تأثير مستضدات الأكياس العذرية على بعض العوامل المناعية في الفئران البيض Balb/c

أناس عبيد حمادي

كلية الطب البيطري/ جامعة الفلوجة

الخلاصة

أجريت هذه التجربة في البيت الحيواني التابع إلى كلية الطب البيطري في جامعة الفلوجة للفترة من 22/9/2015 إلى 23/11/2015 استخدمت فيه (20) من (ذكور وإناث) الفئران البيضاء Balb/ c بعمر 4 أسابيع تم جلبها من دائرة الرقابة الدوائية في وزارة الصحة العراقية، تم تقسيم الحيوانات إلى 4 مجاميع، الأولى مجموعة السيطرة والثانية NBT والثالثة الطبقة المولدة والرابعة الرؤيسات الأولية. لمعرفة مدى تأثير تركيز 0.1 من الطبقة المولدة على الأجسام المضادة IgM, IgG, IgA وIgE وكذلك تأثير نفس التركيز من مستضدات الرؤويسات الأولية على اختزال صبغة NBT. أظهرت النتائج أن هناك تأثير معنوي عند مستوى (P<0.05) لجميع المعاملات إذ بلغ معدل مستوى الأجسام المضادة IgA 526.0 ملغم/ 100 مقابل 138.5 ملغم/ في مجموعة السيطرة وبلغ معدل مستوى IgG 1377.8 ملغم/ 100 مل مقابل 1014 في مجموعة السيطرة وبلغ مستوى IgM 79.06 ملغم/ 100 مل يرتفع معنوياً مقارنة بالسيطرة أما IgE فبلغ 0.369 وحدة دولية مقابل 0.206 في مجموعة السيطرة. وفي اختزال صبغة NBT فكان لتأثير حقن مستضدات الرؤيسات الأولية تأثيراً معنوياً مقارنة بالسيطرة والتي بلغت 14.54% مقارنة مع المجموعة المعاملة والتي بلغت 25.19%. نستنتج من ذلك ان لحقن مستضدات الطبقة المولدة والرؤيسات الأولية تأثير معنوي في تحفيز كل من المناعة الخلطية وعملية البلعمة.

الكلمات المفتاحية: مستضدات الأكياس العذرية، العوامل المناعية، الفئران البيض.

E-mail: anasbio1977@gmail.com

Effects of the Hydatid cyst anti genes on some immunological factors in Mice Balb /c

A. O. Humide

College of Veterinary Medicine/ University of Al-Fallujah

Abstract

This study has been done to find out the effects of the injection of 0.1 mml of germinal layer antigens of the hydatid cyst of *E.granulosus* in mice Balb\Cc on the levels of the immune globulins IgA, IgG, IgE, IgM. And this study detected the effects of 0.1 mml of protoscolices antigens on the reduction of NBT (Nitro Blue Tetrazolium) stain in mice Balb\c. The results cleared that there was significant differences in (P<0.05) in the production values of the antibodies between the control groups and the experimental groups where the level of IgA (526.0) mg/dl, IgG (1377.8) mg/dl in the experimental groups while the values of the same antibodies IgA, IgG were (138.5) mg/dl, (1014) mg/dl in the control groups by using the germinal layer antigens. While the values of the IgE were (0.367) IU/L in the experimental groups while its value in the control groups were (0.206) IU/L. But there wasn't any significant differences in the levels of IgM no there in the control groups nor in the experimental groups. In the levels of the reduction of NBT (Nitro Blue Tetrazolium) stain the maximum significant difference was (25.19)% in the experimental groups when its value in the control groups was (14.54)% by using the protoscolices antigens. We conclusion that there are significant effects of the injection of germinal layer antigens and protoscolices antigens of *E.granulosus* on the inducing and activation of the both humoral immune response and the phagocytosis proses.

Keywords: Hydatid cyst anti genes, some immunological factors, Mice Balb /c.

المقدمة

تعيش دودة الأكياس المائية في الأمعاء الدقيقة مجموعة الكلبية (1). تحوي بيوضها جنيناً سداسي الأشواك التي يصاب الإنسان والحيوانات الأخرى من خلال التعامل مع الكلاب المصابة أو برازها أو عند أكل الخضراوات الملوثة ببيوض هذه الطفيليات بدون غسلها بشكل صحيح مع تعرض جميع الأعضاء للإصابة وبالأخص الكبد الذي قد تصل نسبة الإصابة به إلى 75% مقارنة بالأعضاء الأخرى (2). وتحوي هذه الأكياس على عدة طبقات منها الطبقة المولدة التي تكون مسؤولة عن التكاثر اللاجنسي للطفيلي في جسم المضيف (3). وتنمو الرؤيسات الأولية داخل الكيس بأعداد قد تصل إلى آلاف الرؤيسات وقد تكون عقيمة وقد يصل عدد إلى ملايين الرؤيسات في الكيس الواحد (4). وذكرت المصادر إلى أن إمكانية حث الاستجابة المناعية غير المتخصصة حيث يزداد عدد خلايا البلعمة الكبير Macrophage والعدلة Neutrophil وكذلك الحمضة Eosinophil مما يزيد من خاصية البلعمة للخلايا البلعمية (5). أما بالنسبة للمناعة الخلطية فقد أشار (6) إلى ارتفاع كل من الأجسام المضادة (IgM, IgG وIgE) وذكر (7) ان ارتفاع مستويات الأجسام المضادة IgG وIgE تكون في بداية الإصابة وأشار أيضاً إلى الأهمية التي توفرها هذه الأجسام المضادة في توفير الحماية للمضيف. لذى هدفت الدراسة لمعرفة مدى تأثير تركيز 0.1 من الطبقة المولدة على الأجسام المضادة IgM, IgG, IgA وIgE وكذلك تأثير نفس التركيز من مستضدات الرؤيسات الأولية على اختزال صبغة NBT.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه التجربة في البيت الحيواني التابع إلى كلية الطب البيطري في جامعة الفلوجة للفترة من 22/9/2015 إلى 23/11/2015 استخدمت فيه (20) من (ذكور وإناث) الفئران البيضاء Balb/ c بعمر 4 أسابيع تم جلبها من دائرة الرقابة الدوائية في وزارة الصحة العراقية، تم تقسيم الحيوانات إلى 4 مجاميع، الأولى مجموعة السيطرة والثانية NBT والثالثة الطبقة المولدة والرابعة الرؤيسات الأولية. تم تحضير محلول دارئ الفوسفات الملحي pH=7.2 بحسب طريقة (8)، وصبغة النايتروبلونترازوليم Nitroblue trozolium المحضرة بحسب طريقة (9). تم تحضير مستضدات الرؤيسات العذرية باستخدام طريقة (10) لهذا الغرض. حضرت مستضدات الطبقة المولدة باستخدام طريقة (11)، استخدمت عدة جاهزة (Kit) لغرض قياس كمية البروتين الكلي المصنعة من قبل شركة Biolabo الفرنسية. فحصت الأجسام المضادة IgE بطريقة الاليازا باستخدام عدة (Kit) وحسب تعليمات الشركة المصنعة (اسم الشركة)، تم فحص الأجسام المضادة IgM, IgG وIgA بحسب طريقة Single Redial Immuno diffusion test kit وحسب تعليمات الشركة المصنعة (اسم الشركة). استخدم اختبار T. test لمعرفة اذا كان هناك فروق معنوية بين المجاميع الممنعة ومجموعة السيطرة وحسب طريقة (12).

النتائج

أظهرت النتائج ان تركيز البروتين الكلي في مستضدات الطبقة المولدة 2.46 ملغم/ 100 مل (جدول 1)، وتشير نتائج الجدول (2) إلى أن حقن مستضدات الطبقة المولدة بكمية 0.1 تحت الجلد إلى ارتفاع معنوي في معدل تركيز الأجسام المضادة IgA مقارنة بالسيطرة والتي بلغت على التوالي 526.0 ملغم/ 100 مل و138.5 ملغم/ 100 على التوالي. أما تركيز الأجسام المضادة IgG ارتفع معنوياً وبلغت 1377.8 ملغم/ 100 مل مقارنة بالسيطرة 1014 ملغم/ 100 مل ولم يرتفع تركيز الأجسام المضادة نوع IgM معنوياً بالسيطرة أيضاً (جدول 3). أما IgE الذي استخدمت طريقة الاليزا في قياسه فقد ارتفع تركيزه معنوياً في مجموعة المعاملة مقارنة بالسيطرة وبلغ 0.367 وحدة دولية. مقارنة بالسيطرة 0.206 وحدة دولية (جدول 4). أما بالنسبة لاختزال صبغة NBT فقد

ارتفعت اختزالها معنوياً من قبل الخلايا العدلة PMNs مقارنة بالسيطرة عند حقن مستضدات الرؤيسات الأولية تحت الجلد وبتركيز 0.1 وبلغت 25.19% مقابل 14.54% في كل من مجموعة المعاملة والسيطرة على التوالي (جدول 5).

جدول (1) كمية البروتين في الطبقة المولدة ملغم/ 100 مل

الطبقة المولدة	كمية البروتين ملغم/ 100 مل
	2.462

جدول (2) تأثير حقن مستضدات الطبقة المولدة على معدل تركيز الأجسام المضادة IgA ملغم/ 100 مل

التركيز	معدل مستوى الأجسام المضادة IgA ملغم/ 100 مل
0.1	A 343 ± 526.0
السيطرة	B 1.1 ± 138.5

الحروف المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي عند (p<0.05) مقارنة بالسيطرة.

جدول (3) تأثير حقن مستضدات الطبقة المولدة على معدل تركيز الأجسام المضادة IgG ملغم/ 100 مل

التركيز	معدل مستوى الأجسام المضادة IgG ملغم/ 100 مل
0.1	A 68.1 ± 1377.8
السيطرة	B 0.80 ± 1014

الحروف المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي عند (p<0.05) مقارنة بالسيطرة.

جدول (4) تأثير حقن مستضدات الطبقة المولدة على معدل تركيز الأجسام المضادة IgM ملغم/ 100 مل

التركيز	معدل مستوى الأجسام المضادة IgM ملغم/ 100 مل
0.1	A 18.59 ± 79.06
السيطرة	A 56.92 ± 113.08

الحروف المتشابهة تشير إلى عدم وجود فرق معنوي عند (p<0.05) مقارنة بالسيطرة.

جدول (5) تأثير حقن مستضدات الطبقة المولدة على معدل تركيز الأجسام المضادة IgE ملغم/ 100 مل

التركيز	معدل مستوى الأجسام المضادة IgE ملغم/ 100 مل
0.1	A 0.231 ± 0.367
السيطرة	B 0.254 ± 0.2067

الحروف المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي عند (p<0.05) مقارنة بالسيطرة.

جدول (6) يظهر اختزال صبغة NBT عند حقن مستضدات رؤيسات أولية

التركيز	معدل مستوى الأجسام المضادة IgE ملغم/ 100 مل
0.1	A 2.32 ± 25.19
السيطرة	B 0.88 ± 14.54

الحروف المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي عند (p<0.05) مقارنة بالسيطرة.

المناقشة

تشير النتائج إلى وجود فروق معنوية لكافة أنواع الأجسام المضادة مقارنةً مع مجموعة السيطرة التابعة لها عدا الأجسام المضادة نوع IgM وهذا يتفق مع ما جاء به كل من (13، 14). وذكر (15) ان الأجسام المضادة نوع IgM تلعب دوراً في قتل الرؤيسات الأولية وخاصة في الأسبوع الأول من الإصابة. كما ان تنشيط الأضداد نوع IgA تلعب دوراً في اختزال اختراق الرؤيسات الأولية للطبقة المخاطية في الأمعاء (16). وهذا ما أكدته دراسة (14) كما ارتفع تركيز الأجسام المضادة نوع IgE معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة. وهذا يتفق مع ما توصلت إليه (14) وكذلك (17) الذي ذكر أن التمنع بمستضدات الطبقة المولدة والرؤيسات الأولية كان له تأثير واضح في

زيادة مستويات الأجسام المضادة نوع IgE. أما اختبار صبغة NBT فقد ذكر (18) ان عملية البلعمة تعتبر من الوسائل المهمة للدفاع ضد البكتريا والفايروسات والطفيليات وجميع الأجسام الغريبة التي تدخل الجسم وفي تجربتنا أظهرت النتائج أن هناك فرق معنوي في قابلية اختزال صبغة NBT من قبل الخلايا العدلة في المجموعة المعاملة مقارنةً بمجموعة السيطرة. واتفقت نتائجنا مع ما توصل إليه (14، 19، 20) الذين ذكروا ان إعطاء مستضدات الأكياس العذرية والأميبا الحالة للنسيج أدت إلى ارتفاع عملية البلعمة بشكل معنوي.

المصادر

1. Eckert, J. & Deplazes, P. (2004). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin. Microbiol. Rev., 17: 107-135.
2. Loudiye, H.; Aktaou, S.; Hassikou, H.; El-Bardouni, A.; El-Manouar, M.; Fizazi, M.; Tazi, A. & Hajjaj-Hassouni, N. (2003). Hydatid disease of bone: review of 11 cases. Joint Bone Spine, 70:352-355.
3. William, C. M.; Richard, S. D. & Robert, B. G. (2000). Parasitology vector biology. 2nd Academic Press, London.
4. Hashemi Tabar, G. R.; Razmi, G. R. & Naghibi, A. (2009). Trials to induce protective immunity in mice and sheep by application of protoscolex and hydatid fluid antigen or whole body antigen of *Echinococcus granulosus*. J. Vet. Med., 52(B): 243-245.
5. Conchedda, M.; Gabriele, E. & Bortoletti, G. (2004). Immunobiology of cystic echinococosis. Parassitologia, 46 (4): 375- 380.
6. Lin, R. Y.; Ding, J. B.; Lu, X. M.; Wang, X. F.; Arziguli; Wei, X. L.; Wang, Y. & Wen, H. (2004). Transient expression of Echinococcus granulosus Eg95 DNA vaccine and induction of immune response in mice. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi., 22(4):204-208.
7. Moro, P. L.; Garcia, H. H.; Gonzales, A. E.; Bonilla, J. J.; Verastegui, M. & Gilman, R. H. (2005). Screening for cystic echinococcosis in an endemic region of Peru using portable ultrasonography and the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) assay. Parasitol Res., 96(4):242-246.
8. Metcalf, J.; Gallin, J.; Nauseef, W. & Root, A. (1986). Laboratory manual of neutrophil function. Raven Press, New York. PP. 78-79.
9. Hudson, L. & Hay, F. C. (1989). Practical immunology. 3 ed. Blackwell Scientific Publication.
10. Smyth, J. D. & Barett, N. J. (1980). Procedures for testing the viability of Human Hydatid cysts fallowing surgical removal especially after chemotherapy, trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 74: 649-652.
11. Satoskar, A. R.; Bozza, M.; Rodriguez Sosa, M.; Lin, G. & David, J. R. (2001). Migration-inhibitory factor gene-deficient mice are susceptible to cutaneous Leishmania major infection. Infect. Immun., 69: 906-911.
12. AlMohamedi, A. O. (2013). study of immunological effects production from hydatid cyst anti genes in white mice Balb/c. MSc. College of Science, University of Anbar.
13. Filisetti, D. & Candolfi, E. (2004). Immune response to Toxoplasma gondii . Ann. 1st. Super Sanita, 40(1):71-80.
14. Bout, D. T.; Mevelec, M. V.; Vegle–Roussel, F.; Dimiex–Poisson, I. & Lebrum, M. (2002). Prospects for a human Toxoplasma vaccine. Current Drug Targets–Immune, Endocrine and metabolic. Dis. Order., 2: 227-229.

15. Vasilevska, V.; Zafirovski, G.; Kirjas, N.; Janevska, V.; Samardziski, M.; Kostadinova-Kunovska, S.; Lozance, K.; Antevski, B. & Serafimoski, V. (2007). maging diagnosis of musculoskeletal hydatid disease. Prilozi., 28(2):199-209.
16. Weir, D. M. (1992). Immunology. 6th ed. Churchil Livinqstone, Edinburqh
17. Kubaissi, A. B. (2002). Immunological epidemiological study of patients infected with Entamoeba histolytica. Ph. D. Thesis, College of Science, Al-Mustansiriya University
18. Al-Hayani, H. Sh.; Al-Kubaisi, A. B. H. & Shaker, A. A. (2009). The Immunological effects of Entamoeba histolytica Antigens in White New Zealand Rabbits. Al- Anbar J. Vet. Sci., 2 (2): 67- 81.
19. Gandhi, B. M.; Irshad, M.; Acharya, S. K. & Tandon, B. N. (1988). Amebic liver abscess and circulating immune complexes of Entamoeba histolytica proteins. Am. J. Trop. Med. Hyg., 39: 440-444.
20. Abd-Alla, M. D.; El-Hawey, A. M. & Ravdin, J. I. (1992). Use of enzyme linked immunosorbent assay to detect anti-adherence protein antibodies in sera of patients with invasive amebiasis in Cairo. Egypt. Am. J. Trop. Med. Hyg. 47: 800- 804.