دراسة تأثير الالجنيت المنقى من بكتريا الزوائف الزنجارية على الاستجابة المناعية

أ.م.د رجوة حسن عيسى — كلية العلوم / الجامعة المستنصرية
أ. د عباس عبود فرحان — كلية التربية / جامعة ديالى.
أ.د سامي عبد المهدي المظفر — كلية العلوم / جامعة بغداد.

الخلاصة
درس تأثير الالجنيت المنقى من عزلة بكتريا الزوئف الزنجارية الكفوءة فى انتاج الالجنيت بطريقة الترسيب بالكحول الايزوبروبيلي وذلك في التراكيز (50,25,10,5) مكغم / مل من الالجنيت المنقى على الاستجابة المناعية الخلطية والخلوية داخل وخارج الجسم باجراء الاختبارات منها التشكيل الزهري التائي والبائي T&B Rosette fomation assay وتفاعل آرثس Arthus reaction وفرط الحساسية الآجل Delayed Type Hypersensitivity والخلايا المولدة للاضداد Plaquc forming cells، وهجرة خلايا الخلب البلعمية
(Migration of peritoneal macrophages)واختزال صبغة النتروبلوتترازوليم Nitrobluetetrazolium reduction ومعامل انقسام خلايا نخاع العظم في الفئران وكانت النتائج قدرة الالجنيت على تحفيز الخلايا اللمفاوية البائية على انتاج الاضداد وتحفيز خلايا نخاع العظم في الفئران وتفاعل آرتش لا سيما باستخدام التراكيز (50, 25, 10) مكغم /مل اما فيما يخص تأثير الالجنيت على الاستجابة المناعية فكان تأثيراً مثبطاً وذلك من خلال تثبيط هجرة الخلايا البلعمية وفرط الحساسية الاجل والتشكيل الزهري التائي وخاصة عند التراكيز (50, 25, 10) مكغم /مل .

المقدمة

الالجنيت هو عديد السكريد الخارجي المخاطي Mucoexopoly saccharide الذي تنتجه بعض عزلات بكتريا الزوائف الزنجاريةفي الحالات المرضية المزمنة (١)يستطيع الالجنيت تثبيط عملية الجذب الكيمياوي لخلايا العدلة وتثبيط عملية البلعمة التي تقوم بها هذه الخلايا (٢) .

يساعد الالجنيت على زيادة الاستجابة المناعية للجسم لتوليد اضداد عديدة النسيلة (polyclonal antibodies) (٣) تعتمد قدرة الالجنيت على تثبيط وظيفة خلايا العدلة والخلايا اللمفاوية على محتواه من مجاميع الاستيل وعلى الخصائص الفيزيائية المرتبطة بكبر حجم الجزئية ولزوجتها وكل هذه العوامل تجعل من الاصابة ببكتريا الزوائف الزنجارية المخاطية ان تكون اصابة مزمنة (٤).

يولد عديد السكريد الخارجي (الالجنيت) مستوى عالياً من الاضداد في الفئران وهذا ما يشجع على استخدامه كلقاح ان لم يكون معقدات مناعية كما هو موجود في مرضى التليف الحوصلي (٥) .

تتحمل الفئران عند تمنيعها بجرع عالية من الالجنيت بدون ظهور علامات السمية وتتحمل كذلك الجرع العالية المتكررة التي ينتج عنها مستوى عال من الاجسام المضادة فهذه النتائج الاولية كافية على التشجيع باستخدام الالجنيت كلقاح(٦).

يعمل تلقيح الانسان بعديد السكريد عالي الوزن الجزئي على تحفيز الجهاز المناعي على انتاج مستوى عال من الاضداد (IgG, IgA, IgM) وان الاضداد IgG, IgAكانتا اضدادا طاهية مؤثرة على بكتريا الزوائف الزنجارية اما عملية الطهي البلعمي التي يتواسطها الضد 1gMفتحتاج الى العامل المتمم ويعمل الضد IgA في المصل بكفاءة عالية مع الخلايا وحيدة النواة في عملية الطهي البلعمي لهذه البكتريا وهذا مما يشير الى ان هذه المكونات المناعية قد تكون قادرة على توفير الحماية للاشخاص الذين يعانون من نقص في خلايا العدلة (٧) .

طرائق العمل

تم استخلاص وتنقية الالجنيت من اكفأ عزلة منتجة له من بين (١٥) عزلة مخاطية معزولة من حالات مرضية مختلفة اذ تم الاستخلاص والتنقية بطريقة الترسيب بالكحول الايزوبروبيلي بحسب طريقة( ) المحورة.

١- اختبار السمية Toxicity test

تم اجراء اختبار سمية الالجنيت المنقى في الفئران حسب الطريقة الاتية:

قسمت الفئران الى ثلاث مجاميع وبمعدل ثلاث فئران لكل مجموعة وحقنت عن طريق العضلة Intramuscular –I.m وكالاتي:

- تم حقن المجموعة الاولى بـ (٢٥٠) مكغم /مل من الالجنيت المنقى.
- حقنت المجموعة الثانية بـ (١٥٠) مكغم/مل من الالجنيت المنقى.
- حقنت المجموعة الثالثة بـ (١) مل من PBSالتي تمثل السيطرة .
- تم مراقبة المجاميع الثلاث خلال ثلاثة ايام بعد الحقن

٢- تاثير الالجنيت المنقى في عيوشية خلايا الخلب والخلايا اللمفاوية

تم تحضير الخلايا اللمفاوية بحسب طريقة (٩) اما خلايا الخلب تم تحضيرها بحسب (١٠) اتبعت طريقة (١١) لدراسة تأثير الالجنيت المنقى في عيوشية هذه الخلايا.

٣- تأثير الالجنيت المنقى في اختزال صبغة النايتروبلوتترازوليم

Nitroblutetrazolium reduction- NBT- test

تم دراسة تأثير الالجنيت المنقى في اختزال صبغة NBT حسب طريقة(١٢).

٤- تأثير الالجنيت المنقى في تفاعل ارثس وفرط الحساسية الاجل (DTH)

تم دراسة تأثير الالجنيت المنقى على تفاعل ارثس وفرط الحساسية الاجل في الفئران بحسب (١٣).

٥- تأثير الالجنيت المنقى في الخلايا المولدة للاضداد

Plaque Forming Units – PFU

تم دراسة تأثير الالجنيت المنقى في الخلايا المولدة للاضداد وذلك حسب طريقة (١٤).

٦- تأثير الالجنيت المنقى في فحص التشكيل الزهري التائي

T-Rosette Formation Assay

تم اجراء التجربة وفقاً لطريقة (١٥) لاجراء هذه التجربة

٧- تأثير الالجنيت المنقى في فحص التشكل الزهري البائي

B-Rosette Formation Assay

اتبعت طريقة (١٥).

- تأثير الالجنيت المنقى في انقسام خلايا نخاع العظم
اجريت هذه التجربة بحسب (١٦) .

٩- تأثير الالجنيت المنقى في هجرة خلايا الخلب البلعمية
تم اتباع طريقة (١١) في دراسة تأثير الالجنيت في هجرة الخلايا البلعمية .

١٠- التحليل الاحصائي :
تم تحليل النتائج احصائياً باستعمال اختبار t (t-test) عند مستوى معنوية ١% و ٥% بين معاملات الاختبار ومعاملات السيطرة وكذلك ما بين معاملات الاختبار نفسها .
تم التعبير عن نتائج الدراسة على شكل المعدل الحسابي ± الانحراف المعياري (Mea±S.D)

النتائج والمناقشة
اوضحت نتائج اختبار السميه للالجنيت المنقى في الفئران موت الفأر المحقون بـ ٢٥٠ مكغم /مل بعد ٤ ساعة من الحقن اما الفأر المحقون بـ ١٥٠مكغم/مل فلوحظ عليه الخمول والعزوف عن الاكل وانخفاض في وزن الجسم مقارنة بمعاملة السيطرة التي كانت طبيعية في الحركة ووزن الجسم وتقبل الاكل وعلى ضوء هذه النتائج تم تحديد تراكيز الالجنيت المنقى وهي (50, 25, 10, 5) مكغم/مل كتراكيز مناسبة لاجراء جميع التجارب المناعية لمعرفة تأثير الالجنيت المنقى على الاستجابة المناعية بنوعيها الخلطي والخلوي داخل وخارج الجسم الحي. اظهرت نتائج تأثير الالجنيت فى عيوشية الخلايا اللمفاوية و خلايا الخلب البلعمية ولجميع المعاملات عدم وجود فروق معنوية مهمة في النسبة المئوية لعيوشية الخلايا اللمفاوية وخلايا الخلب البلعمية ولجميع تراكيز الالجنيت المستخدمة عند تطبيق اختبار -tومقارنة ذلك بالخلايا غير المعاملة (مجموعة السيطرة) جدول (١) .وفي دراسة حول التأثير السمي للالجنيت الخام وبالتراكيز (1, 0.5, 0.25) مكغم/مل في عيوشية هذه الخلايا بنوعيها اللمفاوية والبلعمية لوحظ ان هنالك انخفاضاً بسيطاً في عيوشية هذه الخلايا الا ان هذا الانخفاض غير معنوي (١٧).

جدول (١)تأثير الالجنيت المنقى على عيوشية الخلايا اللمفاوية وخلايا الخلب البلعمية

تراكيز الالجنيت المنقى مكغم/مل	عيوشية الخلايا اللمفاوية (%) المعدل ± الانحراف المعياري	عيوشية خلايا الخلب البلعمية(%) المعدل ± الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	٩٣.٥ ±١.٧٣٢	٩٤.٧٥±١.٧٠٩
٥	٩٤±١. ٢٥	٩٤.٥±١.٢٩٢
١٠	٩٦.٧٥±١.٧٠٩	٩٤±١. ٢٥
٢٥	٩٣.٥±١.٢٩٢	٩٣.٧٥±٠.٩٥٧
٥٠	٩٣.٢٥±٠.٩٥٧	٩٣.٥±١.٩١٦

يبين الجدول (٢) نتائج تأثير تراكيز الالجنيت المنقى المستخدمة (٥٠،٢٥،١٠،٥) مكغم/مل في النسبة المئوية للخلايا الموجبة لفحص الـNBT عند المقارنة مع معاملة السيطرة ومن خلال النتائج لم يلاحظ انخفاض في النسبة المئوية للخلايا الموجبة للفحص عند التركيز (٥) أما عند التراكيز (٥٠،٢٥،١٠) مكغم/ مل فقد لوحظ انخفاض واضح في النسبة المئوية للخلايا الموجبة للفحص عند مستوى معنوية (٥%، ١%) حيث بلغت المعدلات (٢٢.٥، ٧٥. ١، ١٤) على التوالي عند مقارنة ذلك بمعدل معاملة السيطرة البالغ (٣٠.٧٥) وقد يعود سبب ذلك الى قدرة الالجنيت على ازالة الجذور الحرة المنتجة من قبل الخلايا البلعمية المفعلة ( ) حيث أن هذه الجذور تعمل على اختزال صبغة الـNBT . تلعب الطبيعة اللزجة للألجنيت في التأثير التثبيطي اللانوعي Inhibitors effect للأجسام المبتلعة على تمثل والتحلل اللاحق (١) يتداخل الالجنيت مع فعالية الخلايا متعددة اشكال النوى التي تتواسط عملية القتل البلعمي لبكتريا P.aeruginosa المخاطية (١٩) وتثبط الطبقة المخاطية (الالجنيت) في بكتريا P.aeruginosa قدرة الخلايا البلعمية على اختزال صبغة NBT وتثبيط عملية البلعمة(٢٠).

جدول (٢)تأثير الالجنيت المنقى في اختزال صبغة الـNBT

تركيز الالجنيت المنقى مكغم/ مل	النسبة المئوية للخلايا المكونة للفورمازان المعدل + الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	٣٠.٧٥±٢.٦٣
٥	٢٧.٥±٢.٣
١٠	٢٢.٥±٢.٦٥**
٢٥	١ .٧٥±٢.٧٥**
٥٠	١٤.٠±١. ٣*

** = وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (٥%، ١%).

اظهرت نتائج الحقن حصول ارتفاع في قيم تفاعل آرثس في مجاميع الفئران المعاملة طيلة فترة الحقن عندما قورن ذلك بمجاميع السيطرة المحقونة بالـ PBS ، وخاصة عند التراكيز (50, 25, 10) مكغم/مل حيث بلغت المعدلات (0.72, 0.604, 0.516) على التوالي اما معدل معاملة السيطرة فقد بلغ (0.416) عند مستوى معنوية (٥% ، ١%) ولم يلاحظ فرقاً معنوياً بين معدل التركيز (٥) مكغم/مل اللذي بلغ (٠.٤٤٦) عند مقارنة مع معدل السيطرة جدول (٣)

يعتمد تفاعل آرثس على وجود الاجسام المضاد وتكوين الخزب بسبب تجمع خلايا الدم متعددة اشكال النوى PMNs حيث ان ذلك يحصل خلال فترة (٣-٤) ساعات من الحقن (٢١) يستطيع الالجنيت ان يولد مناعة فاعلة بسبب تحفيزه على انتاج الاجسام المضادة في الفئران التي حقنت بهذا المستضد (٣) وهذا مما يشجع على دراسة امكانية استخدامه كلقاح.

ويلاحظ من الجدول نفسه ان معدلات قيم فرط الحساسية الاجل DTHقد انخفضت في الفئران المعاملة بتراكيز الالجنيت المنقى وخاصة (١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/ملم عند مقارنة ذلك بمجاميع فئران السيطرة المحقونة بالـ PBSحيث بلغت المعدلات (٠.٣٦٢، ٠.٣٠، ٠.٢٩٦) على التوالي ، اما معدل السيطرة فقد بلغ (٠.٤٧٤) وهذه الفروق المعنوية لم تلاحظ عند التركيزصفر (٠) مكغم/مل الذي بلغ معدله (٠.٤١٢) ولوحظت هذه الفروق عند تطبيق اختبار t– عند مستوى معنوية (١% ، ٥%).

جدول (٣) تأثير الالجنيت المنقى في تفاعل آرثس وفرط الحساسية الاجل في الفئران

تركيز الالجنيت المنقى مكغم/مل	تفاعل آرثس المعدل ± الانحراف المعياري	فرط الحساسية الاجل DTH المعدل ± الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	٠.٤١٦ ± ٠.٠٥٦	٠.٤٧٤ ± ٠.٠٤٤
٥	٠.٤٤٦ ± ٠.٠٤٢	٠.٤١٢ ± ٠.٠٥٣
١٠	٠.٥١٦ ± ٠.٠٢٦ **	٠.٣٦٢ ± ٠.٤١ **
٢٥	٠.٦٠٤ ± ٠.٠٤ **	٠.٣٠ ± ٠.٠٢١ **
٥٠	٠.٧٢ ± ٠.٠٢٦ **	٠.٢٩٦ ± ٠.٠٣٢ **

** = وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (١%، ٥%)

يوضح الجدول (٤) تزايد عدد اللويحات التي تمثل مواقع ارتباط الاجسام المضادة مع المستضد المعتمد على الخلايا التائية الذي يتمثل بكريات الدم الحمر للخروف (SRBs) بوجود العامل المتمم الذي يعمل على تحلل هذه الكريات.

ان تزايد عدد اللويحات في طحال مجاميع الفئران المعاملة اقترن بالتراكيز المتدرجة للأجنيت المنقى (٥،١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل مقارنة مع مجموعة فئران السيطرة

حيث بلغ أعلى معدل عند التركيز (٥٠) مكغم/مل الذي بلغ (٤٢٣٧.٥٧) لكل مليون خلية وتشير نتائج التحليل الاحصائي عند تطبيق اختبارt الى ان هنالك فرقاً معنوياً في حالة التركيز (٥) مكغم/مل عند مستوى معنوية (٥%) أما في حالة التراكيز (١٠،٢٥،٥٠) مغم/ مل كانت الفروق المعنوية عند مستوى معنوي(١%، ٥%) عند مقارنة ذلك مع معاملة السيطرة كما لوحظ ان هنالك فروقاً معنوية من خلال الجدول المذكور، ان جميع تراكيز الالجنيت المنقى المستخدمة قيد الدراسة قد أدت الى زيادة واضحة في الاستجابة المناعية الخلطية.

يعمل 1L-1 على تحفيز تكاثر الخلايا اللمفاوية البائية ومن ثم انتاجها للأجسام المضادة وقد يتشابك الالجنيت مع المستقبلات الموجودة على سطح الخلايا اللمفاوية البائية وأهمها مستقبلات (Immunoglobulin-Ig) وبهذا يعمل الالجنيت عمل المركبات الحلقية المتكررة مما يؤدي هذا الارتباط الى تحفيز الخلايا اللمفاوية البائية مما يسبب في زيادة معدل انقسام هذه الخلايا وتمايزها وبالتالي الى انتاجها للأجسام المضادة (٢٢).

يعد عديد السكريد الخارجي المخاطي (الالجنيت) مشطراً Mitogenic للخلايا اللمفاوية البائية للأنسان والفأرة (٢٣).

يساعد التتابع العشوائي Randome Sequence لحامضي المانيورونك والكاليورونك بوساطة الاواصر نوع بيتا (١،٤) المكونة للألجنيت على التنوع في محدداته المستضدية مما يجعل الالجنيت قادر على تحفيز الخلايا البائية على انتاج الاجسام المضادة في جسم الحيوان (٢٤) وكذلك في جسم الانسان(٢٥).

جدول (٤) تأثير الالجنيت المنقى في الخلايا المولدة للأضداد

تركيز الالجنيت المنقى مكغم/مل	عدد الخلايا المكونة للويحات لكل مليون خلية طحال المعدل ±الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	١١٢٧.٥±٥١.
٥	١١٦٠.٠± ٤.٠٦
١٠	١٤٢٧.٥±٣ .٦٣**
٢٥	٢٢٠٧.٥±٢٠٧.٥ **
٥٠	٤٢٣٧±٢٧٦.٢١ **

* وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (٥%)

** وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (١%).

يوضح الجدول (٥) نتائج تأثير تراكيز الالجنيت المنقى في هجرة خلايا الخلب البلعمية، حيث استخدمت التراكيز(٥،١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل ولوحظ حصول تثبيط في معدل هجرة هذه الخلايا التي عوملت بتراكيز الالجنيت المنقى وخاصة التراكيز

(١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل عندما قورنت مع معاملة السيطرة (خلايا خلب بلعمية غير معاملة) التي لوحظت هجرتها العشوائية دون وجود أي تحفيز(٢٦).

أشار (٢٧) الى ان الالجنيت الغني بحامض المانيورونك يستطيع أن يحفز خلايا الانسان وحيدة النواة على انتاج مستوى عالياً من عامل التنخر الورمي (TNF) وبين ابيضاضي-١ (1L-1) وهذان يزيدان من التصاق خلايا الدم العدلة مفصصة النوى بالاوعية الاندوثيلية وبالتالي تثبيط هجرتها الى موقع الاصابة.

وتشير هذه النتائج الى أن الالجنيت المنقى وبالتراكيز المستخدمة له تأثير مثبط على هجرة الخلايا البلعمية وبالتالي تثبيط الاستجابة المناعية النوعية.

جدول (٥) تأثير الالجنيت المنقى في هجرة الخلايا البلعمية تحت الاكاروز

تراكيز الالجنيت المنقى مكغم/ مل	قطر منطقة الهجرة(ملم) المعدل ±الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	١٣.٥±٠.٤١٢
٥	١٣.٢ ±٠.٢٢٤
١٠	١٢. ٣±٠.٢ *
٢٥	١١.٥٠±١.٩٧ **
٥٠	٩.٦٠±٠.٥٩٢ **
السيطرة الموجبة PHA	٢٢±٠.٣٢١

أظهرت نتائج معاملة الخلايا التائية بتراكيز الالجنيت المنقى (٥،١٠،٢٥،٥٠) مكغم/ مل تأثيراً واضحاً في عملية تكوين التشكل الزهري التائي حيث اتضح ذلك من خلال انخفاض النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية المكونة للتشكل الزهري (الفعال والكلي) عندما قورنت هذه النسب مع النسبة المئوية لمعاملة السيطرة.

يوضح الجدول (٦) نتائج معاملة الخلايا التائية بتراكيز الالجنيت المنقى (٥،١٠،٢٥،٥٠) مكغم/ مل حيث لوحظ أن هنالك تأثيراً واضحاً للتراكيز (١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل على النسبة المئوية للتشكل الزهري التائي الفعال حيث بلغت المعدلات (٥٣.٢٥،٥٠.٧٥،٤٤) على التوالي وتبين ان هذه الفروق معنوية عند تطبيق اختبار -t عند مستوى معنوية (١%،٥%) أما التركيز (٥) مكغم/مل فلم يلاحظ له تأثير ذو فرق معنوي عندما قورن ذلك مع معدل السيطرة البالغ (٥٧.٢٥) ويوضح الجدول اعلاه كذلك انخفاض معدلات التشكل الزهري التائي الكلي وخاصة عند التراكيز (١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل حيث بلغت معدلات التشكل الزهري التائي الكلي (٦٦.٢٥، ٦٠.٧٥، ٥٦.٥) عند مستوى معنوية (٥%، ١%) إذا ما قورنت مع معدل معاملة السيطرة البالغ(٧٢) وفي نفس الوقت لم

يلاحظ أي فرق معنوي في حالة التركيز (٥) مكغم/مل الذي بلغ معدله تأثيره (٦٩.٧٥) عند مقارنة ذلك مع معدل معاملة السيطرة. يمكن تفسير الانخفاض الذي حصل في النسبة المئوية للتشكل الزهري الفعال والكلي في الخلايا اللمفاوية التائية المعاملة بتراكيز الالجنيت المستخدمة في الدراسة وخاصة التراكيز (١٠،٢٥،٥٠) مكغم/مل هو قد تلعب مادة الالجنيت دوراً معيناً في عملية احاطة مستقبلات الخلايا اللمفاوية التائية والخاصة بالارتباط مع كريات الدم الحمر وبهذا يمنع عملية الارتباط ان تتم بين كريات الدم ومستقبلاتها وبالتالي عدم تكون الشكل الزهري(١٧).

ان هذه النتائج تدعم نتائج فرط الحساسية الاجل (DTH) جدول (٦) حيث يلاحظ وجود علاقة طردية بين نتائج فرط الحساسية الاجل ومعدل تكوين الشكل الزهري فتزداد النسبة بازدياد فرط الحساسية الاجل وتنخفض بانخفاضه (٢) . ويستنتج من ذلك ان التراكيز المستخدمة من الالجنيت المنقى تعمل على تثبيط الاستجابة المناعية التي تعتمد على عدد الخلايا اللمفاوية التائية وخاصة التراكيز (١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/ مل عدا التركيز (٥) فلم يلاحظ له تاثير معنوي في التشكل الزهري التائي والفعال.

جدول (٦) تأثير الالجنيت المنقى في التشكل الزهري الفعال والكلي للخلايا التائية

تركيز الالجنيت المنقى مكغم/مل	التشكيل الزهري الفعال (%) المعدل ± الانحراف المعياري	التشكيل الزهري الكلي (%) المعدل ± الانحراف المعياري
صفر (السيطرة)	٥٧.٢٥ ± ٢.٩٩	٧٢.٠ ± ٣.٦٥
٥	٥٥.٥ ± ٢.٣	٦٩.٧٥ ± ١.٧٠٩
١٠	٥٣.٢٥ ± ٢.٧٥ *	٦٦.٢٥ ± ٤٠.١١٣
٢٥	٥٠.٧٥ ± ١.٧١ **	٦٠.٢٥ ± ١.٧٠٩ **
٥٠	٤٤ ± ١. ٣**	٥٦.٥ ± ٢٦٥ **

*= وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (٥%)

**= وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (١%)

يوضح الجدول (٧) ان هنالك انخفاضاً واضحاً في النسبة المئوية للتشكل الزهري البائي لمجاميع المعاملة بتراكيز الالجنيت المنقى (١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/ مل مقارنة بمعاملة السيطرة حيث بلغ معدل نسبة المئوية للخلايا المكونة للشكل الزهري البائي ((٢٥، ٢١، ١٩.٥) على التوالي عند مستوى معنوية (٥%، ١%) عندما قورن ذلك مع معدل السيطرة البالغ (٢٩. ٢).

جدول (٧) تأثير الالجنيت المنقى في التشكل الزهري البائي

تراكيز الالجنيت المنقى مكغم/ مل	التشكيل الزهري البائي (%) المعدل ± الانحراف المعياري
صفر	٢ .٢٩ ± ٣.٣١

(السيطرة)	
٥	٢٧.٥±٢.٦٥
١٠	٢٥.٠±٢.١٦ *
٢٥	٢١.٠±٢.٤٥ **
٥٠	١٩.٥±٣.٢٢ **

يوضح الجدول ( ) نتائج تأثير الالجنيت المنقى بالتراكيز المستعملة (٥، ١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/مل في انقسام خلايا نخاع العظم في الفئران حيث لوحظ ان الالجنيت يعمل على تحفيز وانقسام خلايا نخاع العظم في مجاميع الفئران المعاملة به من خلال الزيادة الملحوظة في معامل الانقسام الخيطي لهذه الخلايا مقارنة مع مجموعة فئران السيطرة حيث بلغت قيم معدلات معامل الانقسام الخيطي في مجاميع الفئران المعاملة (٩.٢٥، ١٣.٥، ١، ٢٢.٧٥) على التوالي مقارنة مع معدل السيطرة الذي بلغ (٧.٧٥).

واظهرت نتائج التحليل الاحصائي باستعمال اختبار - t وجود فروق معنوية بين معدلات معامل الانقسام الخيطي في الفئران المعاملة بتراكيز الالجنيت (١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/مل وبين معدل الانقسام الخيطي في الفئران المعاملة بتراكيز الالجنيت (١٠، ٢٥، ٥٠) مكغم/ مل وبين معدل معامل انقسام مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية (٥%، ١%) في حين لم يظهر أي فرق معنوي بين معدل معامل الانقسام الخيطي في مجموعة الفئران المحقونة بالتركيز (٥) مكغم/مل وبمعدل مجموعة معاملة السيطرة.

يمثل معامل الانقسام الخيطي للخلايا النسبة بين عدد الخلايا المنقسمة والعدد الكلي للخلايا (المنقسمة + غير المنقسمة) ويبلغ معدل انقسام هذه الخلايا حوالي ( ) ساعات ولكونها تمر بمراحل انقسامية مختلفة فاستخدمت هذه الخلايا من قبل عدد من الباحثين في دراسة تأثير بعض المواد على انقسام هذه الخلايا (١٦) تشير النتائج الى ان للالجنيت تاثير محفزاً في انقسام وتكاثر الخلايا اللمفاوية في الفئران وهذا يتفق مع ما توصل اليه (٣) و (١٧) حيث انه يحفز على انتاج IL-1 من خلايا البلعم الكبير الذي يعمل بدوره على تحفيز انقسام كل من الخلايا البائية والتائية.

اشار (٢٣) الى ان الالجنيت يعمل كمشطر للخلايا البائية في الانسان والفأر.

جدول( ) تأثير الالجنيت المنقى في انقسام خلايا نخاع العظم في الفئران

تراكيز الالجنيت المنقى مكغم/ مل	معامل الانقسام الخيطي (Mitotic index MI) المعدل ±الانحراف المعياري
صفر(السيطرة)	٧.٧٥±١.٧١
٥	٩.٢٥±٠.٩٦
١٠	١٣.٥±١.٢٩ **
٢٥	١ .±٢.١٦ **

٥٠	٢٢.٧٥±٢.٢٢

**= وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (٥%، ١%).

Abstract

It was performed by (i) extraction and purification of alginate from the most efficient isolate of Pseudomonas aeruginosa through precipitation by isporopanol.

(ii) studying the effect of various concentrations (5, 10, 25, 50) ug/ml of purified alginate on the T & B- Rosette formation, arthus reaction, delayed type hypersensitivity, Migration of peritoneal macrophages, plaque forming cells, Nitroblue tetrazolium reduction and Mitotic index of mice bone marrow cells.

Purified alginate inhibited the cell-mediated immune response through inhibition of peritoneal macrophages migration, delayed type hypersensitivity and T-Rosette forming especially at (10, 25, 50) ug/ml concentrations.

The ability of purified alginate to induction of B-lymphocytes to produce antibodies and stimulation of the proliferation of mice bone narrow cells especially at (10, 25, 50) ug/ml concentrations.

References

1- Oss Van, C.J. (1978). Phagocytosis as a surface phenomenone. Ann. Rev. Microbiol. 32.19-39.

2- Takeda, H. (1998). Study on pathogenetic role of myeloperxidase, tumer necrosis factor alpha interferon gamma in chronic airway infection with P.aeruginosa kasenshogaku- Zasshi. 72(4): 395-409.

3- Daley L. Pier, G. B., Liporace, J. D.; Eardley D. D. (1985). Polyclonal B-cell stimulation and interleukin induction by the

mucoid exoplysaccharide of P.aeruginosa associated with cystic fibrosis J. Immunol 134:3089-3096.

4- Mai, G. T., Mc Cormack, J. G. Beow, W. K., Pier, G. B., Jakson, L. A. and Thong. Y. H. (1993). Inhibition of adherence of mucoid P. aeruginosa by alginate, specific monoclonal antibodies and antibiotics. Infect. Immun 61(10): 4338-4339.

5- Meachel, U. Tassig, L. M. Beckman, R. C. and strank, R. C. (1982). Circulating immune complexes in cystic fibrosis. Annu Rev. Respir. Dis 126: 255-257.

6- Bryan, L. E. Kureeishi, A; and Rabin, H. R. (1983). Detection of antibodies of P.aeruginosa alginate extracellur polysaccharide in animals and cystic fibrosis patients by enzyme-linked immunosor bent assay. J. clin. Microbiol. 18,276.

7- Pier, G. B. and Thomas, D. M. (1983). Characterization of human immune response to polysaccharide vaccine from P.aeruginosa cultures. J. Gen. Microbiol. 113:261.

8- Learn, D.B., Brestel, E. P. and Seetharama, S. (1987). Hypochlorite scawenging in P.aeruginosa. Infect. Immun. 55:1813-1818.

9- Boyum, A.(1968). Isolation of monouclear cell and granulocytes from human blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21 (suppl-97): 77-89.

10- Weber, B., Nichol, M. M., Jaggar, K. S. and Saelinger, C., (1982). Interaction of pscudomonas exproducts with phagocytic cells can. J. Microbiol. 28:679-685.

11- Nonoyama, S., Kojo, H., Mine Nishida, M., Goto, S., and Kuwahara, S., (1979). Inhibitory effect of P.aeruginosa on the phagocytic and killing of rabbit polymorphnuclear leukocytes: inhibitor. Infect. Immun. 24:399-403.

12- Metcalf, J., Gallin, J., Nauseef, W., and Rott, A., (1986). Transduction mechanisms receptor expression. In laboratory mannual of neutrophil function. Ravan press. New York. 78-79.

13- Blackwood, L.I. and Rowe, J. I. (1987). Suppression of delayed Type hypersenitivity and cell – mediated Immune responses to Listeria monocytogenes induced by P.aeruginosa Infect. Immun. 55:639-644.

14- Nowotny, A. (1979). Determination of antibody production cell at cellular level (Immuno plaque method) in: Basic exercises in immunochemistry a laboratory manual. 2nd Ed. New York.

15- Mendes, N. E., Tolnal, M. E. A. Silverira, N. P. A. Gilbert sew, R. B., and Metz Gar, R. S. (1973). Technical aspects of the Rosette test used to detect human complement receptors(B) and sheep erythrocyte binding (T) lymphocytes. J. Immunol 111:861-867.

١٦- عيسى، رجوة حسن(١٩). دراسات كيميائية حياتية ووراثية على البايوسين (R) وتأثيراته على عملية البلعمة. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم/ جامعة بغداد.

١٧- الموسوي، ختام حبيب رسول(١٩٩). دراسة تأثير البايوسيانين والالجنيت الخام المنتجة من بكتريا P.earuginosa المعزولة محلياً على الاستجابة المناعية في الفئران. رسالة ماجستير/ كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية.

18- Simpson, J. A., Smith, S. E. and Dean, J. F. (1988). Alginate inhibition of the uptake of P.aeruginosa by macrophages J. Gen. Microbiol 134:29-36.

19- Bayer, A. S., Speert, D. P., Park, S., Tu, J., Witt, M., Nast, C. C, and Norman, D.C. (1991). Functional role of mucoid expolysaccharide (alginate) in Antibiotic – induced and polymorphnuclear leukocyte – medicated and killing of P.aeruginosa Infect. Immun. 59(1): 302-8.

20- Laharrague, P. H., Corberanel, J. X., Fillola, G., Gleizes, B. J., Fontaelles, A. M. and Gyrode, E. (1984). In vitro effect of Slime of P.aeruginosa in the function of human PMNs. Infect. Immun. 44:760-762.

21- Roitt, I. (1988). Essential Immmuology 6th ed. Balckwell. Scient. Public.

22- Duff, G. W., and Durum, S. K. (1982). Fever and immno regulation: hyperthemia interleukins 1 and 2, and T-cell proliferation, J. Biol. Med. 55:436-441.

23- Pier. G. B. and Elcock. M. E. (1984). Non-Specific immunglobulin synthesis and elevated IgG levels in rabbits immmunized with mucoid expolysaccharide from cystic fibrosis isolates of P.aerugnosa J. Immunol. 133:734-739.
24- Pier. G. B., matthew, W. H. and Eardley, D. (1983). Chemical Immuno characterization of mucoid exoplysaccharide of P.aeroginosa J. infect-Dis 147:494-503.
25- Garner, C.V. and Pier, G. B. (1988). Human immune response to P.aeruginosa mucoid exopoiysaccharide vaccine. Clin. Res. 36:456 A.
26- Nelson, D. S. (1976). Immunobiology of the macrophage academic press. New York London.
27- Kulseng, B., Skjak-Brack, G., Folling, I. And Espevik, T. (1996). TNF production from peripheral blood mononuclear cells in diabetic patients after stimulation with alginate and lipopoly saccharide. Scard. J. Immunol. 42(3):335-40.
28- Wybran, J., levin, A. S., Spitler, L. F. and fundenberg, H. H. (1973). Rosette- forming cells immunological deficiency and transfer factor. N. Engl. J. Med. 288:710-713.