

## مستويات MASP-2 المصلية عند أطفال سوريين مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد

الدكتورة جمانة الصالح\*

راغب حرب\*\*

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

### □ ملخص □

خلافاً للمناعة التلاؤمية ومكونات معينة من المناعة الخلقية، قليل ما هو معلوم عن وظيفة جملة المتممة في تعزيز وكبت السرطان. يُعتبر سبيل الليكتين لتفعيل المتممة جزءاً هاماً من المناعة الخلقية. إنه مكنتف بشكل رئيسي في طهاية وانحلال الممرضات وتوظيف الخلايا الالتهابية.

تهدف دراستنا إلى تقييم العلاقة بين المستويات المصلية لبروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز 2- (MASP-2) قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند أطفال سوريين مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد acute lymphoblastic leukemia (ALL) بهدف إيجاد علاقة تساعد في التنبؤ المبكر لاستجابة المرضى للمعالجة الكيميائية، حيث تمت الدراسة بين عامي 2013 و 2014 في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق وشملت 37 طفلاً مشاركاً مصاباً بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد، حيث تم قياس مستويات بروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز 2- (MASP-2) المصلية بطريقة المتمر المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA).

فكانت النتيجة أن وُجدَ أن مستويات MASP-2 المصلية قد انخفضت بشكل ملحوظ بعد المعالجة الكيميائية عند الأطفال المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد، وكذلك وُجدَ علاقة ارتباط قوية بين مستويات الواسم قبل وبعد المعالجة.

**الكلمات المفتاحية:** ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد، بروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز 2-، MASP-2، المناعة الخلقية، جملة المتممة.

\* أستاذ مساعد - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - نائب العميد للشؤون الإدارية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية.

\*\* طالب دراسات عليا (ماجستير) - قسم التشخيص المخبري - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية.

## **MASP-2 serum levels in Syrian children with Acute lymphoblastic leukemia**

**Dr. Jumana Saleh\***  
**Ragheb Harb \*\***

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

### **□ ABSTRACT □**

In contrast to adaptive immunity and to certain components of innate immunity, only little is known on the influence of the complement system on cancer suppression and promotion . The lectin pathway of complement activation is an important part of innate immunity. It is mainly involved in opsonisation and lysis of pathogens and in recruitment of inflammatory cells.

Our study aimed to assess the relationship between MASP-2 serum levels before and after chemotherapy in Syrian children with acute lymphoblastic leukemia, aiming to find a relation, which serve in early forecast of patients response to chemotherapy, where the study has been done at Children University Hospital in damascus between 2013-2014. This study included 37 children diagnosed with acute lymphoblastic leukemia (ALL). The levels of Mannose-Binding Lectin-associated Serine Protease-2 (MASP-2) were determined by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

The result was that serum levels of MASP-2 was strongly reduced after chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia, and a strong correlation between serum marker levels before and after chemotherapy was found.

**Key words:** Acute lymphoblastic leukemia, Mannose-binding lectin-associated serine protease-2, MASP-2, innate immunity, complement system.

---

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

\*\*Postgraduate student, Laboratory Diagnosis , Hematology and Immunology, Damascus University, Faculty of pharmacy, Damascus University , Syria

**مقدمة :**

خلافاً للمناعة التلاؤمية ومكونات معينة من المناعة الخلقية، قليل ما هو معلوم عن وظيفة جملة المتممة في تعزيز وكبت السرطان (1,2). يُعتبر سبيل الليكتين لتفعيل المتممة جزءاً هاماً من المناعة الخلقية. إنه مكتنف بشكل رئيسي في طهاية وانحلال الممرضات وتوظيف الخلايا الالتهابية (3).

يُعتبر سبيل الليكتين الرابط للمانوز Mannose-Binding Lectin (MBL) عنصراً هاماً من المناعة الخلقية، ويتكون من مجموعة من البروتينات المصلية والتي بدورها تُفعل المتممة بُعيد التعرف على مكروبات متعددة. يتصرف الليكتين الرابط للمانوز كمستقبل مانان ذوابة soluble mannan receptor، وتم استقصاؤه بالتفصيل (4)، ولكن البروتينات المشاركة مثل L-ficolin و H-ficolin بشكل أقل (5,6). يعتمد كل من MBL والفيكولينات ficolins على بروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز-2 (MASP-2) من أجل تفعيل جملة المتممة. بُعيد ارتباط معقدات MBL/MASP-2 بالسطوح المكروبية، فإن MASP-2 يشطر C2 ثم C4، مشكلاً بذلك C3 convertase C4bC2b، والذي يؤدي بالنهاية إلى طهاية وانحلال مباشر للممرضات وتوظيف الخلايا الالتهابية (7).

حديثاً، تم تحديد تعدد أشكال النوكليوتيد المفرد single nucleotide polymorphism في جين MASP-2 على الصبغي 3-2p36.1، مؤدياً بذلك لتراكيز MASP-2 مصلية منخفضة عند الأفراد متغايري الزيجوت heterozygous (8).

**أهمية البحث وأهدافه :**

تهدف هذه الدراسة إلى مقارنة المستويات المصلية لبروتياز السيرين المشارك لليكتين الرابط للمانوز-2 (MASP-2) قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند أطفال سوريين مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) acute lymphoblastic leukemia بهدف إيجاد علاقة تساعد في التنبؤ المبكر لاستجابة المرضى للمعالجة الكيميائية.

**طرائق البحث ومواده :**

تمت المصادقة على البحث من قبل لجنة أخلاقيات البحث العلمي في جامعة دمشق. وتم ملء الموافقة المستنيرة من قبل أولياء أمر كل الأطفال المشاركين في البحث.

**مجموعة الدراسة:** تشمل دراستنا 37 مشاركاً، جميعهم أطفال مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) وذلك استناداً إلى نتيجة مقياس التدفق الخلوي Flowcytometry، تتراوح أعمارهم بين 1 و 14 سنة، بمتوسط حسابي 5.5 وانحراف معياري 2.5.

تم جمع العينات عند التشخيص بالإصابة بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL)، قبل خضوع المرضى للمعالجة الكيميائية وكذلك في اليوم 35 من المعالجة الكيميائية (D35)، وذلك من شعبة أمراض الدم في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق، حيث جُمعَ 5 مل من الدم الوريدي من كل مريض، وتم فصل المصل بالتبذير وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، ثم حفظ المصل في درجة حرارة  $-80^{\circ}\text{C}$  حتى إجراء المعايرة.

## مقايمة مستويات MASP-2 المصلية:

جرت مقايمة MASP-2 بطريقة المقايمة المناعية المرتبطة بالإنزيم Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) بعنيدة لشركة SunRed الصينية، وتم إجراء المعايرة حسب تعليمات الشركة المصنعة.

## التحليل الإحصائي:

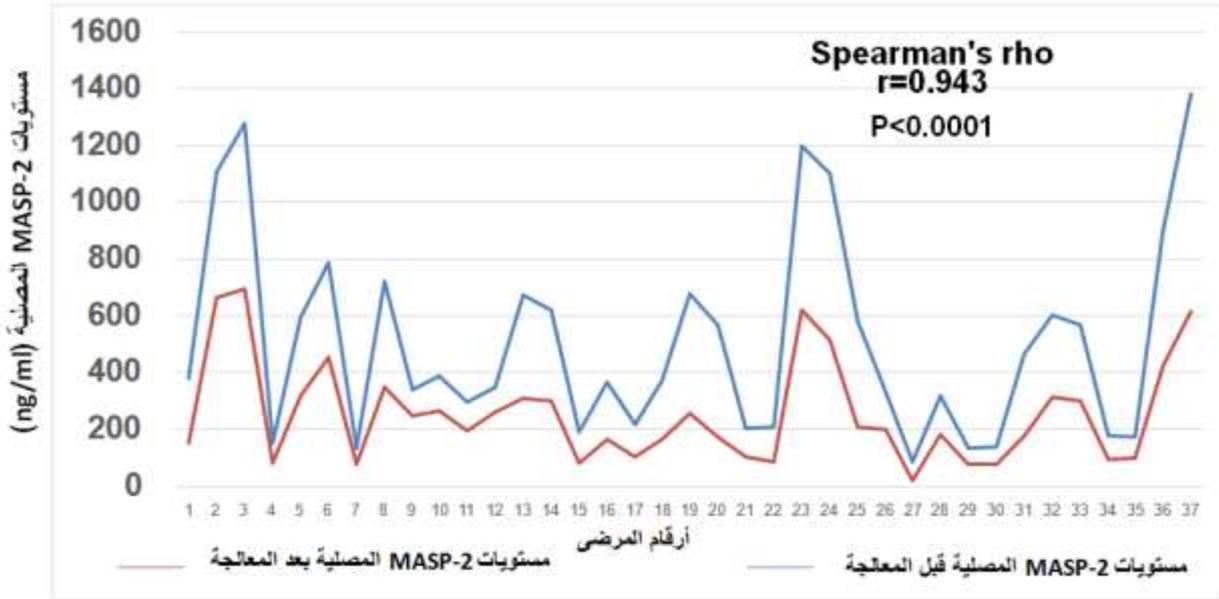
أجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية SPSS (version 21, IBM SSPS). تم التعبير عن مستويات MASP-2 المصلية باستخدام المتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري، كما تم تطبيق اختبار Spearman's rho للمقارنة بين تركيز مستويات MASP-2 المصلية قبل وبعد المعالجة. تم تطبيق اختبار Mann-Whitney U للمقارنة بين المتوسطات ولمعرفة إذا كان الفارق بين المجموعات جوهرياً أو ناتجاً عن الصدفة، كما واعتمدت القيمة  $P < 0.05$  كونها تدل على قيمة إحصائية يُعتدّ بها.

## النتائج و المناقشة :

يوضح الجدول 1 مقارنة مستويات MASP-2 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) المشاركين في الدراسة. قمنا بتقييم 37 طفلاً (أعمارهم من 1-14 سنة بمتوسط حسابي 5.1 و انحراف معياري 2.5)، فكانت النتيجة كالتالي: متوسط مستويات MASP-2 المصلية لديهم عند تشخيص الإصابة بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد وقبل البدء بالمعالجة الكيميائية  $509.03 \pm 351.8$  ng/mL، أما بعد تلقيهم المعالجة الكيميائية (D35) فكان متوسط مستويات MASP-2 المصلية لديهم  $255.57 \pm 180.3$ ، وكانت قيمة  $P < 0.0001$  أي يمكن أن يُعتدّ بها إحصائياً. كذلك وُجدَ علاقة ارتباطية قوية بين مستويات الواصم قبل وبعد المعالجة، حيث تم تطبيق اختبار Spearman's rho فُوجِدَ أن  $r=0.943$ .

الجدول 1: مقارنة مستويات MASP-2 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) المشاركين في الدراسة.

مستويات MASP-2 (ng/ml)	Mean $\pm$ Std. Deviation	N	Minimum	Maximum
قبل المعالجة	509.03 $\pm$ 351.9	37	87	1295
بعد المعالجة	255.57 $\pm$ 180.3	37	23	674



الشكل 1: مستويات MASP-2 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) المشاركين في الدراسة.

### الاستنتاجات والتوصيات :

دراستنا هذه (على حد علمنا) هي أول دراسة تقوم بمقارنة مستويات MASP-2 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند أطفال مصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد.

عند تقييم العلاقة بين المستويات المصلية لبروتيناز السيرين المشارك للليكتين الرابط للمانوز-2 MASP-2 قبل وبعد المعالجة الكيميائية عند الأطفال المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) أظهرت النتائج انخفاضاً ملحوظاً في مستويات الواسم بعد المعالجة الكيميائية، وهذا الانخفاض يعود سببه للمعالجة الكيميائية فقط وليس للمضادات الحيوية التي يمكن أن يتلقاها المرضى أثناء المعالجة الكيميائية، لأن بروتيناز السيرين المشارك للليكتين الرابط للمانوز-2 MASP-2 ليس من بروتينات الطور الحاد (على خلاف الليكتين المرتبط للمانوز MBL)، وبالتالي لا تتأثر مستوياته المصلية بالمضادات الحيوية.

بناءً على ما سبق فإنه يمكن اعتبار MASP-2 عاملاً تنبؤياً جديداً لاستجابة المعالجة الكيميائية عند مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد.

## المراجع:

- 1- FINN OJ. *Cancer immunology*. N Engl J Med. 2008;358:2704–15.
- 2- MARKIEWSKY MM, LAMBRIS JD. *Is complement good or bad for cancer patients? A new perspective on an old dilemma*. Trends Immunol. 2009;30:286–92.
- 3- THIEL S. *Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan-binding lectin, ficolins and associated proteins*. Mol Immunol. 2007;44:3875–88.
- 4- TAKAHASHI K, IP WE, MICHELOW IC, EZEKOWITZ RA. *The mannosebinding lectin: a prototypic pattern recognition molecule*. Curr Opin Immunol. 2006;18:16 –23.
- 5- MATSUSHITA M, FUJITA T. *The role of ficolins in innate immunity*. Immunobiology. 2002;205:490–497.
- 6- KILPATRICK DC, MCLINTOCK LA, ALLAN EK, et al. *No strong relationship between mannan binding lectin or plasma ficolins and chemotherapyrelated infections*. Clin Exp Immunol. 2003;134:279 –284.
- 7- SORENSEN R, THIEL S, JENSENIUS JC. *Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations*. Springer Semin Immunopathol. 2005;27:299 –319.
- 8- STENGAARD-PEDERSEN K, THIEL S, GADJEVA M, et al. *Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2*. N Engl J Med. 2003;349:554 –560.