مقاومة الفئران البيض للخمج بداء الاكياس العدرية الثانوي باستخدام احد متماثلات انزيم بولي امين اوكسيديز

وثبة إدريس توحلة

قسم الكيمياء / كلية التربية

جامعة الموصل

الاستلام	القبول
2011 / 07 / 19	2011 / 11 / 02

ABSTRACT

Polyamine oxidase activity in cerebrospinal fluid of normal children was determined. The specific activity of crude PAO was found 64.16 ± 8.18 enzyme unit/mg protein. Two main peaks of high PAO activities were obtained I and II with specific activity of 1201.9 and 1157.2 enzyme unit/mg protein, and with purification folds of 18.2 and 17.5 respectively.

The resistance to infection with secondary hydatid disease was studied in mice activated by partially purified CSF-PAO with spermine and infected with protoscoleces of *Echinococcus granulosus*.

The results revealed an obvious decrease in numbers, weights and diameters of secondary hydatid cysts grown, and elevation in the percentage of reduction of hydatid cysts, and a decrease in liver and spleen weights and their organ indices, in mice activated by different concentrations of PAO II 200-1000 µg/ 10 gm body weight with constant concentration 200 µg Spm throughout one month, and with optimum concentration 800 µg/ 10 gm body weight PAO II with 200 µg Spm throughout two and three months, in comparison with positive and negative control groups.

Therefore, it was concluded that PAO II isolated from CSF with Spm could be considered as an effective resistance against infection with secondary hydatid disease.

الخلاصة

تم تقدير فعالية انزيم بولي امين اوكسديز (PAO) في السائل المخي الشوكي للأطفال الأصحاء. وجد ان الفعالية النوعية للانزيم الخام 64.16 ± 8.18 وحدة انزيمية/ملغم بروتين. تم

الحصول على قمتين I و II تمتلك كل منهما فعالية عالية لانزيم PAO، بلغت فعاليتهما النوعية 1201.9 و 1157.2 وحدة انزيمية/ ملغم بروتين، وبعدد مرات تنقية 18.2 و 17.5، على التوالي.

تم دراسة المقاومة ضد الإصابة بالاكياس العدرية الثانوية في الفئران البيض المفعلة بانزيم PAO II المنقى مع السبرمين Spm والمخمجة بالرؤيسات الاولية لدودة المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus*.

أظهرت النتائج حدوث انخفاضا واضحا في اعداد واوزان واقطار الاكياس العدرية الثانوية، مع ارتفاع النسب المئوية لاختزال اعداد الاكياس العدرية وانخفاضا في اوزان الكبد والطحال وتضخمهما في الفئران المفعلة على مدى شهر باستخدام تراكيز مختلفة 200–1000 مكغم/ 10 غم من وزن الجسم من انزيم PAO II مع تركيز ثابت 200 مكغم من Spm ، وعلى مدى شهرين وثلاثة اشهر باستخدام التركيز الامثل 800 مكغم/ 10 غم من وزن الجسم من PAO II مع 200 مكغم من Spm ، مقارنة بالسيطرة الموجبة والسالبة.

عليه يمكن ان يستنتج من هذه الدراسة ان المتماثل الثاني لانزيمPAO المستخلص من CSF الاطفال مع السبرمين يمكن ان يعمل كمنشط لمقاومة الفئران البيض ضد الاصابة بداء الاكياس العدرية الثانوي.

المقدمة

مركبات متعددة الأمين Polyamines PA مركبات عضوية متعددة الشحنة الموجبة، وهي منتشرة في خلايا الكائن الحي كافة. تلعب هذه المركبات دورا أساسيا في العمليات الحياتية على مدى واسع بضمنها نمو وتمايز الخلايا وتشارك في تنظيم دورة حياة الخلية (1).

تقوم انزيمات بولي أمين اوكسيديز Polyamine Oxidases PAO بتحفيز أكسدة وحذف مجاميع الأمين من مركبات متعددة الأمين مثل السبرمين Spm والسبرمدين Spd ومشتقاتهما بألفة عالية، ولها دورا هاما في تنظيم مستويات مركبات PA داخل وخارج الخلايا(2).

اتضحت أهمية تاثير اتزان مركبات PA في الوظائف الطبيعية للجهاز المناعي (3)، فقد عرفت نواتج اكسدة الـ PA بوساطة انزيم PAO بانها سامة لانواع مختلفة من الخلايا(4). اكد الباحثون Schenkel وجماعته (5) ان Spm هو المادة الأساس الأفضل للانزيم وهو الاكثر سمية. وجد ان طفيليات تريبانوسوما Trypanosomes قتلت بسرعة عند تحضينها مع PAO او مع المصول الحاوية على PAO و PA، واقترح بان نظام PA-PA0 له علاقة خاصة بالميكانيكيات القاتلة غير النوعية لطفيليات التريبانوسوما التي تصيب المجترات(6).

داء الاكياس العدرية او داء المشوكات Echinococcosis من الأمراض الطفيلية القديمة والشائعة في جميع أنحاء العالم، بضمنها الوطن العربي والعراق (7). وهو من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان (8). اولى الباحثون والمختصون اهتماما كبيرا في معالجة هذا الداء (9)، ونجحت معظم الادوية المستخدمة في علاج هذا المرض علاجا جزئيا، ماحث الباحثين في احداث تعديل مناعي في المضيف بهدف تنشيط مقاومته ضد الاصابة بهذا الطفيل، واستخدموا لهذا الغرض موادا عديدة عزلت من مصادر مختلفة (10-12).

نجحت دراسة سابقة (13) في استخدام احد متماثلات انزيم PAO كمعدل مناعي ضد الخمج بداء الاكياس العدرية الثانوي في الفئران البيض، المصابة تجريبيا، كان الهدف من هذا البحث دراسة المتماثل الثاني لهذا الانزيم لامكانية استخدامه بوصفه معدلا مناعيا ضد نفس المرض.

المواد وطرائق العمل

عينة السائل المخي الشوكي

تم جمع عينات CSF للاطفال الاصحاء من مختبرات مستشفى ابن سينا التعليمي في الموصل بواقع 15 عينة وبمعدل 0.5-1 مل للعينة الواحدة.

تقدير كمية البروتين في الـ CSF

تم استخدام طريقة الباحث Lowrey المعدلة (14-15) في تقدير كمية البروتين في عينات الـ CSF.

قياس فعالية أنزيم PAO

تم قياس فعالية أنزيم PAO بالاعتماد على طريقة الباحثة Flayeh (16) والمحورة من قبل الباحث Dahel (17)، واستخدمت الظروف المثالية التي يعمل عليها انزيم PAO للـ CSF والمثبتة من قبل الباحثة Al-Katib (18).

التنقية الجزئية لانزيم PAO

تمت التنقية الجزئية لأنزيم PAO من الـ CSF الأطفال باستخدام الفرز الغشائي والاستشراب الايوني المتبادل باستخدام المبادل الايوني السالب DEAE-Cellulose، على التوالي (19).

الحيوانات المختبرية

تم استخدام الفئران البيض في تجارب البحث التي تم الحصول عليها من غرفة تربية الحيوانات التابعة لقسم علوم الحياة / كلية التربية.

الأكياس العدرية

تم الحصول على الأكياس العدرية والتي تم عزلها من اكباد الاغنام المذبوحة من الجزارين في مدينة الموصل. تم جمع الرؤيسات الأولية حسب طريقة الباحث Smyth (20) وتم تقدير حيويتها حسب طريقة الباحثين Smyth & Barett (21)، واستخدمت الرؤيسات الأولية التي بلغت حيويتها(96%) فأكثر وحقنت الفئران في التجويف البريتوني بـ 2000 رؤيس اولي تقريبا والتي تم حسابها حسب طريقة الباحث Wangoo وجماعته (22).

تصميم التجارب

لدراسة تأثير انزيم PAO II على الامراضية التي تنتج عن الخمج بالأكياس العدرية في الفئران، تم تقسيم تجارب حقن الفئران الى ثلاث تجارب:

التجربة الأولى: تم حقن 25 فأرا عبر الخلب بتركيز 200 مكغم/10غم من وزن الجسم بالـ Spm مضافا اليها تراكيز مختلفة (1000,800,600,400,200 مكغم/10غم من وزن الجسم) من أنزيم PAO II المستحصل من القمة الثانية من عملية التبادل ألايوني. تم خمج الفئران بما يقرب من 2000 رؤيس اولي حي/فار بعد يوم واحد من التفعيل، وتم خمج 5 فئران بالعدد نفسه من الرؤيسات الأولية الحية فقط كمجموعة سيطرة موجبة. وتم استخدام 5 فئران كمجموعة سيطرة سالبة، تم تشريح الفئران جميعها بعد شهر من احداث الخمج. تم تحديد التركيز الامثل للانزيم من هذه التجربة لاجراء التجارب اللاحقة.

التجربة الثانية: تم حقن 5 فئران بالتركيز الامثل من أنزيم PAO II مع Spm، وبعد ثلاثة ايام من التفعيل تم خمج الفئران بالعدد نفسه من الرؤيسات الأولية الحية.

التجربة الثالثة: تم حقن 5 فئران بالتركيز الامثل من أنزيم PAO II مع Spm وبجرعتين متتاليتين بينهما 72 ساعة، تم خمج الفئران بالعدد نفسه من الرؤيسات الأولية الحية بعد 6 أيام من التفعيل الاولي.

في كلا التجربتين الثانية والثالثة كان هناك مجموعة سيطرة سالبة وموجبة. تم تشريح الفئران جميعها بعد شهرين وثلاثة اشهر من إحداث الخمج.

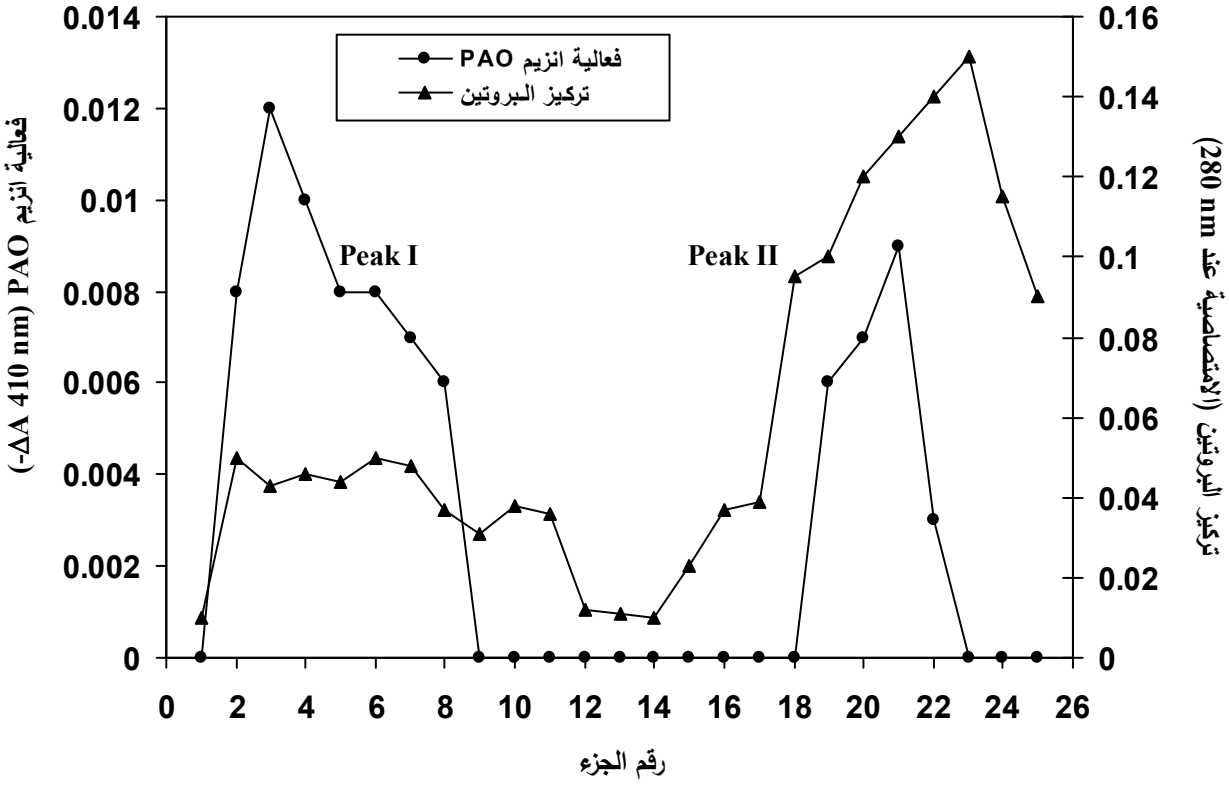
التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج باستخدام اختبار t (23) لتحديد الفروقات بين حيوانات السيطرة الموجبة والسيطرة السالبة من جهة، وبين الحيوانات المعاملة وحيوانات السيطرة الموجبة من جهة اخرى.

النتائج

تحديد مستوى فعالية انزيم PAO في CSF

ارتفعت الفعالية النوعية لانزيم PAO حسب خطوات التنقية ما بين الانزيم الخام، والفرز الغشائي والتبادل الايوني (الشكل 1، الجدول 1).



الشكل (1): نموذج الروغان المستحصل من تنقية إنزيم PAO من الـ CSF بوساطة التبادل ألايوني

الجدول (1): خطوات تنقية إنزيم PAO من CSF الأطفال الأصحاء

خطوات تنقية الـCSF	الحجم الكلي (مل)	البروتين الكلي (ملغم)	الفعالية الانزيمية (وحدة انزيمية/مل)	الفعالية الانزيمية الكلية (وحدة انزيمية)*	الفعالية النوعية (وحدة انزيمية/ملغم بروتين)	عدد مرات التنقية	استرجاع الفعالية %
الانزيم الخام	9.0	5.67	41.66	374.94	66.12	–	100
الفرز الغشائي	8.5	4.20	72.90	619.65	147.53	2.23	165.26
التبادل الايوني							
peak I	35	0.91	31.25	1093.75	1201.92	18.17	291.71
peak II	20	0.72	41.66	833.20	1157.22	17.50	222.22

* الوحدة الإنزيمية U تشير إلى كمية الإنزيم التي تؤكسد مايكرومول واحد من المادة الأساس (السبرمين) في الدقيقة الواحدة.

تأثير نظام Spm-PAO في الخمج التجريبي بالرؤيسات الأولية في الفئران البيض

تم دراسة تأثير نظام Spm–PAO في الخمج التجريبي بالرؤيسات الأولية في الفئران البيض، وفيما يلي نتائج هذه الدراسة:

أعداد وأوزان وأقطار الأكياس العدرية باستخدام جرعات PAO مختلفة التركيز

يوضح الجدول (2) حدوث انخفاضا معنويا عال ($P < 0.001$) في أعداد الأكياس في الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO ولكافة تراكيز PAO المستخدمة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة، بلغ أقصاه عند التركيز 800 مكغم. اما فيما يتعلق بأوزان الاكياس، لوحظ أيضاً حدوث انخفاض معنوي عال ($P < 0.001$) في أوزانها في الفئران المفعلة بنظام PAO–Spm ولكافة تراكيز PAO المستخدمة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة، بلغ اقصاه عند التركيز 800 مكغم. وفقا لذلك انخفضت اقطار الاكياس انخفاضا معنويا عاليا ($P < 0.001$) في الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة، بلغ اقصاه عند التركيز 800 مكغم. يبين الجدول نفسه ارتفاع واضح في النسبة المئوية لاختزال أعداد الأكياس في الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO، وأن أعلى نسبة اختزال كانت عند التركيز 800 مكغم.

الجدول (2): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة باستخدام تراكيز مختلفة من PAO مع تركيز ثابت Spm، وبجرعة واحدة قبل 24 ساعة من الخمج لمدة شهر واحد

التراكيز (مكغم)		أعداد الأكياس	أوزان الأكياس (ملغم)	أقطار الأكياس (ملم)	النسبة المئوية للاختزال %
PAO	Spm				
200	200	2.4****±0.54	0.20****±0.05	0.108****±0.03	52
400	200	2.8***±0.83	0.32****±0.09	0.114****±0.01	44
600	200	1.6****±0.89	0.28****±0.08	0.110****±0.02	68
800	200	0.6****±0.89	0.12****±0.16	0.034****±0.04	88
1000	200	1.4****±0.54	0.18****±0.12	0.094****±0.01	72
C+		5.0±0.70	1.12±0.09	1.050±0.11	0

C^- فئران السيطرة غير المخمجة وغير المفعلة ، **C+** فئران السيطرة المخمجة غير المفعلة .

* الفروق معنوية عند ($P < 0.05$) ، ** الفروق معنوية عند ($P < 0.01$)

*** الفروق معنوية عند ($P < 0.005$) ، **** الفروق معنوية عند ($P < 0.001$)

تشير الأرقام في الجدول إلى المعدل (لخمس مكررات) ± الانحراف القياسي.

أوزان الكبد والطحال ومعدلات تضخمهما باستخدام جرعات PAO مختلفة التركيز

أظهرت مجموعة السيطرة الموجبة زيادة معنوية عالية ($P < 0.001$) في وزن الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة. أما تضخم الكبد، فقد أظهرت السيطرة الموجبة زيادة معنوية ($P < 0.05$) مقارنة بالسيطرة السالبة. كذلك بالنسبة لوزن الطحال وتضخمه، فقد أظهرت السيطرة

الموجبة ارتفاعا معنويا عاليا ($P < 0.001$) و ($P < 0.005$)، على التوالي، مقارنة بالسيطرة السالبة (الجدول 3).

يوضح الجدول (3) أيضاً حدوث انخفاضا معنويا عال ($P < 0.001$) في أوزان الكبد في الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO مقارنة مع السيطرة الموجبة، بلغ أدناه عند التركيز 400 مكغم. أما تضخم الكبد فقد اظهر انخفاضا معنويا ($P < 0.05$) وغير معنويا مقارنة بالسيطرة الموجبة، بلغ ادناه عند التركيز 400 مكغم.

بالنسبة لأوزان الطحال وتضخمه، فقد أظهرت الحيوانات المفعلة بنظام Spm–PAO ولجميع التراكيز المستخدمة انخفاضا معنويا عاليا ($P < 0.001$) في أوزانها و تضخمها مقارنة بالسيطرة الموجبة، بلغ أدناه عند التركيز 800 مكغم.

الجدول (3): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة باستخدام تراكيز مختلفة من PAO مع Spm، وبجرعة واحدة قبل 24 ساعة من الخمج لمدة شهر واحد

التراكيز (مكغم)		الكبد		الطحال	
PAO	Spm	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم
200	200	0.98****± 0.10	59.4±7.02	0.068****±0.008	4.06****±0.18
400	200	0.78****± 0.18	55.2±*8.23	0.055****±0.008	3.90****±0.15
600	200	0.95****±0.16	63.4±6.23	0.052****±0.008	3.48****±0.37
800	200	0.84****±0.14	58.2±*6.06	0.050****±0.008	3.46****±0.59
1000	200	1.03****±0.11	58.0±*5.96	0.063****±0.007	3.53****±0.54
C−		1.11****±0.06	57.6±*5.13	0.062****±0.008	3.11***±0.71
C+		1.67±0.13	69.2 ±7.12	0.131 ±0.008	5.38±0.08

اختيار التركيز الامثل للـ PAO

تم اختيار التركيز الامثل لانزيم PAO في الدراسة الحالية، حيث وجد ان امثل تركيز للـ PAO IIالذي كانت فيه اقل عدد ووزن وقطر للاكياس العدرية واعلى نسبة اختزال للاعداد هو 800 مكغم مع 200 مكغم من Spm، وعليه فقد استخدم كمعدل مناعي في الفئران المخمجة في التجارب اللاحقة.

أعداد وأوزان وأقطار الأكياس العدرية باستخدام التركيز الأمثل للانزيم PAO

يلاحظ من الجدول (4) حدوثا انخفاضا معنويا عال ($P < 0.005$) في عدد الأكياس العدرية في الفئران المفعلة، مقارنة بالسيطرة الموجبة. كذلك حدث انخفاض معنوي عال ($P < 0.001$) في وزن الأكياس في الفئران المفعلة مقارنةً بالسيطرة الموجبة. تبعا لذلك انخفض قطر

الاكياس انخفاضاً معنوياً عاليا ($P < 0.005$) في الفئران المفعلة مقارنةً بالسيطرة الموجبة. كما حدث ارتفاع في النسبة المئوية لاختزال أعداد الأكياس العدرية في الفئران المفعلة.

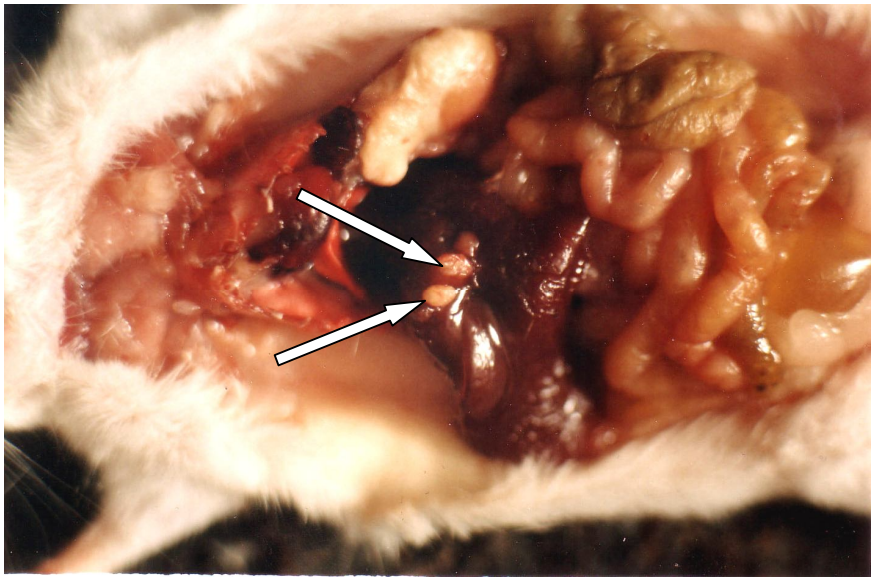
يوضح الجدول (5) حدوث انخفاضا معنويا عال ($P < 0.001$) في عدد الاكياس في الفئران المفعلة (صورة 1) مقارنةً بالسيطرة الموجبة (صورة 2)، وانخفض وزن الاكياس وقطرها انخفاضاً معنوياً عاليا ($P < 0.001$) في الفئران المفعلة مقارنةً بالسيطرة الموجبة، وسجلت النسبة المئوية لاختزال اعداد الاكياس ارتفاعاً ملحوظاً في الفئران المفعلة.

الجدول (4): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة بالتركيز الامثل وبجرعة واحدة قبل 72 ساعة من الخمج لمدة شهرين

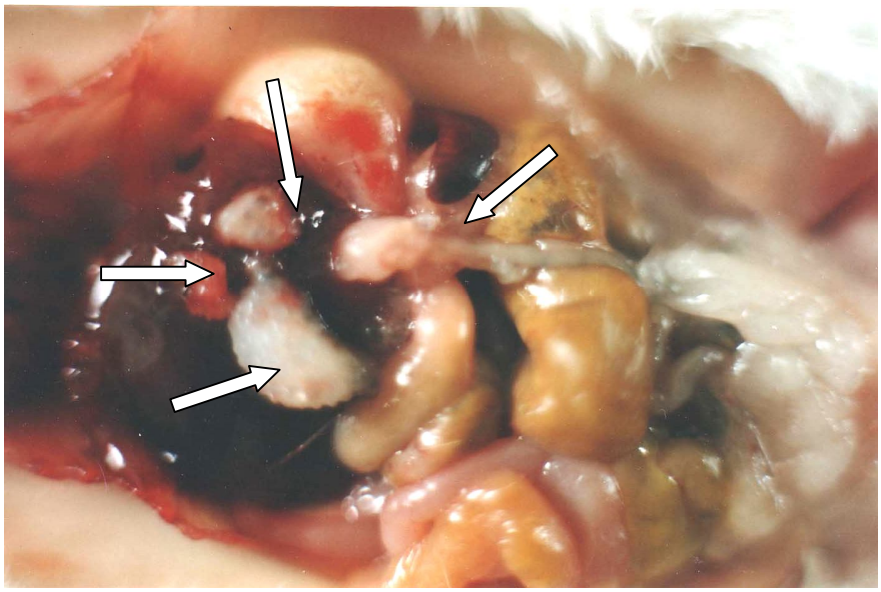
التركيز (مكغم)		أعداد الأكياس	أوزان الأكياس (ملغم)	أقطار الأكياس (ملم)	النسبة المئوية للاختزال %
PAO	Spm				
800	200	1.2***±0.83	0.32****±0.20	0.51***±0.34	75.0
C^+		4.8±1.78	2.08±0.17	1.86±0.58	0.0

الجدول(5): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة بالتركيز الامثل وبجرعتين (كل 72 ساعة) قبل ستة ايام من الخمج لمدة ثلاث أشهر

التركيز (مكغم)		اعداد الاكياس	اوزان الاكياس (ملغم)	اقطار الاكياس (ملم)	النسبة المئوية للاختزال %
PAO	Spm				
800	200	2.0****±1.0	1.40****±0.31	0.62****±0.13	83.4
C^+		12±1.58	13.5±1.57	2.22±0.27	0



صورة (1): الاكياس العدرية الثانوية في كبد فأر مفعل بالتركيز الأمثل 800 مايكروغرام من انزيم PAO مع 200 مايكروغرام من مادة الأساس Spm بعد ثلاثة اشهر من الخمج



صورة (2): تجمع الاكياس العدرية الثانوية في كبد فأر السيطرة المخمجة غير المفعلة بعد ثلاثة اشهر من الخمج

أوزان الكبد والطحال وتضخمهما باستخدام التركيز الامثل للـ PAO

حدث ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في وزن الكبد و تضخمه في مجموعة السيطرة الموجبة مقارنة بالسيطرة السالبة (الجدول 6). ويوضح الجدول نفسه حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في وزن الكبد في الفئران المفعلة مقارنةً بالسيطرة الموجبة، واظهرت المجموعة الموجبة ارتفاعا معنويا ($P < 0.005$) في تضخم الطحال مقارنة بالسيطرة السالبة، وتضخما معنويا ($P < 0.01$) في المجموعة المفعلة مقارنة بالسيطرة الموجبة.

يوضح الجدول (7) حدوث انخفاضا معنويا عاليا ($P < 0.001$) في وزن الكبد في الفئران المفعلة مقارنة بالسيطرة الموجبة. وارتفع الوزن في السيطرة الموجبة ارتفاعا معنويا عاليا ($P < 0.001$) مقارنة بالسيطرة السالبة. وفقا لذلك حدث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في تضخم الكبد في الفئران المفعلة مقارنة بالسيطرة الموجبة. وارتفع ايضا في السيطرة الموجبة ارتفاعا معنويا ($P < 0.05$) مقارنة بالسيطرة السالبة. بالنسبة لأوزان الطحال، فلم يحدث اي اختلاف في الفئران المفعلة مقارنة بالسيطرة الموجبة، في حين ارتفع تضخم الطحال في السيطرة الموجبة ارتفاعا معنويا ($P < 0.05$) مقارنة بالسيطرة السالبة.

الجدول (6): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة بالتركيز الامثل، وبجرعة واحدة قبل 72 ساعة من الخمج لمدة شهرين

التركيز (مكغم)		الكبد		الطحال	
PAO	Spm	معدل الوزن(غم)	معدل التضخم	معدل الوزن(غم)	معدل التضخم
800	200	0.08±*1.27	6.32±63.80	0.01±0.080	0.42±**4.00
C^-		0.08±*1.28	0.74±*60.96	0.01±0.080	0.37±***3.81
C^+		0.11±1.44	7.97± 70.44	0.03±0.101	0.48±4.87

الجدول (7): التغيرات الحاصلة في الفئران المفعلة بالتركيز الامثل، وبجرعتين (كل 72ساعة) قبل ستة ايام من الخمج لمدة ثلاثة اشهر

التركيز (مكغم)		الكبد		الطحال	
PAO	Spm	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم
800	200	1.37****± 0.07	60.8* ±4.08	0.103 ±0.02	4.57 ±0.35
C^-		1.30****±0.08	60.10*±8.49	0.085 ±0.01	3.93*±0.34
C^+		1.61 ±0.08	72.90±8.68	0.101 ±0.02	4.52 ±0.43

المناقشة

لوحظ في الدراسة الحالية ظهور قمتين متميزتين لإنزيم PAO بعد تنقيته من الـ CSF للأطفال الأصحاء وهو نفس ما لاحظته الباحثة Al-Katib (18) باستخدام التبادل ألايوني ايضا. ان ظهور قمتين متميزتين تمتلك كل منها فعالية عالية نسبيا، لإنزيم PAO، وتؤكد هذه الدراسة وجود هذا الأنزيم بشكل متماثلات، هذا مابينه الباحثون Cervelli وجماعته (24) حيث تم تشخيص متماثلات لإنزيم PAO مميزة في الهيئات التركيبية والمواقع الخلوية، كما تم تشخيص الجينات الوراثية لهذه المتماثلات (25). ان الوظائف المهمة المعينة التي تلعبها مركبات الـ PA في النسيج المعين يعتمد لحد ما على نمط الايض لهذه المركبات (26)، حيث ان إنزيم PAO يعمل على التنظيم الدقيق لتركيز الـ PA وفي الوقت نفسه يعمل على التحكم بتركيز ونوع نواتج الأكسدة لهذه المركبات اعتمادا على الآلية الخاصة به، الأمر الذي يفسر أهمية تواجد PAO بمتماثلات مختلفة (27).

ان عملية تكوين الأكياس العدرية الثانوية تعتمد على حيوية الرؤيسات الأولية وقوة الجهاز المناعي للمضيف، وان الاختزال الواضح في أعداد الأكياس العدرية الثانوية مع انخفاض أوزانها وأقطارها في الفئران المفعلة يشير الى عدم قدرة او ضعف قابلية الرؤيسات الأولية على التغلب على الجهاز المناعي في الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO مقارنة مع فئران السيطرة المخمجة غير المفعلة. وقد تعود قلة نمو الأكياس العدرية في الفئران المفعلة بنظام Spm -PAO، الى زيادة تنشيط البلاعم (بوصفها خطا دفاعيا مهما) بوساطة هذا النظام(28)، والذي يزيد من قدرتها على مهاجمة الطفيل والقضاء عليه من خلال الالتصاق بالرؤيسات الأولية وتحطيمها بطريقة مشابهة لتحطيم الخلايا السرطانية بفعل الانزيمات المحللة (29). ويمكن تفسير هذه النتائج الى التأثير السمي لنواتج PAO، التي قد تكون H_2O_2، NH_3 ، اكرولين او غيرها (اعتمادا على طبيعة الآلية التحفيزية له) والتي قد تسهم في قتل الطفيليات (30-33)، او قد يكون التأثير السمي هذا عائدا لجذور الهيدروكسيل الفعالة، وهو العامل الاكثر تحطيما لخلايا طفيلي الملاريا داخل الجسم الحي (34-35). ان نتائج دراستنا باستخدام نظام Spm -PAO

كمعدل مناعي ضد الاصابة الثانوية بداء الاكياس العدرية في الفئران البيض جاءت موافقة لبحوث سابقة (11-13) التي استخدمت معدلات مناعية مختلفة ضد هذا الداء.

قد يعزى الانخفاض الحاصل في أوزان الكبد والطحال في مجاميع الفئران المفعلة بنظام Spm–PAO مقارنة بمجاميع السيطرة الموجبة الى اختزال الخمج في هذه الأعضاء نتيجة قلة أعداد الطفيليات مع قلة الورم الحبيبي فيها وهذا مماثل لما وجد في البحوث السابقة (11-13).

اظهرت مجموعة السيطرة الموجبة زيادة في اوزان كل من الكبد والطحال مقارنة بالسيطرة السالبة، ويمكن ان يعزى هذا الى كثرة وجود الاورام الحبيبية والبؤر النخرية التي تغير من طبيعة هذه الانسجة، فضلا عن كثرة أعداد الطفيليات في هذه الاعضاء مما يؤدي الى فشل المضيف في مقاومة الطفيل والسيطرة عليه (36). جاءت النتائج متفقة مع ما وجده Du and Ali-Khan (37)، اذ اشارا الى تضخم الطحال عند خمج الفئران بالمشوكات متعددة الحجرات *Echinococcus multilocularis* . ومن الجدير بالذكر ان Morgan واخرون (38) اشاروا الى ان سبب تضخم الطحال هو الزيادة السريعة في فعالية PAO في طحال الفئران المحقونة وريديا ببكتيريا *Corynebacterium parvum* . اما التقارب في معدلات الاوزان بين المجموعة المفعلة والسيطرة الموجبة، بعد شهرين وثلاثة اشهر من الخمج فيمكن ان يعود السبب الى حدوث حالة التحمل المناعي وأحداث حالة التوازن مابين الطفيلي والمضيف (39) او حصول حالة اتزان مناعي. وهذا مماثل لما وجدته الباحثتان (10،13) عند استخدامهما معدلات مناعية مختلفة.

يتضح من دراستنا الحالية ان المتماثل الثاني لانزيم PAO المستخلص من CSF مع الـ Spm يمكن ان ينشط المقاومة في الفئران البيض ضد الإصابة بداء الأكياس العدرية الثانوي، وبحصولنا على الانزيم من مصادر حياتية اخرى اكثر سهولة واكثر اقتصادية يمكن ان تدرس إمكانية استخدامه كمساعد للأدوية المستخدمة في علاج داء الأكياس العدرية.

REFERENCES

1) Wallace H.M., Fraser A.V. and Hughes A., Biochem. J., 2003, 376, 1-14.

2) Binda C., Coda A., Angelini R., Federico R., Ascenzi P. and Mattevi A., Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr, 1998, 54(2), 1429-1431.

3) Seiler N., Bardocz S. and White A.(eds.)., Klumer, Dordrecht, 1999, 65-76.

4) Bachrach U., Ann. Acad. Sci., NY., 1970, 939-969.

5) Schenkel E., Dubois J.G., Helson–Cambier M. and Hanocq M., Cell Biol. Toxicol., 1996, 12(1):1-9.

6) Tabor C.W. and Rosenthal S.M, J. Pharmacol. Exp. Ther, 1956, 116:139-155.

7) Jumaa H.I., Al-Kennany E.R. and Al-Hayali F.Q., Iraqi J. Vet. Sci., 2001, 14(1):39-56.

8) Eckert J. and Deplazes P., Clin. Microbiol. Rev., 2004, 17(1):107-135.

9) Blanton R.E., Options in Infect. Dis., 2001, 3:327-332.

10) Al-Taei A.F.M., Ph.D. Thesis, College of Science, Al-Mustansiriya University, 1996. (In Arabic).

11) Ali A.A. and Yasseen S.S., Coll. Veter. Sci., Univ. Mosul, Mosul, 2006, pp. 211-228.

12) Ali A.A. and Abdulla I.T., Riv. Parassitol., XXI (LXV), 2004, 1:3–10.

13) Tohala W.I.A., Ph.D. Thesis, College of Education, University of Mosul (2006). (In Arabic)

14) Lowrey O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J., J. Biol. Chem., 1951, 193: 265-275.

15) Scharcterle G.R. and Pollack R.L., Anal. Biochem., 1973, 51:654-655.

16) Flayeh K.A., Clin. Chem., 1988, 34: 401-403.

17) Dahel K.A.D., M.Sc. Thesis, University of Mosul (1995). (In Arabic).

18) AL-Katib S.M.Y., Ph.D. Thesis, Coll. Edu. Univ. Mosul (2000) (Arabic).

19) Clark J.M. and Switzer R.L., 2nd ed., W.H. Freeman and Company San Francisco, 1976.

20) Smyth J.D., Proc. 13th ed., Int. Cong. Hydit, Madrid, 1985, pp.84-95.

21) Smyth J.D. and Barett N.G., Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg, 1980, 74:649-652.

22) Wangoo A., Ganguly N.K. and Mahajan R.C., Indian. J. Med. Res., 1989, 89:40-42.

23) Bruning J.L. and Kintz B.L., 2nd ed., Scott Foresman Company, Gleriew, 1977.

24) Cervelli M., Cona A., Angelini R., Pdticelli F., Federico R. and Mariottini P., Eur. J. Biochem., 2001, 268(13):3816-3830.

25) Murray-Stewart T., Wang Y., Devereux W. and Casero Jr. R.A., Biochem. J., 2002, 368:673-677.

26) Sessa A. and Perin A., Clin. Exp. Res., 1997, 21(2):318-325.

27) Mondovi B., Mondovi B. ed., CRC Press, 1985, Boca Raton. FL.

28) Morgan D.M.L., In Polyamines in Biomedical Research, (Gaugas J.M., ed.), 1980, 285-302. Wiley, Chichester and New York.

29) Baron R.W. and Tanner C.E., Int. J. Parasitol., 1977, 6:195-196.

30) Sufrin J.R., Meshnick S.R., Spiess A.J., Garofalo-Hannan J., Pan X.Q. and Bacchi C.J. AAC., 1995, 39(11):2511-2515.

31) Muller S., Coombs G.H., and Walter R.D., TRENDS in Parasitology, 2001, 17(5)242.

32) Reis I.A., Martinez M.P., Yarlett N., Johnson P.J., Silva-Filho F.C. and Vannier-Santos M.A., AAC., 1999, 43(8):1919-1923.

33) Chaturvedi R., Cheng Y., Asim M., Bussiere F.I., Xu H., Gobert A.P., Hacker A., Casero Jr. R.A., Wilson K.T., J. Biol. Chem., 2004, 279(38):40161-40173.

34) Clark I.A., Cowden W.B. and Butcher G.A., Lancet, 1983, 1983, 1:234.

35) Clark I.A. and Hunt N.H., Infect. Immun., 1983, 39:1-6.

36) Gottstein B. and Hemphill A., Chem. Immunol., 1997, 66:177-208.

37) Du T. and Ali-Khan Z., J. Exp. Pathol., 1990, 71:313-335.

38) Morgan D.M.L., Ferluga J. and Allison A.C., In: Polyamines in Biomedical Research, (Gaugas, J.M., ed.), 1980, 303-308, Wiley, Chichester and New York.

39) De Rycke P.H., Janssen D., Osuna A. and Lazuren G., Parasitologia, 1991, 33:55-60.