات الأنوية عدا كريات الدم الحمر ، إذ تدخل خلية المضيف بعملية الاختراق الفعال Active penetration اذ يقوم بعملية التمدد والتقلص لأجل أن يعثر على خلية المضيف، وبعد أن يدخل خلية المضيف يصبح مدور في الشكل ومحاط بفجوة طفيلية Parasitophorous vacuole، التي توفر حماية للطفيلي ضد الآليات الدفاعية للمضيف، يعاني الطفيلي داخل الفجوة عملية التضاعف أو الانقسام اللاجنسي بعملية تدعى التبرعم الداخلي أو الانقسام المتكرر Endodyogeny or Internal budding ضمن الخلية الام للطفيلي Mother cell لتكون

خليتين بنويتين التي غالبا ما تكون بشكل وريدات أو وردة تحيط بنواة خلية المضيف ، ويستمر الطفيلي بالانقسام حتى تمتلئ خلية المضيف وتظهر بشكل كيس كاذب Pseudocyst ، فيما بعد تنفجر خلية المضيف و تتحرر العديد من الأطوار سريعة التكاثر التي تصيب خلايا مجاورة أخرى (Ortega & Sterling, 2018; Sastry & Bhat, 2014).

أن هذا الطور معرض ومستعد للتحطيم والتحلل من قبل الأنزيمات المحللة خلال 10 دقائق وغير مقاوم للظروف البيئية القاسية وغير مقاوم للجفاف والتجميد والاذابة والعصارات المعوية لكن مقاوم للهضم بواسطة انزيمات Trpsin, Pepsin (Roberts *et al.*, 2013)

2-3-2: الطور بطيء التكاثر أو الاكياس النسجية Bradyzoite or tissue cysts

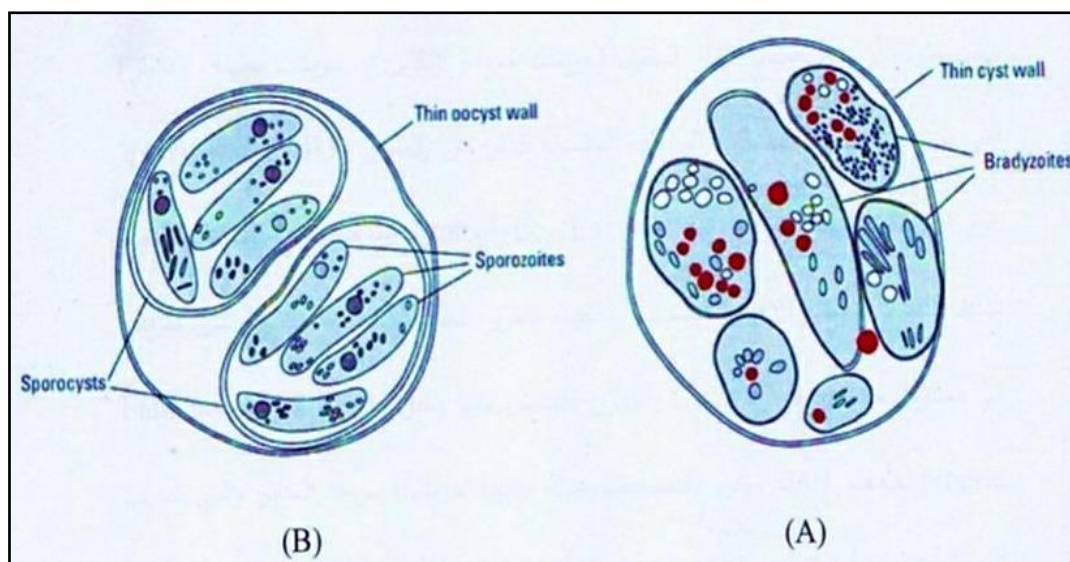
يبدأ الطفيلي بعد انقسامات قليلة ضمن خلية المضيف خلال المرحلة المزمنة من الإصابة بتكوين أكياس بيضوية الى مدورة تبقى داخل خلوية تحتوي المئات من الأطوار الناشطة الهلالية الشكل البطيئة التضاعف تدعى Bradyzoite المحاطة ضمن جدار الكيس. يتراوح حجم هذه الأكياس 2-5 Mμ الأكياس الفتية Younger تحوي بضعة من الاطوار البطيئة. يكون جدار الكيس مطاطي سمكه نحيف أقل من 0.5 Mμ (Sastry & Bhat, 2014) طور يبلغ حجم الاطوار البطيئة تقريباً 1.5-7 Mμ ويختلف تركيباً بشكل بسيط عن طور السريع التكاثر ، إذ تقع النواة باتجاه الخلف أكثر ويكون الشكل اسطواناني أكثر More slender تحتوي على العديد من Micronemes و 10-5 Rhoptries ذات الشكل الصلد والعديد من حبيبات كثيفة وحبيبات متعدد السكر إذ تتضاعف ببطء كما في الشكل (1-2) وتكون أكثر مقاومة للعصارة المعدية وأقل عرضة للتحطم بواسطة الأنزيمات المحللة من الطور السريع أن الأكياس النسجية تتكون في الأحشاء الداخلية على سبيل المثال الرئة والكبد والكلى لكنها أكثر ميولاً وانتشاراً في الأنسجة العصبية والعضلية التي تشمل الدماغ والعيون والعضلات القلبية والهيكلية أن أكياس الأنسجة السليمة ربما لا تسبب أي اذى أو ضرر ويمكن أن تبقى حية طيلة مدة حياة المضيف & Ortega (Sterling, 2018) أن تحول الطور البطيء الى الطور السريع طيلة مدة حياة المضيف ممكن أن يحفز بواسطة عدة عوامل على سبيل المثال تعرض الخلايا المصابة إلى جهد يشمل التغير في الاس الهيدروجيني أو درجة الحرارة أو التعرض إلى الانترفيرون - كما و أوكسيد النتريك NO وبروتينات الصدمة الحرارية Heat shock protenies (Sastry & Bhat, 2014).



شكل (1-2): (أ) الطور سريع التكاثر Tachyzoites (ب) الطور بطيء التكاثر Bradyzoite
(Dubey, 2010).

3-3-2: طور كيس البيض Oocyst

تنتج كل المكورات مرحلة مقاومة بيئياً خلال دورة حياتها تدعى كيس البيض Oocyst. هذا الطور يتكون فقط في أفراد العائلة السنورية Felidae. تطلق القطط أكياس البيض بعد التهام أي من الأطوار المعدية الثلاث التي هي الطور سريع التكاثر، الطور بطيء التكاثر و طور كيس البيض. المدة الفاصلة من الإصابة الأولية للقط لحين وقت إطلاق أكياس البيض تتفاوت تبعاً إلى الطور المعدي لها، إذ تتراوح بين 3-10 أيام بعد تناول أكياس الأنسجة و 18 يوماً أو أكثر بعد الإصابة بالطور سريع التكاثر أو طور كيس البيض. أقل من 50% من القطط تطلق أكياس البيض بعد التهام الطور سريع التكاثر و طور كيس البيض، بينما تقريباً كل القطط تطلق أكياس البيض بعد التهام أكياس الأنسجة (Dubey, 2002). تكون أكياس البيض المطروحة مع البراز غير ناضجة (غير متبوعة) غير معدية وذات شكل شبه كروي إلى كروي وذات قطر 10-12 Mμ كما في الشكل (2-2) نضج هذه الأطوار يحدث في البيئة الخارجية ضمن مدة من 1-5 أيام اعتماداً على التهوية ودرجة الحرارة. تحتوي أكياس البيض المتبوعة على أكياس بوجية Sporozoites اثنين اهليجية الشكل وكل كيس بوجي يحتوي على أربع حيوانات بوجية Sporozoites حيث يبلغ حجمها 2 Mμ x 6-12 (Hill & Dubey, 2018).



شكل (2-2): (A) الكيس النسيجي Tissue cyst و (B) كيس البيض Oocyst (Hill & Dubey, 2014)

4-2: دورة الحياة Life cycle

يكمل الطفيلي دورة حياته في مضيفين مختلفين هما المضيف النهائي وهو القط وبقيّة افراد العائلة السنيورية، وتحدث فيها الدورة الجنسية واللاجنسية والمضيف الوسيط وهو الإنسان والثدييات الأخرى، إذ تحدث الدورة اللاجنسية فقط (Marquardt *et al.*, 2000) وبذلك يمر الطفيلي بنوعين من دورات الحياة هما:

1-الدورة داخل المعوية (دورة القط) Enteric Cycle (feline cycle)

2-الدورة الخارج معوية (دورة الإنسان) Exoenteric Cycle (Human Cycle)

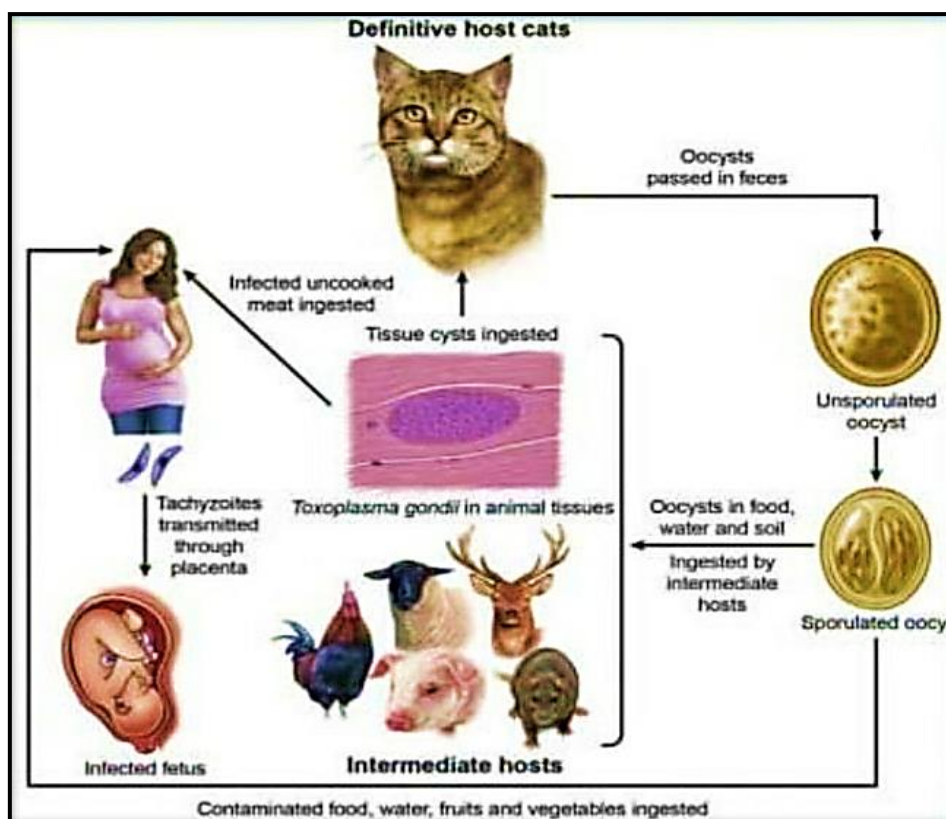
1-4-2: الدورة داخل معوية (دورة القط) Enteric Cycle (feline cycle)

تحدث الدورة المعوية في القط وغيرها من المضافات النهائية ويحدث كل من التكاثر الجنسي (المشيحي) Gametogony والتكاثر اللاجنسي Schizogony داخل الخلايا الظهارية المخاطية للأمعاء الدقيقة للقط (Jones *et al.*, 2001)، تكتسب القط الإصابة عن طريق تناول أكياس الأنسجة في لحوم الفئران والحيوانات الأخرى أو عن طريق تناول كيس البيض التي تمر في برازها، يتم إطلاق الطور بطيء التكاثر في الأمعاء الدقيقة وتبدأ بعملية التكاثر اللاجنسي (الانفلاقي) مما يؤدي إلى تكوين الميروزويت Merozoite (Jokelainen *et al.*, 2018). يدخل الطور بطيء التكاثر الأنسجة الخارجية مما يؤدي إلى تكوين أكياس الأنسجة في أعضاء أخرى من الجسم، تتحول بعض من Merozoite الأخرى إلى أمشاج ذكرية وأنثوية وتبدأ الدورة الجنسية (Attias *et al.*, 2020) مع تكوين الأمشاج الانثوية Macrogamet والأمشاج الذكرية Microgamet، ثم يحدث الاخصاب مما

يؤدي إلى تكوين أكياس البيض تمر عبر مراحل النضج في التربة بعد طرحها من قبل المضيف مع البراز، يحتوي الكيس الناضج المتبوغ Oocysts sporulated الذي يحتوي على اثنين من أكياس بوغية Sporocysts وكل كيس بوغي يحتوي على 4 حيوانات بوغية ويحتوي ثمانية حيوانات سبورية هو الطور المعدي الذي يمكن أن تلتهمه الجردان أو الثدييات الأخرى لتكرار الدورة (Ghosh,2018) . كما في الشكل (2-3)

2-4-2: الدورة خارج المعوية (دورة الإنسان) Exoenteric (Cycle Human)

تحدث الدورة خارج المعوية في الإنسان، الفئران، الجردان، الأغنام، الماشية، الخنازير والطيور التي تعد المضائف الوسيطة. يصاب الإنسان بعد تناول اللحوم المصابة النيئة أو غير المطبوخة جيداً، لا سيما لحم الضأن ولحم الخنزير الحاوية على أكياس الأنسجة، يتم ابتلاع أكياس البيض الناضجة من خلال الطعام أو الماء أو الأصابع الملوثة ببراز القطط بشكل مباشر أو غير مباشر أو إصابة داخل الرحم من الأم إلى الجنين (داء المقوسات الخلقي)، نقل الدم أو زرع الأعضاء من المتبرعين المصابين (2022 Delgado *et al.*). تتحرر الحيوانات البوغية من أكياس البيض والأطوار البطيئة من أكياس الأنسجة في الغشاء المخاطي للأمعاء وتتكاثر لا جنسياً وتحول إلى الطور سريع التكاثر التي تستمر في التكاثر والانتشار عن طريق الجهاز اللمفاوي والدم (Hehl *et al.*,2015) تنتشر بعض الأطوار السريعة إلى أعضاء بعيدة خارج الأمعاء مثل الدماغ والعين والكبد والطحال والرئة والعضلات الهيكلية وتتكون أكياس الأنسجة. تعرف الأشكال التي تتكاثر ببطء داخل أكياس الأنسجة باسم الأطوار البطيئة، والتي تضل قابلة للحياة لسنوات (Innes, 2010). قد يتم إعادة تنشيط الأطوار البطيئة الخاملة داخل الكيس عند انخفاض مستوى المناعة للمضيف مما يؤدي إلى إعادة تنشيط الإصابة الكامنة في المضيف.



شكل (2-3): دورة حياة طفيلي المقوسات الكوندية (Dubey, 2022)

2-5: العلاقة بين طفيلي المقوسات الكوندية وخلية المضيف

Relationship between *Toxoplasma gondii* and host cell

يتميز طفيلي المقوسات الكوندية بوجود مجمع قمي Apicomplexan يتكون من مخروط مغلق يسمى Conoid يعمل هذا المجمع كمركز تنظيم إذ يحتوي مجموعة عضيات أفرازية قمية بما في ذلك عضيات ذات شكل الكأس تدعى Rhoptries، حبيبات دقيقة Micronemes والحبيبات الكثيفة Dense granules (Okomoto & Keeling, 2014).

يشارك المجمع القمي في عملية غزو الطفيلي لخلايا المضيف، إذ يفتقر المجمع القمي إلى الإهداب لذا يتحرك بواسطة عملية أنزلاق ثابتة تتم بإفراز مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات ATP وعناصر من هيكل الخلية التي تساعد بتوجيه نهاية قمة الطفيلي للالتصاق على سطح الخلية المضيفة ويعتمد نشاط حركة الانزلاق على بروتين الاكتين - الميوسين ليلعب دورا في عملية غزو الطفيلي, Frenal et al., (2017).

تكون عملية اختراق الطفيلي لخلايا مضيفة عملية معقدة تتكون من خطوات متعددة والتي تبدأ من التفاعل الجزيئي بين الطفيلي وخلية المضيف ثم تليها إفراز متسلسل من قبل عضيات الإفراز القمي لـ بروتينات (MIC) Micronemes وبروتين Rohoptry (ROP) الذي يتم إفرازه في بداية الإصابة

على عكس بروتين (GRA) Densgranules ، الذي يفرز بعد حدوث الإصابة (Guerin *et al.*, 2017; Liu *et al* 2015). بعد عملية الغزو يبدأ الطفيلي بإنشاء فجوة الطفيلي من أجل أن يحمي نفسه من خلايا المضيف إذ توفر الفجوة بيئة ملائمة وضرورية من أجل استقرار الطفيلي وتكاثره ولتجنب مناعة المضيف إذ يكون غشاء الفجوة (Primary Vacuoles membrane (PVM) الذي يكون معقد وسميك لأن الطفيلي يمتص الكوليسترول والدهون من المضيف من أجل تعديل الاستجابة المناعية ولتغيير التعبير الجيني للمضيف (Nolan *et al.*, 2017; Dou *et al.*, 2014).

بعد أحاطة الطفيلي بالفجوة يبدأ الطور السريع بإيقاف خلية مضيفة عند مرحلة الانقسام الميتوزي Mitosis Phase من دورة الخلية المضيفة من أجل أن يتكاثر الطفيلي بواسطة التبرعم الداخلي وبعد عدة مرات من تكرار التكاثر ينشط الطفيلي حركته ويخرج من الخلية المضيفة عن طريق تمزيق غشاء الفجوة (Blader *et al.*, 2015).

تمكن بروتينات GRA17 و GRA23 الطفيلي من الحصول على مزيد من العناصر الغذائية نتيجة تغير نفاذية غشاء فجوة الطفيلي (Gold *et al.*, 2015). إن الاستجابة المناعية ضد الطفيلي تكون ذات رد فعل قد يقتل الطفيلي لكنه يمكن أن تكون ضارة وحتى قاتلة للمضيف (Mennechet *et al.*, 2004). إذ أن غزو خلايا المضيف من قبل الطفيلي تؤدي إلى استجابة مناعية قوية تقضي على معظم الطفيليات إذ تعتمد الاستجابة المناعية بشدة على سلالة الطفيلي وعلى السلالة الوراثية والوضع المناعي للمضيف داخل الخلايا خلال المرحلة الحادة من الإصابة ولكن يمكن لبعض أطوار الطفيلي السريعة التهرب من مناعة المضيف ثم تتحول إلى الأطوار البطيئة ، ومن أجل تحقيق توازن دقيق بين ضرر الطفيلي والاستجابة المناعية للمضيف يعمل الطفيلي تعديلات في التعبير وإفراز الحركات الخلوية Cytokines في الخلايا المناعية (Xiao & Yotken 2015: Munoz *et al.*, 2011). تعمل الخلايا اللمفية التائية نوع T- helper (Th1) على إنتاج الحركات الخلوية مثل انترلوكين IL-2 IL-12 و Interferon- Y التي تحفز الخلايا القاتلة الطبيعية (NKC) Natural killer cells على قتل الطفيلي بآلية السمية الخلوية Cytotoxicity إذ يعمل انترفيرون- كما (IFN-Y) على إضافة الأوكسجين الفعال والنيتروجين الذي يساعد على السيطرة على الطفيلي خلال المرحلة الأولى من الإصابة ، و يساعد IFN- Y الخلايا البائية B-cell إنتاج الكلوبولينات المناعية نوع IgG و IgM (Sturge & yavovinsky, 2013; Alves *et al.*, 2014). تحفز الإصابة بالطفيلي على إنتاج الاجسام المضادة IgA و IgM و IgE و IgG إذ تلعب هذه الأجسام المضادة المنتجة دورا في القضاء على الطفيلي أثناء تواجده خارج الخلايا (الطور السريع) قبل دخوله الى الخلية وهي تعمل على الحد من تضاعف الطفيلي بواسطة تحلل الطفيلي ، وكذلك تزيد من فعالية عملية البلعمة من قبل الخلايا البلعمية ، ولكن هذه الفعالية غير مجدية إذا

كان الطفيلي الحي داخل الخلايا ومع ذلك وعلى الرغم من دورها المحدود فإن الاجسام المضادة تلعب دورا في تشخيص الإصابة بداء المقوسات في الانسان (B&o et al.,2018).

6-2: الأنماط الوراثية للطفيلي Genotypes of parasite

ترتبط أمراض طفيلي داء المقوسات ارتباطاً وثيقاً بعامل الضراوة للسلاسل الطفيلية، وبمقاومة الأنواع المضيفة للإصابة، وتختلف التراكيب الوراثية باختلاف عامل الضراوة، وقد تختلف السلالات في عدم القدرة على عبور الحواجز المشيمية لتسبب أمراضاً خلقية في الأجنة وكذلك قدرتها على إصابة الدماغ في الأشخاص المصابين بالإيدز AIDS (Saeij et al.,2005).

عامل الضراوة للطفيلي لا يُحدد بقدرة الطفيلي على إصابة المضيف، وإنما بناءً على تطور المرض ، إذ يمكن أن يعتمد على المنتجات الجينية التي يتم تضمينها ، وتؤثر على شدة الإصابة أكثر من بقاء الطفيلي وانتقاله (Pernas & Boothroyd., 2010) ، تختلف الصفات الوراثية والتركيب الوراثي للطفيلي عالمياً من موقع إلى آخر ، وهناك ثلاثة سلالات معروفة للطفيلي منتشرة في شمال أمريكا وأوروبا وهي I, III, III (Sibley et al., 2009) يوجد تباين جغرافي في توزيع سلالات طفيلي داء المقوسات الخلقية، وبحسب البيانات المسجلة في بلدان معينة مثل البرازيل وفرنسا وكولومبيا وغينيا ، كانت السلالة السائدة هي السلالة الأولى 1 (Ferreira et al.,2006; Ajzenbeg et al., 2004) . أما في شمال أمريكا فكانت السلالة الثانية II هي المهيمنة وتم عزلها من الحيوانات المحلية (Dubey et al ., 2011) . ووصفت السلالة الثانية II بأنها الأكثر انتشاراً من بين السلالات التي تصيب الإنسان، وتكون عامل ضراوة للأجنة غير المكتملة، والأشخاص ضعيفي المناعة، وهي مسؤولة عن داء المقوسات بدون أعراض في الأجنة المكتملة (Dared et al.,2014).

وتعد السلالة الثانية II في أوروبا هي السائدة بأغلبية ساحقة في كل من الحيوانات البرية والمحلية ، تتبعها السلالة الثالثة III ومن النادر ظهور السلالة الأولى I في أوروبا وشمال أمريكا (Dared et al 2014; Ajzenberg,2011). أما في آسيا فقد أشار Darde وجماعته (2014) إلى قلة التنوع الجيني لطفيلي المقوسات الكوندية والى أن الطراز الجيني من النوع الأول هو السائد وأشار أيضاً إلى أن عدد السلالات النسلية المهيمنة في إفريقيا تتضمن السلالة الثانية II والثالثة III ، وأن السلالات غير المصنفة للطفيلي عادة ما تكون أكثر ضراوة من بقية السلالات المعروفة.

أشار بعض الباحثين إلى وجود تباين في سلالات الطفيلي بين أوروبا وشمال أمريكا، وهناك سلالات كثيرة متنوعة في جنوب أمريكا ولا سيما منطقة الامازون، فقد افترض أن التبادلات الجينية المتكررة لهذا الطفيلي ولدت مجموعة متنوعة وواسعة من الطرز الجينية المختلفة ، إذ تم عزل النوع الثاني II في

تشيلي والبرازيل، وكان مشابهاً لما وجد في جنوب أمريكا (Ajezenberg *et al* 2004; Pena *et al*, 2008). في حين تبين أن عزلات الطفيلي من البرازيل كانت تختلف جينياً عن تلك الموجودة في أمريكا الشمالية وأوروبا (Ferreira *et al*, 2006).

7-2: الوبائية Epidemiology

تعد الاصابات الطفيلية من الأمراض المنتشرة بين جميع الاصابات البشرية المزمنة في جميع أنحاء العالم أذ تصيب ما يقدر بنحو 3.5 مليار شخص وتسبب اعتلالاً سريرياً في حوالي 450 مليون شخص، تعد القطط العامل الاساسي في وبائية طفيلي المقوسات الكوندية لأنها المضيف النهائي الذي يستطيع ان يطرح الى البيئة اكياس البيض المقاومة لمختلف الظروف البيئية (Dubey, 2009). ان العوامل البيئية مثل المكون الطبيعي للأرض والتغيرات المناخية مع دورة الحياة المعقدة تلعب دوراً مهماً في انتقال الطفيلي بين المضيفات المختلفة وتعتمد على كل من تركيب مجتمعات الكائنات الحية والتفاعل ما بين المضيف النهائي والمضيف الوسيط (Giraudoux *et al*, 2003), أظهرت نتائج الدراسة التي أجراها (AL-Toban *et al*. (2019) في العراق لتحديد نسبة الإصابة بطفيلي المقوسات الكوندية في مرضى السرطان باستعمال تقنية Real-time PCR كانت 8.3% للمرضى المصابين بالسرطان مقارنة بمجموعة السيطرة 0%, أجرى (Khabaz *et al*., (2011) في الأردن دراسة للتحري عن طفيلي المقوسات الكوندية في المثبتين مناعياً وباستعمال تقنية PCR بينت نتائجها موجبة بنسبة 7.5%, وفي دراسة أخرى أجريت في ليبيا لمعرفة مقدار انتشار طفيلي المقوسات الكوندية في مرضى سرطان الغدد اللمفية والوكيميا أظهرت نتائجها موجبة بنسبة 33.3% (Gashout *et al*, 2016).

أجريت دراسة في إيران عام 2013 للكشف عن الطفيلي في مرضى السرطان وباستعمال الجين *B1* كانت نتائجها موجبة بنسبة 68% مقارنة مع مجموعة السيطرة 2% (Fallahi *et al*, 2014). وكذلك بينت دراسات أخرى في إيران لتحديد انتشار طفيلي المقوسات الكوندية في مرضى السرطان بواسطة جين *B1* عام 2017 باستعمال تقنية ال PCR أظهرت نتائجها موجبة بنسبة 88% (Saki *et al*, 2017).

أجريت دراسة أخرى في إيران لمرضى سرطان الثدي للتحري عن طفيلي المقوسات الكوندية باستعمال تقنية PCR والجين *B1* كانت نتائجها موجبة بنسبة 10.3% (Kalantari *et al*., 2015). بينت دراسة لتحديد انتشار طفيلي المقوسات الكوندية في إيران كانت نتائج الدراسة موجبة بنسبة 9.78% لمرضى السرطان مقارنة بمجموعة السيطرة 5.5% (Hanifehpour *et al*, 2019). أشارت دراسة

للكشف عن طفيلي المقوسات الكوندية في مرضى السرطان المثبطين مناعياً في الصين باستعمال تقنية ال-PCR كانت نتائجها موجبة بنسبة 8.38% (Wang *et al*., 2013).

2-8: الإراضية والأعراض السريرية Pathogenesis & Clinical Features

تختلف الأعراض السريرية لداء المقوسات تبعاً لعامل الضراوة للسلالة وحجم الإصابة في الطفيلي والتركيبية الوراثية والحالة المناعية للمضيف (Montoya & Liesenfeld, 2004). وعادة ما تكون أعراض المرض غير واضحة عند الأفراد ذوي المناعة العالية والمتكاملة (Markus, 2003; Tenter *et al*., 2000) وبشكل عام فإن الجهاز المناعي يجعل الطفيلي تحت السيطرة، ومعظم الأفراد الأصحاء لا يعانون من أعراض، وقد تكون لدى الفرد أعراضاً خفيفة، مثل ألم عضلي وحمى (2004, Montoya & Liesenfeld). وبحسب Sobanski وجماعته (2013) في فرنسا، ظهرت أعراض المرض الشديد لدى الأفراد على شكل تعرق ليلي والتهاب الشبكية الشديد وفقدان الوزن والتسمم الرئوي وكان ذلك مرتبطاً بإصابة أولية بسلالة غير نمطية. وعلى العموم فإن من الأعراض الشائعة للمرض اعتلال العقد اللمفاوية التي قد تكون مصحوبة بصداغ، وحمى، وإعياء، وألم في العضلات أو البطن، وكذلك التهاب عضلة القلب والكبد فضلاً عن التخرخ الرئوي. وهناك حالات للإصابة ذات أعراض سريرية خطيرة، مثل داء المقوسات العيني، حيث تنشط الإصابة الكامنة في الأشخاص غير المؤهلين مناعياً (Tenter *et al*., 2000; Markus, 2003).

تكون الأفة المرضية الأولية هي نخر ناتج عن موت الخلايا المتطفلة. مع علامات الألتهاب الحاد ، مع تقدم المرض ، يحدث تسرب الخلايا اللمفاوية ولكن لا تتشكل الأورام الحبيبية الحقيقية ، إذا كان المضيف مسيطر على عملية تضاعف الأطوار السريعة بشكل فعال، تتم عملية استعادة الأنسجة لوضعها الطبيعي دون حدوث ندب ونخر ، وتبقى الأكياس التي تحتوي على الأطوار البطيئة طويلة العمر بدون علامات سريرية واضحة (Gillespie & Pearson, 2001)، كما أشارت أحد الدراسات امكانية طفيلي المقوسات الكوندية حدوث تنسج في الجهاز التناسلي والتصاقات غير طبيعية داخل الرحم مما يسبب العقم عند النساء (Radhi *et al*., 2022).

2-9: أنواع داء المقوسات Types of Toxoplasmosis

2-9-1: داء المقوسات الخلقي Congenital Toxoplasmosis

يحدث داء المقوسات الخلقي عندما ينتقل الطفيلي من الأم إلى الجنين عبر المشيمة إذ عندما تصاب الأم بداء المقوسات الأولية، سواء كانت مع أعراض سريرية أم بدون أعراض Asymptomatic، أثناء الحمل (Fontes *et al* ., 2019). يزداد خطر الإصابة الجنينية مع تقدم الحمل. 25% عندما تكتسب الأم

الإصابة الأولية في الثلث الأول من الحمل إلى 65% في الثلث الثالث من الحمل، على العكس من ذلك تكون شدة الضرر أعلى عندما تنتقل الإصابة في بداية الحمل ، الأمهات المصابات بالمرحلة المزمنة أو الكامنة المكتسبة في وقت مبكر لا تصاب أجنهن عادة ولكن في بعض النساء المصابات بالمرحلة الكامنة أو المزمنة يمكن إعادة تنشيط كيس الأنسجة أثناء الحمل وتحرير الأطوار السريعة ، والتي قد تصيب الجنين في الرحم معظم الأطفال المصابين لا تظهر عليهم أعراض عند الولادة وقد تبقى مدى الحياة، تظهر لدى البعض 0.3-1% مظاهر سريرية في غضون أسابيع وشهور وحتى سنوات بعد الولادة ، تشمل مظاهر داء المقوسات الخلقي: التهاب المشيمية والشبكية والتكلسات الدماغية Calcifications cerebral والتشنجات Convulsions والحوّل Strabismus والصمم Deafness والعمى Blindness والتخلف العقلي Mental retardation وصغر الرأس Microcephaly واستسقاء الرأس Hydrocephalus ، يولد عدد قليل من الأطفال بمظاهر داء المقوسات الحاد والتي قد تشمل الحمى Fever واليرقان Jaundice ، والطفح الجلدي المنتشر Petechial rashes وصغر العين Microphthalmia وإعتام عدسة العين Cataract واعتلال العقد اللمفية Lymphadenopathy وتضخم الكبد والطحال Hepatosplenomegaly والتهاب عضلة القلب Myocarditis .Ghosh(2018).

2-9-2: داء المقوسات العيني Ocular Toxoplasmosis

يصيب داء المقوسات العيني الحجرة الخلفية للعين وتلت حالات الإصابة تكون قبل الولادة ويمكن أن تحدث كذلك بعد الولادة (Cardozo *et al.*, 2018) فضلا عن ذلك فإن خطورة الإصابة بداء المقوسات العيني يعتمد على شدة الالتهاب وطول فترته، إن أكثر الأعراض شيوعا بداء المقوسات العيني التهاب الشبكي المشيمي الحاد وعادة تكون الإصابة من دون أعراض وفي حالات قليلة تسبب ضعف البصر أو المياه الزرقاء مما يؤدي إلى العمى في بعض الحالات (Naranjo Valladares *et al.*, 2020). يحدث تأثير الإصابة بصورة مباشرة أو بعد فترة من حدوث الإصابة وقد تؤدي الإصابة إلى كل من التهاب العين، البؤبؤ، والقزحية الأمامية (Murata *et al.* , 2020).

2-9-3: داء المقوسات في المرضى ذوي النقص المناعي

Toxoplasmosis in Immunocompromised patients

يعد داء المقوسات هو الأخطر والأكثر فتكاً في المرضى الذين يعانون من نقص المناعة ، ولا سيما في مرضى الإيدز AIDS ، سواء كان ذلك بسبب إعادة تنشيط الإصابة الكامنة أو اكتساب الإصابة

الجديدة تكون إصابة الدماغ أكثر شيوعاً عند هؤلاء المرضى ، وتشمل المظاهر السريرية التهاب الدماغ Encephalitis والحالة العقلية المتغيرة Altered mental state والنوبات Seizures . علامات المخيخ Cerebellar signs التشنج السحائي Meningismus والمظاهر العصبية والنفسية neuropsychiatric manifestations وإصابة الجهاز العصبي المركزي central System nervous والأعضاء الأخرى المصابة هي الرئتين Lungs و البنكرياس Pancreas ، والجهاز الهضمي Gastrointestinal tract والعينين Eyes والقلب Heart والكبد liver (Ghosh,2018).

4-9-2: داء المقوسات المكتسب Acquired Toxoplasmosis

تتحكم كل من الاستجابات المناعية الخلوية والخلوية في الإصابة عند الاشخاص ذوي المناعة غالباً ما تكون الإصابة المكتسبة بعد الولادة بدون أعراض ، أكثر مظاهر داء المقوسات الحاد شيوعاً هو اعتلال العقد اللمفية Lymphadenopathy ، تكون الغدد الليمفاوية العنقية هي الأكثر إصابة ، غالباً ما توجد حمى وصداع وألم عضلي وتضخم في الطحال وقد يشبه المرض الأنفلونزا الخفيفة إذ تشفى ذاتياً وعادة ما تزول الإصابة الحادة في غضون عدة أسابيع على الرغم من أن تضخم العقد اللمفية الذي يستمر لبضعة أشهر، في بعض الحالات قد يكون هناك طفح يشبه طفح جلدي مصحوباً بالتهاب رئوي والتهاب عضلة القلب والتهاب السحايا والدماغ والذي قد يكون قاتلاً (Ghosh, 2018 ; Sastry & Bhat ,2014).

10-2: تشخيص داء المقوسات Diagnosis Toxoplasmosis

يتم التشخيص عن طريق عدة طرائق حيوية، مصلية، نسجية، أو بواسطة مزج بين هذه الطرائق. أن العلامات السريرية لداء المقوسات غير نوعية ولا يمكن أن تعتمد للتشخيص النهائي للطفيلي (Dubey,2022). فضلاً عن إمكانية عزل الطفيلي من المرضى بواسطة حقن الحيوانات المختبرية والمزارع النسجية (Pardini et al ., 2014). الأفرزات، المواد الأبرازية، السوائل الجسمية والأنسجة التي تأخذ بواسطة الخزعة Biopsy، على سبيل المثال العقد اللمفاوية أو الأنسجة العضلية ممكن تعتمد كمحاولات لعزل الطفيلي أن سائل نخاع الشوكي من الأطفال المصابين خلقياً والذين يعانون التهاب الدماغ أو تضخم العقد اللمفاوية كما يعد مصدراً جيداً لعزل الطفيلي، ينجز التشخيص السريع بواسطة الفحص المجهرى لمسحات مصبغة بصبغة كيمزا Giemsa stain (Dubey , 2022).

10-2-1: الاختبارات المصلية Serologic Tests

يمكن الكشف عن الأضداد النوعية للطفيلي Specific antibodies عن طريق الاختبارات المصلية لأن العديد من الطرائق المصلية تستعمل للكشف عن الأضداد في الدم الكلي والمصل والبلازما والحليب و السوائل الجسمية و عصارة اللحم، وتشمل هذه الاختبارات Sabin-feldman Dye test(DT) والتلازن الدموي غير المباشر Indirect hemagglutination(IHA) الكشف عن الأضداد الومضي غير المباشر Indirect antibody fluorescent واختبار تلازن لاتكس Latex agglutination واختبار الأدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم Enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)، جميع هذه الاختبارات تستعمل لكشف IgG و IgM للطفيلي. بالرغم من أن الأضداد ممكن أن تحفظ في درجة حرارة منخفضة (20-) أو اقل لكن ممكن أن تبقى قابلة للكشف لأسابيع أو أشهر في درجة حرارة الغرفة (Dubey, 2022).

10-2-2: اختبار الصبغة Dye test

يعد واحدا من الاختبارات الأكثر تحديداً للتشخيص النهائي للطفيلي، إذ أن اختبار الصبغة اساساً يعد نوعاً محايداً بواسطة تفاعل الأجسام المضادة مع المستضد في هذا الاختبار، يتم حضان الأطوار السريعة الحية مع أحد مكونات المتمم Complement البشري ويتم إضافة مصل الاختبار عند 37 درجة مئوية لمدة ساعة واحدة وتضاف صبغة الميثيلين الزرقاء. لا تتأثر الأطوار السريعة بالأجسام المضادة بشكل موحد مع الميثيلين الأزرق. تحفز الأجسام المضادة النوعية تحلل الأطوار السريعة بواسطة المتمم ويتسرب السيتوبلازم. ونتيجة لذلك الأطوار السريعة المتأثرة بالأجسام المضادة سوف لا تصطبغ بصبغة الأزرق الميثيلين وتظهر كأشباح وبذلك يسهل التعرف على الأطوار الميتة والحية (Dubey , 2022).

10-2-3: اختبار التلازن الدموي غير المباشر Indirect hemoagglutination test (IHAT)

يستعمل هذا الاختبار لتشخيص داء المقوسات السريري لكن بشكل محدود، إذ يشمل استعمال مستضد ذائب مأخوذ من الطور السريع على سطح مطلي بكريات الدم المتحسسة Red blood corpuscles (R.B.Cs) ويتم التلازن بوجود مصل مناعي يتوفر هذا الاختبار بشكل عدد فحص kits تجارية. وكذلك ممكن ان يستعمل بشكل أساسي في الدراسات المسحية الوبائية، ممكن ان يعطي نتائج سلبية في كثير من الأحيان في داء المقوسات الخلقي. على الرغم من أن هذا الاختبار بسيط من حيث المبدأ لكن المتغيرات التقنية تجعل استعماله غير عملي (Dubey, 2022).

4-10-2: اختبار التلازن المحور (MAT) Modified Agglutination test

ساعد تطوير اختبار التلازن المباشر البسيط بشكل كبير في التشخيص المصلي لداء المقوسات في الإنسان والحيوانات الأخرى. لا يحتاج هذا الاختبار إلى معدات خاصة أو متطلبات تم إعادة تسميته من قبل ثلاثة باحثين Remington و Dubey و Desmonts الذين أطلقوا عليه اسم MAT (Desmonts & Remington, 1980). أن المعيار الحجمي Titer في الاختبار موازي للمعيار الحجمي في اختبار الصبغة على حد سواء في الأمصال البشرية وفي الحيوانية. تم التحقق من صحة حساسية وخصوصية هذا الاختبار بوساطة مقارنة البيانات المصلية وعزل الطفيلي من الخزائر المصابة بشكل طبيعي وتجريبي. في اختبار التلازن المحور يتم معاملة الأمصال مع مادة 2-Mercaptoethanol لإزالة IgM غير النوعية أو مواد تشبه IgM يكشف هذا الاختبار فقط الأجسام المضادة IgG؛ لذلك قد يعطي نتائج سلبية كاذبة خلال المراحل المبكرة من الإصابة الحادة (Martins *et al*., 2021).

5-10-2: اختبار التآلق المناعي غير المباشر IFAT**Indirect fluorescent Antibody test**

يتم في اختبار التآلق المناعي غير المباشر التقليدي حضان الأطوار السريعة المقتولة مع المصل ويتم الكشف عن الأجسام المضادة عن طريق إضافة IgG غير نوعي معلم مع صبغة ومضية أو الكلوبولين المناعي الكامل) ويتم الكشف عنه باستعمال المجهر الومضي Flurescent microscope تتوافق معايرة هذا الاختبار بشكل عام مع اختبار التلازن المحور. من سلبيات هذا الاختبار أنه يحتاج إلى مجهر ومضى ومواد اقتران نوعية ويحدث تفاعل تصالبي مع عامل الروماتيزم (Rheumatoid factor RF) والأجسام المضادة ضد النووية Anti-nuclear antibodies (ANA) تم تطوير هذا الاختبار للكشف عن الأجسام المضادة IgM في الأطفال المصابين بشكل خلقي لأن الأجسام المضادة IgM الأثقل لا تعبر المشيمة، في حين أن الأجسام المضادة IgG الأخف يمكن أن تعبر المشيمة البشرية. ومع ذلك، يكشف هذا الاختبار 75% فقط من الأصابات الخلقية بسبب نتائج إيجابية كاذبة نتيجة حدوث تفاعل تصالبي مع الأجسام المضادة ضد النووية وعدم وجود خصوصية الكواشف بسبب تلوث IgM المترافق مع IgG وتأخر تخليق الأجسام المضادة في الطفل والتأثير الكابح لـ IgG المنقولة بشكل سلبي. يمكن التغلب على بعض هذه المشاكل عن طريق فصل IgM عن IgG من RF والأجسام المضادة ضد النووية عن طريق الترشيح (Dubey, 2022).

6-10-2: اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)

Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ويشمل نوعين من الاختبارات:

1- اختبار **ELISA-IgG**: يعد هذا الاختبار من أكثر الاختبارات دقة، والذي يستعمل للكشف عن الكلوبولين المناعي المتخصص IgG، وفيه يستخدم الطفيلي بأكمله أو مستضداته الذائبة (kasper, 1983)، أذ يتم لصق المستضد على السطح الداخلي للحفر المصنعة من البولسترون والمرتبة بشكل صفائح لقياس المعيارية. وعند إضافة المصل المراد اختباره في الحفر تلتصق الأضداد الموجودة فيه على المستضد الملتصق على الحفر، فيتم الكشف عن الأضداد المرتبطة مع المستضد بإضافة الكلوبولين المناعي المضاد والمعلم بالأنزيم، فيتم القياس الكمي للأنزيم بإضافة المادة الأساس وتفاعله معها ليعطي اللون الذي يمكن قياس شدته الذي يتناسب طرديا مع كمية الأضداد المرتبطة.

2- اختبار **ELISA-IgM**: تقنية جديدة للتحري عن الكلوبولين المناعي المتخصص IgM التشخيص داء المقوسات، يتم لصق مضاد الكلوبولين المناعي IgM على السطح الداخلي لحفر قياس المعيارية وإضافة مصل المريض الحاوي على أضداد الكلوبولين IgM أذ يحصل الارتباط بين المستضد والضد، ويكشف عن IgM بإضافة مستضد الطفيلي المعلم بالأنزيم الذي سوف يلتصق بالضد. تضاف المادة الأساس للأنزيم وتتفاعل معه ليعطي اللون الذي يمكن قياس شدته الذي يتناسب طرديا مع كمية الأضداد الموجودة في المصل المراد تشخيصه (Mcleod & Remington, 2000) يمتاز هذا الاختبار بحساسيته وتخصصه العالي للكشف عن الأضداد المتخصصة في المرضى المصابين بداء المقوسات وفي النساء المجهضات بسبب الإصابة بالطفيلي.

7-10-2: اللطخة المناعية Western Blotting

يتم استعمال اللطخة المناعية كاختبار ثابت نوعي للمصابين الذين ليس لديهم اختبار مصلي معتمد. باختصار، تخضع العينة لتمسخ البروتين، يليها الترحيل الكهربائي للهلام. يتم إنشاء اصطناعي أو مشتق من الحيوانات (يعرف باسم الجسم المضاد الأولي Primary body) الذي يتعرف على بروتين مستهدف محدد ويرتبط به. يُغسل غشاء الترحيل الكهربائي في محلول يحتوي على الجسم المضاد الأولي قبل غسل الجسم المضاد الزائد. يضاف جسم مضاد ثانوي يتعرف على الجسم المضاد الأولي ويرتبط به الجسم المضاد الثانوي يكشف عنه بواسطة عدة طرائق على سبيل المثال التصبيغ، التآلق المناعي، والنشاط الإشعاعي، مما يسمح بالكشف غير المباشر عن البروتين الهدف المحدد. يمكن استعمال هذا الاختبار

كعامل مساعد في الاختبارات المصلية التقليدية الموصوفة سابقاً. تم وصف إجراء متدرج للتخثر المناعي immunobloting سابقاً لتشخيص الإصابة ذات الصلة بداء المقوسات (Dubey *et al.*, 2017).

2-10-8: اختبار الألفة Avidity Tests

يعد هذا الاختبار من الاختبارات القياسية التي يتم فيها استبعاد الإصابة القديمة، وذلك لكون الكلوبولين المناعي IgM ذي الألفة الواطئة للارتباط مع المستضدات يشير إلى الطور الحاد من الإصابة، فتكون عادة شراة ضعيفة بعد 3 أشهر من الإصابة (Montoya *et al.*, 2002). بينما يكون الكلوبولين المناعي IgG ذو الألفة العالية للارتباط مع المستضدات مشيراً إلى الطور المزمن من المرض. بهذه الطريقة من الممكن تمييز الطور الحاد عن المزمن باستعمال عينة مصلية واحدة الخمج (Liesenfeld, 2002).

2-10-9: اختبار الكشف السريع Rapid Tests

تم استعمال طرائق التشخيص السريع المختلفة لعينات الدم الكلي أو المصل للكشف عن الأجسام المضادة في الحيوانات والبشر (Song *et al.*, 2021) هذه الاختبارات سهلة وسريعة لا تتطلب معدات متخصصة ويمكن إجراؤها في العيادات الطبية والبيطرية (Lykins *et al.*, 2018). يتم طلاء المستضدات أو الأجسام المضادة على شرائح غشاء النيتروسليلوز، والتي تترشح ببطء عن طريق الخاصية الشعرية، عند الوصول إلى منطقة الارتباط، عندئذ سيتشكل المعقد المناعي ويظهر بشكل تغير لوني (Dubey, 2022).

2-10-10: الكشف عن DNA الطفيلي

يمكن الكشف عن الحمض النووي DNA للطفيلي بواسطة تفاعل PCR. عبر العديد من المؤشرات المختلفة، ولكن يتم استعمال الجين *BI* بشكل متكرر لهذا الاختبار. ان سلبيات استعمال جين ذو نسخة واحدة كهدف يكون قليل الحساسية مقارنة مع جينات ذات تسلسلات متكررة، ومع ذلك يمكن تعويض ذلك إلى حد ما عن طريق تفاعل PCR المتداخل (Nested-PCR) تعد علامة التكرار التي تبلغ 529 نقطة أساساً أكثر حساسية بنسبة 10-100 مرة من جين *BI*. تتمثل ميزة اختبار real-time PCR في التقدير الكمي الحمض النووي للطفيلي. بشكل عام، يعد هذا الاختبار حساس للغاية (يمكنه اكتشاف الحمض النووي لطور واحد Tachyzoite)، وهو محدد، ويمكن أن يوفر تشخيصاً سريعاً. وهو الأكثر ملاءمة للعينات السريرية. انتقال التلوث هو مصدر قلق كبير. ومع ذلك، فإن طرائق الكشف المذكورة

PCR التقليدية و N-PCR و qPCR لتسلسل الحمض النووي المتكرر) لا تقدم أي معلومات تتجاوز التشخيص الإيجابي (Su & Dubey, 2020).

11-10-2:تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)

وصفت هذه التقنية لأول مرة عام 1985 بواسطة العالم Kary Mullis، وتم تطويرها في ما بعد بواسطة Burg وجماعته عام 1989 للكشف عن *T.gondii*، واستهداف الجين *BI*، وتعد بمثابة تقنية عصرية في علم الأحياء الجزيئي، ولها صدى كبير في البحوث العلمية وفي التحري عن وجود الطفيلي في أنسجة الإنسان والحيوانات المصابة (Sousa et al., 2008). وهي واحدة من أكثر طرائق التشخيص حساسية، وذات تحديد سريع و عال إذ تعتمد على الحمض النووي المحدد لطفيلي المقوسات (Morelle et al., 2012). وبحسب الدراسات الأولية فقد تم التحقق من حساسية هذه التقنية أكثر من 100%، ثم ذكرت دراسات لاحقة أن الدقة تعتمد على الجين المستهدف ومدة الإصابة (Petersen, 2007).

يتم بواسطة تقنية الـPCR تضخيم مقطع أو جزء متناهي في الصغر من جين مفرد معين في سلسلة الحمض النووي DNA، مع استعمال كمية قليلة من البوادي الى مزيج معقد، وأعداد هائلة من تسلسلات الجينات التي يمكن مشاهدتها على هلام الأغاروز، وهي طريقة فعالة في المختبر ويمكن من خلالها الكشف عن وجود طفيلي واحد، إذ تتميز بخصوصيتها العالية في التشخيص السريع والمبكر للإصابة مقارنة مع الاختبارات المصلية التي تستدعي حصول الاستجابة المناعية للفرد ; Sousa et al., 2008 (Behazad et al., 2004). وتم فيما بعد تطوير هذه التقنية لتحديد كمية الحمض النووي أثناء عملية التضخيم وهو ما يعرف باسم Real Time PCR (Macky et al., 2002). وأصبح بالإمكان تحديد تراكيز منخفضة من الحمض النووي DNA المستهدف وتحديد نسخ البداية من قالب الحمض النووي المحدد وقياس بيانات التضخيم في أثناء التشغيل بعد كل دورة باستعمال اصباغ الفلورسنت المشعة (Kasper et al., 2009).

تمت مقارنة تفاعل سلسلة البلمرة التقليدي Conventional PCR مع تفاعل البلمرة الحقيقي Real Time PCR فإن تفاعل البلمرة الحقيقي يعد أكثر سرعة وحساسية ودقة، إذ يستهدف جين *BI* لتحديد عدوى داء المقوسات ما قبل الولادة، من السوائل المحيطة بالجنين، بحيث يسمح بالتشخيص في الوقت المناسب، وإعطاء العلاج الكافي ومكافحة الإصابة (Delhaes et al., 2013; Wallon et al., 2010).

يتم استعمال مجموعتين متتاليتين من البادئ في تقنية الـ Nested PCR ، وتستعمل منتجات التفاعل الأول كقوالب للتفاعل الثاني ، لكي يعطي الجين الهدف ، وهذه التقنية أكثر حساسية من اختبار تفاعل سلسلة البلمرة التقليدي Conventional PCR ، وهو بمثابة تعديل لتفاعل سلسلة البلمرة التقليدي للحصول على خصوصية عالية للمنتج المضخم ، حتى مع وجود أعداد كبيرة من النسخ ويتم الحفاظ على منطقة الجين *BI* إلى حد كبير في جميع سلالات الطفيلي، إذ يُظهر هذا الجين حساسية وخصوصية عالية، بالمقارنة مع الجينات الأخرى ، وبسبب هذه الخصائص تم التركيز على هذا الجين في انتشار داء المقوسات (Bajwa et al., 2014). وبحسب دراسة فرنسية أجريت لمجموعة من العينات المأخوذة من السائل المحيط بالجنين Amniotic fluid ثبت تأكيد الارتباط الموجب بتقنية الـ PCR مع المرض كما تم عزل الطفيلي من الدم والسائل النخاعي (Thulliez, 1992). وفي المرضى المثبتين مناعياً الذين لا يمكن استعمال الفحوصات المصلية معهم، بسبب انخفاض مستوى الاضداد لديهم فإنه يتم استعمال هذا الفحص في الكشف عن الإصابة بطفيلي المقوسات الكوندية (Hierl et al., 2004).

تعد تقنية (PCR-restriction fragment length polymorphisms PCR-RFLPs) كأحد الطرق الجزيئية للكشف عن طفيلي المقوسات الكوندية *T.gondii* قد ثبت أن لها حساسية مرضية (Dubey et al., 2007). تم استعمال اختبار PCR-RFLPs على نطاق واسع لتصنيف العينات الإيجابية المعزولة سريريًا، كما تم استعماله لتحديد التنوع الجيني و لـ (Zhou et al., 2013)، أحد المخاوف المتعلقة بهذا الاختبار هو أنه قد يتم إنتاج نتائج غير صحيحة إذا حدث تلوث في الدورات المبكرة من اختبار تفاعل الـ PCR ولمنع هذا الخطأ، يجب استعمال عنصر تحكم سلبي في كل تجربة (Liu et al., 2015).

2-10-12: المقاطع النسجية Tissue sections

في هذا النوع من الفحص يظهر الطور سريع التكاثر والطور بطيء التكاثر في المقاطع النسيجية المأخوذة من الأنسجة المصابة والمصبوغة بصبغة الهيماتوكسولين - أيوسين، كما يظهر الطور السريع التكاثر في الفحص المجهرى المباشر للدم والسوائل الجسمية وسائل النخاع الشوكي والقشع والسائل المحيط بالجنين Amniotic fluid، أما الأكياس النسيجية فتوجد في أنسجة المشيمة والدماغ (Dubey, 2004). وإن استعمال بعض الصبغات مثل صبغة Romanovsky، وصبغة Giemsa، وصبغة Wrights تحدد الطفيلي، إذ يظهر في مجموعات صغيرة وقليلة الاستطالة وذات أجسام نووية مفلطحة داخل الخلية المصابة ويمكن رؤية الطفيلي في أنواع مختلفة من الخلايا، مثل الخلايا البطانية، والخلايا الليفية، وخلايا الكبد، والخلايا البلعمية، وخلايا الجهاز العصبي المركزي (Dubey, 2009).

وعلى الرغم من ذلك فإنه لا يمكن الاعتماد على الفحص النسيجي في مثل هكذا إصابات لأن الطفيلي قد لا ينتشر بشكل متساوٍ في الأنسجة (Cenci-Goga *et al.*, 2011).

11-2 : السرطان Cancer

يشير السرطان إلى أنواع واسعة من الأمراض التي تتميز بانقسام الخلايا غير الطبيعي وغير المتحكم فيه، والذي تنتقل إليه هذه الخلايا وتدمر الأنسجة الطبيعية بوساطة قدرتها على الانتقال إلى أعضاء أخرى من خلال مجرى الدم (Van Thun *et al.*, 2020).

وتكون الأورام على نوعين:

1- الأورام الحميدة Benign tumors : وهي كتلة من الخلايا التي لا تنتشر إلى الأنسجة المجاورة أو أنحاء الجسم الأخرى مقارنة بالأورام الخبيثة السرطانية وتتميز الأورام الحميدة عموماً بمعدل نمو أبطأ (Pilarski, 2019) وقد تكون بعض أنواع الأورام الحميدة ضارة بالصحة ويتسبب نمو الورم الحميد بالضغط على الأنسجة والأعضاء المجاورة، وهناك كثير من أنواع الأورام الحميدة لديها القدرة على أن تتحول إلى خلايا سرطانية بوساطة عملية تعرف باسم تطور الورم ولهذا يجب إزالة الأورام الحميدة عن طريق العمليات الجراحية وعادة لا تعود الأورام الحميدة عند إزالتها إلا أن هناك بعض الاستثناءات وتتحول الأورام الحميدة إلى أورام خبيثة (Charifa *et al.*, 2019).

2- الأورام الخبيثة Malignant tumors وهي أورام خطيرة تمتاز باجتياحها للأنسجة والأعضاء الأخرى من الجسم وتحتوي الأورام الخبيثة على خلايا تنمو بشكل لا يمكن السيطرة عليه وتنتشر إلى الأنسجة والأعضاء المجاورة ، وبعض الخلايا ضمن الورم تنفصل وتنتشر إلى مواقع بعيدة عن طريق الدم أو الجهاز اللمفاوي وتسمى بعملية الانتشار أو انتقال الورم Metastasis، كما تتميز الأورام الخبيثة بأنها تمتلك طفرات تتراوح ما بين (10000-100000) طفرة (Duclou Lebon *et al.*, 2022).

يعد السرطان مشكلة صحية رئيسة في جميع أنحاء العالم وهو السبب الرئيسي الثاني للوفاة على مستوى العالم قبل سن 70 عاماً (Bray *et al.*, 2018) وهو مسؤول عن ما يقرب من 9.6 مليون حالة وفاة في عام 2018، ومن المتوقع أن يرتفع هذا العدد إلى (24) مليون بحلول عام 2025، إذا لم تتخذ الإجراءات اللازمة والأساسية لخفض معدل الوفيات وهي التشخيص المبكر والعلاج والوقاية من المرض

(WHO,2018) هناك العديد من أنواع السرطانات التي تصنف حسب موقعها في النسيج المصاب و منها:

- 1- Carcinoma: وهو سرطان ينشأ في الجلد وفي الأنسجة الظهارية المبطننة للأعضاء الداخلية مثل نسيج الثدي.
- 2- Lymphoma: وهو نوع من السرطان الذي ينشأ في الخلايا اللمفاوية.
- 3- Leukemia: هو سرطان ينشأ في خلايا الدم كما في خلايا الدم البيضاء (سرطان الدم).
- 4- Sarcoma: هذا النوع من السرطان يؤثر في الأوعية الدموية والعضلات وفي الأنسجة الضامة الأخرى والغضاريف والعظام (Lam,2006).

2- 12: العلاقة بين الإصابات الطفيلية ومرض السرطان

The Relationship between parasitic infection & cancer

قادت التطورات الحديثة التي طرأت في حقول علم الاحياء الجزيئي وعلم الأوبئة إلى إجراء العديد من الدراسات والبحوث بهدف توضيح العلاقة المحتملة بين العوامل الممرضة ومرض السرطان وقد تمخضت عن معلومات قيمة بصدد الاساس الجزيئي لعملية حدوث السرطان. لقد قدر أن أكثر من 20% من الإصابات السرطانية في العالم تعزى الى العوامل الممرضة بضمنها الطفيليات مما يشير إلى حقيقة أن بعض الاصابات السرطانية من الممكن علاجها (Khurana et al., 2005).

تشير بعض الدراسات إلى أن هناك عددا من الطفيليات التي هي من المسببات الحقيقية لبعض الأمراض السرطانية ومن أهم هذه الطفيليات هي المنشقة الدموية البولية *Schistosma haematobium* وبعض الديدان المسطحة الكبدية مثل : الدودة الكبدية الآسيوية *Opistharchis viverrini* ، ودودة الكبد الصينية *Clonorchis sinensis* ، ودودة الخنازير الشريطية (الدودة الوحيدة) *Taenia solium* فضلاً عن الحيوانات الابتدائية، مثل: المشعرات المهبلية *Trichomonas vaginlis* ، والمقوسات الكوندية (Smout et al., 2015; Sankar, 2015; Khurara et al., 2005) لقد لوحظ أن حوالي عشرة ملايين شخصاً في تايلند ولاوس هم مصابين بالدودة الكبدية الآسيوية (Sripa et al., 2012; Smout et al., 2011). تعيش هذه الدودة في القنوات الصفراوية وإن الإصابة بها لها علاقة قوية جدا بحدوث سرطان القنوات الصفراوي (Sripa et al.,2007) *Cholangiocarcinoma*.

صنفت الوكالة الدولية لبحوث السرطان ضمن منظمة الصحة العالمية الإصابة بهذه الدودة ضمن المجموعة الأولى لمسببات السرطان وتشير بعض الدراسات إلى إن الإصابة بهذه الدودة مسؤولة عن

حوالي 81 % من سرطانات الكبد في المناطق الموبوءة ; Sripa et al., Parkin et al., 2005; (Sriomorn et al., 2004). أما سرطان القنوات الصفراوية نتيجة للإصابة بالدودة الكبدية الصينية فقد وجد بمعدلات عالية في كل من كوريا الجنوبية وفي بوسوان (Shin et al., 1996).

صنفت المشعرة المهبليّة أنها طفيلي ابتدائي يسبب مرض يعرف بـداء المشعرات Trichomoniniasis الذي ينتقل عن طريق الاتصال الجنسي ومن أعراضه المهمة التهاب المهبل في النساء والتهاب الاحليل في الرجال وهناك بعض الدراسات تشير إلى أن هناك علاقة قوية بين الإصابة بالمشعرة المهبليّة والإصابة بسرطان عنق الرحم (el-wikel et al., 2002). في حين شخصت على أنها المسبب الرئيسي لسرطان غدة البروستات في الرجال (Stark et al., 2009).

يكون الإنسان مضيفاً وسطياً ونهائياً في آن واحد لدودة الخنزير (الدودة الوحيدة) *Taenia solium* وأن يرققات (الكيسيات المذنبة *Cysticerci*) هذه الدودة تسبب مرض يعرف بـداء الكيسيات *Cysticereosis* وتشير بعض الدراسات الى أن الكيسيات المذنبة تسبب الأورام الدماغية *Cerebral glioma* عند تواجدها بالدماغ (Del Brutto et al., 2000).

غدت المنشقة البولية *S. haematobitum* من قبل منظمة الصحة العالمية على أنها من مسببات مرض السرطان وتشكل مصدراً للخطر على البشرية كما تُعد من قبل الوكالة الدولية لبحوث السرطان على أنها مسبب حقيقي لسرطان المثانة البولية (Pisani et al., 1997). وفي الصين واليابان، لوحظ أن الإصابة بالمنشقة اليابانية *J. haematobitum* تسبب سرطان الخلايا الكبدية *Hepatocellular carcinoma* (Ishii et al., 1994).

أشارت بعض الدراسات الى ان الاشخاص المصابين بمرض الأكياس العدرية يكونوا أكثر عرضة للإصابة بالأورام السرطانية (Vajdic & Leeuwen van, 2009; Vuitton, 2003) ويمكن أن يعزى ذلك الى ردود الفعل التي يبدئها المضيف تجاه الإصابة بالأكياس العدرية (Nguyen et al., 2009). وقد أثبتت دراسة قام بها Zhang وجماعته (2008) أن هناك ارتباطاً وثيقاً بين الإصابة بمرض الأكياس العدرية والسرطان.

2- 13: علاقة داء المقوسات الكوندية بالسرطان

Relationship between toxoplasmosis & cancer

أوضحت الدراسات السابقة وجود علاقة بين مسببات الأمراض المعدية ومنها الأمراض الطفيلية ببعض امراض السرطان وأشارت تلك الدراسات إلى إمكانية الطفيلي على استحداث نشوء الأورام

السرطانية (Kharana *et al.*,2005) فحال دخول الطفيلي إلى جسم المضيف فان بعض هذه الأطوار السريعة التكاثر تتحول إلى الطور البطيء ويتكيس ولذلك يطلق عليه بالمتكيس (Weiss & kim,2000) وخلال الإصابة المزمنة بهذا الطفيلي فإن الخلايا المضيئة له تكون بيئة ملائمة لنموه وتكاثره وبقاءه وخلال ذلك فان الطفيلي يفرز مواد بروتينية والتي تم تشخيص وجودها في نواة الخلايا المضيئة مما يقترح أن الطفيلي يعمل على تنظيم وتحوير اليعاز والتعبير الجيني للخلية المضيئة بما يناسبه (Carruthers & Lalibertye,2008) وقد أشارت دراسة سابقة إلى امكانية الطفيلي في التسبب في حدوث السرطان في الحيوانات المختبرية (Weiss & kim,2000) .

اظهرت دراسة أخرى إلى أن الإصابة بالطفيلي ازدادت بمقدار الضعف عند الاشخاص المصابين بسرطان الدماغ مقارنة مع الاشخاص الأصحاء (Thomas *et al.*,2012), وفي دراسة في فرنسا بينت أن معدل الوفاة بالسرطان ارتبطت بعلاقة طردية مع الإصابة بداء المقوسات الكوندية (Vittecoq *et al.*,2012)، فضلا عن دراسات أخرى عن تحديد العلاقة بين داء المقوسات الكوندية وبين السرطان ومنها تلك الدراسة التي اجريت من قبل (Ghasemian *et al.*,2007)، والتي درس فيها مستوى الاجسام المضادة للطفيلي في مرضى السرطان في مدينة اصفهان في ايران فكانت نسبة وجود الاجسام المضادة للطفيلي نوع IgG بين مرضى السرطان 2-45% مقارنة ب 5.36% السيطرة (الأصحاء).

بين *et al.* Ajzenberg (2009) أن التحليل الجيني لـ 88 عينة مأخوذة من أفراد مثبطين مناعياً بين أن عامل المضيف المثبط مناعياً يلعب دوراً مهماً كعامل مساعد في الإصابة بداء المقوسات الكوندية، إذ تزداد احتمالية إصابة المثبطين مناعياً بداء المقوسات وحساسيتهم للمرض والعلاج، وباستعمال الطرائق المصلية والجزيئية لتحديد انتشار الطفيلي عند الاطفال المصابين بالسرطان وجد ان 8.2% من العينات كانت موجبة بالنسبة لـ IgM و 86 كانت موجبة بالنسبة لـ IgG فيما كانت الإصابة الموجبة 2% عند استعمال الطرائق الجزيئية بالنسبة لـ IgG (Fallah *et al.*,2008).

بين (Ahmad Pour *et al.*,2015) في استعراض لعدد من الدراسات حول علاقة داء المقوسات الكوندية بين المرضى المثبطين مناعياً في ايران أن نسبة الإصابة للمرضى الذين تم زراعة الاعضاء لهم كانت 1.55% فيما كانت بين الاشخاص المصابين بالأيذز (50.5%) أما في مرضى السرطان فكانت 45.6%. وفي دراسة لحالة شخص مصاب بسرطان الرئة تبين ارتفاع مستوى IgG و IgM لداء المقوسات في هذا الشخص (Nianhong, 2015).

بينت (Aabasian *et al.*,2016) وجود علاقة بين داء المقوسات الكوندية والإصابة بسرطان الثدي فضلا عن وجود علاقة قوية بين هرمون الاستروجين وداء المقوسات الكوندية عند النساء

المصابات بسرطان الثدي وقد اقترحت الدراسة اجراء فحص دوري لداء المقوسات عند المصابين
بالسرطان لما لهذا الطفيلي من تأثير كبير عند المرضى غير المؤهلين مناعيا.

14-2: سرطان الثدي Breast cancer

يعد سرطان الثدي مصدر قلق بين النساء عالمياً بسبب ارتفاع معدل الإصابة والوفيات. فاحتمالية
البقاء على قيد الحياة مدة خمس سنوات في حال وجود النفاثات أقل من (30%) حتى مع العلاج الكيميائي
المساعد، ووفقاً للبيانات الصادرة عن الوكالة الدولية لأبحاث السرطان International Agency for
Research on Cancer (LARC) عام 2021 من (185) دولة عن وجود (2.3) مليون حالة جديدة
بنسبة (11.7%) وبلغ معدل الوفيات 6.9 % (Bray et al., 2018).

عندما يصاب الإنسان بسرطان الثدي تصبح خلايا أنسجة الثدي منقسمة ومتغيرة بشكل غير طبيعي
في البداية، مما ينتج عنه كتلة ورمية Lump، ويقتصر النمو السرطاني على القناة أو الفصيص ضمن
الثدي، دون أن يسبب أية أعراض، ويشكل احتمالاً ضئيلاً جداً للتحويل إلى ورم خبيث ولكن مع مرور
الوقت، تتطور هذه السرطانات الموضعية (Stage 0) ومن ثم تغزو أنسجة الثدي المحيطة لتشكل
سرطاناً غازياً Invasive Breast Cancer، وقد تنتشر إلى الغدد اللمفاوية القريبة أو إلى الأعضاء
الأخرى في الجسم لتشكل ورم خبيث بعيد (نفاثات بعيدة) Distant Metastasis ويعد السبب الرئيس لوفاة
النساء اللاتي تتراوح اعمارهن ما بين (40-59) عاماً ويقدر معدل حدوثه بأكثر من (2.3) مليون حالة
سنوياً على مستوى العالم (Hadin et al., 2022).

14-2: الوصف النسيجي للثدي Histological discription of breast

يعد الثدي عند المرأة البالغة هو الغدة المنتجة للحليب يقع في مقدمة جدار الصدر، إذ يتركز على
العضلة الصدرية الكبيرة ويكون ملتصقا بمقدمة جدار الصدر على جانبي القص بواسطة أربطة يحتوي
كل ثدي على (15-20) فص، وتكون الفصوص منتظمة على شكل دائري ويعطي الشحم الذي يغطي
الفصوص للثدي حجمه وشكله. ويتكون كل فص Lob من عدة فصيصات Lobules وهي الغدد التي
تفرز الحليب استجابة للهرمونات ليتدفق عبر انابيب رفيعة تسمى القنوات Ducts الى الحلمة Nipple.

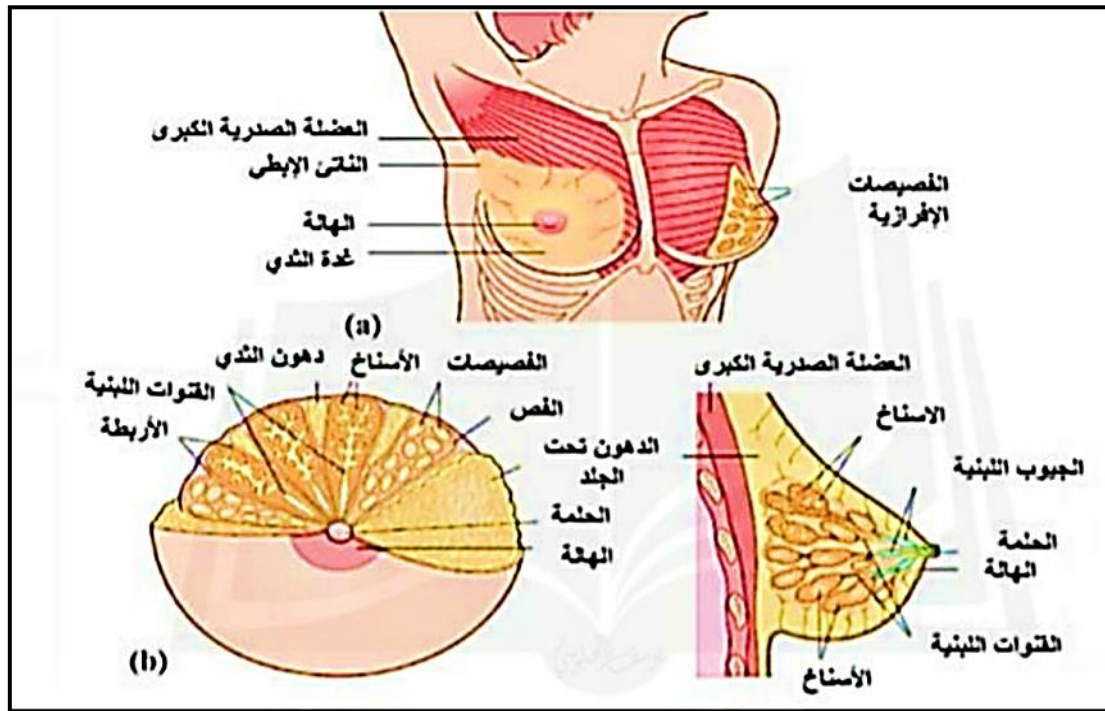
تحتوي الفصيصات على (10-100) من الاسناخ منتجة للحليب تسمى الوحدات الفصيصية
القنوية النهائية Terminal Ductal Lobular Units (TDLUS) والتي يبلغ حجمها تقريباً (0.12)

ملم ، ويبلغ عدد القنوات اللبنية ما يقارب (15-30) قناة والتي تندمج في قنوات أكبر تتقارب في النهاية في قناة رئيسية واحدة التي تتوسع قليلاً لتشكل الجيوب اللبنية Lactiferous Sinus قبل أن تضيق ليمر عبر الحلمة ويفتح على سطح الحلمة (Mckinney *et al*., 2020). تملأ الأنسجة الدهنية والليفية الفراغات بين الفصيصة والقنوات، وتحتوي هذه الأنسجة على الأوعية اللمفاوية التي ترتبط على شكل كتل نسجية صغيرة ومستديرة وتشكل العقد اللمفاوية Lymph Node والتي تتركز في المناطق القريبة من الثدي تحت الذراع (الإبط) وفوق الترقوة Collarbone وفي منتصف القسم الخلفي من عظم الثدي Breastbone كذلك الأنسجة الغدية والقنوات تكون محاطة بأنسجة ضامة حاوية على الدهون والأربطة والأوعية الدموية والأوعية اللمفاوية والعقد اللمفاوية والأعصاب كما موضح في الشكل (2-4) (2022). (Taylor *et al*).

تعرف الغدة الثديية Mammary gland غدة عرقية محورة Modified sweat gland و مسؤولة عن تغذية وليد الحيوانات الثديية ، وتتغير في تركيبها بشكل واضح بعد فترة بلوغ الأنثى، وكذلك تحدث تغيرات في حجمها تتواءم مع الدورة الشهرية Menstrual cycle وحالة الحمل Pregnancy ، كان لفهم تشريح الثدي وتنوعه العديد من التطبيقات السريرية تتراوح بين دعم الرضاعة الطبيعية والكشف والتشخيص، وإزالة الآفات الحميدة Benign والخبيثة Malignant في هذا السياق فإن أغلب الأورام الخبيثة للثدي هي في الأصل الخلايا الظهارية المبطنة لجدران تلك القنوات. وهذا دليل لفهم وأدراك عميق لمعرفة تشريح الثدي (Ellis & Mahadevan, 2021)، كما أن الإصابة بأمراض الثدي للمرضعات اتسم بالارتفاع نتيجة لتقدمهن بالعمر لأنجابها لطفلها الأول، فضلاً عن أن آفات الثدي تبدو أقل شيوعاً أثناء الرضاعة كما أن وجود كتلة ما سواء كانت حميدة أم خبيثة قد تعيق تدفق الحليب اعتماداً على موقع وجود تلك الكتلة تؤدي إلى تجمع الحليب الذي يسبب انسداد القنوات الناقلة وكذلك الفصوص، مما يؤدي إلى التهاب الثدي عند عدم السيطرة عليه بنجاح لذا فإن المعرفة الأساسية لتشريح الثدي تمنح تشخيصاً أفضل وكذلك العلاج للنساء المرضعات وغير المرضعات. لذا كانت الحاجة لفهم مراحل سرطان الثدي وإمكانية العلاج داخل الأفتنية (Simpson & Sers, 2016). تصاب القنوات المتواجدة في وسط الثدي للنساء غير المرضعات بعدة أمراض مثل توسع أوعية الأفتنية وأمراض التليف والأورام الغدية الحميدة والخبيثة داخل الأفتنية (Ellis & Mahadevan, 2021). يتكون الثدي من الأنسجة الظهارية Epithelial Tissue وهي جزء من داخل سدى ليفية Fibrous Stroma للثدي. ويرتبط جدار كل قناة مع طبقتين من الخلايا الظهارية: -

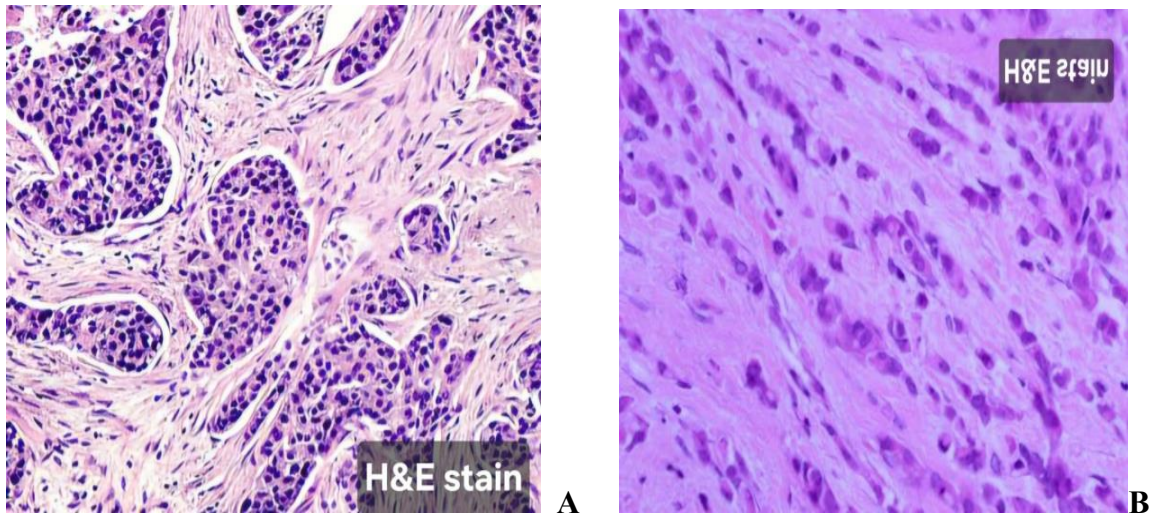
1- الطبقة الداخلية Inner Layer التي تغلف تجاويف الأقنية الذي يحتوي على الخلايا الظهارية المكعبة Cuboidal Epithelial Cells وبعضها وبالأخص في القنوات النهائية لها القدرة على التمايز إلى خلايا فارزة للحليب Milk secretory Leucocytes أثناء الرضاعة.

2- الطبقة القاعدية (الطبقة الخارجية Outer Layer) وتتكون من خلايا عضلية ظهارية Myoepithelial Cells تحيط بإحكام بالطبقة القاعدية التي لها خصائص وصفات خلايا العضلات الملساء. وتقع الطبقة القاعدية على الغشاء القاعدي (Visvader, 2009).



صورة (2-4): توضح البنية التشريحية للثدي

(a) تشريح الاوعية الدموية والمفاوية في منطقة الثدي، (b) غدة الثدي، (على اليسار) البنية الداخلية للغدة الثديية، (على اليمين) يظهر تدفق الحليب (Ellis & Mahadevan, 2021)



شكل (2-5):انواع سرطان الثدي الاكثر شيوعاً، (A) نسيج سرطان الاقنية الغازي Invasive ductile carcinoma (Sikora *et al.*,2013) ,of breast (B) سرطان الفصيصي الغازي Invasive lobular carcinoma H&E stain x400

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

3 - المواد وطرائق العمل

1-3: المواد Materials

1-1-3: الاجهزة Instruments

جدول (1-3): الاجهزة المستعملة حسب المنشأ والشركة

المنشأ	الشركة	الاجهزة
China	Biobase	ثلاجة Refrigerator
China	Biobase	جهاز التدوير الحراري Polymerase chain reaction
China	Biobase	جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis
China	Feica	جهاز التقطيع اليدوي Microtome
China	Biobase	جهاز الطرد المركزي صغير الحجم Microcenterifuge
China	Biobase	جهاز الطرد المركزي Centerifuge
Taiwan	Actgene	جهاز Nano Drop Spectrophotometer
China	Biobase	الحاضنة Incubator
China	Biobase	الفرن Oven
China	Biobase	مازج Vortex
China	Biobase	مجمدة Deep frezeer
China	Biobase	الميزان الحساس Sensitive balance

2-1-3: الادوات Equipments

جدول (2-3) الادوات المستعملة حسب الشركة والمنشأ

المنشأ	الشركة	الادوات
Korea	Favorgen	Minicoulmn tube
Korea	Favorgen	الأنابيب الجامعة Collection tube
Korea	Favorgen	أنابيب الطرد المركزي الدقيقة Microcenterifuge tube
&Engl	Hoverlabs	الحامل Rack
Malaysia	Maxar	كفوف Gloves
Korea	Favorgen	ماصات مختلفة الاحجام Micropipetts
Korea	Favorgen	مدقة لطحن النسيج Micropestles
&Engl	Hoverlabs	وعاء زجاجي Beakers

3-1-3: المواد الكيميائية والمحاليل Chemical Materials & solution

جدول (3-3) المواد الكيميائية والمحاليل المستعملة حسب الشركة والمنشأ

المنشأ	الشركة	المواد الكيميائية
&Engl	BDH	زايلول Xylene
&Engl	BDH	كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol
U.S.A	Promega	اغاروز Agarose
Korea	Pioneer	سلم قياس DNA ladder
Canada	Bio basic	صبغة بروميد الايثيديوم Ethidium bromide
U.S.A	Promega	ماسر ميس Master mix
Korea	Pioneer	ماء مزال الأيون Free DNAase water
Canada	Bio basic	محلول منظم بفر TBE buffer
Korea	Pioneer	الأنزيم القاطع Sau Al enzyme
Korea	Pioneer	الأنزيم القاطع HhaI enzyme
Korea	Pioneer	بوادي Primers

3-1-4: العدد المستعملة في هذه الدراسة

جدول (4-3) العدد المستعملة في استخلاص الحمض النووي

ت	العدد المختبرية	الشركة	المنشأ
1	عدة أستخلاص DNA Genomic DNA Extraction kit	Addbio.Bio-Tech	Korea

3-2: طرائق العمل Laboratory Methods

3-1-2: جمع العينات Samples Collection

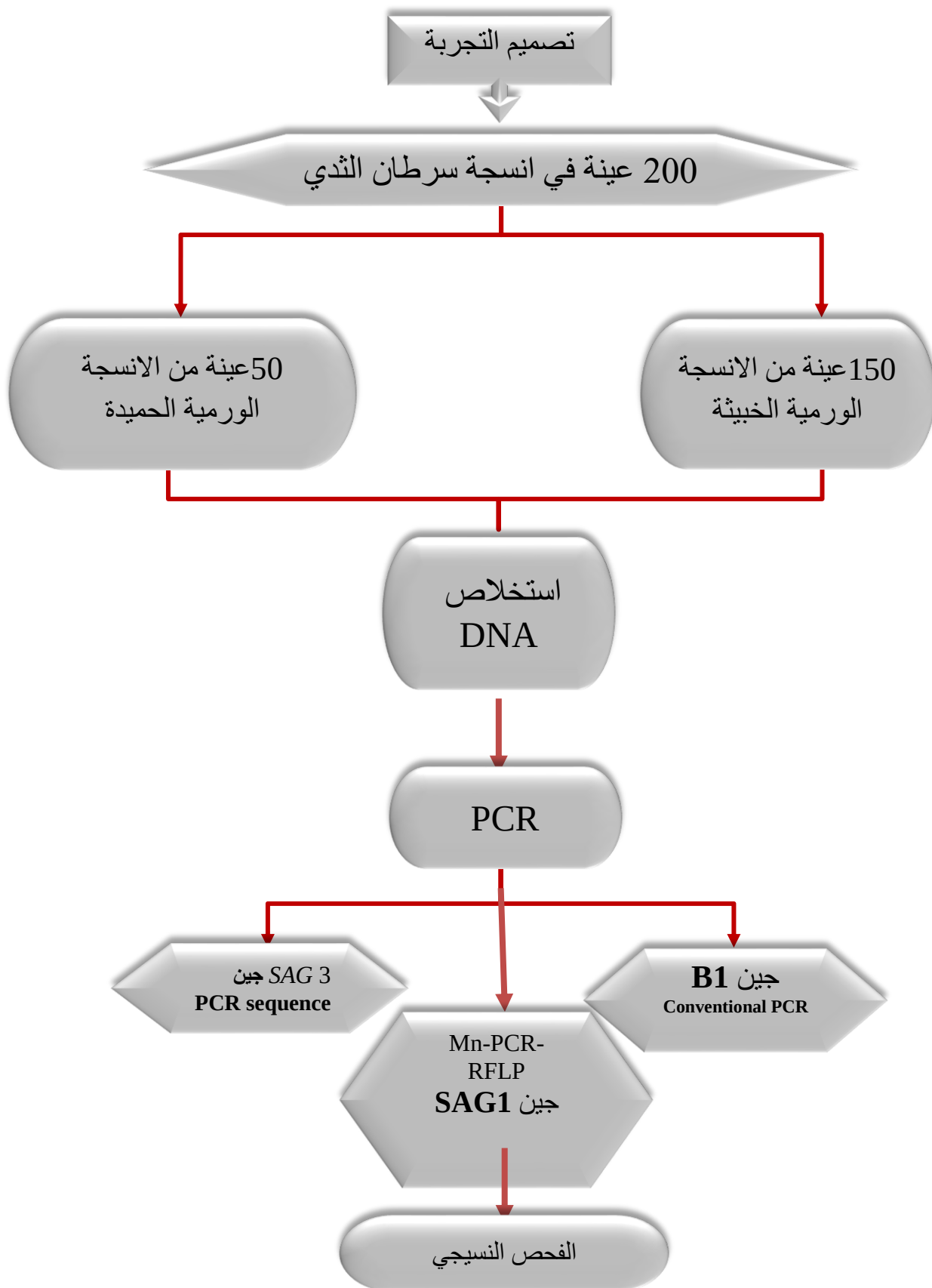
تم جمع 150 عينة من أنسجة سرطان الثدي الورمية الخبيثة والمطمورة بشمع البارافين Paraffin Embedded Tissue والمشخصة من قبل الطبيب المختص و50 عينة من الأنسجة الورمية الحميدة، وجميع هذه العينات للنساء تراوحت أعمارهن من 25-45 وتم جمع هذه العينات من مختبر التقطيع النسيجي في مدينة الامام الحسين (عليه السلام) الطبية ومختبر مستشفى الكفيل التخصصي ومختبر السجاد التخصصي للفحوصات النسجية والخلوية وتشخيص الأورام في كربلاء المقدسة.

شملت عينات الدراسة ثلاث مجاميع:

1- المجموعة الاولى: 66 أمراه مصابة بسرطان الثدي لم يخضعن للعلاج الكيميائي.

2- المجموعة الثانية: 84 أمراه مصابة بسرطان الثدي ممن خضعن للعلاج الكيميائي.

3- المجموعة الثالثة: 50 أمراه مصابة بالسرطان الورمي الحميد.



شكل (1-3) تصميم التجربة

2-2-3: طريقة التشخيص Diagnostic Methods

3-2-3: الاختبارات الجزيئية Molecular Test

1-3-2-3: تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل Conventional Polymerease Chain Reaction (PCR)

تم اجراء تقنية الـ PCR للـ DNA المستخلص من عينات النسيج المصابة بسرطان الثدي لكافة المجاميع قيد الدراسة وذلك بالاعتماد على تضخيم جين *B1* و *SAG1* و *SAG3* وكما يلي:

2-3-2-3: استخلاص الحمض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين من عينات نسيج سرطان الثدي

تم تقطيع خمسة مقاطع بسمك 10 مايكرون من أنسجة أورام الثدي المظمورة بشمع البارافين وذلك لغرض عزل جينوم الـ DNA باستعمال Kit Tissues Protocol Genomic DNA Mini كما موضح في جدول (3-5) والذي صمم خصيصاً لهذا الغرض استعملت العدة التجارية الكورية من انتاج الشركة Favorgen لاستخلاص الحمض النووي DNA من عينات نسيج سرطان الثدي الخبيث وعينات سرطان الثدي الحميد.

جدول (3-5) مكونات العدة المستعملة في أستخلاص الحمض النووي الريبوزي DNA

مكونات العدة Kit Components
Collection tube-1 الانابيب الجامعة
Elution Buffer-2 محلول الشطف الدائري
FATG1 Buffer-3 المحلول الدائري
FATG2 Buffer -4 المحلول الدائري لتحلل النسيج
Micropestle -5
Proteinase K (Liquid) -6 الانزيم البروتيني
Tube FATG Mini Column-7 الانابيب المرشحة
W1 Buffer -8 محلول الغسل الدائري رقم (1)
Wash Buffer-9 محلول الغسل الدائري

طريقة العمل:

أولاً: تحضير العينة وتفكيك النسيج Sample Preparation & Tissues Dissociation

- 1- تم نقل المقاطع النسيجية بعد أن شذبت من الشمع الفائض إلى أنابيب ابندورف سعة 1.5 مل.
- 2- تمت إضافة 1 مل من الزايلين إلى العينة ثم مزج الخليط بواسطة المازج وحضنت لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم توضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة الواحدة لمدة خمسة دقائق.
- 3- نسحب السائل الرائق بالميكروباييت.
- 4- تمت إضافة 1 مل من كحول الايثانول المطلق لغسل العينة مع المزج المستمر.
- 5- تم وضع الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة الواحدة ولمدة خمسة دقائق ويهمل الرائق.
- 6- تم تكرار خطوة 4 و 5.
- 7- تركت اغطية أنابيب ابندورف مفتوحة وحضنت بدرجة 37م ولمدة 15 دقيقة لإزالة بقايا كحول الإيثانول وتبخيره.
- 8- تم سحق النسيج بواسطة المدقة.
- 9- تمت إضافة 200 مايكروليتر من دارئ FATG1 إلى العينة واستمر المزج بواسطة المدقة.

ثانياً: التحلل Lysis

- 1- تمت إضافة 20 مايكروليتر من Proteinase k إلى العينة ومزجت بواسطة المازج لعدة ثوان.
- 2- تم حضن العينات بدرجة 60م لمدة 60 دقيقة مع التقليب كل 10 دقائق لتحليل العينة.
- 3- تمت إضافة 200 مايكروليتر من دارئ FATG2 ومزجت العينة جيداً بواسطة المازج لمدة 5 ثوان ثم حضنت بدرجة 70م ولمدة 10 دقائق ويتم رج العينات كل 5 دقائق لغرض تحلل النسيج جيداً.

يتم إعادة وضع العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة الواحدة لمدة دقيقتين في حالة وجود مواد غير ذائبة بعد الحضن النذب، ثم ينقل الرائق إلى أنبوبة نبذ مركزي جديدة سعة 1.5 مل.

ثالثاً: ارتباط الـ DNA

- 1- تمت إضافة 200 مايكروليتر من كحول الايثانول المطلق إلى العينة ومزج جيداً بواسطة المازج لمدة 10 ثوان ثم أخذ الرائق فقط.
- 2- تم نقل الرائق إلى عامود انبوب الترشيح بعد ان وضع في انبوبة جامعة Collection سعة 1.5 مل ونبذت الانابيب بجهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة ولمدة دقيقتين.

3- تم اهمال الراشح في الانبوبة الجامعة ونقل انبوب الترشيح إلى انبوبة جامعة جديدة.

رابعاً: الغسل Washing

1- تمت إضافة 400 مايكروليتر من دارى WI لكل عامود GD ووضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة الواحدة ولمدة دقيقة واحدة ثم سكب الراشح الموجود في الانابيب الجامعة واعيد عامود GD إلى الأنبوبة الجامعة.

2- تمت إضافة 600 مايكروليتر من دارى الغسل Wash Buffer الممزوج مع الايثانول إلى انبوب الترشيح .

3- تم وضع الانابيب بسرعة 14000 دورة لمدة دقيقة واحدة وأهمل الراشح داخل الأنبوبة الجامعة وتوضع مرة أخرى بنفس السرعة ولمدة 3 دقائق لتجفيف مادة انبوب الترشيح.

خامساً: - الاسترداد Elution

1- تم نقل انبوب الترشيح المجفف إلى أنبوبة جامعة جديدة واضيف اليه 100 مايكروليتر من دارى شطف ال DNA.

2- ترك انبوب الترشيح لمدة 5 دقائق كي يمتص دارى الشطف ثم وضعت الانابيب بجهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة ولمدة دقيقتان، بعد ذلك أخذ راسب ال DNA وبعد ذلك يتم حفظه بدرجة حرارة 20- درجة مئوية.

3-2-3-4: قياس تركيز الDNA Determinate of DNA Concentration

تم الكشف عن الحمض النووي للـ DNA المستخلص من عينات النسيج بالكامل باستعمال جهاز Nano Drop Spectrophotometer من انتاج الشركة التايوانية ACTGENE يستعمل لكشف عن الاحماض النووية (DNA و RNA)، بوساطة قياس تركيز الحمض النووي بالنانو غرام لكل مايكروليتر من خلال قراءة شدة الامتصاصية وعلى الطول الموجي 280/260 نانوميتر، فضلا عن قياس نقاوة الحمض النووي اذ يعد الحمض النووي نقيا عندما تكون شدة الامتصاصية بمعدل (1.8 ± 0.2) (Melville, 2004)، علما أن معدل تركيز الـ DNA المستخلص من عينات الدراسة هو 180 نانو غرام / مايكروليتر.

3-2-3-5: تحديد النمط الجيني لطفيلي داء المقوسات Determination of Toxoplasma genotype

تم تحديد النمط الوراثي لعينات الحمض النووي المستخلصة من أنسجة سرطان الثدي الخبيثة بتقنية Restriction fragment length polymorphism (Mn-PCR-RFLP) لـ 17 عينة موجبة لداء المقوسات الكوندية اذا تم استعمال جين SAG1 حسب البادئات المستعملة في جدول (3-6) إذ تم وفقاً

للمعلومات التي قدمتها شركة التصنيع التي استخدمت "مجموعة استخراج الحمض النووي Add Prep Addpio" (Genomic DNA®، كوريا الجنوبية) كما هو موضح سابقاً وحسب برنامج التدوير الحراري الذي تمت الإشارة إليه في جدول (3-9)، تم استعمال هذه البادئات في تحليل تسلسل الحمض النووي. تم تنفيذ هذا النهج باستعمال أنزيمات قطع خاصة وهي HhaI enzyme, Sau3AI enzyme وفقاً للطرق التي حددها (Hosseini et al., 2021).

6-3-2-3: طريقة تسلسل الحمض النووي Method sequencing DNA

تم إخضاع عزلات *T. gondii* البشرية، بالإضافة إلى عزلات SAG3 القياسية التي أبلغ عنها NCBI، لتسلسل الحمض النووي لغرض تحديد التباين الجيني، تم شحن منتجات جين SAG3 الموجبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل في كيس ثلج إلى شركة MacroGen في كوريا لتسلسل الحمض النووي على جهاز تسلسل الحمض النووي AB من خلال DHL. تم استعمال تحليل علم الوراثة التطوري الجزيئي الإصدار 6.0 لحساب المسافات التطورية، تم حساب المسافات التطورية باستعمال نهج أقصى احتمال مركب باستعمال طريقة الشجرة التطورية (UPGMA) وتحليل محاذاة التسلسل المتعدد لتحليل محاذاة Clustal W غير المكتمل القائم على جين SAG3، باستعمال تقنية أقصى احتمال مركب بواسطة طريقة الشجرة التطورية (6.0) UPGMA Mega.

7-3-2-3: تحضير تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل Preparation of PCR Reaction

تم تحضير تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل باستعمال عدة تجارية PCR premix 20µ Reaction والمجهزة من قبل الشركة الكورية Addbio.Bio-Tech وحسب تعليمات الشركة جدول (3-5)

جدول (3-6): مكونات Master Mix لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل

المكونات Components	حجم التفاعل Reaction Size(µL)
انزيم عديد البلمرة Taq DNA Polymerase	1U
خليط من القواعد النيتروجينية d NTP (d ATP, CTP, d GTB, dTTP)	400 µL
محلول منظم بفر Buffer	10 µL
صبغة Loading dye	30 µL
كلوريد المغنيسيوم MgCl ₂	3 µL

8-3-2-3: البادئات المستعملة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR The primer used in Reaction

استعملت البوادي النوعية لجين B1 بالاعتماد على (2019) Naully & Gomes *et al.* و Supended (2020) وجين SAG1 بالاعتماد على (2019) AL-Tamemi *et al.* و Continin *et al.* (2002) وجين SAG3 بالاعتماد على (2012) Sudan *et al.* و (2023) Alkardhi *et al.* والمجهزة من الشركة الكورية Bioneer وحسب الجدول (3-6).

جدول (3-7) تسلسل البوادي المستعملة في الدراسة الجزيئية.

تسلسل البادئات (5'-3')			حجم ناتج PCR
جين B1	Forward primer	GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG	194bp
	Reverse primer	TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC	
جين SAG1	Forward primer	TTGCCGCGCCCACACTG ATG	241bp
	Reverse primer	CGCGACAC AAGCTGCGATAG	
جين SAG3	Forward primer	ATGCAGCTGTGGCGGCGCAG	1158bp
	Reverse primer	TTAGGCAGCCACATGCACAA	

9-3-2-3: تحضير تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR Reaction Mixture

تم تحضير هذا المزيج وفقا لتعليمات الشركة المصنعة جدول (3-7) وكما يلي:

جدول (3-8): مكونات تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل

PCR Reaction Mixture	الحجم (25 µL) Volume
مستخلص DNA DNA Extraction	2
بادئ امامي Forward	2
بادئ خلفي Reverse	2
ماء مقطر Free DNAase water	6.5
Mastermix	12.5
الحجم الكلي Total volum	25

- 1- تم وضع جميع المكونات المذكورة في الجدول السابق (3-7) بأنابيب خاصة.
- 2- تم اغلاق الانابيب وتم نقلها لجهاز الطرد المركزي الدقيق بأقصى سرعة لمدة نصف دقيقة.
- 3- تم نقل الانابيب الى جهاز التدوير الحراري الـ PCR.

10-3-2-3: برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل الـ PCR Thermo cycle

تم اجراء تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل باستعمال جهاز التدوير الحراري لتفاعل الـ PCR من انتاج الشركة الصينية Biobase أذ ضخم الجين المستهدف *SAG1* و *B1* و *SAG3* وبحجم 194bp و 241bp و 1158bp على التوالي كما موضح في الجداول (3-8) و (3-9) و (3-10).

جدول (3-9): البرنامج المستعمل لجين *B1* في جهاز الـ PCR

الخطوات Step	درجة الحرارة Temperature (C °)	الوقت Time	عدد الدورات Number of cycles
مرحلة تنشيط الانزيم والتهيئة مرحلة تفكك Initial Denaturation DNA	95	3min	1
مرحلة التفكيك Denaturation	95	3s	35
مرحلة الالتصاق Annealing	60	30min	35
مرحلة الامتداد Extension	72	1min	35
ضمان اكتمال مرحلة الامتداد والتصاق الشريطين مع بعضهما واكمال عدد الدورات للمنسخ Final extention	72	5min	1

جدول (3-10): البرنامج المستعمل لجين *SAG1* في جهاز الـ PCR

الخطوات Step	درجة الحرارة Temperature (C °)	الوقت Time	عدد الدورات Number of cycles
مرحلة تنشيط الانزيم والتهيئة مرحلة تفكك Initial Denaturation DNA	95	3min	1
مرحلة التفكيك Denaturation	95	3s	35
مرحلة الالتصاق Annealing	63	30min	35
مرحلة الامتداد Extension	72	1	35
ضمان اكتمال مرحلة الامتداد والتصاق الشريطين مع بعضهما واكمال عدد الدورات للمنسخ Final extention	72	5	1

جدول (3-11): البرنامج المستعمل لجين SAG3 في جهاز ال-PCR

الخطوات Step	درجة الحرارة Temperature (C °)	الوقت Time	عدد الدورات Number of cycles
مرحلة تنشيط الانزيم والتهيئة مرحلة تفكك Initial Denaturation DNA	95	5min	1
مرحلة التفكيك Denaturation	95	35s	35
مرحلة الالتصاق Annealing	60	30min	35
مرحلة الامتداد Extension	72	55s	35
ضمان اكتمال مرحلة الامتداد والتصاق الشريطين مع بعضهما واكمال عدد الدورات للمنسخ Final extention	72	5min	1

3-2-3-11: الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل بهلام الاكاروز

Electrophoresis of PCR Product by Agarose Gel

تم اجراء الترحيل الكهربائي باستعمال هلام الاكاروز وذلك لمعرفة نتيجة تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل وكما في الخطوات التالية:

- 1- تم تذويب 1 غرام من مسحوق الأكاروز في 10 مل من المحلول الدارئ TBE مع 100 مل من الماء المقطر .
- 2- تم تسخين المحلول بالفرن الكهربائي Microwave إلى أن يتم ذوبان كل مسحوق الأكاروز ويبدو المزيج صافي.
- 3- نحضر قالب الترحيل Tray ووضع المشط Comb الخاص به، ثم يتم ترك الهلام إلى ان يبرد قليلا وعندما يصل الى درجة 40م اضيف 2.5 مايكروليتر من صبغة بروميد الاثيديوم التألقيية Ethidium Bromide ذات اللون البرتقالي.
- 4- ثم يتم صب الهلام في قالب الترحيل بهدوء لمنع تكوين الفقاعات الهوائية التي تعيق وصول التيار الكهربائي.
- 5- ثم يتم ترك الهلام لمدة 20 دقيقة ليتصلب في درجة حرارة الغرفة، ثم يتم رفع المشط بحذر تجنباً لأي تمزق في حفر الهلام بعد تصلبه.
- 6- ثم يتم حمل الصفيحة التي تحتوي على الهلام ووضعت في جهاز الترحيل والمتمثل بحوض يستخدم للترحيل الكهربائي.

- 7- تم وضع 5 مايكروليتر من عينات نواتج تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل PCR في حفر الجل.
- 8- وضعت 5 مايكروليتر من سلم قياس (100-1500bp) Lader DNA في الحفرة الأولى.
- 9- ثم بعد اكمال وضع العينات وسلم القياس غمر هلام الاكاروز بمحلول الدارن Buffer TBE الذي تركيزه 10 مل من المحلول الدارن مع 100 مل من الماء المقطر.
- 10- تم غلق غطاء جهاز الترحيل، وتوصيل الأقطاب السالبة والموجبة كل حسب مكانه في الجهاز.
- 11- تم تمرير تيار كهربائي بفرق جهد 60 فولت لمدة نصف ساعة.
- 12- ثم بعد انتهاء مدة الترحيل يتم فصل الجهاز عن التيار الكهربائي ويتم رفع القالب ونقله إلى جهاز-EZ capture-MG ليتم الفحص باستعمال مصدر الأشعة فوق البنفسجية U.V light source لتحديد الناتج مع وحدة القياس إذ تعد النتيجة موجبة بملاحظة حزم للحمض النووي الـ DNA جين B1 وبحجم 194bp وجين SAG1 بحجم 241 bp وجين SAG3 وبحجم 1158bp ومقارنة النتائج مع سلم القياس Ladder وتم تصوير العينات باستعمال كاميرا رقمية ملحقة بجهاز EZ-capture MG.

3-3: الدراسة النسجية Histological Study

تم جمع عينات الأنسجة من المريضات المصابات بسرطان الثدي من مختبر التقطيع النسيجي في مدينة الامام الحسين (عليه السلام) الطبية ومختبر السجاد التخصصي في محافظة كربلاء المقدسة وقد أجري عليها الفحص النسيجي، وتم تحضير المقاطع النسجية وأجريت عليها سلسلة من العمليات المتتالية وحسب طريقة (Bancroft & Gamble, 2008) وكالاتي :

- 1- التثبيت Fixation : ثبتت العينات في محلول الفورمالين 10% ولمدة 48 ساعة .
- 2- الغسل Washing : غسلت العينات بالماء الجاري لعدة مرات للتخلص من الفورمالين .
- 3- سحب الماء (الانكاز) Dehydration : مررت العينات بسلسلة تصاعدية من تراكيز الكحول الأيثلي (70%، 80، 90، 100%) ولمدة ساعتين لكل تركيز باستعمال جهاز processor tissues
- 4- الترويق Clearing : وضعت العينات في محلول الزايلين Xylene النقي أعيدت مرتين لمدة (20) دقيقة لكل مره لجعل النماذج أكثر شفافية .
- 5- التشريب Infiltration : شربت العينات بوضعها في شمع البرافين المنصهر بدرجة حرارة (58- 60 م) لمدة ساعتين لكل نموذج أعيدت ثلاث مرات لزيادة ارتشاح الشمع الى داخل النسيج .
- 6- الطمر Embedding : طمرت العينات في شمع البرافين الذائب بدرجة حرارة (58- 60 م) في داخل قوالب خاصة مربعة الشكل مع مراعاة توسط المقطع النسيجي في وسط قالب الشمع وتركت القوالب في درجة حرارة الغرفة حتى يتصلب الشمع وبعدها بردت وحفظت في الثلاجة وأصبحت جاهزة للتقطيع .

7 - التقطيع Sectioning : قطعت النماذج المظمورة باستعمال جهاز المشراح اليدوي الدوار Rotary Microtome بسمك (5) مايكروميتر على شكل مقاطع شريطية ووضعت هذه المقاطع في حمام مائي بدرجة حرارة (45-50 م) ، ونقلت بعد ذلك بواسطة شرائح زجاجية نظيفة مطلية بمادة البومين ماير ووضعت على صفيحة ساخنة Hot Plate بدرجة حرارة (37 م) لمدة 24 ساعة.

8- التصبغ Staining مررت العينات بتركيز تنازلية من الكحول الايثيلي (100% 95% 90% 80% , 70%) بواقع دقيقتين لكل تركيز وبعد ذلك نقلت الشرائح الى الماء المقطر لمدة دقيقتين ثم مررت بعد ذلك بسلسلة تصاعدية التركيز من الكحول الايثيلي لمدة دقيقتين لكل تركيز ثم نقلت الشرائح الى الزايلين مرتين للترويق ، بعدها صبغت المقاطع بوضعها بصبغة Haematoxylin لمدة (5) دقائق. ثم بعد ذلك بصبغة Eosin لمدة (30 ثانية) ، ثم وضعت الشرائح في الزايلين , في تحميل المقاطع Disterin Plasticizer Xylene (DPX) استعملت مادة التحميل Mounting وذلك بوضع قطرة منها على كل شريحة لغرض تثبيت غطاء الشريحة ثم وضعت على صفيحة ساخنة لتجف.

9- فحص الشرائح والتصوير Examination of Histological Slides & photography فحصت الشرائح الزجاجية بواسطة المجهر الضوئي تحت قوة التكبير (100x) ثم صورت الشرائح باستعمال كاميرا تصوير فوتوغرافي موصلة بالمجهر. وتم فحص الشرائح النسجية وتشخيص المرض.

3-4: التحليل الاحصائي

يتم التعبير عن المتغيرات الفئوية كعدد ونسبة مئوية (%) ومقارنتها باستعمال تحليل مربع كاي أو اختبار فيشر الدقيق، حيثما كان ذلك مناسباً، يتم التعبير عن المتغيرات المستمرة كمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري (SD) ومقارنتها باستعمال اختبار t لمجاميع الدراسة الحالية. تم تقدير عوامل الخطر المتعلقة بسرطان الثدي باستعمال نموذج الانحدار اللوجستي وتم التعبير عنها كنسبة الأرجحية (OR) مع فاصل الثقة المقابل بنسبة 95% (CI). تم إجراء جميع التحليلات باستعمال برنامج spss الإصدار 28. تم اعتبار الاختلافات ذات القيم $p < 0.05$ ذات دلالة إحصائية.

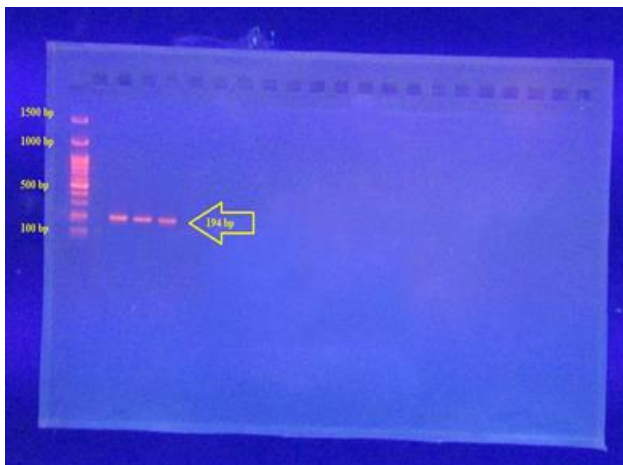
الفصل الرابع
النتائج والمناقشة

Results & Discussion

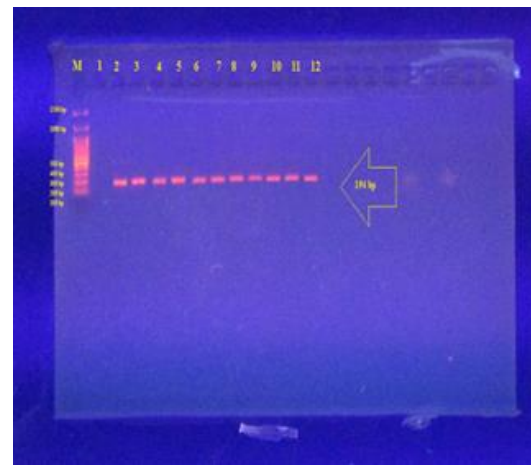
4-النتائج والمناقشة Results & Discussion

1-4: الدراسة الجزيئية لعينات أنسجة سرطان الثدي

تم إجراء الدراسة الحالية لـ 150 عينة من أنسجة سرطان الثدي الورمية الخبيثة و 50 عينة من أنسجة سرطان الثدي الورمية الحميدة المظمورة بشمع البارافين Paraffin Embedded Tissue والمشخصة من قبل الطبيب المختص, شملت عينات الدراسة ثلاث مجاميع , المجموعة الاولى 66 امرأة مصابة بسرطان الثدي لم يخضعن للعلاج الكيميائي , المجموعة الثانية 84 امرأة مصابة بسرطان الثدي ممن خضعن للعلاج الكيميائي, والمجموعة الثالثة 50 امرأة مصابة بسرطان الثدي الحميد, أذ تراوحت أعمار المريضات من 54-25 تم اجراء تقنية الـ PCR على الحمض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين DNA في عينات النسيج المصابة بسرطان الثدي لكافة المجاميع قيد الدراسة وذلك بالاعتماد على تضخيم جينات *B1*, *SAG1*, *SAG3*, وبينت النتائج لـ 17 عينة موجبة لداء المقوسات الكوندية للنساء المصابات بسرطان الثدي الخبيث و 2 من العينات موجبتين للنساء المصابات بسرطان الثدي الحميد بفحص تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل .

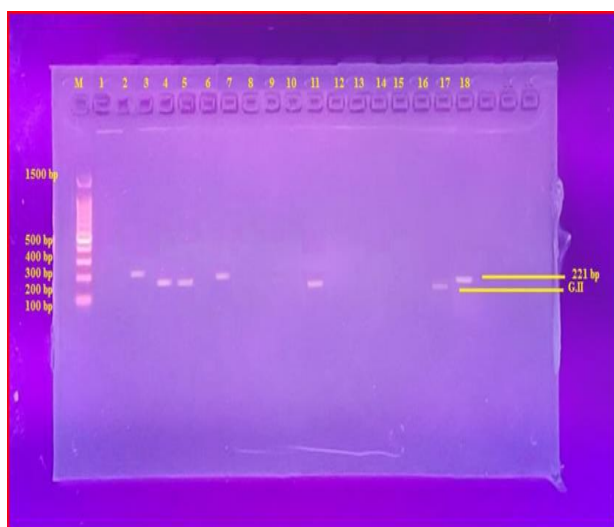


(b)

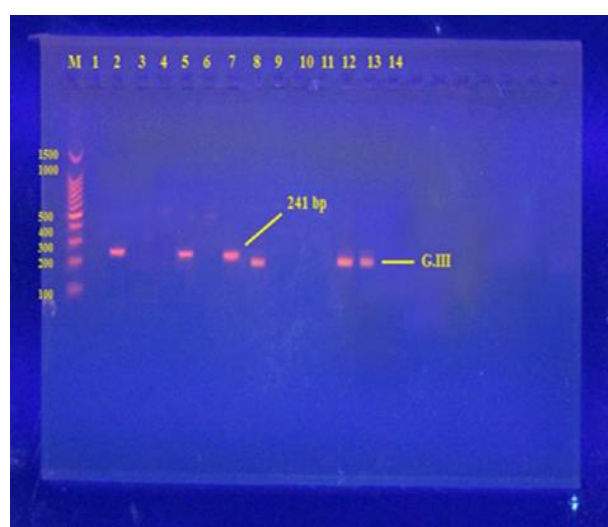


(a)

شكل (1-4) (a) الترحيل الكهربائي لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR product) لطيفلي المقوسات الكوندية لجين *B1* (*Toxoplasma gondii B1 gene*) على هلام الاكاروز بفرق جهد 60 v لمدة نصف ساعة وبحزمة (100bp- 1500bp) وباستعمال صبغة بروميد الاثيديوم التآلفية Ethidium Bromide ذات اللون البرتقالي أذ تظهر العينات حزمة بحجم 194bp زوج قاعدة نتروجينة, (a) انسجة النساء المصابات بسرطان الثدي الخبيث, (b) أنسجة النساء المصابات بسرطان الثدي الحميد.

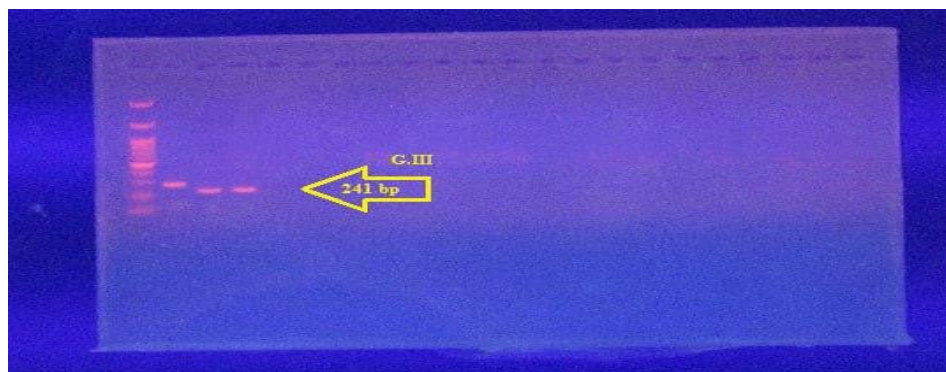


b)

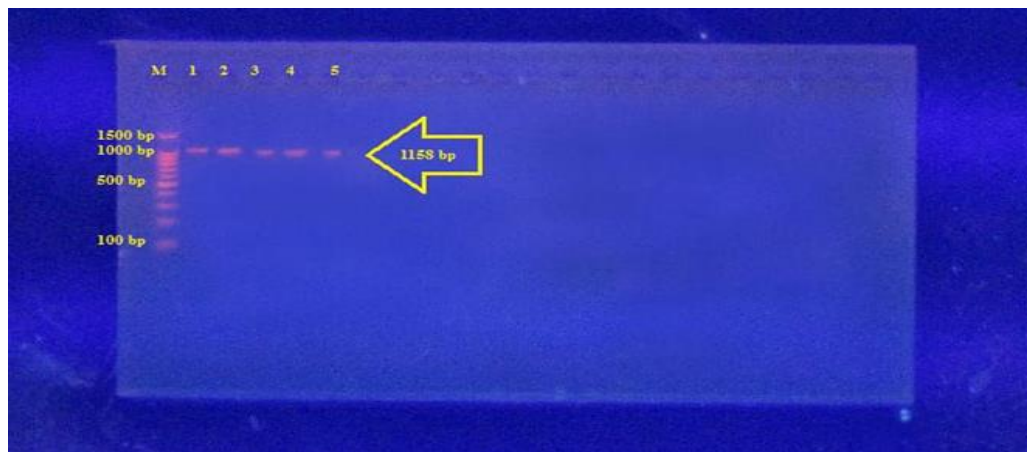


(a)

شكل (2-4): الترحيل الكهربائي لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR product) لجين طفيلي المقوسات الكوندية (gene *Toxoplasma gondii* SAG1) على هلام الاكاروز بفرق جهد 60v لمدة نصف ساعة وبحزمة (100bp-1500bp) وباستعمال صبغة بروميد الاثيديوم التآلفية Ethidium Bromide ذات اللون البرتقالي اذ تظهر العينات في شكل (a) حزمة بحجم 241 bp for G.III، زوج قاعدة نتروجينية وفي شكل (b) بحزمة HhaI enzyme for G.II product 221bp اذ تظهر المسارات دنا معزول لانسجة النساء المصابات بسرطان الثدي الخبيث.



شكل (3-4) (الترحيل الكهربائي لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR product) لجين طفيلي المقوسات الكوندية (*Toxoplasma gondii* gene SAG1) على هلام الاكاروز بفرق جهد 60v لمدة نصف ساعة وبحزمة (100bp-1500bp) وباستعمال صبغة بروميد الاثيديوم التآلفية Ethidium Bromide ذات اللون البرتقالي حزمة بحجم 241 bp for G.III، النوع الثالث لطفيلي المقوسات الكوندية. المصابات بسرطان الثدي الحميد اذ توضح النمط الجيني من النوع الثالث لطفيلي المقوسات الكوندية.



شكل (4-4) الترحيل الكهربائي لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR product) لجين طفيلي المقوسات الكوندية (*Toxoplasma gondii* SAG3 gene) على هلام الاكاروز بفرق جهد 60v وبحزمة (100bp-1500bp) لمدة نصف ساعة وباستعمال صبغة بروميد الاثيديوم التأقية Ethidium Bromide ذات اللون البرتقالي أذ تظهر العينات حزمة بحجم 1158bp زوج قاعدة نتروجينة أذ تظهر المسارات دنا معزول من أنسجة النساء المصابات بسرطان الثدي الخبيث .

1-1-4: مجاميع الدراسة

حسب نتائج التحليل الاحصائي تم الكشف عن 150 امرأة مصابة بسرطان الثدي الخبيث و 50 امرأة مصابة بالورم الحميد في هذه الدراسة وكان متوسط اعمار المريضات 25-56± تم تسجيل 17 امرأة مصابة بالمقوسات الكوندية في النساء المصابات بسرطان الثدي الخبيث و 2 من النساء المصابات بسرطان الثدي الحميد وحسب جدول (1-4).

جدول (4-1): مجاميع الدراسة المستعملة في الفحص الجزيئي لطيفلي المقوسات الكوندية

RR (95%CI)	OR (95%CI)	X ² p-value	Total		مجاميع الدراسة				اختبار داء المقوسات Toxoplasma test
			%	N	النساء المصابات بالورم الحميد 50=العدد الكلي		النساء المصابات بالورم الخبيث العدد الكلي 150=		
					%	N	%	N	
2.83 (0.68- 11.84)	3.07 (0.68- 3.77)	2.346 0.126 Ns	9.5%	19	4.0%	2	11.3%	17	العينات الموجبة لفحص داء المقوسات Toxo . +Ve
Ref.			90.5%	181	96.0%	48	88.7%	133	العينات السالبة لفحص داء المقوسات Toxo.-Ve

وكانت هذه النتيجة متقاربة مع نتائج الكثير من الدراسات التي استعملت فيها تقنية تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل للتحري على الحمض النووي DNA لطيفلي في الأنسجة الورمية الخبيثة للثدي منها دراسة Kalantari *et al.*, (2017) والتي أظهرت نتائجها وجود الحمض النووي في عينتين فقط من عينات أنسجة سرطان الثدي الورمية الخبيثة وكذلك في دراسة أجريت في محافظة النجف الأشرف أذ بينت نتائج هذه الدراسة أن عدد العينات الموجبة للإصابة بداء المقوسات الكوندية كانت 3 عينات من بين 47 عينة مأخوذة من أنسجة الثدي الورمية (الكوفي, 2020), بينما تم العثور على الحمض النووي لطيفلي في عينة واحدة فقط في الدراسة التي أجراها Arefkhah *et al.*, (2019), فضلاً عما تقدم فقد وجد Herbort *et al.*, (2001) الحمض النووي لطيفلي في حالتين مع سرطان الغدد اللمفاوية داخل الخلايا البائية B-cell داخل العين, بالإضافة الى هذه الدراسات تقاربت نتائج دراستنا الحالية مع دراسة اجريت في محافظة الديوانية أذ تم التحقق من أصابة 16 عينة من مريضات سرطان الثدي مصابات بداء المقوسات الكوندية بواسطة فحص تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل ال-PCR (Abd al-ameer, 2021).

وعليه فعلى الرغم من أن عدد العينات النسيجية التي عثر فيها على DNA الطيفلي قليلة سواء في الدراسة الحالية أم الدراسات السابقة, إلا أن الدور المحتمل لطيفلي المقوسات في إحداث السرطان أمر وارد وقابل للنقاش, وربما يعود السبب في كون عدد العينات الموجبة قليل إلى إن الكشف عن DNA الطيفلي في الأنسجة البشرية الصلبة لا سيما في كتل الأنسجة نادر جداً أو ربما لعدم وجود تقرير عن تضخيم (Robert- Gangneux *et al.*, 2015) الحمض النووي لطيفلي من أنسجة الثدي البشرية المصابة بالسرطان, وقد يكون هذا سبب انخفاض مستوى حساسية تضخيم PCR لـ DNA الطيفلي بغض النظر عن اعتبارات الحالة السريرية (Bastien, 2000). كما إن التضخيم الناجح لـ DNA المقوسات الكوندية وحتى في عينات الدم

بوساطة تقنية PCR يعتمد على وقت اخذ العينات بعد الإصابة الطبيعية العابرة للطفيليات (Robert (Gangneux & Drade, 2012).

2-1-4: نسبة الإصابة بداء المقوسات وفقاً للفئات العمرية

أظهرت دراستنا الحالية أكثر الفئات العمرية المصابة بالمقوسات الكوندية 54 > أذ تم الكشف عنها بوساطة تفاعل سلسلة البلمرة بوساطة جينات *B1* و *SAG1* و *SAG3* وشملت هذه العينات انسجة الثدي المظمورة بشمع البارافين المصابة بالسرطان، وتم فحص 50 عينة من انسجة الثدي الحميدة كمجموعة سيطرة وظهرت النتائج عينتين موجبة بالإصابة بالمقوسات الكوندية، وكانت هذه النتائج مشابهة لدراسة أجريت في كركوك وتوصلت الدراسة إلى أن أعلى معدل للإصابة بداء المقوسات سجل بين النساء المصابات بسرطان الثدي ضمن الفئة العمرية 50-59 سنة بينما كان أقل معدل في الفئة العمرية 20-29 سنة ويزداد المعدل بشكل ملحوظ مع زيادة عمر المريضات، (Mahmood *et al.*, 2019)، وكذلك اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة أجريت في البصرة من قبل جمعة (2022).

إذ كانت أكثر الفئات المصابة تتراوح أعمارهم ما بين 56-76 ويعزى سبب ذلك إلى ضعف الجهاز المناعي والإصابة بالأمراض المزمنة وطبيعة المواد الغذائية من الأسباب المحتملة التي تزيد من خطر الإصابة بداء المقوسات الكوندية، في المقابل لم تتفق الدراسة الحالية مع كل من AL-Tameemi *et al.* (2018) في محافظة البصرة التي أشارت في دراستها أن أكثر الفئات العمرية المصابة كانت بنسبة أعلى في الفئات العمرية (18-24) سنة وإيضاً دراسة أجريت في مصر التي أظهرت نتائجها أعلى نسبة إصابة بداء المقوسات كانت للمرضى التي تتراوح أعمارهم بين سنة 18-24 وكما موضح في الجدول (2-4).

جدول (2-4): علاقة المقوسات الكوندية مع الفئات العمرية في المريضات

مجاميع الدراسة		النساء المصابات بالورم الخبيث العدد الكلي = 150		النساء المصابات بالورم الحميد العدد الكلي = 50		p-value
#	Mean ± SD	No.		No.		
25-34 سنة		8	5.3%	15	30.0%	X ² = 22.861 <0.001*
35-44 سنة		33	22.0%	10	20.0%	
45-54 سنة		53	35.3%	13	26.0%	
54 > سنة		56	37.3%	12	24.0%	

3-1-4: نوع النمط الوراثي للمقوسات الكوندية في مريضات سرطان الثدي

يحتوي طفيلي المقوسات على ثلاث فئات وراثية رئيسية هي I و II و III، مع سلالات معاد تركيبها وغير نمطية تم استعمال النمط الجيني الجزئي القائم على تفاعل البلمرة المتسلسل في عينات الأنسجة.

أستعمل في الدراسة الحالية علامة *SAG1* لتحديد النمط الجيني للعضلات. كان النمط الجيني III و II أكثر انتشاراً لدى النساء المصابات بسرطان الثدي، كانت هذه النتائج مقارنة لدراسة أجريت في محافظة الديوانية إذ كان ظهور النمط الجيني الثاني والثالث أكثر شيوعاً بين مريضات سرطان الثدي المصابات بداء المقوسات الكوندية (Abd al-ameer, 2021)، أما النوع الأول من الأنماط الجينية لطفيلي المقوسات الكوندية فقد أشارت إليه أكثر الدراسات تم إيجاده مشيمة النساء المجهضات كما تم ذكره من قبل (A`aiz (2000 في محافظة الديوانية إذ وجد النمط الجيني الأول في ست عينات من مشيمة النساء المجهضات، وكذلك دراسة أجراها (Rufash (2018 تم فيها اكتشاف 56% من النمط الجيني الأول و 43% من النمط الجيني الثالث في النساء المصابات بداء المقوسات الكوندية، كذلك تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة أجريت في إيران ويعزى سبب ذلك إلى استعمال الـ PCR-RFLP في الدراسة الحالية وهو أكثر حساسية ودقة من تفاعل سلسلة البلمرة التقليدي (Hosseini et al., 2021)، كذلك من اسباب ظهور النمط الوراثي الثاني حسب نتيجة (Howe et al., 1997) أن سلالات النوع الثاني ترتبط غالباً بداء المقوسات البشري، وتناقضت الدراسة الحالية مع (Khan et al., 2005) في الولايات المتحدة، الذين وجدوا النمط الجيني الأول حصراً في المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة. حسب جدول (4_3).

جدول (3-4): النمط الوراثي للمقوسات الكوندية في مريضات سرطان الثدي

RR (95% CI)	OR (95% CI)	X ² P-value	Total		مجاميع الدراسة				النمط الوراثي
			%	N	النساء المصابات بالورم الحميد		النساء المصابات بالورم الخبيث		
					%	N	%	N	
1.15 (0.95-1.41)	8.07 0.005*	4.77 0.03*	21.1%	4	0.0%	0	23.5%	4	Type II
Ref.			78.9%	15	100.0%	2	76.5%	13	Type III

في أوروبا والولايات المتحدة، تسود السلالات المستنسخة النموجية (الأنواع الأول والثاني والثالث)، بينما في البرازيل يختلف النمط الجيني لـ *T.gondii* بشكل كبير، مع زيادة عدد السلالات غير النمطية. تسبب السلالات غير النمطية داء المقوسات الشديد في المرضى ذوي المناعة الطبيعية وحديثي الولادة المصابين بداء المقوسات الخلقي (Robert-Gangneux & Belaz 2016).

4-1-4: نسبة تأثير العلاج الكيميائي على المصابات بداء المقوسات الكوندية

بينت الدراسة الحالية تأثير العلاج الكيميائي على الإصابة بالمقوسات الكوندية ولوحظ وجود فرق بين اعداد المصابات اللواتي تلقين العلاج وبين المصابات اللواتي لم يتلقين العلاج وكانت هذه النتائج مشابهة لدراسة أجريت في مصر لقياس نسبة انتشار المقوسات الكوندية بين مرضى السرطان (Malek et al., 2018), يعزى هذا إلى زيادة عدد مراحل العلاج الكيميائي (باستعمال الأدوية المثبطة للمناعة)، والتي تضعف الجهاز المناعي للمرضى وتخفف دفاعاتهم ضد مسببات الأمراض. ترتبط الأمراض الخبيثة بخلل في المناعة الخلوية يُعرف باسم فرضية استنفاد الخلايا التائية، والتي يتم تعزيزها باستعمال الأدوية المثبطة للمناعة. ويؤدي هذا إلى تطور إصابة داء المقوسات وعدم قدرة الجهاز المناعي على التحكم في عدوى مسببات الأمراض داخل الخلايا والأورام (Wassef & Abdel-malek, 2019)، حسب الجدول (4-4).

جدول (4-4): تأثير العلاج الكيميائي على المصابات بداء المقوسات الكوندية

OR (95%CI)	X ² p-value	المجموع الكلي Total		Toxoplasma test اختبار داء المقوسات				تأثير العلاج
				العينات السالبة لفحص داء المقوسات Toxo . -Ve		العينات الموجبة لفحص داء المقوسات Toxo .+ Ve		
		%	N	%	N	%	N	
3.30 (1.02-10.64)	4.358 0.037*	52.7%	79	49.6%	66	76.5%	13	مع العلاج
Ref.		47.3%	71	50.4%	67	23.5%	4	بدون علاج
		100.0%	150	100.0%	133	100.0%	17	Total

وقد أبرزت الزيادة في حالات اضطرابات الجهاز المناعي واستعمال الأدوية المثبطة للمناعة أهمية داء المقوسات باعتباره عدوى انتهازية قد تؤدي حتى إلى الموت (Tait et al., 2009)، وعلى الرغم من هذا الدور المحوري لداء المقوسات، إلا أنه لم يحظ بالاهتمام الذي يستحقه. وفي الوقت الحاضر، لا يزال داء المقوسات يشكل تهديدًا خطيرًا للصحة العامة.

5-1-4: علاقة داء المقوسات الكوندية مع نوع سرطان الثدي

أوضحت الدراسة الحالية أعلى نسبة إصابة بطفيلي داء المقوسات الكوندية كما موضح في الجدول أذ بينت النتائج أن جميع أنواع سرطان الثدي معرضة للإصابة بداء المقوسات الكوندية ولا يوجد نوع محدد للإصابة وظهرت النتائج أكثر نوع تصاب به النساء، هو سرطان الاقنية الغازي (Invasive Ductal Carcinoma (IDC كما موضح في جدول (5-4). وذلك لأنه أكثر الأنواع شيوعاً في العراق ويمثل 77.2% من اجمالي الحالات التي تم تشخيصها، ويكون النمو الخبيث للخلايا الورمية قد اخترقت جدار القناة ودخلت للسدى (Makki, 2015)، أما

مجهرياً فيظهر الورم على شكل حبال أو صفيحة كبيرة من الخلايا النسجية التي تتخلل بشكل شاذ وغير منتظم بين حزم الكولاجين الكثيفة (American cancer society,2010). كما موضح في جدول (4-5).

جدول(4-5) علاقة داء المقوسات الكوندية مع نوع سرطان الثدي

OR (95%CI)	X ² p-value	المجموع الكلي Total		Toxoplasma test اختبار داء المقوسات				نوع السرطان
				العينات السالبة لفحص داء المقوسات Toxo . -Ve		العينات الموجبة لفحص داء المقوسات Toxo .+ Ve		
				%	N	%	N	
0.89 (0.103- 7.70)	0.011 0.915	94.7%	142	94.7%	126	94.1%	16	سرطان الاقنية الغازي
Ref.		5.3%	8	5.3%	7	5.9%	1	سرطان الفصيصي الغازي
		100.0%	150	100.0%	133	100.0%	17	Total

4-1-6: علاقة المقوسات الكوندية مع درجة سرطان الثدي

أشارت الدراسة الحالية إلى درجات سرطان الثدي في مريضات المقوسات الكوندية وبينت النتائج الاحصائية اي درجة سرطان هي معرضة للإصابة بداء المقوسات الكوندية كما موضح في جدول (4-6).

جدول (4-6): علاقة المقوسات الكوندية مع درجة سرطان الثدي

OR (95%CI)	X ² p-value	المجموع الكلي Total		Toxoplasma test اختبار داء المقوسات				درجة السرطان
				العينات السالبة لفحص داء المقوسات Toxo . -Ve		العينات الموجبة لفحص داء المقوسات Toxo .+ Ve		
				%	N	%	N	
0.89 (0.103- 7.70)	0.011 0.915	6.0%	9	6.8%	9	0.0%	0	الدرجة الاولى
		54.7%	82	54.9%	73	52.9%	9	الدرجة الثانية
Ref.		39.3%	59	38.3%	51	47.1%	8	الدرجة الثالثة
		100.0%	150	100.0%	133	100.0%	17	Total

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروقات معنوية بين النساء المصابات بسرطان الثدي الحميد ومريضات سرطان الثدي الخبيث بنسبة الإصابة بداء المقوسات ولمعرفة العلاقة بين السرطان وطفيلي المقوسات يجب معرفة فيما إذا كانت الإصابة حادة أو مزمنة في الشخص المصاب بسرطان الثدي، أن الإصابة بالطفيلي تساهم في تطوير بعض أنواع السرطان، أن مرضى السرطان هم مرضى مثبطين مناعياً لذلك يعتقد بأن السرطان يمهّد الطريق للإصابة بعدوى داء المقوسات (Yuan *et al.*, 2007). ويمكن أن يكون العكس صحيح إذ كشفت بعض البحوث ارتباطات بين سرطان الدماغ والإصابة بطفيلي المقوسات الكوندية في الإنسان إذ أنه من المتوقع أن طفيلي المقوسات يزيد من خطر الإصابة بسرطان الدماغ كونه يعيش لأوقات طويلة بشكل متكيس (encyst) في الدماغ مسبباً التهاباً وتثبيط الموت الخلوي المبرمج للخلايا إذ بينت الدراسة التي أجراها Thomas وآخرون أن الإصابة بطفيلي المقوسات تزيد من احتمالية الإصابة بسرطان الدماغ بنسبة 1.8 مرة وأشار Thomas *et al.* (2012) أن طفيلي المقوسات مسبب مرضي محتمل للسرطان في الإنسان oncogenic pathogen. بينت دراسة Thirugnanam *et al.* (2013) أن طفيلي المقوسات له القدرة على تحويل أو تعديل (modulate) الأحماض النووية microRNAs للمضيف وبالتالي يعزز تطور سرطان الدماغ إذ تنبأت الفرضية أن الحمض النووي الريبوزي المعدل modified micro RNA يلعب دوراً في بدء وتطوير السرطنة في الدماغ (carcinogenesis Brain)، من المحتمل أن نتائج الإصابة تعتمد على السلالة الطفيلية، نوع الخلية المضيفة طريقة الإصابة وتعبير الحمض النووي الريبوزي وأنماط الخلية المضيفة وبروتينات الطفيلي. وفي المقابل، فأن للمقوسة الكوندية القدرة على تحويل مسارات الإشارات لخلايا المضيف والعمليات الخلوية بواسطة التدخل في ملامح التعبير الجيني للخلايا المصابة (Laliberte *et al.*, 2008) التي تستجيب بدورها عن طريق الشروع بإنشاء استجابة مبرمجة لقتل الخلايا والتي تقلل حيوية وانتشار الطفيليات وجعلها عرضة للهجوم من قبل الجهاز المناعي، ومع ذلك، فقد بينت بعض الدراسات أن المقوسات الكوندية قد أنشأت العديد من الاستراتيجيات التحديد في برامج القتل الخلوية الخارجية والداخلية للخلايا المصابة (Sinai *et al.*, 2004).

يمكن القول بأن كلا الطريقتين أعلاه ممكن مما يعني أن مرض السرطان يزيد من احتمالية الإصابة بداء المقوسات وداء المقوسات يعمل على تطور مرض السرطان لأن كلا المرضين مرتبطين بضعف المناعة وأيضاً مرتبطين بوجود خلل في المناعة الخلوية، لذلك يتطلب الأمر مراقبة المرضى المصابين بالسرطان لمنع حدوث عدوى جديدة أو تنشيط عدوى سابقة لتقليل العبء الحاصل على الجهاز المناعي عند مواجهة كلا المرضين (جمعة, 2022).

تعد الاختبارات المصلية واحدة من تقنيات التشخيص الرئيسية لداء المقوسات على الرغم من ذلك قد تفشل في كشف الإصابة بالطفيلي. وقد تفشل أيضاً في الكشف عن الطفيلي في المرضى المثبطين مناعياً

(immunocompromised patients) إذا كان مستوى الاجسام المضادة IgG أو IgM المضادة للطفيلي منخفضة في هذا النوع من المرضى (Fallahi et al., 2019)، لذلك يستعمل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لحساسيته العالية في تشخيص داء المقوسات في عينات النسيج. يعد الجين B1 من الجينات الأكثر شيوعا المستعملة في تشخيص داء المقوسات إذ يحتوي على 35 نسخة في الجينوم ويتم التعبير عنه في كلا الطورين، الطور الخضري السريع bradyzoite والطور الخضري البطيء (Jones et tachyzoite, 2010), وفقاً لدراسة حديثة، تم ربط إصابة المقوسات الكوندية بأنواع مختلفة من السرطان Al-sharefi et al., (2023), ووفقاً لإحدى الدراسات، فإن 20.46% من النساء المصابات بسرطان الثدي أظهرت نتائج اختبار الأجسام المضادة للطفيلي إيجابية، وكان لدى 93.7% من هؤلاء النساء مستويات الأجسام المضادة: 1:400 أو أعلى (Black & Boothroyd, 2000), وجدت دراسة حديثة معدل انتشار مصل أعلى لداء المقوسات لدى مريضات سرطان الثدي (Hagbin et al., 2023).

أشار (Ghoenim et al., 2009) إلى أنه قد يكون انخفاض معدل الإصابة باستعمال تفاعل السلسلة المبلر PCR مقارنة بنتائج ELISA ناتجا عن عدم وجود الطفيلي في الدم وقت التجميع للعينات، وقد تم تحديد الطفيلي بالفعل داخل الجسم ككيس نسيجي tissue cyst , بسبب صعوبة التشخيص السريري لداء المقوسات النشط وانخفاض مستويات الأمصال لهذا النوع من المرضى يفضل دمج طريقة التشخيص المصلي مع التشخيص الجزيئي مثل تضخيم الجين B1 في مرضى السرطان (Mechain et al., 2000).

يمكن لطفيلي المقوسات الكوندية إصابة أعضاء الجسم المختلفة وانسجته وقد يسبب تحويل الخلايا المضيفة وقد يتطور إلى سرطان .

4-2: نتائج تحليل تتابع القواعد النيتروجينية للنمط الوراثي الثاني

أوضحت نتائج التحليل الوراثي لعزلة النمط الوراثي الثاني LC848443 II كما موضح في شكل (4-7) في هذه الدراسة، تم التركيز على التحليل التطوري لطفيلي المقوسات الكوندية ، وتحديدًا فحص سلالة النمط الجيني II من المنطقة المحلية (LC848444) ومقارنتها بسلالات عالمية مختلفة، طفيلي المقوسات الكوندية هو مسبب مرضي مهم له آثار على الصحة العامة، مما يجعل فهم تنوعه الجيني أمراً بالغ الأهمية.

لإجراء التحليل، تم جمع السلالة المحلية واستخراج مادتها الجينية، تم استعمال برنامج MEGA لفحص التسلسل، تم القيام بمحاذاة التسلسلات مع تلك الخاصة بالسلالات العالمية، باستعمال الخوارزميات المناسبة مثل Clustal W للحصول على نتائج محاذاة مثالية، تم إنشاء الشجرة التطورية بناءً على نماذج تطورية متعددة، وتم حساب قيم التمهيد لتقييم موثوقية النتائج التي توصلنا إليها.

كشفت الشجرة التطورية الناتجة عن رؤى مثيرة للاهتمام حول العلاقات الجينية بين السلالة المحلية والسلالات العالمية والجدير بالذكر أن LC848444 تم وضعه بطريقة تسلط الضوء على أوجه التشابه والاختلاف في المسافة الجينية عند مقارنتها بسلالات مختلفة من مناطق جغرافية مختلفة. قد يشير هذا التوضع إلى سلالة مشتركة أو مسارات انتقال حديثة تستحق مزيداً من التحقيق.

في هذا التحليل التطوري لطيفلي المقوسات الكوندية، تم فحص العلاقات الجينية Aligment بين السلالة المحلية (LC848444) والسلالات العالمية المختلفة، توضح شجرة النشوء والتطور الناتجة مجموعة أحادية النمط Monogenic من السلالات، مما يشير إلى أنها تشترك في سلف مشترك يشير موقع LC848444 إلى أنها تشكل عقدة مميزة داخل هذه الشجرة، مما يسلط الضوء على خصائصها الجينية الفريدة بينما يعكس أيضاً سلالتها التطورية.

يعمل جذر الشجرة Phylogentic Root كنقطة مرجعية للسلالة الأصلية التي انفصلت عنها جميع السلالات المدروسة والجدير بالذكر أن وجود تعدد التقسيمات في مناطق معينة من الشجرة يشير إلى نقاط انقسمت فيها سلالات متعددة في وقت واحد، مما يشير إلى تاريخ تطوري معقد بين هذه السلالات إذ اقترقت العترة المحلية مع باقي العترة العالمية Terminal Taxa.

يؤكد نمط التفرع هذا على التنوع الجيني داخل طيفلي المقوسات الكوندية، مما يوضح كيف تطورت سلالات مختلفة بالتوازي أو انفصلت عن سلف مشترك Distinguished strain , وبشكل عام يوفر الإطار التطوري الذي تم أنشاؤه رؤى قيمة حول العلاقات التطورية والاختلافات الجينية الموجودة بين سلالات طيفلي المقوسات الكوندية، مما يؤكد أهمية فهم هذه الديناميكيات في سياق الصحة العامة وانتقال الأمراض (Li et al 2014).



شكل (4-5): درجات التشابه والاختلاف للعزلة LC848443 لهذه الجينات مع بيانات بنك الجينات NCBI للنمط الوراثي الثاني لطيفلي المقوسات الكوندية

عند فحص الشجرة الوراثية، نجد ارتباطاً وثيقاً ملحوظاً بين السلالة المحلية (LC848444) والسلالة العالمية (LN 14502.1) من إيران ، إذ تشترك كلتا السلالتين في جذر وعقدة مشتركة يشير هذا القرب في الشجرة إلى أنهما ربما انحرقتا عن سلف مشترك حديث، مما يشير إلى علاقة تطورية محتملة.

يؤكد وضع LC848444 أعلى من LN 14502.1 في الشجرة الوراثية على أوجه التشابه الجيني بين هاتين السلالتين، والتي قد تعكس عوامل بيئية أو عوامل مضيضة مشتركة تؤثر على تطورهما. تسلط هذه العلاقة الوثيقة الضوء على أهمية السلالات المحلية في فهم الديناميكيات الأوسع لمجموعات طيفلي المقوسات الكوندية على مستوى العالم.

تبدو السلالة المحلية (LC848444) من ناحية أخرى مختلفة عن المجموعة العالمية المتبقية، والتي تضم 11 سلالة عالمية وهي (-) *Toxoplasma gondii* ME49 SAG- XM_002371878.2:660-1445 ,related sequence SRS57 (SRS57) mRNA PP791840.1:3-788 *Toxoplasma gondii*

isolate IQC No.7 surface antigen (SAG3) gene partial cds, AF340228.1:73-858 *Toxoplasma gondii* strain Prugniaud surface antigen (SAG3) gene SAG3-E allele complete cds, MW338755.1:3-788 *Toxoplasma gondii* isolate Chicken brain No.3 surface antigen protein (SAG3) gene partial cds , AK317978.1:204-989 *Toxoplasma gondii* cDNA clone: XTG01427.2 full cDNA XTG Sugano cDNA library, MZ231014.1:3-788 *Toxoplasma gondii* isolate No. 13 surface antigen (SAG3) gene partial cds, MN747840.1:73-858 *Toxoplasma gondii* isolate IQW.No.2 surface antigen protein 3 (sag3) gene partial cds, JF312642.1:73-858 *Toxoplasma gondii* strain RH surface antigen 3 (SAG3) gene SAG3-A allele complete cds, HM585285.1:73-858 *Toxoplasma gondii* strain RH SAG-3 mRNA complete cds, OL792797.1:3-788 *Toxoplasma gondii* isolate Tg-IQ-Human 2 surface antigen protein (SAG3) gene partial cds, PQ299686.1:3-788 *Toxoplasma gondii* isolate IQD.No.6 surface antigen protein 3 (SAG3) gene partial cds (يشير هذا الفصل إلى تباعد وراثي كبير، مما يشير إلى أن السلالة المحلية ربما تطورت بشكل مستقل عن هذه السلالات العالمية.

يسلط غياب الروابط الوثيقة بين LC848444 والسلالات الأخرى الضوء على الخصائص الفريدة للعزلة المحلية، والتي قد تعكس تكيفات مع ظروف بيئية أو مضيضة محددة. يعد هذا التمايز أمرًا بالغ الأهمية لفهم المشهد الجيني الأوسع لطيفي المقوسات الكوندية ويؤكد على أهمية دراسة السلالات المحلية فيما يتعلق بالسلالات العالمية (Darde,2004).

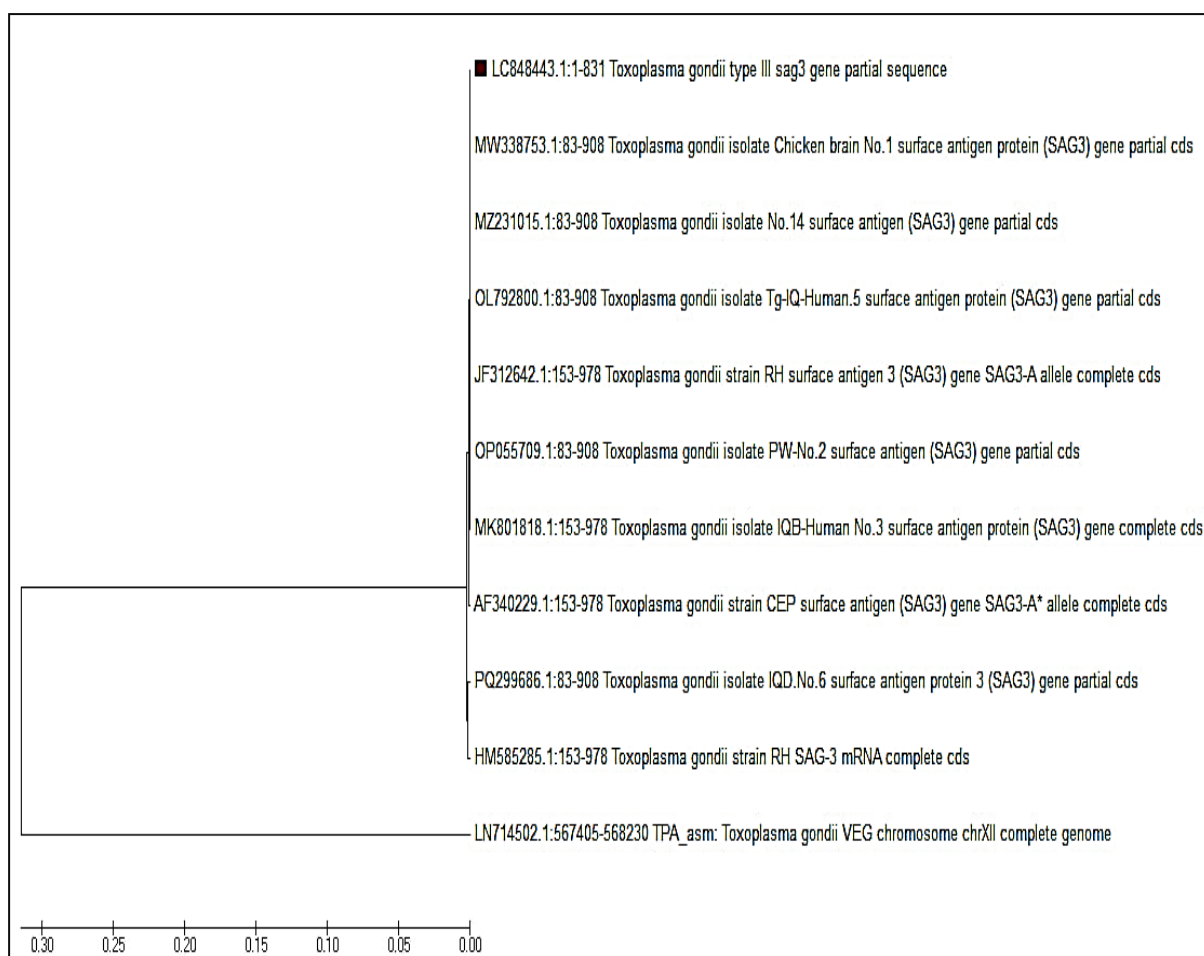
3-4: نتائج تحليل تتابع القواعد النيتروجينية للنمط الوراثي الثالث

أوضحت نتائج التحليل الوراثي لعزلة النمط الوراثي الثالث LC848444 III، كما موضح في الشكل (8-4) ، عند فحص الشجرة التطورية باستعمال السلالة المحلية LC848443.1 (النمط الجيني الثالث لطيفي المقوسات الكوندية)، يبدو أن هذه السلالة وثيقة الصلة بالعديد من السلالات العالمية التي تشترك في عقدة أو جذر مشترك، تشمل السلالات التي من المرجح أن يتم تحديدها كسلالات شقيقة لـ LC848443.1 ما يلي (OL7792800.1 , MZ231015.1 Strain Pringle , MW338753.1 Chicken brain isolate) , AF340229.1 Strain , OP055709.1 PW strain , JF312642.1 Strain RH ,Strain RH (MK801818.1 IQB-Human strain , CEP

تُظهر هذه السلالات علاقة تطورية وثيقة مع LC848443.1، مما يشير إلى أنها ربما انحرفت عن سلف مشترك حديث، قد يشير هذا الارتباط إلى عوامل بيئية أو بيولوجية مشتركة تؤثر على تطورها.

يمكن أن يوفر فهم هذه العلاقات رؤى حول التنوع الجيني لطفيلي المقوسات الكوندية ويعزز المعرفة بانتقاله وضراوته عبر سلالات مختلفة، في حين يبدو أن السلالة المحلية LC848443.1 وثيقة الصلة بالعديد من السلالات العالمية، إلا أن الاختلافات الطفيفة على مستوى النوكليوتيدات - مثل نوكليوتيد واحد أو اثنين - لا تزال موجودة مع سلالات مثل PQ299686.1 (سلالة IQD) و HM585285.1 (سلالة RH). يمكن أن تكون هذه الاختلافات الطفيفة مهمة في فهم التنوع الجيني والمسارات التطورية لطفيلي المقوسات الكوندية حتى الاختلافات النوكليوتيدية الصغيرة يمكن أن تؤثر على عوامل مثل الضراوة وخصوصية المضيف وديناميكيات الانتقال، يؤكد وجود هذه الاختلافات الطفيفة على تعقيد العلاقات التطورية داخل هذا الطفيلي، مما يسلط الضوء على أهمية الدراسات الجينومية لفهم مفصل لخصائص السلالة وتأثيراتها على الصحة العامة (Sudan et al., 2015).

تظهر السلالة العراقية المحلية (LC848443.1) من ناحية أخرى تباعداً كبيراً عن السلالة الإيرانية العالمية (LN714502)، كما يتضح من موقعها في عقد مختلفة في الشجرة التطورية. يشير هذا الانفصال الواضح إلى أن السلالة العراقية تطورت بشكل مستقل عن السلالة الإيرانية، مما يعكس خصائص وراثية مميزة وربما تكيفات بيئية أو مضيئة مختلفة، يسلط هذا التباعد الضوء على تعقيد مجموعات طفيلي المقوسات الكوندية ويؤكد على أهمية دراسة السلالات المحلية لفهم سماتها الفريدة وأهميتها الوبائية، يمكن أن توفر الاختلافات بين هذه السلالات رؤى قيمة حول ديناميكيات الانتقال وعوامل الضراوة المحتملة المرتبطة بالمتغيرات المحلية والإقليمية للطفيلي (Sudan et al., 2012).

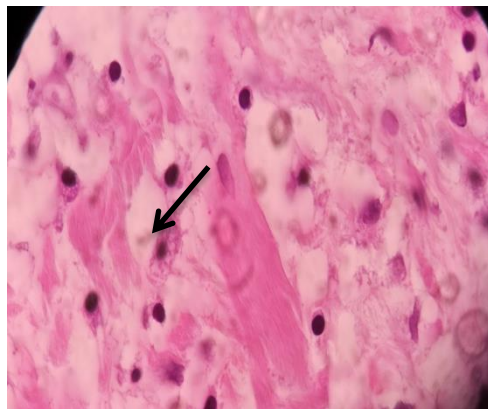


شكل (4-6) درجات التشابه والاختلاف للعزلة LC848444 لهذه الجينات مع بيانات بنك الجينات NCBI للنمط الوراثي الثالث لطيفلي المقوسات الكوندية

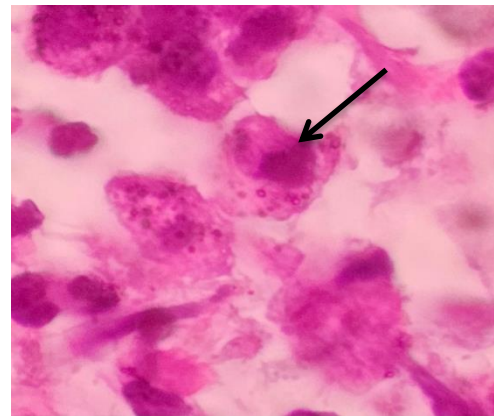
4-4: الفحص النسيجي لطيفلي المقوسات الكوندية في أنسجة سرطان الثدي

لم يتم ملاحظة أي تغيرات نسجية في المقاطع المفحوصة كما موضح في صورته (4-4)، ولكن أشارت دراسة أجريت في واسط بواسطة (Saeed & Majali, 2023) إذ بينت هذه الدراسة الفحص النسيجي والتغيرات النسجية في سرطان الرحم والبروستاتا المصابة بداء المقوسات الكوندية، ووضحت الدراسة أن الإصابة بداء المقوسات الكوندية ووجوده داخل الخلايا له دور في تطور أنواع مختلفة من التغيرات النسجية

المرضية والتي تتحول في المستقبل إلى سرطانات محتملة في الاعضاء المتضررة من الجسم.



(b)



(a)

شكل (4-7) (a) مقطع نسيجي لسرطان الثدي مصاب بطفيلي المقوسات الكوندية (→) داخل الخلايا البلعمية Macrophage cells، (b) مقطع نسيجي لسرطان ثدي غير مصاب بطفيلي المقوسات الكوندية (1000x H&E).

تشير بعض الدراسات إلى أن النظام الهرموني في الأنسجة المصابة بطفيلي المقوسات الكوندية يلعب دوراً كبيراً في استقرار الطفيلي من خلال التأثير على النشاط النسيجي للطفيل وقدرته على التكاثف الطفيلي، بواسطة العيش في أنسجة المضيف، لاستعمال هذه الخلايا لصالحه. من خلال تأثيرها على جهاز المناعة في نظام الأشخاص المصابين بداء المقوسات، فإن الطفيل لديه أيضاً القدرة على استغلال هذه التغييرات للهروب من جهاز المناعة، وذلك بواسطة ارتباط هذه الهرمونات بمستقبلات خاصة لدى الطفيلي، مما يؤدي إلى منع تأثير الأجسام المضادة التي يفرزها المضيف ضد الطفيلي (Aabasian *et al.*, 2016)، قد تكون الاستجابة المناعية لداء المقوسات الكوندية مساهماً في التغييرات النسجية والعصبية (Rivest, 2009). تم الكشف عن التوزيع غير المنتظم للنخر داخل الأنسجة المصابة بوساطة طفيلي المقوسات الكوندية (Evans *et al.* 2014)، وهناك تأكيد حقيقي لوجود الطفيلي في الخلايا العصبية (Cabral *et al.*, 2016).

تسبب الإصابة بطفيلي المقوسات الكوندية في أنسجة البروستاتا في تلف الأنسجة لإنتاجه للعديد من الحركات الخلوية والمواد الكيميائية الالتهابية التي تعزز تكوين الالتهاب في الدم المحيط بالأوعية الدموية والخلايا المناعية والأنسجة الليفية مما يؤدي إلى تضخم وتكاثر الأنسجة، والنخر الناتج في الأنسجة هو نتيجة غزو مرحلة التكاثف السريع للطفيلي إلى خلايا الجسم، أذ يتم إضافتها إلى الداخل، مما يؤدي إلى تكوين فراغات كبيرة في الأنسجة نتيجة تكوينها الخراجات من الطفيلي، طفيلي الأنسجة يؤدي تلف هذه الأنسجة إلى موت الخلايا بواسطة الإفرازات والسموم المنتجة عن طريق طفيلي المقوسات الكوندية مما يؤدي إلى التشوهات أو اضطرابات في الخلايا التي تشكل الربع الأول من النسيج (Mushattat *et al.*, 2020). تم

العثور على طفيلي المقوسات في طور التكاثر السريع في أنسجة الرحم أيضاً، ويُعتقد أنه قدرة الطفيلي على الهجرة عبر عضلات بطانة الرحم وغزو أنسجتها هو ما يسبب تجمع الاوعية الدموية لتصبح مزدحمة، إلى جانب وجود القدرة على إطلاق بعض المواد البروتينية التي تحفز الصفائح الدموية وكذلك الخلايا البطانية من خلال إفراز بعض الحركات الكيميائية، وتنتزع في جميع أنحاء الدم، هذا يزيد الأوعية الدموية ويساعد في تجمع والتصاق الصفائح الدموية ومكونات الدم على الجدران ونفاذية الأوعية الدموية، والتي تسمح لطور التكاثر السريع بالدخول إلى الأنسجة والاستقرار في العضو (Bayat et al.,2013).

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

5- الاستنتاجات والتوصيات Conclusions & Recommendations

1-5 الاستنتاجات Conclusions

1- بلغت نسبة الإصابة بداء المقوسات الكوندية %11.3 لدى النساء المصابات بسرطان الثدي.

2- أعلى نسب للإصابة بداء المقوسات كانت في الفئة العمرية >56.

3- الأنماط الوراثية الأكثر ظهوراً لطيفلي داء المقوسات هو النمط الثاني والثالث في المصابات بسرطان الثدي.

4- وجود علاقة طردية بين العلاج الكيميائي ونسبة الإصابة بطيفلي المقوسات الكوندية.

5- تم تسجيل العزلة المحلية ذات الرقم التسلسلي LC848443 للنمط الجيني الثاني لطيفلي المقوسات الكوندية والعزلة المحلية للنمط الجيني الثالث ذات الرقم التسلسلي LC848444 في بيانات بنك الجينات NCBI.

2-5 التوصيات Recommendations

- 1- استعمال اختبار ELISA (IgG IgM) لمعرفة فيما إذا كانت الإصابة للمريضات حادة أو مزمنة بداء المقوسات لحساسيته و خصوصيته العالية وكذلك لسهولة وسرعة الاستعمال.
- 2- البدء ببرامج التثقيف الصحي حول طرق انتقال الإصابة والوقاية منها.
- 3- اجراء دراسات معمقة على سرطانات أرى مثل سرطان الدم، الدماغ، الرحم، البروستات وغيرها من أنواع السرطانات والتي لم يسمح الوقت بدراستها وإيجاد علاقة الإصابة بطفيلي المقوسات الكوندية بتلك السرطانات.
- 4- دراسة الآليات الكيميائية والحيوية والمناعية التي تلعب دورا في حدوث الإصابة بالطفيلي ودورها في حث تكوين الخلايا السرطانية.
- 5- توعية المريضات المصابات بسرطان الثدي بخطورة المرض في حالة حصول ضعف مناعي شديد.
- 6- لكون طفيلي المقوسات الكوندية انتهازي فيجب أن يقترن فحص الطفيلي مع كل حالة سرطانية.

المصادر

References

المصادر

المصادر العربية

شمس الضحى عيسى جعفر جمعة. (2022). دراسة مصلية وجزئية لطيفلي المقوسات الكوندية في المرضى ضعيفي المناعة والمصابين بالسرطان في محافظة البصرة. رسالة ماجستير _كلية التربية للعلوم الصرفة _جامعة البصرة العراق.

عليه كريم كنش الكوفي. (2020). العلاقة بين مرض المقوسات وسرطان الثدي والكشف عن بعض المؤشرات المناعية والهرمونية عند النساء في محافظة النجف الأشرف. رسالة ماجستير _كلية التربية للنبات _جامعة الكوفة العراق.

المصادر الاجنبية

- A'aiz, N. N. (2000). Genotyping analysis to determine the lineages types of *Toxoplasma gondii* with study of autoantibodies production. Ph. D. Thesis. college of science, Kuffa university, 200 pp.
- Aabasian, L., Shirbazou, S., Shamsi, M., Damghani, S., & Delpisheh, A. (2016). Hormonal changes in women with breast cancer infected with *Toxoplasma gondii*.
- Addo, S. O., Asare, T. O., Arthur, C., Amoateng, K., Addo, K., & Larbi, J. A. (2023). *Toxoplasma gondii* among pregnant women attending antenatal care in a district hospital in Ghana. *Public Health Challenges*, 2(2), e82.
- Ahmad Pour, E, Daryani, A, Sharifi, M.; Sarui, S.; Aarabi, Mizan; A Rahimi, T & shokri, A. (2015). Toxoplasmosis in Immunocompromosed pateints in Iran a systematic review & meta-analysis. *J.I. Develop Count*,8(12):1503-150.
- Ajzenberg, D. (2011). Unresolved questions about the most successful known parasite (Expert Reviews). *Expert Review of Anti-infective Therapy*.171-169:(2) 9.
- Ajzenberg, D., Banuls, A. L., Su, C., Dumetre, A., Demar, M., Carme, B., & Dardé, M. L. (2004). Genetic diversity, clonality & sexuality in *Toxoplasma gondii*. *International journal for parasitology*, 34(10), 1185-1196.

- Ajzenberg, D., Yera, H., Marty, P., Paris, L., Dalle, F., Menotti, J., ... & Villena, I. (2009).** Genotype of 88 *Toxoplasma gondii* isolates associated with toxoplasmosis in immunocompromised patients & correlation with clinical findings. *The Journal of infectious diseases*, 199(8), 1155-1167.
- AL-Gabbar, S. A. (2016).** Seroprevalence Determination of Toxoplasmosis among Cancer Patients M.Sc. Thesis University of Diyala, College- of Education of Pure Science.135p.
- Ali, H. Z., & Al-Warid, H. S. (2021).** Changes in Serum Levels of Lipid Profile Parameters & Proteins in *Toxoplasma gondii* Seropositive Patients. *Iraqi Journal of Science*, 801-810.
- Alkardhi, I. K., Masmoudi, H., Muhammed, H. A., & Sellami, H. (2023).** Immunological & Genotyping Study of Toxoplasma Gondi & Its Relationship with Toll Like Receptor 4 “TLR4” Polymorphism in Aborted Women. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 90(2), 3338-3345.
- Al-Sharefi, M. R., Mahdi, A. A., Alsaegh, A. A. R., Abed, H. A., Al-Ghazali, H. R., & Mahdi, R. A. (2023).** Study about the association between toxoplasma & breast cancer in Najaf During 2020. *Cardiometry*, (26), 221-226.
- Al-Tameemi, I. A., Abdullah, B. H., & Raisan, S. J. (2018).** SEROPREVALENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* AMONG CANCER PATIENTS IN BASRAH PROVINCE/IRAQ.
- Al-Tamemmi, I. A., Abdullah, B. H., & Raisan, S. J. (2019).** MOLECULAR DIAGNOSIS FOR SURFACE ANTIGENS GENES (SAG1, SAG2, & SAG3) OF TOXOPLASMOSIS IN BASRAH PROVINCE-IRAQ. *European Journal of Biomedical*, 6(1), 99-104.
- Al-Toban, H. A., Al-Marsomy, H. D., Al-Tameemi, W. F., Al-Obaidi, A. B., Mohammed, M. A., Al-Saeed, R. M., & Al-Shemary, I. K. (2019).** Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in a sample of Iraqi patients with

acute leukemia & stem cell transplantation. *Iraqi Journal of Hematology*, 8(1), 38-44.

Alves, C. M. O. S., Silva, D. A. O., Azzolini, A. E. C. S., Marzocchi-Machado, C. M., Lucisano-Valim, Y. M., Roque-Barreira, M. C., & Mineo, J. R. (2013). Galectin-3 is essential for reactive oxygen species production by peritoneal neutrophils from mice infected with a virulent strain of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*, 140(2), 210-219.

Alwan, N.; (2010). Breast cancer: demographic characteristics & clinico pathological presentation of patients in Iraq/ Cancer du sein: Caracteristiques demographiques des patients et pregentation clinico pathologique en Iraq. *East. Mediterr Health J.*, 16(11): 1159.

Arefkhah, N., Hosseini, S. A., Karimzade, R., Moshfe, A., Hadinia, F., Larki, R. A., ... & Hadinia, A. (2019). Seroprevalence & risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among cancer & hemodialysis patients in southwest Iran. *Clinical Epidemiology & Global Health*, 7(4), 596-599.

Attias, M., Teixeira, D. E., Benchimol, M., Vommaro, R. C., Crepaldi, P. H., & De Souza, W. (2020). The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasites & vectors*, 13, 1-13.

Bajwa, A. A., Islam, S., Rashid, I., Ashraf, K., Akbar, H., & Shehzad, W. (2014). Toxoplasmosis a global threat to all vertebrates: trends in diagnostic methods. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(3).

Bancroft, J. D., & Gamble, M. (Eds.). (2008). *Theory & practice of histological techniques*. Elsevier health sciences.

B&o, H., Lee, Y., Sakaguchi, N., Pradipta, A., Ma, J. S., Tanaka, S., ... & Yamamoto, M. (2018). Inducible nitric oxide synthase is a key host factor for *Toxoplasma* GRA15-dependent disruption of the gamma interferon-induced antiparasitic human response. *MBio*, 9(5), 10-1128.

- Bastien, P. (2002).** Molecular diagnosis of toxoplasmosis. Transactions of the Royal society of Tropical medicine & hygiene, 96(Supplement_1), S205-S215.
- Bayat, D. P., Zahra, E., & Saeedeh, S. (2013).** Toxoplasmosis: Experimental Vaginal Infection in NMRI Mice & Its Effect on Uterin, Placenta & Fetus Tissues. 15(7):595-9.
- Behzad-Behbahani, A., Klapper, P. E., Vallely, P. J., Cleator, G. M., & Khoo, S. H. (2004).** Detection of BK virus & JC virus DNA in urine samples from immunocompromised (HIV-infected) & immunocompetent (HIV-non-infected) patients using polymerase chain reaction & microplate hybridisation. Journal of clinical virology, 29(4), 224-229.
- Black, M. W., & Boothroyd, J. C. (2000).** Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiology & molecular biology reviews, 64(3), 607-623.
- Blader, I. J., Coleman, B. I., Chen, C. T., & Gubbels, M. J. (2015).** Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*: 15 years later. Annual review of microbiology, 69, 463-485.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence & mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 68(6), 394-424.
- Burg, J. L., Grover, C. M., Pouletty, P., & Boothroyd, J. (1989).** Direct & sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*, 27(8), 1787-1792.
- Cabral, C. M., Tuladhar, S., Dietrich, H. K., Nguyen, E., MacDonald, W. R., Trivedi, T., ... & Koshy, A. A. (2016).** Neurons are the primary target cell for the brain-tropic intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. PLoS pathogens, 12(2), e1005447.

- Cardozo, O.; Sucre, M.M. & Godoy, L. (2018).** Toxoplasmosis ocular: Frecuencia y características clínicas en un consultorio de oftalmología pediátrica. *Pediatría* : Organo Oficial de la Sociedad Paraguaya de Pediatría, 45(3): 223-228
- Cenci-Goga, B. T., Rossitto, P. V., Sechi, P., McCrindle, C. M., & Cullor, J. S. (2011).** Toxoplasma in animals, food, & humans: an old parasite of new concern. *Foodborne Pathogens & Disease*, 8(7), 751-762.
- Charifa, A., Walther, Z., Salem, R. R., & Jain, D. (2019).** Undifferentiated carcinoma with osteoclast-like giant cells of the pancreas arising from an intraductal papillary mucinous neoplasm. *Human Pathology: Case Reports*, 15, 95-98.
- Contini, C., Cultrera, R., Seraceni, S., Segala, D., Romani, R., Fainardi, E., ... & Delia, S. (2002).** The role of stage-specific oligonucleotide primers in providing effective laboratory support for the molecular diagnosis of reactivated *Toxoplasma gondii* encephalitis in patients with AIDS. *Journal of medical microbiology*, 51(10), 879-890.
- Dardé, M. L. (2004).** Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 40(1), 57-63.
- Dardè, M. L.; Ajzenberg, D. & Smith, J. (2014).** Population Structure & epidemiology of *Toxoplasma gondii* In: *Toxoplasma gondii: The Model Apicomplexan: Perspectives & Methods*, Edited By Louis M. Weiss & Kami Kim, Second edition,, Lonson, Elsevier Ltd., pp. 61--97.
- Del Brutto, O. H., Dolezal, M., Castillo, P. R., & García, H. H. (2000).** Neurocysticercosis & oncogenesis. *Archives of Medical Research*, 31(2), 151-155.
- Delgado, I. L., Zúquete, S., Santos, D., Basto, A. P., Leitão, A., & Nolasco, S. (2022).** The apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. *Encyclopedia*, 2(1), 189-211 .
- Delhaes, L., Yera, H., Ache, S., Tsatsaris, V., & Houfflin-Debarge, V. (2013).** Contribution of molecular diagnosis to congenital toxoplasmosis. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*, 76(2), 244-247.

- Desmonts, G., Remington, J.S., (1980).** Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity & specificity. *J. Clin. Microbiol.* 11, 562–568.
- Dou, Z., McGovern, O. L., Di Cristina, M., & Carruthers, V. B. (2014).** *Toxoplasma gondii* ingests & digests host cytosolic proteins. *MBio*, 5(4), 10-1128.
- Dubey, J. P. (2002).** Tachyzoite-induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. *Journal of Parasitology*, 88(4), 713-717.
- Dubey, J. P. (2004).** Toxoplasmosis—a waterborne zoonosis. *Veterinary parasitology*, 126(1-2), 57-72.
- Dubey, J. P. (2009).** History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *International journal for parasitology*, 39(8), 877-882.
- Dubey, J. P. (2022).** Toxoplasmosis of animals & humans. CRC press. 3rd edn., 525 pp.
- Dubey, J. P., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., & Schares, G. (2017).** *Neosporosis in animals*. CRC Press.
- Dubey, J. P., Sundar, N., Gennari, S. M., Minervino, A. H. H., Farias, N. D. R., Ruas, J. L., ... & Su, C. (2007).** Biologic & genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state & the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse & distinct parasite populations. *Veterinary parasitology*, 143(2), 182-188.
- Dubey, J.P. (2010).** Toxoplasmosis of animals & humans, second edition. Boca Raton: CRC Press. 313 p.
- Dubey, J.P.; Velmurugan, G.V.; Rajendran, C.; Yabsley, M.J.; Thomas, N. Beckmen, K.B.; Sinnett, D.; Ruid, D.; Hart, J.; Fair, P.A.; McFee, W.E.; Shearn Bochsler, V.; Kwok, O.C.H.; Ferreira, L.R.; Choudhary, S.; Faria, E.B.; Zhou, H.; Felix, T.A. & Su, C. (2011).** Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in wildlife from North America revealed widespread &

high prevalence of the fourth clonal type. *International Journal for Parasitology*. (41):1139–1147.

Ducloux-Lebon, B., Brazier, F., Tamarit, C., Sabbagh, C., Fumery, M., & Chatelain, D. (2022, June). Rectal leiomyosarcoma, a rare malignant tumor diagnosed in ulcerative colitis. In *Annales de Pathologie* (Vol. 43, No. 1, pp. 29-33).

Ellis, H., & Mahadevan, V. (2013). Anatomy & physiology of the breast. *Surgery* (Oxford), 31(1), 11-14.

Ellis, H., & Mahadevan, V. (2013). Anatomy & physiology of the breast. *Surgery* (Oxford), 31(1), 11-14.

EL-Wakil, H. S., Kamel, N. M., & Mahmoud, M. S. (2002). A preliminary study on the relationship between *Trichomonas vaginalis* & cervical cancer in Egyptian women. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 32(1), 167-178.

Evans, A. K., Strassmann, P. S., Lee, I. P., & Sapolsky, R. M. (2014). Patterns of *Toxoplasma gondii* cyst distribution in the forebrain associate with individual variation in predator odor avoidance & anxiety-related behavior in male Long–Evans rats. *Brain, behavior, & immunity*, 37, 122-133.

Fallah, M., Rabiee, S., Matini, M., & Taherkhani, H. (2008). Seroepidemiology of toxoplasmosis in primigravida women in Hamadan, Islamic Republic of Iran, 2004. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 14 (1), 163-171, 2008.

Fallahi, S. H., Kazemi, B., B&ehpour, M., Lasjerdi, Z., Taghipour, N., Zebardast, N., ... & Ebrahimzadeh, F. (2014). Comparison of the RE & B1 gene for detection of *Toxoplasma gondii* infection in children with cancer. *Parasitology international*, 63(1), 37-41.

Ferguson, D. J. (2009). *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux & Splendore. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 133-148.

Ferguson, D. J., & Dubremetz, J. F. (2014). The ultrastructure of *Toxoplasma gondii*. *Toxoplasma gondii*, 19-59.

- Ferreira, A. D.M.; Vitor, R.W.; Gazzinelli, R.T. & Melo, M.N. (2006).** Genetic Analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Journal Infection, Genetics & Evolution*.(6): 22–31.
- Flegr, J.; Pr&ota J.; Sovic kova, M. & Israili, Z.H. (2014).** Toxoplasmosis a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. *PLOS ONE* 9: e90203 .
- Fontes, A.A.; Carvalho, S.A.D.S.; &rade, G.M.Q.D.; Carellos, E.V.; Romanelli, R.C. & Resende, L.M.D. (2019).** Study of brainstem auditory evoked potentials in early diagnosis of congenital Toxoplasmosis. *Brazilian J.*
- Frénal, K., Dubremetz, J. F., Lebrun, M., & Soldati-Favre, D. (2017).** Gliding motility powers invasion & egress in Apicomplexa. *Nature Reviews Microbiology*, 15(11), 645-660.
- Gashout, A., Amro, A., Erhuma, M., Al-Dwibe, H., Elmaihub, E., Babba, H., ... & Abudher, A. (2016).** Molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in Libya. *BMC infectious diseases*, 16, 1-8 .
- Ghasemian , M.; Maraghi , S.; Saki ,J. & Pedram , M. (2007)** Determination of antibodies (IgG , IgM) against *Toxoplasma gondii* in patients cancer .*J. Iran Parasitol*, 2(4)2:1-6.
- Ghoneim, N. S. S., Hassanain, N., Zeedan, G., Soliman, Y., & Abdalhamed, A. (2009).** Detection of genomic *Toxoplasma gondii* DNA & anti-Toxoplasma antibodies in high risk women & contact animals. *Global Veterinaria*, 3(5), 395-400.
- Ghosh, S. (2018).** Paniker's textbook of medical parasitology. 8th edn., Jaypee *Brothers Medical publ., India*: 256pp.
- Ghosh, S., & Basu, R. N. (2018).** Multifunctional nanostructured electrocatalysts for energy conversion & storage: current status & perspectives. *Nanoscale*, 10(24), 11241-11280.

- Gillespie, S. H., & Pearson, R. D. (Eds.). (2001).** Principles & practice of *clinical parasitology* (Vol. 10, pp. 214-241). Toronto: Wiley.
- Giraudoux, P., Craig, P. S., Delattre, P., Bao, G., Bartholomot, B., Harraga, S., ... & Vuitton, D. A. (2003).** Interactions between landscape changes & host communities can regulate *Echinococcus multilocularis* transmission. *Parasitology*, 127(S1), S121-S131
- Gold, D. A., Kaplan, A. D., Lis, A., Bett, G. C., Rosowski, E. E., Cirelli, K. M., ... & Saeij, J. P. (2015).** The *Toxoplasma* dense granule proteins GRA17 & GRA23 mediate the movement of small molecules between the host & the parasitophorous vacuole. *Cell host & microbe*, 17(5), 642-652.
- Gomes, C. P., Fernandes, D. E., Casimiro, F., Da Mata, G. F., Passos, M. T., Varela, P., ... & Pesquero, J. B. (2020).** Cathepsin L in COVID-19: from pharmacological evidences to genetics. *Frontiers in cellular & infection microbiology*, 10, 589505.
- Gomez, C. A., Sahoo, M. K., Kahn, G. Y., Zhong, L., Montoya, J. G., Pinsky, B. A., & Doan, T. (2019).** Dual-target, real-time PCR for the diagnosis of intraocular *Toxoplasma gondii* infections. *British Journal of Ophthalmology*, 103(4), 569-572.
- Guérin, A., Corrales, R. M., Parker, M. L., Lamarque, M. H., Jacot, D., El Hajj, H., ... & Lebrun, M. (2017).** Efficient invasion by *Toxoplasma* depends on the subversion of host protein networks. *Nature microbiology*, 2(10), 1358-1366.
- Hadalin, V., Pislár, N., Borstnar, S., Matos, E., Kovac, A., Dobovisek, L., & Perhavec, A. (2022).** Intraoperative touch imprint cytology in breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. *Clinical Breast Cancer*, 22(4), e597-e603.
- Haghighi, M., Maani, S., Bagherzadeh, M. A., Bazmjoo, A., Shakeri, H., Taghipour, A., ... & Abdoli, A. (2023).** Latent Toxoplasmosis among Breast

Cancer Patients in Jahrom, South of Iran. *International Journal of Breast Cancer*, 2023(1), 4792260.

- Hanifehpour, H., Shariat, S. K. S., Ghafari, M. S., Kheirish, F., Saber, V., & Fallahi, S. (2019).** Serological & molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections in thalassemia patients. *Iranian Journal of Parasitology*, 14(1), 20.
- Hartati, S., Kusumawati, A., Wuryastuti, H., & Widada, J. S. (2006).** Primary structure of mature SAG1 gene of an Indonesian *Toxoplasma gondii* & comparison with other strains. *Journal of veterinary science*, 7(3), 263.
- Hehl, A. B., Basso, W. U., Lippuner, C., Ramakrishnan, C., Okoniewski, M., Walker, R. A., ... & Deplazes, P. (2015).** Asexual expansion of *Toxoplasma gondii* merozoites is distinct from tachyzoites & entails expression of non-overlapping gene families to attach, invade, & replicate within feline enterocytes. *BMC genomics*, 16, 1-16.
- Herbort, C. P., Tuailon, N., Buggage, R. R., Egwuagu, C. E., & Chan, C. C. (2001).** Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in primary intraocular B-cell lymphoma. *Modern Pathology*, 14(10), 995-999.
- Hierl, T., Reischl, U., Lang, P., Hebart, H., Stark, M., Kyme, P., & Autenrieth, I. B. (2004).** Preliminary evaluation of one conventional nested & two real-time PCR assays for the detection of *Toxoplasma gondii* in immunocompromised patients. *Journal of medical microbiology*, 53(7), 629-632.
- Hill, D. E., & Dubey, J. P. (2018).** *Toxoplasma gondii*. Foodborne parasites, 119-138.
- Hill, D. E., Dubey, J. P., Baroch, J. A., Swafford, S. R., Fournet, V. F., Hawkins-Cooper, D., ... & Theodoropoulos, G. (2014).** Surveillance of feral swine for *Trichinella* spp. & *Toxoplasma gondii* in the USA & host-related factors associated with infection. *Veterinary parasitology*, 205(3-4), 653-665.
- Hosseini, S. A., Sharif, M., Sarvi, S., Janbabai, G., Keihanian, S., Abediankenari, S., ... & Daryani, A. (2021).** Toxoplasmosis among cancer patients undergoing chemotherapy: a population study based on the serological,

molecular & epidemiological aspects. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene*, 115(6), 677-686.

Howe, D. K., Honoré, S., Derouin, F., & Sibley, L. D. (1997). Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *Journal of clinical microbiology*, 35(6), 1411-1414.

Huston, L. (2015). Cat parasite could hold key to caring cancer for humans <http://www.Petmed.com/blogs/the-daily-Vetllorise>. immunocompromised patients & correlation with clinical findings *J.Infect. Dis.*, 15;199(8):1155-67.

Innes, E. A. (2010). A brief history & overview of *Toxoplasma gondii*. *Zoonoses & public health*, 57(1), 1-7.

Ishii, A., Matsuoka, H., Aji, T., Ohta, N., Arimoto, S., Wataya, Y., & Hayatsu, H. (1994). Parasite infection & cancer: with special emphasis on *Schistosoma japonicum* infections (Trematoda). A review. *Mutation Research/Fundamental & Molecular organ transplantation. International journal of cancer*, 125(8), 1747-1754.

Jemal, A.; Bray, F.; Center, M.M.; Ferlay, J.; ward, E. & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61 (20): 69. 90.

Jokelainen, P., Murat, J. B., & Nielsen, H. V. (2018). Direct genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from clinical samples from Denmark: not only genotypes II & III. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37, 579-586.

Jones, J. L., & Dubey, J. P. (2010). Waterborne toxoplasmosis—recent developments. *Experimental parasitology*, 124(1), 10-25.

Jones, J. L., Kruszon-Moran, D., Wilson, M., McQuillan, G., Navin, T., & McAuley, J. B. (2001). *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence & risk factors. *American journal of epidemiology*, 154(4), 357-365.

- Joynson, D. H. M., & Wreghitt, T. G. (2001).** Toxoplasmosis: a comprehensive clinical guide. (No Title).
- Kalantari, N., Ahangar, Z., Siadati, S., Nikbakhsh, N., Ghasemi, M., Ghaffari, T., ... & Bayani, M. (2017).** Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in malignant breast tissues in breast cancer patients. *International Journal of Molecular & Cellular Medicine (IJMCM)*, 6(3), 190-196.
- Kalantari, N., Ghaffari, S.; Bayani, M.; Elmi, M.M.; Moslemi, D.; Nikbakhsh, N. & Ghavipan jeh, F. (2015).** Preliminary study on association between toxoplasmosis & breast cancer in Iran. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.*, 5(1): 44-47.
- Karana, S. Dubey, M.L. & Malla, N. (2005).** Association of parasitic infedction & cancer . *Indian J. Med Microbiol.*, 23(2) :74-79.
- Kasper ,LH . K. (1983)** Purification of a major membrane protein of *Toxoplasma gondii* by immunoabsorption with a monoclonal antibody. *J Immunol*, 130, 2407-2412.
- Kasper, D. C., Sadeghi, K., Prusa, A. R., Reischer, G. H., Kratochwill, K., Förster-Waldl, E., ... & Herkner, K. R. (2009).** Quantitative real-time polymerase chain reaction for the accurate detection of *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. *Diagnostic microbiology & infectious disease*, 63(1), 10-15.
- Khan, A., Su, C., German, M., Storch, G. A., Clifford, D. B., & Sibley, L. D. (2005).** Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from immunocompromised patients reveals high prevalence of type I strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(12), 5881-5887.
- Khabaz, M. N., Elkhateeb, L., & Al-Alami, J. (2011).** Reactivation of latent *Toxoplasma gondii* in immunocompromised cancer patients. *Comparative Clinical Pathology*, 20, 183-186.
- Khurana, S., Dubey, M. L., & Malla, N. (2005).** Association of parasitic infections & cancers. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 23(2), 74-79.

- Laliberte, J., & Carruthers, V. B. (2008).** Host cell manipulation by the human pathogen *Toxoplasma gondii*. *Cellular & molecular life sciences*, 65, 1900-1915.
- Lam, m.m.(2006).** Beating cancer with national medicine.Why my. Bloomington IN; the United States of America; pp:55-78.
- Li, M., Mo, X. W., Wang, L., Chen, H., Luo, Q. L., Wen, H. Q., ... & Shen, J. L. (2014).** Phylogeny & virulence divergency analyses of *Toxoplasma gondii* isolates from China. *Parasites & vectors*, 7, 1-12.
- Li, S., Maine, G., Suzuki, Y., Araujo, F. G., Galvan, G., Remington, J. S., & Parmley, S. (2000).** Serodiagnosis of recently acquired *Toxoplasma gondii* infection with a recombinant antigen. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), 179-184.
- Liesenfeld, O. (2002).** Oral infection of C57BL/6 mice with *Toxoplasma gondii*: a new model of inflammatory bowel disease?. *The Journal of infectious diseases*, 185(Supplement_1), S96-S101.
- Liu, Q., Wang, Z. D., Huang, S. Y., & Zhu, X. Q. (2015).** Diagnosis of toxoplasmosis & typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & vectors*, 8, 1-14.
- Lykins, J., Li, X., Levigne, P., Zhou, Y., El Bissati, K., Clouser, F., Wallon, M., Morel, F., Leahy, K., El Mansouri, B., Siddiqui, M., Leong, N., Michalowski, M., Irwin, E., Goodall, P., Ismail, M., Christmas, M., Adlaoui, E.B., Rhajaoui, M., Barkat, A., Cong, H., Begeman, I.J., Lai, B.S., Contopoulos-Ioannidis, D.G., Montoya, J.G., Maldonado, Y., Ramirez, R., Press, C., Peyron, F., McLeod, R., (2018).** Rapid, inexpensive, fin- gerstick, whole-blood, sensitive, specific, point-of-car test for anti-Toxoplasma antibodies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12.(8)
- Mackay , I.M. ; Arden, K.E. & Nitsche , A. (2002):** Real – time PCR in virology . *Nucleic Acids Res* .(30): 305-1292.
- Mahbodfar, H. R., Yousefi-Razin, E., Saki, J., Rafiei, A., & Khademvatan, S. (2015).** Study of latent *Toxoplasma gondii* role in level of testosterone, DHEA, cortisol & prolactin hormones of young persons.

- Mahmood, A. A., & Rezaig, Z. S. (2019).** Detection of *Toxoplasma gondii* in Iraqi Women with Breast Cancer by Real-Time PCR. *Kirkuk University Journal for Scientific Studies*, 14.(3).
- Mahmood, S. I., Saeed, N. A. H. A. A., & Ali, L. Q. (2022).** RUBELLA VIRUS & *TOXOPLASMA GONDII* INFECTION WITH IMMUNE ANTIBODIES DIAGNOSIS AMONG BAD OBESTETRIC & PRIMIGRAVIDA PREGNANT WOMEN IN BAGHDAD CITY. *World Bulletin of Public Health*, 12, 78-85.
- Makki, J. (2015).** Diversity of breast carcinoma: histological subtypes & clinical relevance. *Clinical medicine insights: Pathology*, 8, CPath-S31563.
- Malek, R. A., Wassef, R., Rizk, E., Sabry, H., Tadros, N., & Boghdady, A. (2018).** Toxoplasmosis an overlooked disease: seroprevalence in cancer patients. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 19(7), 1987.
- Markus, M.B. (2003).** *Toxoplasma gondii*. In international h&book of food borne pathogens. Miliotis, M.D.; Bier, J.W.(Eds). CRC press new york. pp 511-523.
- Marquardt, W. C., Demaree, R. S., & Grieve, R. B. (2000).** *Parasitology & vector biology* (Vol. 697). San Diego, California: Academic press.
- Marques, S., Mariano, J., Mendonça, J., De Tavernier, W., Hess, M., Naegele, L., ... & Martins, D. (2020).** Determinants of ageism against older adults: a systematic review. *International journal of environmental research & public health*, 17(7), 2560.
- Martins, M., Urbani, N., Flanagan, C., Siebert, U., Gross, S., Dubey, J. P., & Lopes, A. P. (2021).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pinnipeds under human care & in wild pinnipeds. *Pathogens*, 10(11), 1415.
- Mc Pherson, K.; steel, C.; Dixon, J., (2000).** ABC of breast diseases: Breast cancer epidemiology, risk factors, & genetics. *BMJ*, 321 (7261): 62428 .

- McKinney, S. M., Sieniek, M., Godbole, V., Godwin, J., Antropova, N., Ashrafian, H., ... & Shetty, S. (2020).** International evaluation of an AI system for breast cancer screening. *Nature*, 577(7788), 89-94.
- McLeod, R. & Remington, J. S. (2000)** Toxoplasmosis *Toxoplasma gondii*. In: Nelson, W. E.; Behrman, R.E.; Klienman, R.M & Arvin, A.M.; Nelson Text book of Pediatrics 16th ed. W.B Saunders Co., Philadelphia., pp: 1054-1065 .
- Mechain, B., Garin, Y. J. F., Robert-Gangneux, F., Dupouy-Camet, J., & Derouin, F. (2000).** Lack of utility of specific immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 7(4), 703-705.
- Melville, S. E. (Ed.). (2008).** *Parasite genomics protocols* (Vol. 270). Springer Science & Business Media.
- Mennechet, F. J., Kasper, L. H., Rachinel, N., Minns, L. A., Luangsay, S., V&ewalle, A., & Buzoni-Gatel, D. (2004).** Intestinal intraepithelial lymphocytes prevent pathogen-driven inflammation & regulate the Smad/T-bet pathway of lamina propria CD4⁺ T cells. *European journal of immunology*, 34(4), 1059-1067.
- Montoya J. G & Liesenfeld O. (2004).** Toxoplasmosis. *Lancet*. 363 (9425): 1965-76.
- Montoya, J. G., Liesenfeld, O., Kinney, S., Press, C., & Remington, J. S. (2002).** VIDAS test for avidity of Toxoplasma-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(7), 2504-2508.
- Morelle, C., Varlet-Marie, E., Brenier-Pinchart, M. P., Cassaing, S., Pelloux, H., Bastien, P., & Sterkers, Y. (2012).** Comparative assessment of a commercial kit & two laboratory-developed PCR assays for molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Journal of clinical microbiology*, 50(12), 3977-3982.

- Morjaria, S., Epstein, D. J., Romero, F. A., Taur, Y., Seo, S. K., Papanicolaou, G. A., ... & Kaltsas, A. (2016, April).** Toxoplasma encephalitis in atypical hosts at an academic cancer center. In *Open Forum Infectious Diseases* (Vol. 3, No. 2, p. ofw070). Oxford University Press.
- Mostafa, N. E. S., Hamed, E. F. A., Rashed, H. E. S., Mohamed, S. Y., Abdelgawad, M. S., & Elasbali, A. M. (2018).** The relationship between toxoplasmosis & different types of human tumors. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(02), 137-141.
- Munoz, M., Liesenfeld, O., & Heimesaat, M. M. (2011).** Immunology of *Toxoplasma gondii*. *Immunological reviews*, 240(1), 269-285.
- Murata, F.H.A.; Previato, M.; Frederico, F.B.; Barbosa, A.P.; Nakashima, F.; Fariajr, G.M.D., & Br&ao de Mattos, C.C. (2020).** Evaluation of serological & molecular tests used for the identification of *Toxoplasma gondii* infection in patients treated in an ophthalmology clinic of a public health service in são paulo state, Brazil. *Front. Cellul. Infec. Microbiol.* 9(472): 1-7.
- Mushattat, S. J., Alaridi, J. A., & Hassan, A. B. (2020).** Histological changes in the placenta & some physiological effects for aborted women infected with *Toxoplasma gondii*.
- Naranjo Valladares, B.T.; León Sánchez, M.A.; IglesiaslRojas, M.B. & Sainz Padrón, L. (2020).** Toxoplasmosis ocular: aspectos clinic epidemiológicos en edad pediátrica %J Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río. *Journal of Medical Sciences of Pinar del Río*, 24(4): e4457.
- Naully, P. G., & Supendi, S. A. (2020).** Detection of B1 gene as Toxoplasmosis marker in women of childbearing age in West B&ung Regency, Indonesia. *Journal Teknologi Laboratorium*, 9(2), 168-175.
- Nguyen, D. X., Bos, P. D., & Massagué, J. (2009).** Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nature Reviews Cancer*, 9(4), 274-284.

- Nianhong, Lu. ; Caihong , Liu. ; Jiangyuan , W. ; ying , D ; & Q, Ai . (2015).** Toxoplasmosis complicating lung cancer : a case report ., Int . Med. case. Rep. J. ; 8:37-40.
- Nolan, S. J., Romano, J. D., & Coppens, I. (2017).** Host lipid droplets: an important source of lipids salvaged by the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. PLoS pathogens, 13(6), e1006362.
- Okamoto, N., & Keeling, P. J. (2014).** The 3D structure of the apical complex & association with the flagellar apparatus revealed by serial TEM tomography in *Psammoma pacifica*, a distant relative of the Apicomplexa. PloS one, 9(1), e84653.
- Ortega, Y. R., & Sterling, C. R. (2018).** Foodborne parasites. 2nd edn., springer International Publ., Switzerl&: 375pp.
- Pardini, L., Carral, L. A., Bernstein, M., Gos, M. L., Olejnik, P., Unzaga, J. M., ... & Venturini, M. C. (2014).** First isolation & molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from a human placenta in Argentina. *Parasitology international*, 63(2), 470-472.
- Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J., & Pisani, P. (2005).** Global cancer statistics, 2002. *CA: a cancer journal for clinicians*, 55(2), 74-108.
- Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J., & Pisani, P. (2005).** Global cancer statistics, 2002. *CA: a cancer journal for clinicians*, 55(2), 74-108.
- Pena, H.F.; Gennari, S.M.; Dubey, J.P. & Su, C. (2008).** Population structure & mouse virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *International Journal Parasitology*.38(5): 561 - 569.
- Pernas, L. & Boothroyd, J. C. (2010).** Association of host mitochondria withThe parasitophorous vacuole during *Toxoplasma* infection is not dependent on rhoptry proteins ROP2/8. *International Journal Parasitology*., 40(12): 1367-1371.

- Petersen, E. (2007).** Toxoplasmosis. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, Amerc. Journal of Obst. Jynec., 12 (3): 214-223.
- Pilarski, R. (2019).** PTEN hamartoma tumor syndrome: a clinical overview. *Cancers*, 11(6), 844.
- Pisani, P., Parkin, D. M., Muñoz, N., & Ferlay, J. (1997).** Cancer & infection: estimates of the attributable fraction in 1990. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 6(6), 387-400.
- Radhi, I. J., Jassem, M. I., Abbas, S. K., & Al-Mussawi, K. A.** Study the Correlation between Pathogenic Parasitic Infections & Infertility among Women in Kerbala province, Iraq.
- Rivest, S. (2009).** Regulation of innate immune responses in the brain. *Nature Reviews Immunology*, 9(6), 429-439.
- Robert-Gangneux, F., & Belaz, S. (2016).** Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Current opinion in infectious diseases*, 29(4), 330-339.
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012).** Epidemiology of & diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, 25(2), 264-296.
- Robert-Gangneux, F., Sterkers, Y., Yera, H., Accoceberry, I., Menotti, J., Cassaing, S., ... & Bastien, P. (2015).** Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients: a 3-year multicenter retrospective study. *Journal of clinical microbiology*, 53(5), 1677-1684.
- Roberts, L. S.; Janavy, J. JR. & Nadlers S. (2013).** Gerald D schmidt Robents" Foundations of Parasitology, edh., Mc Grwo-Hill , Inc ., United states : 670 PP.
- Rufash, H. N. (2018).** The relationship study between the genotypes of the *Toxoplasma gondii* parasite and some immunological indicators in women infected with

toxoplasmosis in Al-Najaf governorate. M. Sc. Thesis, University of Kufa, 108 pp.

Saeed, R. E., & Majali, A. A. A. H. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in Uterine & Malignant Prostate Tissues of Cancer Patients¹.

Saeij, J. P.; Boyle, J. P.; Grigg, M.E.; Arrizabalaga, G. & Boothroyd, J.C (2005). Bioluminescence imaging of *Toxoplasma gondii* infection in livinmice reveals dramatic differences between strains. *Journal Infection & Immunity* .(73):695-70.

Saki, J., Tavakoli, S., & Pedram, M. (2017). Seroprevalence & molecular evaluation of toxoplasmosis in children with cancer in Khuzestan province, Southwest of Iran. *Journal of parasitic diseases*, 41, 947-951.

Sastry, A. S. & Bhat, S. (2014). *Essentials of medical parasitology*. 1st edn., Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Ltd. Bangladesh: 356pp.

Shin, H. R., Lee, C. U., Park, H. J., Seol, S. Y., Chung, J. M., Choi, H. C., ... & Shigemastu, T. (1996). Hepatitis B & C virus, *Clonorchis sinensis* for the risk of liver cancer: a case-control study in Pusan, Korea. *International journal of epidemiology*, 25(5), 933-940.

Sibley, L. D., Khan, A., Ajioka, J. W., & Rosenthal, B. M. (2009). Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals & humans. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1530), 2749-2761.

Sikora, M. J., Jankowitz, R. C., Dabbs, D. J., & Oesterreich, S. (2013). Invasive lobular carcinoma of the breast: patient response to systemic endocrine therapy & hormone response in model systems. *Steroids*, 78(6), 568-575.

Simpson, J. F., & S&ers, M. E. (2016). *Differential Diagnoses in Surgical Pathology: Breast*. Lippincott Williams & Wilkins.

Smith, R. A., Cokkinides, V., Brooks, D., Saslow, D., & Brawley, O. W. (2010). Cancer screening in the United States, 2010: a review of current American

Cancer Society guidelines & issues in cancer screening. *CA: a cancer journal for clinicians*, 60(2), 99-119.

Smout, M. J., Sotillo, J., Laha, T., Papatpremsiri, A., Rinaldi, G., Pimenta, R. N., ... & Loukas, A. (2015). Carcinogenic parasite secretes growth factor that accelerates wound healing & potentially promotes neoplasia. *PLoS pathogens*, 11(10), e1005209.

Smout, M. J., Sripa, B., Laha, T., Mulvenna, J., Gasser, R. B., Young, N. D., ... & Loukas, A. (2011). Infection with the carcinogenic human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. *Molecular BioSystems*, 7(5), 1367-1375.

Sobanski, V., Ajzenberg, D., Delhaes, L., Bautin, N., & Just, N. (2013). Severe toxoplasmosis in immunocompetent hosts: be aware of atypical strains. *American journal of respiratory & critical care medicine*, 187(10), 1143-1145.

Song, Y., Zhao, Y., Pan, K., Shen, B., Fang, R., Hu, M., ... & Zhou, Y. (2021) Characterization & evaluation of a recombinant multiepitope peptide antigen MAG in the serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pigs. *Parasites & Vectors*, 14, 1-10.

Sousa, S., Ajzenberg, D., Vilanova, M., Costa, J., & Dardé, M. L. (2008). Use of GRA6-derived synthetic polymorphic peptides in an immunoenzymatic assay to serotype *Toxoplasma gondii* in human serum samples collected from three continents. *Clinical & Vaccine Immunology*, 15(9), 1380-1386.

Sriamporn, S., Pisani, P., Pipitgool, V., Suwanrungruang, K., Kamsa-Ard, S., & Parkin, D. M. (2004). Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection & incidence of cholangiocarcinoma in Khon Kaen, Northeast Thailand. *Tropical Medicine & International Health*, 9(5), 588-594.

Sripa, B., Brindley, P. J., Mulvenna, J., Laha, T., Smout, M. J., Mairiang, E., ... & Loukas, A. (2012). The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini*—multiple pathways to cancer. *Trends in parasitology*, 28(10), 395-407.

Sripa, B., Kaewkes, S., Sithithaworn, P., Mairiang, E., Laha, T., Smout, M., ... & Brindley, P. J. (2007). Liver fluke induces cholangiocarcinoma. *PLoS medicine*, 4(7), e201.

- Stark, J. R., Judson, G., Alderete, J. F., Mundodi, V., Kucknoor, A. S., Giovannucci, E. L., ... & Mucci, L. A. (2009).** Prospective study of *Trichomonas vaginalis* infection & prostate cancer incidence & mortality: Physicians' Health Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 101(20), 1406-1411.
- Taghreed, H. A., 2021.** Molecular study of *Toxoplasma gondii* and its relationship with some physiological indicators in women infected with breast cancer in AL-Diwaniyah and AL-Najaf provinces. Ph.D. Thesis, University of Al-Qadisiyah, AL-Diwaniyah, Iraq.
- Sturge, C. R., & Yarovinsky, F. (2014).** Complex immune cell interplay in the gamma interferon response during *Toxoplasma gondii* infection. *Infection & immunity*, 82(8), 3090-3097.
- Su, C., & Dubey, J. P. (2020).** Isolation & genotyping of *Toxoplasma gondii* strains. *Toxoplasma gondii: Methods & Protocols*, 49-80.
- Sudan, V., Tewari, A. K., & Singh, H. (2015).** Molecular characterization & sequence phylogenetic analysis of surface antigen 3 (SAG3) gene of local Indian isolates (Chennai & Izatnagar) of *Toxoplasma gondii*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 57, 205-209.
- Sudan, V., Tewari, A. K., Singh, H., Saravanan, B. C., & Sankar, M. (2012).** Molecular characterization of surface antigen 3 (SAG3) gene of *Toxoplasma gondii* RH-IVRI strain. *Journal of parasitic diseases*, 36, 210-214.
- Switaj, K., Master, A., Skrzypczak, M., & Zaborowski, P. (2005).** Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *Clinical Microbiology & Infection*, 11(3), 170-176.
- Tait, E. D., & Hunter, C. A. (2009).** Advances in understanding immunity to *Toxoplasma gondii*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 201-210.
- Taylor-Phillips, S., Seedat, F., Kijauskaite, G., Marshall, J., Halligan, S., Hyde, C., ... & Steele, R. J. (2022).** UK National Screening Committee's approach to

reviewing evidence on artificial intelligence in breast cancer screening. *The Lancet Digital Health*, 4(7), e558-e565.

- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2000).** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International journal for parasitology*, 30(12-13), 1217-1258.
- Thirugnanam, S., Rout, N., & Gnanasekar, M. (2013).** Possible role of *Toxoplasma gondii* in brain cancer through modulation of host microRNAs. *Infectious agents & cancer*, 8, 1-6.
- Thomas, F., Lafferty, K. D., Brodeur, J., Elguero, E., Gauthier-Clerc, M., & Missé, D. (2012).** Incidence of adult brain cancers is higher in countries where the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* is common. *Biology letters*, 8(1), 101-103.
- Thulliez, P. (1992).** Screening programme for congenital toxoplasmosis in FRANCE. *journal infected disease suppl.* (84):43-50.
- Vajdic, C. M., & Van Leeuwen, M. T. (2009).** Cancer incidence & risk factors after solid organ transplantation. *International journal of cancer*, 125(8), 1747-1754.
- Vajdic, C. M., & Van Leeuwen, M. T. (2009).** Cancer incidence & risk factors after solid *Mechanisms of Mutagenesis*, 305(2), 273-281.
- Van Thuan, T., Van Chu, N., Khoa, P. H., Quang, N. T., Van Tu, D., Tho, N. T. Q., ... & Phuong, B. T. H. (2020).** A novel BRCA1 gene mutation detected with breast cancer in a vietnamese family by targeted next-generation sequencing: a case report. *Breast cancer: basic & clinical research*, 14, 1178223420901555.
- Visvader, J. E. (2009).** Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy & breast tumorigenesis. *Genes & development*, 23(22), 2563-2577.
- Vittecoq, M., Elguero, E., Lafferty, K. D., Roche, B., Brodeur, J., Gauthier-Clerc, M., ... & Thomas, F. (2012).** Brain cancer mortality rates increase with

Toxoplasma gondii seroprevalence in France. *Infection, Genetics & Evolution*, 12(2), 496-498.

Vuitton, D. A. (2003). The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite?. *Acta tropica*, 85(2), 119-132.

Vuitton, D. A. (2003). The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite?. *Acta tropica*, 85(2), 119-132.

Wallon, M., Franck, J., Thulliez, P., Huissoud, C., Peyron, F., Garcia-Meric, P., & Kieffer, F. (2010). Accuracy of real-time polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. *Obstetrics & Gynecology*, 115(4), 727-733.

Wassef, R., & Abdel-Malek, R. (2019). Validity of a new immunochromatographic test in detection of *Toxoplasma gondii* in cancer patients. *Journal of parasitic diseases*, 43, 83-86.

Walochnik, J., & Duchêne, M. (Eds.). (2016). Molecular parasitology: protozoan parasites & their molecules. Springer.

Weiss, L. M. ; Kim, K. (2000). The development & biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. *Front. Biosci.* 15:D391-405.

Weiss, L. M., & Kim, K. (2007). The Model Apicomplexan: Perspectives & Methods.

Weiss, L.M., Kim, K., (2020). *Toxoplasma gondii*: The Model Apicomplexan - Perspectives & Methods. 3rd ed. Academic Press, London, 1242.

Xiao, J., & Yolken, R. H. (2015). Strain hypothesis of *Toxoplasma gondii* infection on the outcome of human diseases. *Acta physiologica*, 213(4), 828-845.

Yuan, Z., Gao, S., Liu, Q., Xia, X., Liu, X., Liu, B., & Hu, R. (2007). *Toxoplasma gondii* antibodies in cancer patients. *Cancer letters*, 254(1), 71-74.

Zhang, S., Hübner, S., Sène, D., Penfornis, A., Bresson-Hadni, S., Kantelip, B., ... & Vuitton, D. A. (2008). Expression of major histocompatibility complex class I chain-related molecule A, NKG2D, & transforming growth factor- β in the liver of humans with alveolar echinococcosis: new actors in the tolerance to parasites?. *The Journal of infectious diseases*, 197(9), 1341-1349.

Zhou, N., Zhang, X. Y., Li, Y. X., Wang, L., Wang, L. L., & Cong, W. (2018).
Seroprevalence & risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in oral cancer patients in China: a case-control prospective study. *Epidemiology & Infection*, 146(15), 1891-1895.

الملاحق

Appendices

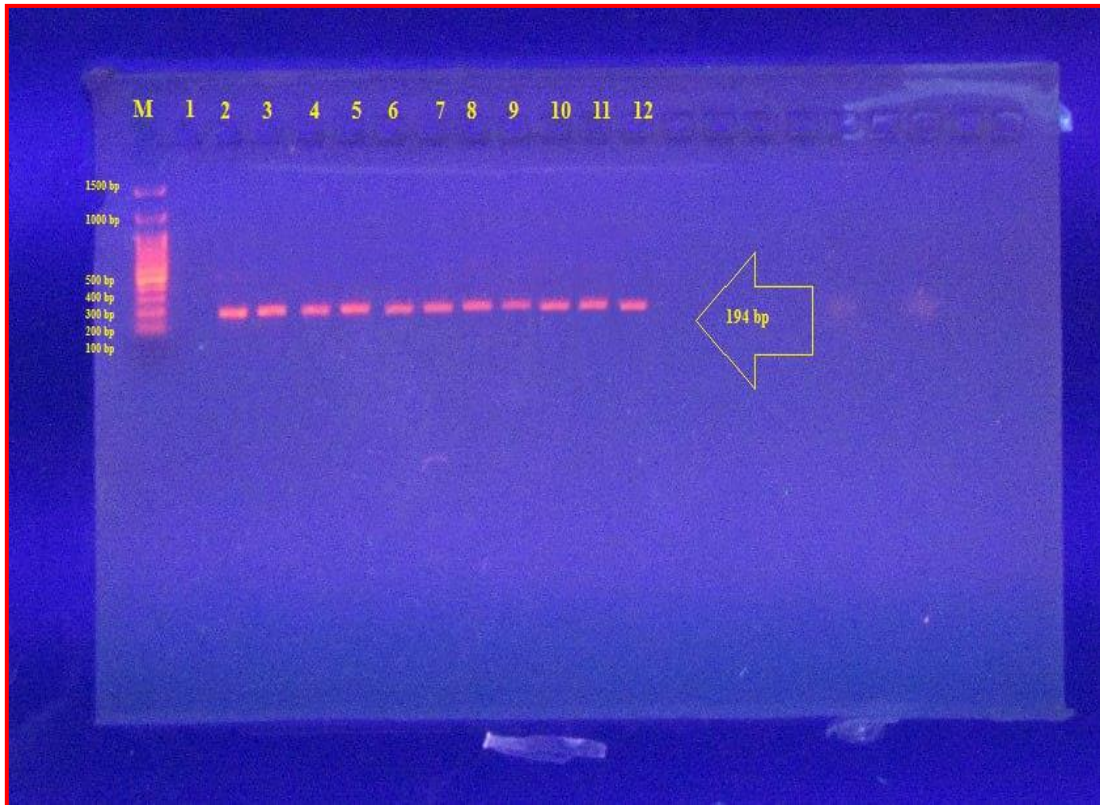
ملحق (1)

استمارة المريض

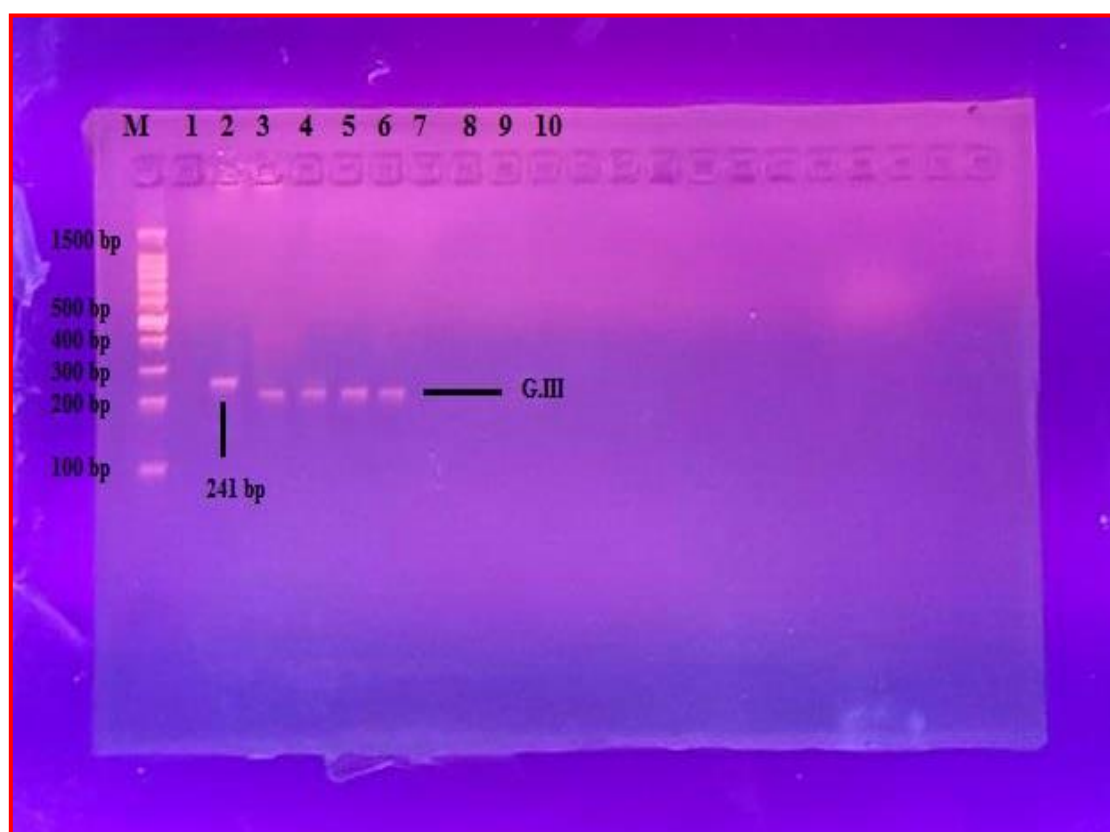
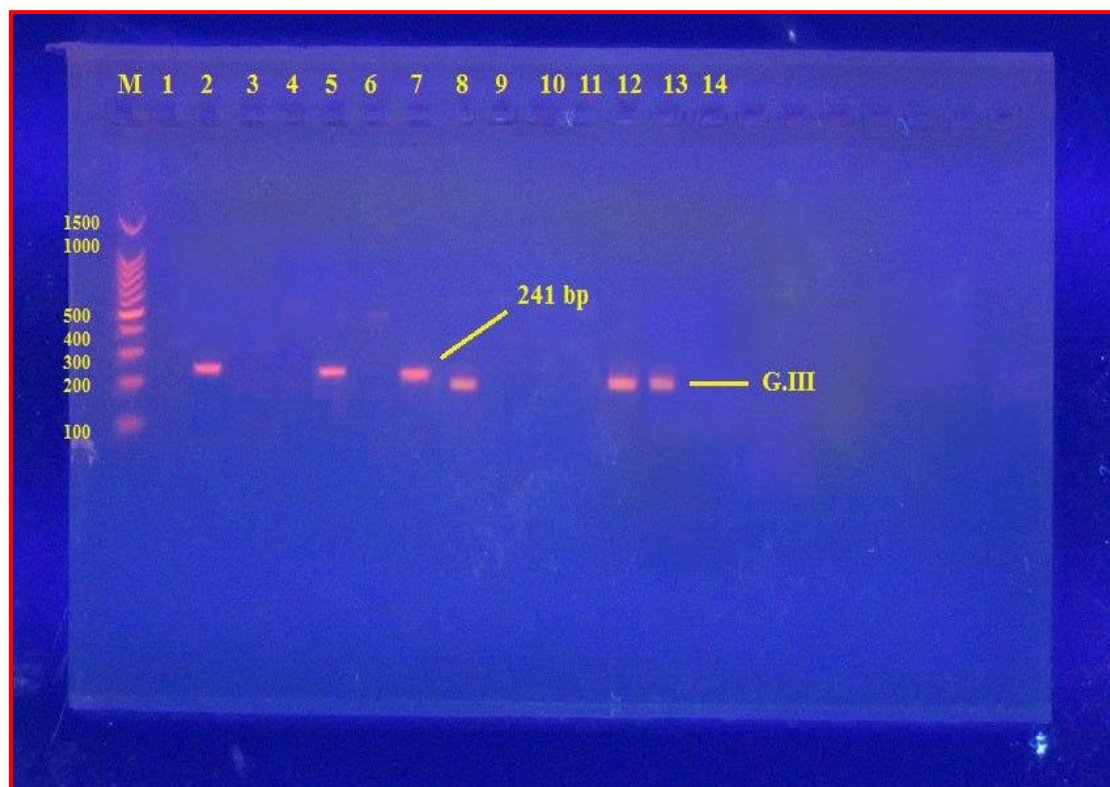
	اسم المريضة:
	العمر:
	نوع سرطان الثدي:
	درجة سرطان الثدي:
	هل كانت المريضة متلقية للعلاج ام لا:

ملحق (2)

صور نتائج فحص البلمرة المتسلسل







ملحق (3)

نتائج NCBI

LOCUS LC848443 831 bp DNA linear INV 22-OCT-2024

DEFINITION *Toxoplasma gondii* type III sag3 gene, partial sequence.

ACCESSION LC848443

VERSION LC848443.1

KEYWORDS .

SOURCE *Toxoplasma gondii* type III

ORGANISM [Toxoplasma gondii type III](#)
Eukaryota; Sar; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eucoccidiorida; Eimeriorina; Sarcocystidae; Toxoplasma.

REFERENCE 1

AUTHORS Aqala, S.A., Kawther, A.H. & Haider, J.K.

TITLE *Toxoplasma gondii* Sag3

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 831)

AUTHORS Aqala, S.A., Kawther, A.H., Haider, J.K. & ALi.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (18-OCT-2024) Contact: ALi University of Karbala, microniology; University of Karbala, Karbala 65001, Iraq

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..831
/organism="Toxoplasma gondii type III"
/mol_type="genomic DNA"
/isolation_source="Breast cancer"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:398031"
/geo_loc_name="Iraq"
/collection_date="2024-04-30"

[gene](#) <1..>831
/gene="sag3"

[misc feature](#) <1..>831
/gene="sag3"
/note="genotype iii"

ORIGIN

1 atgagaagta agataactta ttttggcacg ctcaactcaga aggtccgaa ctggtaccgc
61 tgctcttcaa cgagggcgaa agaagaggtc gtaggacatg tgacgctgaa caaagagcac
121 cctgatatga caattgaatg cgtcgacgac ggcttgggcg gagagttttt gccgctcgaa
181 ggcgcgacgt cgtcgtaccc gcgagtatgt cacattgatg ccaaggacaa gggcgactgc
241 gagcgcaaca agggctttct gaccgactac ataccgggcg cgaagcagta ctggtacaag
301 atagaaaagg tggagaacaa cggcgagcaa tccgttctgt acaaattcac agttccttgg
361 atattccttc cgcccgccaa gcagcgatac aaggttggat gccgataccc gaaccacgag
421 tattgctttg ttgaggccac cgtcgaaccc acgccgccaa tggtcgaagg caagagagtg
481 acctgcggtt accccgagtc cggccccgtg aatctcgagg tggacttgtc aaaggacgcg
541 aactttatcg agattcgggtg cggcgaacag caccacccgc agccgtcgac ctacacgctg
601 cagtactgct caggtgactc ggtggaccgc cagaagtgtt cgccgcagtc cctgacgaac
661 attttttatg actacagctc ttcgtggtgg aaggggaaac tgaacgggca tgacggggca
721 actctcacca ttccaccggt cgggttcccc gaagaagaca aatcttttct tgtcgggtgt
781 tcaactcactg tggacgggac gcccttctgc aacgtcaaag tgagagttaa g

//

LOCUS LC848444 792 bp DNA linear INV 22-OCT-2024

DEFINITION *Toxoplasma gondii* type II sag3 gene, partial sequence.

ACCESSION LC848444

VERSION LC848444.1

KEYWORDS .

SOURCE *Toxoplasma gondii* type II

ORGANISM [Toxoplasma gondii type II](#)
Eukaryota; Sar; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eucoccidiorida; Eimeriorina; Sarcocystidae; Toxoplasma.

REFERENCE 1

AUTHORS Aqala, S.A., Kawther, A.H. & Haider, J.K.

TITLE *Toxoplasma gondii* Sag3

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 792)

AUTHORS Aqala, S.A., Kawther, A.H., Haider, J.K. & ALi.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (18-OCT-2024) Contact: ALi University of Karbala, microniology; University of Karbala, Karbala 65001, Iraq

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..792
/organism="*Toxoplasma gondii* type II"
/mol_type="genomic DNA"
/isolation_source="Breast cancer"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:[1209523](#)"
/geo_loc_name="Iraq"
/collection_date="2024-04-30"

[gene](#) <1..>792
/gene="sag3"

[misc feature](#) <1..>792
/gene="sag3"
/note="Genotypr II"

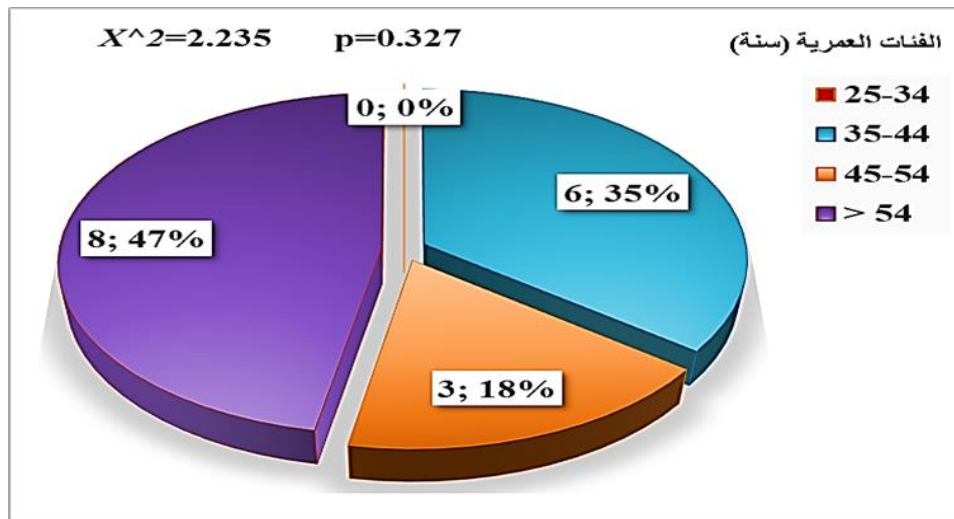
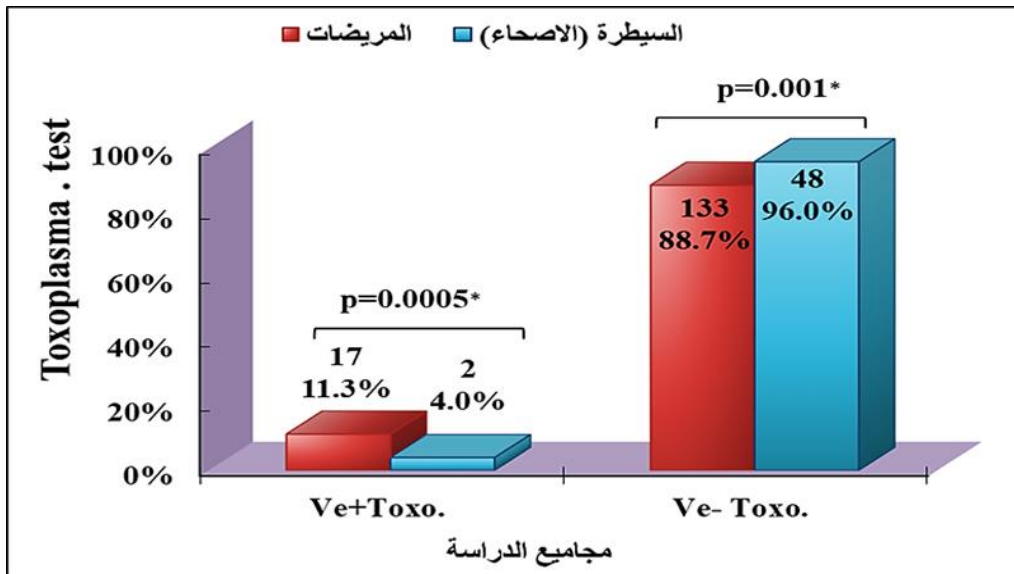
ORIGIN

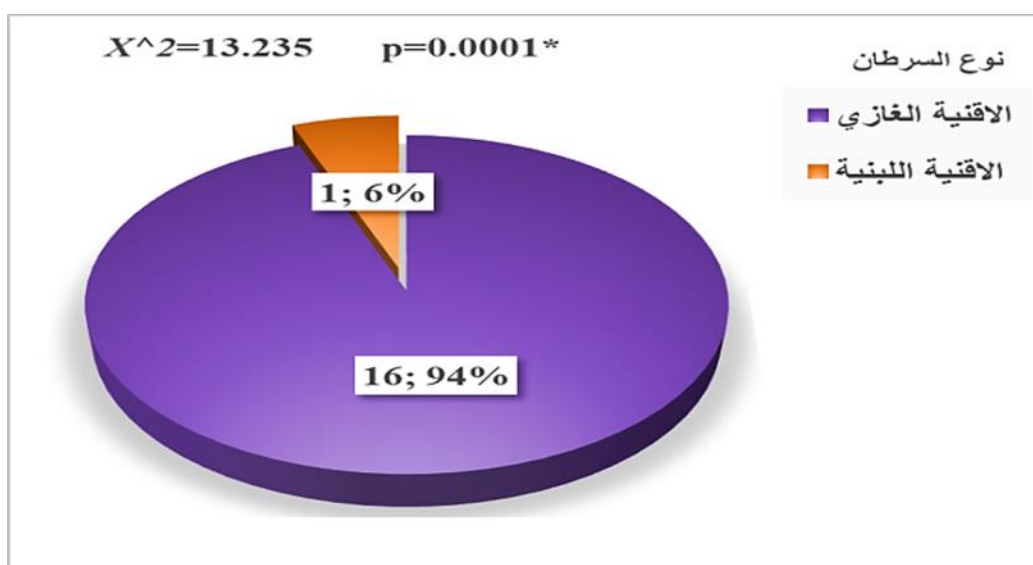
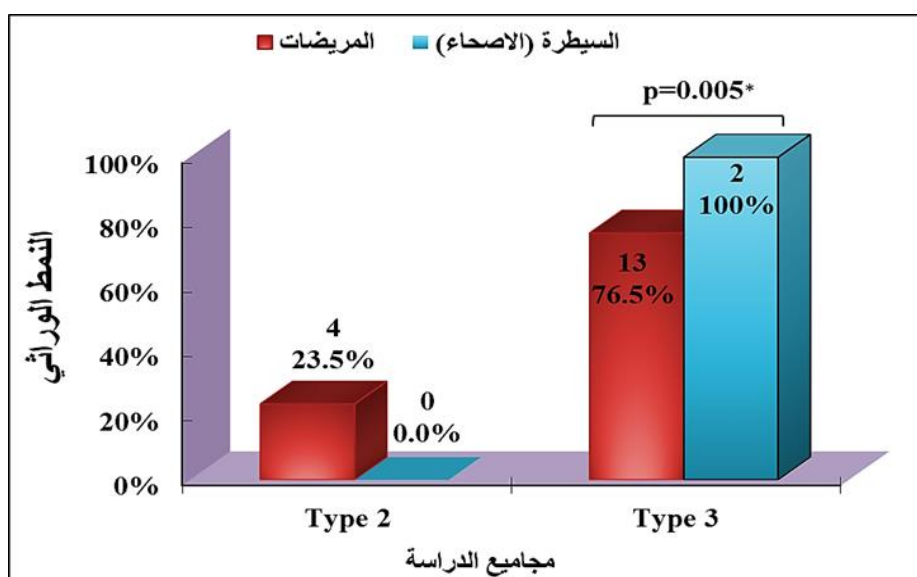
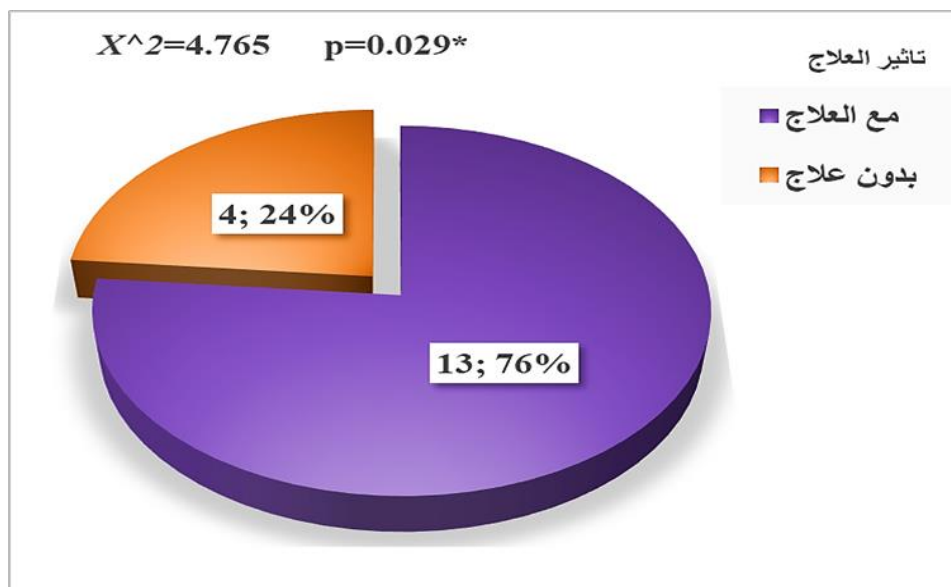
1 atgttcgcgg cttttggttt gtgtgtgttg tctgcgatct tgggaaccgg agagcgcgga
61 ctgttcgctg ccgcagggaa ctcgagaaga aagataacct attttggcac gctcactcag
121 aaggctccga actggtaccg ctgctcctca acgagggcga aagaagaggt cgtaggacat
181 gtgacgctga acaaagagca ccctgatatg acaattgaat gcgtcgacga cggcttgggc
241 ggagagtttt tgccgctcga aggcgcgagg tcgtcgtacc cacgagtatg tcacattgat
301 gccaaggacc aggacgactg cgagcgcaac aggggctttc tgaccgacta cataccgggc
361 gcgaagcagt actggtacaa gatagaaaag gtggagcaga acggcgagca atccgttctg
421 tacaaattca ctgttccttg gatectcctt ccgcccgcga agcagcgata caaggttgga
481 tgccgatacc cgaaccacga gtactgcttt gttgaggtca ccgtcgaacc cacgccgcca
541 atggtcgaag gcaagagagt gacctgcggg tactccgagt ccggccccgt gaatctcgag
601 gtggacttgt caaagaacgc gaactttatc gagattcggg gcggcgacaa gcaccaccg
661 cagccgtcga cctacacgct gcagtactgc tcaggtgact cgggtggaccc gcagaagtgt
721 tccccgcagt ccctgacgaa cattttttat gactacagct cttcgtggtg gaaggggaaa
781 ctgaacgggt ag

//

ملحق (4)

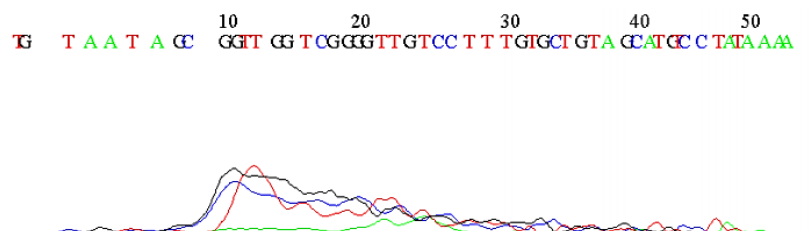
الاشكال الاحصائية



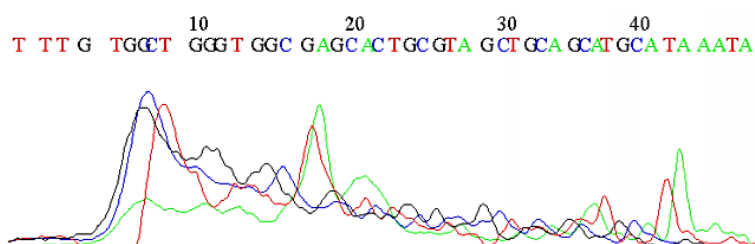


نتائج فحص PCR sequence

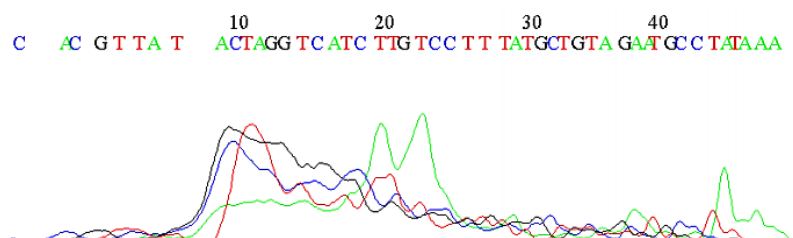
File: D1_DF.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:249 A:796 C:1055 T:600
Sample: D1_DF Lane: 9 Base spacing: -13.4993105 53 bases in 619 scans Page 1 of 1



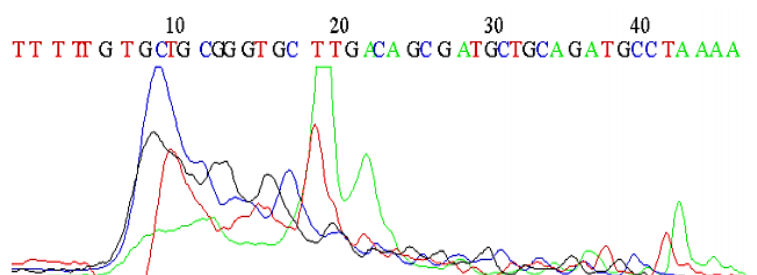
File: D1_DR.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:241 A:1060 C:1505 T:617
Sample: D1_DR Lane: 7 Base spacing: -13.4993105 47 bases in 580 scans Page 1 of 1



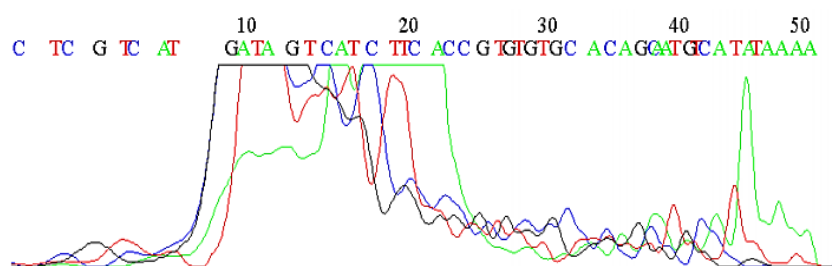
File: D2_DF.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:425 A:1402 C:1923 T:1007
Sample: D2_DF Lane: 5 Base spacing: -13.4993105 49 bases in 611 scans Page 1 of 1



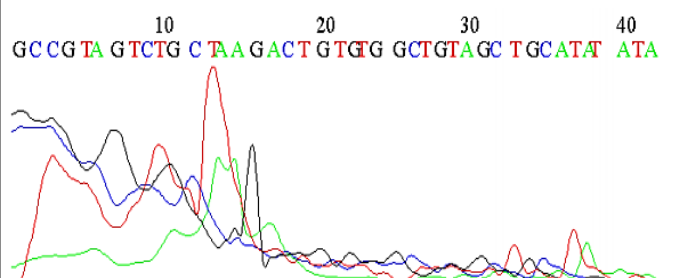
File: D2_DR.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:145 A:710 C:1081 T:345
 Sample: D2_DR Lane: 3 Base spacing: -13.4993105 46 bases in 578 scans Page 1 of 1



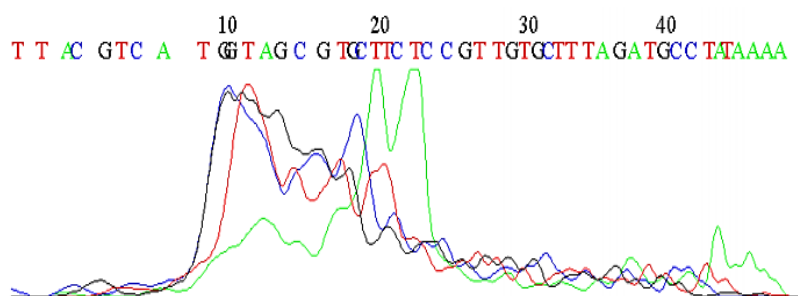
File: D3_DF.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:1337 A:4846 C:5863 T:2800
 Sample: D3_DF Lane: 1 Base spacing: -13.4993105 51 bases in 627 scans Page 1 of 1



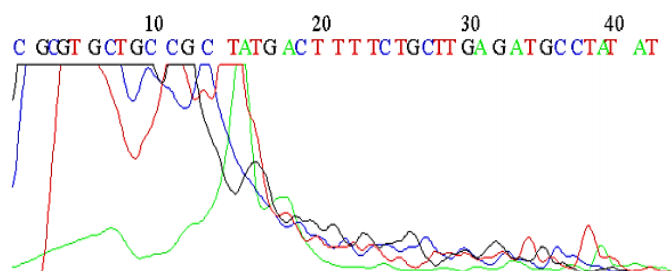
File: D3_DR.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:1240 A:7296 C:5785 T:3214
 Sample: D3_DR Lane: 16 Base spacing: -13.4993105 42 bases in 523 scans Page 1 of 1



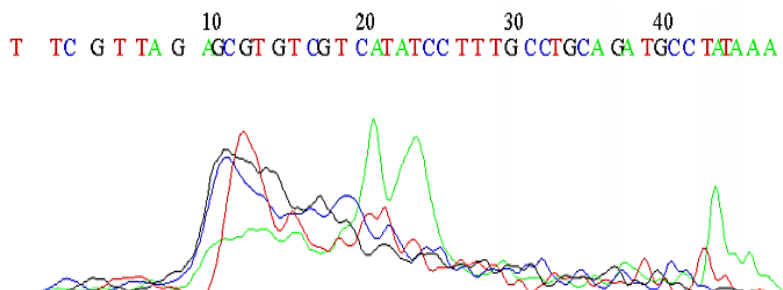
File: D4_DF.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:711 A:2373 C:2755 T:1494
 Sample: D4_DF Lane: 14 Base spacing: -13.4993105 49 bases in 614 scans Page 1 of 1



File: D4_DR.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:791 A:4208 C:5031 T:1579
 Sample: D4_DR Lane: 12 Base spacing: -13.4993105 42 bases in 524 scans Page 1 of 1



File: D5_DF.ab1 Run Ended: 2024/9/21 0:12:10 Signal G:324 A:955 C:1295 T:666
 Sample: D5_DF Lane: 10 Base spacing: -13.4993105 48 bases in 608 scans Page 1 of 1



File: D5_DR.ab1

Run Ended: 2024/9/21 0:12:10

Signal G:314 A:2486 C:2461 T:1155

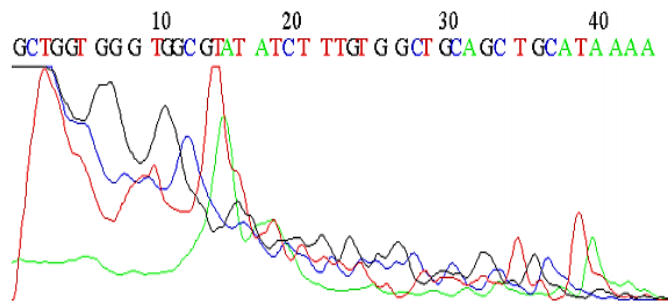
Sample: D5_DR

Lane: 8

Base spacing: -13.4993105

43 bases in 512 scans

Page 1 of 1



Abstract

The current study aimed to compare the incidence of *Toxoplasma gondii* among patients with both benign & malignant breast cancer in the Holy Kerbala province. The current study was conducted in October of From 2023 to June 2024, 150 samples of malignant breast cancer tissue embedded in paraffin wax & diagnosed by the specialist doctor were collected, & 50 samples of benign tumor tissue, These samples were collected from the tissue sectioning laboratory in Imam Hussein Medical City, the Al-Kafeel Specialized Hospital Laboratory, & the Specialized AL-Sajad laboratory for histological & cellular examinations & tumor diagnosis in Holy Kerbala.

The study samples included three groups: the first group consisted of 66 women with breast cancer who did not undergo chemotherapy, the second group consisted of 84 women with breast cancer who underwent chemotherapy, The third group consisted of 50 women with benign tumors. The ages of the patients ranged from 25 to 54, The polymerase chain reaction (PCR) technique was performed, as was identified, Most of the genotypes of the toxoplasmosis parasite were identified using a molecular technique called Restriction Fragment Length Polymorphism (Mn-PCR-RFLP) on short-str&ed RNA, DNA in tissue samples affected by breast cancer for all groups under study, based on the amplification of the B1, SAG3, & SAG1 genes, as special cutting enzymes were used to determine the genotype, For the *Toxoplasma gondii* parasite, the HhaI enzyme was used to determine the second genotype at 221bp, & the Sau3AI enzyme was used to determine the third genotype at 241bp, & histological examination.

The results showed that the incidence of toxoplasmosis in breast cancer patients was 11.3%, compared to 4% in women with benign tumors, & that the infection rate in women who received treatment 76.5% As for women who did not receive treatment, the infection rate reached 23.5%, & the risk of infection increases the probability of sick women developing breast cancer by 3.7% compared to healthy women, as indicated In the current study, the age group most affected by *Toxoplasma gondii* was the group <56, as the infection rate in this group was 37.3%, The results revealed that the most common genotypes that appeared in the study groups were the second genotype & the third genotype. However, the results of the histological examination did not show any clear histological changes in the tissues of the study groups.



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

**Molecular Study to Investigate the Incidence of Toxoplasmosis in
Women with Malignant & Benign Breast Cancer at the Holy Kerbala**

A Thesis

**Submitted to the Council of the College of Education for Pure
Sciences / University of Kerbala as part of the requirements for
obtaining a Master's Degree in Biology**

written by

Aqala Sabah Ahmed Abdul Wahed

(B.Sc., University of Kerbala, 2020)

Supervised by

Prof. Dr. Kawther Abdul Hussein Mahdi Al-Mussawi

Dr. Haider jebur kehiosh

2024 A.D

1446 A.H