تأثير الأشعة تحت الحمراء في الاستجابة المناعية الطبيعية في الفئران البيض المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة للمشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus*

سهيلة يعقوب يوسف حنان صديق سعدون
قسم علوم الحياة / كلية التربية
جامعة الموصل

الاستلام ٢٣ / ١١ / ٢٠١١ القبول ٢٠ / ١٢ / ٢٠١١

Abstract

The present study investigated the effect of infrared irradiation in the immune response of BALB/c mice against infection with secondary hydatid disease. By exposing protoscoleces of *Echinococcus granulosus* to infrared radiation at the periods 1, 2, 3, and 5 minutes, 20 cm from the light source, at wave length of 700-750 nm. Irradiated protoscoleces were injected in mice intraperitoneally. Many criteria were taken into consideration, 3, 15, and 30 days post injection, including WBCs total and differential count, innate immunity represented by phagocytosis, in comparison with the control group (mice infected with non irradiated protoscoleces).

The study revealed a significant increase ($P \leq 0.001$) in the WBCs total count in mice injected with irradiated protoscoleces, in comparison with the control group. Regarding to the WBCs differential count, a significant increase ($P \leq 0.05$) in the lymphocytes 3 days post injection was noticed, followed by increase 15 days post injection, which was persisted significantly ($P \leq 0.05$) 30 days post injection.

A significant increase ($P \leq 0.05$) in neutrophils and monocytes was noticed in treated mice at all irradiation periods. A significant increase ($P \leq 0.001$) in the mean of phagocytosis in treated mice was reported, at all irradiation periods. It will be concluded that irradiation may be used as an immunostimulator against injection with secondary hydatid disease in mice.

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية تأثير الأشعة تحت الحمراء في الإستجابة المناعية للفئران البيض BALB/c ضد الإصابة بداء الأكياس العدرية الثانوية لطفيل *Echinococcus granulosus*. في هذه الدراسة، وذلك بتعريض الرؤيسات الأولية للمشوكات الحبيبية للأشعة تحت الحمراء لفترات زمنية (1، ٢، ٣ و ٥) دقائق وعلى بعد 20 سم من مصدر الأشعة وبطول موجي 750- 700 نانومتر وكانت المسافة والجرعة الاشعاعية ثابتتين لكل الفترات الزمنية للتشعيع . حقنت الرؤيسات الأولية المشععة عبر البريتون في الفئران البيض . أخذت عدة معايير بنظر الاعتبار، بعد ٣، ١٥ و ٣٠ يوماً من الحقن، تضمنت التعداد الكلي والتعداد التفاضلي لكريات الدم البيض والإستجابة المناعية الطبيعية المتمثلة بمعامل البلعمة ، بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية غير للمشععة).

أظهرت الدراسة الحالية زيادة معنوية $P\leq0.001$ في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالمقارنة مع فئران السيطرة . اما التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض ، فقد لوحظ إنخفاضاً في الخلايا اللمفاوية في اليوم الثالث بعد الحقن، ثم ازداد العدد بعد 15 يوماً واستمرت الزيادة المعنوية $P\leq0.05$ بعد 30 يوماً من الحقن. لوحظ ارتفاع معنوي $P\leq0.05$ في إعداد الخلايا العدلة والخلايا الوحيدة في الفئران المعاملة عند الفترات الزمنية للتشعيع كافة، وارتفاع معنوي $P\leq0.001$ في معدلات معامل البلعمة في الفئران المعاملة عند فترات التشعيع كافة.

تبين من الدراسة الحالية إمكانية استخدام الأشعة تحت الحمراء بوصفها محفزاً مناعياً ضد الإصابة بداء الاكياس العدرية الثانوي في الفئران البيض.

المقدمة:

يمثل داء الأكياس العدرية Hydatid disease مشكلة طبية واقتصادية عامة وخاصة في المناطق الموبوءة من العالم، ويتسبب المرض بوساطة المراحل اليرقية لطفيل *Echinococcus granulosus*. ويمكن ان يحدث الخمج في الانسان وفي انسجة الكثير من انواع اللبائن من آكلات الأعشاب، وتتواجد بالدرجة الرئيسية في الكبد والرئتين [2,1]. تكمن خطورة المرض في تهديده لحياة الانسان ، اذ لايظهر اعراضاً سريرية في المراحل المبكرة من الخمج لحين تقدم المرض وا حداث ضغط على الانسجة والاعضاء المجاورة [4,3] قد يرافقه الم وانتفاخ البطن واليرقان Jandice [5]، كما ان تمزق الاكياس وتسرب محتوياته الى داخل الأوعية الدموية يؤدي الى تفاعلات فرط الحساسية الحادة Acute anaphylactic reactions قد تنتهي بالموت المفاجيء ، يضاف الى ذلك الخسائر ا لناجمة عن اصابة المضائف

الوسطية[6]. يؤدي حقن الرؤيسات الأولية عبر التجويف الخلبي للفئران الى ارتشاح الخلايا الوحيدة Monocytes، الحمضات Eosiphnophils، البلاعم الكبيرة Microphages، العدلات Neutrophils والخلايا الصارية Mast cells في منطقة الحقن مؤدياً الى تكوين اورام حبيبية، وهذه الاخيرة ناتجة في الم راحل المتأخرة من الخمج بداء الأكياس العدرية وتتكون من تجمع البلاعم الكبيرة والخلايا المولدة للألياف العضلية والخلايا اللمفاوية من نوع T [7].

تعمل مستضدات الطفيلي المفرزة خلال مراحل مختلفة من تطور الشريطية البعدية على تحفيز تفاعلات التهابية خلوية والتي قد تسبب تغيرات مرضية ترافقها زيادة في خلايا الدم البيض وخاصة الخلايا الحمضة والخلايا اللمفية والبلاعم الكبيرة [8]. اشار Zhang[8] , *et. al* الى ان المناعة ضد داء الاكياس العدرية تقسم الى مناعة ضد مرحلة قبل التكيس Preencystment ومناعة ضد مرحلة ما بعد التكيس Postencystement والتي تتميز بتكوين الطبقة الصفائحية حول الكيس وهذا يحدث خلال فترة ٢ و4 اسابيع بعد الخمج في المضائف الوسطية او الاشخاص نتيجة تناوله ا البيوض المعدية [8]. يؤدي الخمج بداء الاكياس العدرية ال ى حدوث فرط التنسج في الاقنية البابية الكبدية [9]، فضلا عن حدوث زيادة في خلايا الدم البيض [10]. وقد عرف منذ مدة طويلة ان التشعيع يضعف من شدة اصابة المثقبات بمستوى لا يؤدي الى قتلها او توقف حركتها [11]، ومنذ ذلك الحين قام بعض الباحثين بحقن القوارض بطفيليات مضعفة بهدف استحداث مناعة مؤثرة ضد الكائنات غير المضعفة والتي تمتلك حيوية عالية ومن هذه الدراسات تلك التي اجريت من قبل Al-Mahmood[12] عن تاثير الاشعة تحت الحمراء في امراضية طفيلي *Cryptosporidium parvum* المعزول من براز العجول من خلال حقن الطفيلي المشعع في الفئران ودراسة امراضية الطفيلي المشعع وغير المشعع في الفئران المثبطة مناعيا والفئران السوية ودراسة التغييرات المرضية الناجمة عن الاصابة ومقارنة النوعين من الاصابة ومن ثم دراسة المناعة في تحوير مسار الاصابة وشدتها.

ومن هنا جاء الهدف من الدراسة الحالية المتمثل بدراسة تأثير الأشعة تحت الحمراء ضد داء الأكياس العدري الثانوي في الفئران البيض السويسرية سلالة BALB/c، إذ وجد وبعد الاطلاع على ما نشر من البحوث العلمية انه لم يسبق استخدامها كمحاولة لتحديد تأثيره بوصفها محفزاً او منشطاً لمناعة المضيف ضد هذا المرض.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على الاكياس العدرية Hydatid cysts من اكباد الاغنام المذبوحة من قبل الجزارين في مدينة الموصل ونقلت مباشرة إلى مختبرات البحوث في قسم علوم الحياة / كلية التربية في حاويات مبردة تحتوي على الثلج ، وتم التاكد من خصوبتها من خلال التحري عن وجود الرؤيسات الاولية بداخلها . جمعت الرؤيسات الاولية حسب طريقة Smyth[13] ، اذ تم

تعقيم سطح الاكياس العدر ية بالكحول الاثيلي ٧٠%، ثم سحب سائل الاكياس بوساطة محقنة طبية معقمة سعة 10 مل ذات ابرة قياس 21G اجريت عملية الجمع تحت ظروف معقمة ثم فتحت الاكياس وفرغت من السائل وغسلت بدارئ الفوسفات الملحي المعقم phosphate buffer saline PBS ذي الرقم الهيدروجيني 7.2 .

جمعت الرؤيسات الاولية في انابيب اختبار معقمة ونبذت بالمنبذة Hettich Centrifuge EBA3S وغسل الراسب ثلاث مرات بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق لكل مرة، تم اضافة المضادات الحيوية قبل البدء بالغسلة الثانية (البنسلين) وبواقع 2000 وحدة دولية/لتر والستربتومايسين وبو اقع 1غم/لتر الى محلول الغسل، وبعد إتمام عملية النبذ سكب الجزء الطافي اضيف قليل من دارئ الفوسفات الملحي المعقم الى الراسب وأجريت عملية حساب الرؤيسات الاولية. قدرت حيوية الرؤيسات الاولية وفق طريقة Smyth and Barett[14] وذلك بمزج 20 مايكرولتر بإستخدام ماصة دقيقة Micropipet من المعلق مع حجم مماثل من صبغة الايوسين المائي بتركيز 0.1%، ثم رج المزيج جيداً واخذت قطرة من المزيج وفحصت تحت المجهر الضوئي الاعتيادي ، وتم حساب نسبة الرؤيسات الاولية الحية التي تظهر بلون اخضر براق الى الرؤيسات الاولية الميت ة التي اصطبغت باللون الاحمر تم احتساب عدد الرؤيسات الأولية المطلوب حقنها بواقع ٢٠٠٠ رؤيساً أولياً لكل فأرة من فئران التجارب وبجرعة واحدة عبر التجويف الخلبي[15].

تم تشعيع النماذج باستخدام جهاز التشعيع نوع Vavonner وهو ايطالي المنشأ (الشكل ١)، الموجود في كلية العلوم / قسم الفيزياء والمكون من جز ئين أساسيين، الجزء الأول مسؤول عن إنتاج الأشعة تحت الحمراء وهو عبارة عن مصباح كهربائي 220V/20A.

جهاز متحسس الامتصاصية Absorption detector

يستخدم هذا الجزء في تحسس مقدار امتصاصية العينة للأشعة، حيث يتم في ا لبداية وضع عبوات فارغة لمعرفة مقدار امتصاصية هذه العبوات ويرمز لهذه الامتصاصية (Io)، ثم يتم بعدها وضع العبوات الحاوية على العينة المراد تعريضها للأشعة تحت الحمراء ويرمز لهذه الامتصاصية (I)، والفرق بين هذين

شكل (١): جهاز متحسس الامتصاصية نوع Vavonerzo

اما الجزء الثاني فيعرف باسم جهاز قياس إمتصاصية العينة للاشعة تحت الحمراء ، وهو عبارة عن جهاز اخر مكمل للاول يعمل على قياس مقدار امتصاص الاشعة تحت الحمراء وهو

موصول بجهاز يعطي دالة رقمية هي عبارة عن مقدار الامتصاص للعينة . يبلغ الطول الموجي للاشعة تحت الحمراء لهذا الجهاز بين 750–700 نانوميتر ووضعت العينة على بعد 20cm من المصدر المولد للاشعة . تم تشغيل الجهاز لمدد زمنية مختلفة ١،٢،٣،٥ دقائق ثم اخذت ثلاث مكررات لكل فترة زمنية. استخدمت ذكور الفئران بعمر 4 اسابيع وبوزن 20 غرام لكل فأرة. حقن 12 فأرا ذكراً بالرؤيسات الاولية المشعع ة وبالمدد الزمنية ١،٢،٣،٥ دقائق وكانت الجرع الاشعاعية والمسافة ثابتتين . حقنت ثلاث مكررات من ذكور الفئران ايضاً بالرؤيسات الاولية الحية وغير المشععة وبالطريقة ذاتها كمجموعة سيطرة . تم اخذ عينات من الدم من الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة وغير المشععة بعد ٣، ١٥ و ٣٠ يوماً من الحقن، اذ خدرت الفئران بإستخدام Diethyl ether ثم سحب الدم من زاوية العين بإنبوبة شعرية [16].

تم جمع جزء من الدم في انابيب شعرية حاو يةٍ على مانع تخثر EDTA سعة 5ml لحساب التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض و معامل البلعمة باستخدام الصبغة (Nitro Blue Tetrazolium(NBT)). تم حساب معامل البلعمة وفق المعادلة الآتية [17]:

$$\text{معامل البلعمة} = \frac{\text{عدد البلاعم المختزلة NBT}}{\text{عدد البلاعم الكلي}} \times ١٠٠$$

التحليل الإحصائي

استخدم في التحليل الاحصائي اختبار دنكن العشوا ئي Duncan Random Test لتحليل نتائج تجارب التعداد الكلي والتف اضلي لكريات الدم البيض ومعامل البلعمة في معرفة وجود فروق معنوية بين الحيوانات المشععة بالاشعة تحت الحمر اء وحيوانات السيطرة غير المشععة، كما استخدم تحليل التباين (ANOVA) في نتائج التعداد الكلي لكريات الدم البيض ومعامل البلعمة [18].

النتائج:

يتضح من جدول التباين ANOVA (1-a) وجود فروقات معنوية عند $p \leq 0.001$ في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد ٣ ايام من التشعيع بالاشعة تحت الحمراء.

جدول (1-a): تحليل ANOVA لمعدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد ٣ أيام من التشعيع والحقن بالأشعة تحت الحمراء

Sig.	F	Mean Squares	df	Sum of squares	

p≤0.001	11.234	1126185.733	4	450472.933	Between groups
		1002438.000	10	1002438.000	Within groups
			14	5507180.933	Total

ويوضح جدول تحليل التباين (1-b) وجود فروقات معنوية عند مستوى p≤0.001 في معدلات معامل البلعمة بعد ٣ ايام من الحقن بالرؤيسات الاولية المشععة بالاشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (1-b): تحليل ANOVA لمعدلات معامل البلعمة بعد ٣ أيام من التشعيع والحقن بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة

Sig.	F	Mean Squares	df	Sum of squares	
p≤0.001	27.522	281.057	4	1124.229	Between groups
		10.212	10	102.120	Within groups
			14	1226.349	Total

يتضح من الجدول (1-c) التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد ٣ أيام من التشعيع والحقن مقارنة بفئران السيطرة، اذ سجلت الفئران المشععة ارتفاعاً في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في جميع مدد التشعيع ١، ٢، ٣ و٥ دقائق مقارنة بمجموعة السيطرة، بلغ اقصاه ٥٠٦٠ في الفترة الزمنية ٥ دقائق عند مستوى معنوية p≤0.001. يتضح من الجدول نفسه حدوث انخفاض معنوي عند مستوى p≤0.05 في معدلات الخلايا اللمفاوية في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بلغ اقصاه 63.0% عند الفترة ٥ دقائق مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 74.6%. يوضح الجدول حدوث إرتفاع معنوي عند مستوى P≤0.05 لكل من الخلايا الوحيدة النواة والخلايا العدلة مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ سجلت الخلايا الوحيدة النواة اعلى قيمة عند الفترة 5 دقائق بلغت ١٠%، بينما سجلت مجموعة السيطرة 4.6%، وسجلت الخلايا العدلة عند الفترة ٥ دقائق اعلى قيمة بلغت 27% في حين سجلت مجموعة السيطرة ٢٠%.

ويلاحظ من الجدول نفسه التغيرات الحاصلة في معدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة، اذ حصل ارتفاع معنوي عند مستوى p≤0.001 بلغت قيمته القصوى عند الفترة ٥ دقائق 83.7%، بينما سجلت مجموعة السيطرة 59.1%.

جدول (1-c) : التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد ٣ أيام من التشعيع والحقن مقارنة بفئران السيطرة

الفترة	التعداد الكلي لكريات الدم البيض**	التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض (%)*			معامل البلعمة(%)**
		Lymphocyte	Monocyte	Neutrophils	
السيطر	$3527^{a}\pm561.53$	$74.6^{a}\pm5.29$	$4.6^{c}\pm1.72$	$20.8^{c}\pm2.51$	59.1^{a} ±3.8
1 min	$3740^{ab}\pm294.6$	$76.0^{a}\pm5.29$	$3.4^{gh}\pm2.02$	$20.6^{e}\pm4.50$	62.1^{ab} ±1.30
2 min	$4270^{bc}\pm153.9$	$68.0^{b}\pm1.52$	$5.9^{g}\pm1.1$	$26.1^{d}\pm1.00$	64.1^{ab} ±3.10
3 min	$4506^{cd}\pm110.6$	$64.4^{cd}\pm4.04$	$9.0^{fg}\pm3.60$	$26.6^{d}\pm1.52$	67.7^{ab} ±4.724
5 min	$5060^{c}\pm251.31$	$63.0^{d}\pm2.00$	$10.0^{c}\pm2.08$	$27.0^{d}\pm3.70$	83.7^{b} ±1.68

* مستوى المعنوية $p\leq0.05$ ، ** مستوى المعنوية $p\leq0.001$

يوضح جدول التباين ANOVA (2-a) وجود فروقات معنوية عند مستوى $p\leq0.001$ في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد ١٥ يوماً من التشعيع بالأشعة تحت الحمراء.

جدول (2-a): تحليل ANOVA لمعدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد ١٥ يوماً من التشعيع بالأشعة تحت الحمراء

Sig.	F	Mean Squares	df	Sum of squares	
$p\leq0.001$	14.708	1559000.00	4	6236000.00	Between groups
		106000.00	10	1060000.00	Within groups
			14	7296000.00	Total

ويوضح جدول تحليل التباين (2–b) وجود فروقات معنوية عند مستوى $p\leq0.001$ في معدلات معامل البلعمة بعد ١٥ يوماً من الحقن بالرؤيسات الاولية المشععة بالاشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (2-b): تحليل ANOVA لمعدلات معامل البلعمة بعد ١٥ يوماً من التشعيع والحقن بالرؤيسات الاولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة

Sig.	F	Mean Squares	df	Sum of squares	
$p\leq0.001$	48.520	640.849	4	2563.397	Between groups
		13.208	10	132.080	Within groups
			14	2695.477	Total

يتضح من الجدول (2–c) التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد 15 يوم من التشعيع والحقن مقارنة بفئران السيطرة، اذ سجلت الفئران المشععة ارتفاعاً في التعداد الكلي لكريات ا لدم البيض بلغ اقصاه 6433 في الفترة الزمنية ٥

دقائق عند مستوى معنوية $p\leq0.001$ تلتها المدد الزمنية ١، ٢، ٣ دقيقة، على التوالي، مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت ٤٦٠٠. لوحظ ارتفاع في معدلات الخلايا اللمفاوية في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة مقارنة بمجموعة السيطرة عند مستوى معنوية $p\leq0.05$ بلغ اقصاه 73.3% عند الفترة 3 دقائق، في حين سجلت الفترة ٥ دقائق 65.6% مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 69.1%. حصل تذبذب في معنوية الخلايا وحيدة النواة وحسب المدد الزمنية مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ لوحظ حدوث ارتفاع في الفترة ٥ دقائق بلغ 11.3% مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 10.3%، بينما حدث انخفاض في بقية المدد الزمنية . أما الخلايا العدلة فقد ارتفعت ارتفاعاً معنوياً عند مستوى $p\leq0.05$ بلغ اقصاه 24.0% عند الفترة 2 دقيقة مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 20.6%. ويوضح الجدول نفسه التغيرات الحاصلة في معدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ لوحظ حدوث ارتفاع معنوي عند $p\leq0.001$ بلغ اقصاه 84.7% عند الفترة ٥ دقائق، في حين سجلت مجموعة السيطرة 51.4%.

جدول (2-c) : التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد ١٥ يوماً من التشعيع مقارنة بفئران السيطرة

الفترة	التعداد الكلي لكريات الدم البيض**	التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض(%)*			معامل البلعمة(%)**
		Lymphocyte	Monocyte	Neutrophils	
السيطرة	$4600^{a}\pm400$	$69.1^{ab}\pm5.29$	$10.3^{d}\pm2.51$	$20.6^{c}\pm4.04$	$51.4^{a}\pm6.58$
1 min	$4933^{ab}\pm152.7$	$71.0^{b}\pm7.93$	$6.2^{de}\pm1.00$	$22.8^{c}\pm6.65$	$64.6^{b}\pm1.53$
2 min	$5433^{bc}\pm404.14$	$69.6^{ab}\pm8.38$	$6.4^{d}\pm4.35$	$24.0^{c}\pm4.35$	$81.8^{c}\pm3.10$
3 min	$5800^{c}\pm200$	$73.3^{b}\pm2.88$	$6.7^{de}\pm3.60$	$20.0^{c}\pm4.3$	$83.1^{d}\pm3.06$
5 min	$6433^{d}\pm378.5$	$65.6^{b}\pm2.08$	$11.3^{c}\pm1.52$	$23.1^{c}\pm1.00$	$84.7^{e}\pm1.20$

* مستوى المعنوية $p\leq0.05$ ، ** مستوى المعنوية $p\leq0.001$

يوضح جدول التباين ANOVA (3-a) وجود فروقات معنوية عند مستوى $p\leq0.001$ في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد 30 يوماً من التشعيع بالأشعة تحت الحمراء.

جدول (3-a): تحليل ANOVA لمعدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المحقونة بعد 30 يوماً من الحقن والتشعيع بالأشعة تحت الحمراء

	Sum of squares	df	Mean Squares	F	Sig.

p≤0.001	16.978	944993.333	4	3779973.333	Between groups
		55660.00	10	556600.00	Within groups
			14	4336573.333	Total

ويظهر جدول تحليل التباين (3−b) وجود فروقات معنوية عند مستوى p≤0.001 في معدلات معامل البلعمة بع د 30 يوماً من الحقن بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (3-b): تحليل ANOVA لمعدلات معامل البلعمة بعد 30 يوماً من الحقن بالرؤيسات الاولية المشععة بالاشعة تحت الحمراء مقارنة بمجموعة السيطرة

Sig.	F	Mean Squares	df	Sum of squares	
p≤0.001	20.580	261.442	4	1045.769	Between groups
		12.704	10	127.040	Within groups
			14	1172.809	Total

يبين الجدول (3−c) التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤي سات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد 30 يوماً من التشعيع والحقن مقارنة بفئران السيطرة، اذ سجلت هذه الفئران ارتفاعاً في التعداد الكلي لكريات الدم البيض بلغ اقصاه ٥٣٠٠ في الفترة الزمنية ٥ دقائق عند مستوى معنوية p≤0.001 تلتها المدد الزمنية ١، ٢، ٣ دقيقة، على التوالي، مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت ٣٨٠٠. لوحظ ارتفاع في معدلات الخلايا اللمفاوية في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة مقارنة بمجموعة السيطرة عند مستوى معنوية p≤0.05 بلغ اقصاه 71.5% عند الفترة ١ دقيقة مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 63.6%.

يوضح الجدول نفسه ارتفاع معنوي في الخلايا وحيدة النواة وحسب المدد الزمنية مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ لوحظ حدوث ارتفاع في الفترة ٥ دقائق بلغ 13% في حين سجلت مجموعة السيطرة 12.4%، بينما انخفضت القيم لبقية المدد الزمنية بصورة معنوية . أما الخلايا العدلة فقد انخفضت اعدادها معنوياً عند مستوى p≤0.05 بلغ ادناه 21.0% عند الفترة 5 دقائق مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت ٢٤%. ويبين الجدول نفسه التغيرات الحاصلة في معدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ لوحظ حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى p≤0.001 بلغ اقصاه 80.5% عند الفترة ٥ دقائق مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 57.1%.

جدول (3-c): التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض ومعدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المشععة بالأشعة تحت الحمراء بعد 30 يوماً من التشعيع مقارنة بفئران السيطرة

الفترة	التعداد الكلي لكريات الدم البيض**	التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض(%)*			معامل البلعمة(%)**
		Lymphocyte	Monocyte	Neutrophils	
السيطرة	$3800^{a}\pm200$	$63.6^{b}\pm2.64$	$12.4^{e}\pm2.08$	$24.0^{cd}\pm2.51$	57.1^{a} ±6. 21
1 min	$4306^{a}\pm272.2$	$71.5^{a}\pm7.023$	$6.5^{f}\pm1.527$	$22.0^{b}\pm8.02$	73.6^{b} ±3.4
2 min	$4633^{bc}\pm351.1$	$67.7^{ab}\pm2.08$	$12.0^{e}\pm2.0$	$20.3^{d}\pm1.527$	76.9^{d} ±3.51
3 min	$4816^{c}\pm175.5$	$64.0^{b}\pm3.05$	$12.0^{e}\pm2.08$	$24.0^{cd}\pm0.57$	77.9^{cd} ±0.43
5 min	$5300^{d}\pm100$	$65.0^{b}\pm2.08$	$13.0^{g}\pm2.88$	$22.0^{d}\pm1.000$	80.5^{c} ±0.85

* مستوى المعنوية $p\leq0.05$ ، ** مستوى المعنوية $p\leq0.001$

المناقشة

عند دراسة التعداد الكلي لكريات الدم البيض ، اظهرت النتائج الحالية حصول ارتفاع واضح وبدرجات معنوية مختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة ، وقد يعزى هذا الارتفاع في التعداد الكلي لكريا ت الدم البيض في الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة بالاشعة تحت الحمراء، ولمدد زمنية مختلفة من التشعيع ١،٢،٣،٥ دقائق. اثبت Noorizadeh *et. al,*[19]، الى ان التشعيع له القدرة على تنشيط الخلايا البلعمية وعلى توالد الخلايا اللمفاوية وبـالتالي تحفيز افراز الانترلوكينات وهذا مايوضح الزيادة الحاصلة في التعداد الكلي لكريات الدم البيض ، وهذا يتفق مع ما أوضحه Danno *et. al,* [20] أن تاثير التشعيع بالاشعة تحت الحمراء يحفز من الاسراع من عملية التئام الجروح خارج الجسم وذلك من خلا ل إستحثاث سايتوكين TGF-**b**1 (Transforming Growth Factor-**b**1) والمفرزة من الخلايا الكيراتينية المزروعة Culture Keratinocytes والخلايا الاندوثيلية ، وحفز هذا السايتوكين بشكل أفضل بواسطة التشعيع بالأشعة تحت الحمراء، وقد تم انتاجه من مختلف الخلايا في عملية التئام الجروح.

وفي الدراسة الحالية لوحظ أن افضل ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم البيض كان بعد 15 يوماً من التشعيع الحقن، وهذا ينطبق مع ما توصلت اليه الدباغ [11] عند دراستها لتأثير التشعيع بأشعة كاما على طفيل *G. lamblia* في الجرذ النرويجي، اذ أظهر ت الإصابة بالجيارديا المشععة لأشعة كاما لمدة ساعتين ارتفاعاً معنوياً عند مستوى $p\leq0.05$ في عدد كريات الدم البيض بالمقارنة مع نظيراتها الأخرى بعد ٧٢ ساعة من التشعيع. أما فئران السيطرة في هذه الدراسة، فقد أظهرت انخفاضاً في التعداد الكلي لكريات الدم البيض بالمق‌ارنة مع الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة ، وقد يعزى ذلك الى هجرة كريات الدم البيض من الدم المحيطي الى اماكن تواجد الطفيلي، ومما يؤكد ذلك تكوين الاورام الحبيبية حول الرؤيسات

الاولية المحقونة للسيطرة على نمو وتطور الاكياس العدرية ، وان مستضدات سائل الكيس العدري المحفز خارج الجسم الحي مع الخلايا اللمفاوية لأشخاص مخمجين بداء الاكياس العدرية حفزها على التوالد بعد مرور فترة طويلة على الازالة الجراحية للاكياس العدرية [6].

عند دراسة التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض اظهرت النتائج الحالي ة حصول انخفاض معنوي في معدل اعداد الخلايا اللمفاوية بعد ثلاثة ايام من التشعيع والحقن في الفئران بالرؤيسات الاولية مقارنة مع مجموعة السيطرة . من ناحية اخرى ، ارتفعت الخلايا اللمفاوية بعد 15 يوماً من التشعيع والحقن واستمر هذا الارتفاع الى نهاية شهر بعد الحقن للفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة وهذا ينطبق مع ما توصلت اليه الدباغ [11] عند دراستها تأثير التشعيع باشعة كاما على درجة اصابة طفيل الجيارديا لامبليا *Giardia lamblia* في الجرذ النرويجي، اذ حدث انخفاض في الخلايا اللمفاوية بعد اليوم الاول من التشعيع والحقن واستمر حتى نهاية الشهر . ويمكن ان يفسر انخفاض الخلايا اللمفاوية في الدراسة الحالية بعد ثلاثة ايام من التشعيع والحقن بهجرة هذه الخلايا او انتقالها الى موقع الاصابة، اذ تستقر في الطبقة الطلائية للجوف الجسمي لتكون مجهزة مناعيا لمنع دخول أي مستضد من الطفيل الى داخل الطبقة الطلائية او تكون جاهزة للتمايز الى خلايا اخرى تساهم في افراز الكلوبيولينات المناعية . كما لوحظ انخفاض اعداد الخلايا اللمفاوية في فئران السيطرة المحقونة بالرؤيسات الاولية غير المشععة بالمقارنة مع الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة ، وهذا يتفق مع ما لاحظه علي وآخرون [7] في الفئران المصابة بداء الأكياس العدرية ، اذ لوحظ انخفاضاً معنوياً في اعداد الخلايا اللمفاوية في مجموعة السيطرة الموجبة.

في هذه الدراسة، ولوحظ ارتفاعاً معنوياً في الخلايا وحيدة النواة والعدلات بعد ٣ ايام من الحقن استمر الى نهاية الشهر، وهذا يتفق مع ما توصلت اليه الدباغ [11] في حدوث زيادة واضحة في معدل اعداد الخلايا العدلة ووحيدة النواة بعد يوم من تشعيع الطفيل جيارديا لامبليا *G. lamblia* بأشعة كاما واستمر هذا الارتفاع الى نهاية الشهر.

وفي دراسة قام بها Noorizadeh *et. al,*[19] على تأثير الإشعاع باشعة كاما على انتاج الانترلوكين IL-5 بواسطة الخلايا اللفاوية للدم المحيطي للانسان، لاحظ الباحثون ان الطحال في الفئران المعالجة بالخلايا اللمفاوية المشععة با شعة كاما افرز IL-5 بنفس المستوى الطبيعي للخلايا الطحالية الطبيعية وبنسبة أفضل . كما ان التأثيرات الموجبة لاستجابة الخلايا المساعدة من نوع TH2 للاختلالات المناعية الذاتية وخاصة في الأنواع الخاصة بالأعضاء، والمعروفة جيداً، وأن التأثير النوعي لأشعة كاما على خلا يا TH2 له تأثيرات مهمة ومفيدة في معالجة الامراض المناعية الذاتية [21]. كما اثبت Noorizadeh *et. al,*[19] ان تكرار معاملة الفئران بالخلايا اللمفاوية المشععة بأشعة كاما أنتجت IL-5 كسايتوكين خاص بخلايا TH2

والتي لها دوراً مهماً في تحفيز وتوالد وتمايز خلايا B cell والخلايا الحمضة، وهو عامل هام في الدفاع ضد الأمراض الطفيلية، لذا فان التشعيع ذو تأثير مفيد على الاستجابة المناعية المضادة للطفيليات [21].

اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول إرتفاع واضح وبدرجات معن وية مختلفة في معدلات معامل البلعمة في الفئران المحقونة بالرؤيسات الاولية المشععة بالاشعة تحت الحمراء بعد ٣، ١٥، ٣٠ يوماً من التشعيع والحقن بلغ اقصاها عند الفترة 5 دقيقة والتي بلغت 83.7%، 84.7%، 80.5%، على التوالي . لوحظ ان اعلى قيمة لفاعلية البلاعم في الفئر ان كانت بعد 15 يوماً من التشعيع والحقن ثم بدأت تنخفض تدريجيا الى نهاية الشهر ، وهذا ينطبق مع ما توصلت اليه الدباغ [11] عند استخدامها التشعيع بأشعة كاما ضد الجيارديا لامبليا في تحفيز التشعيع للاستجابة المناعية الطبيعية، اذ لوحظ ارتفاعاً واض حاً في معامل البلعمة في الجيارديا المشععة بأشعة كاما لمدة 24 ساعة أعلى من نتائج معامل البلعمة للتشعيع لمدة ساعتين ومجموعة السيطرة الموجبة للجيارديا غير المشععة.

توصل[22] Pohlea *et. al,* في دراسته تأثير التشعيع الأيوني على الطور اليرقي للدودة الشريطية *Echinococcus multilocularis* أن التشعيع الأيوني ذو تأثير على المظهر الخارجي والتركيب الدقيق لليرقات البعدية metacestodes للدودة، اذ عرضت البعديات المتكاثرة خارج الجسم لجرعة 50–100 GY من الاشعاع، ولوحظت التأثيرات باستخدام المجهر الالكتروني الناقل Transmission Electron Microscope، اذ حدثت تغيرات تركيبية داخل الخلايا الجرثومية غير المتمايزة مؤثرة في اختلال عمليات الأيض . تضمنت هذه التغيرات تحوصل السايتوبلازم، تشوهات في شكل المايتوكوندريا للخلايا الجرثومية لليرقات البعدية، وكذلك تجمع وتراكم قطيرات ا لدهن وفقدان الاتصال بين الخلايا، مما يجعل الطبقة الجرثومية رخوة ، وهذه تمثلت في الجهد الأيضي Metabolic Stress وفقدان الحيوية. أما عند استخدام المجهر الالكتروني الماسحScanning Electron Microscope، فقد ظهرت تغيرات في سطح الطبقة الجرثومية، بعد التشعيع، بشكل لط خ او بقع مع بؤر مميزة من الخلايا التالفة بدرجة كبيرة عند مقارنتها مع الانسجة السليمة للطبقة الجرثومية . توقع الباحثون ان المعاملة بالاشعاع لليرقة البعدية سوف تؤثر بصورة رئيسية على الخلايا الجذعية او الخلايا حديثة التكوين Neoblasts [23].

المصادر

1) Pezeshki, A.; Kia, E. B.; Gholizadaeh and Koohare, A., Iran during 2001-2004, Pak. J. Med. Sci, 23(1): 138-140 (2007).

2) Paredes, R.; Jimene, V.; Cabera, G.; Iraguen and Galanfi, N. J. Cell Biochem., 100 (5): 1200-1209 (2007).

3) Thompson, R. C. A. and Lymbery, A. J., CAB Int. J. Univ. California, USA, pp. 1-2 (2007).

4) Naguleswaran, A.; Spicher, M.; Vonlaufen, N.; Ortega-Mora. L. M.; Torgerson, P.; Gottstein, B. and Hemphill, A. Antimicrob. Agen. Chemot. 50 (11): 3770-3778 (2006).

5) Ezer, A.; Nursal, T. Z.; Noyan, T. and Moray, G. Wld. J. Gatroenterol., 28 (16) 2388-2389 (2007).

6) Ali, I. F. M. Sc. Thesis, Coll. Edu., Univ. Mosul (2008).

٧) علي، اسماء عبد العزيز و علي ، إبراهيم فارس، مجلة التربية والعلم، جامعة الموصل ٢٣ (٢): ١٢-٢٣ (٢٠١٠).

8) Zhang W., Lij. and McManus, D. P.: Clin. Microbiol. Rev., 16 (1) 18-36 (2003).

9) Hashemitabar, G. R.; Ramzi, G. R. and Naghibi, A., Iranian Biomed. J., 10 (1): 51-55 (2006).

10) Fahim and Al-Salama, S. M., Turk. J. Gastroentrol., 18 (1): 22-27 (2007).

١١) الدباغ، فلك عبد الحافظ خطاب رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل (٢٠٠١).

12) Al-Mahmood, S.S., M. Sc. Thesis, Coll. Vet., Univ. Mosul (2006).

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

14) Smyth, J. D. and Barrett, N. J. Trans. Roy. Trop. Med. Hyg., 74: 649-652 (1980).

15) Wangoo, A.; Ganguly, N. K. and Mahajan, R. C. Ind. J. Med. Res., 86: 582-590 (1987).

16) Waynforth, H. B. Experimental and Surgical Techniques in the Rat. Academic Press Inc., (London) LTD, NWI, p. 29 (1980).

17) Park, P. H.; Filkring, S. M. and Smith, W. E. M. Lancet, 2: 532-534 (1968).

18) Bruning, J. L. and Kintz, L. Computational Handbook of Statistics, 2nd. ed. Scottforesman Company, Gleriew (1977).

19) Noorizadeh, M.; Hadjati, J.; Khabiri, A.; Vodjgani, M. and Shariat, H., Iranian Biomedical J., 8 (4): 211-214 (2004).

20) Danno, K.; Mori N.; Toda, K. and Kobayshi, T.; Utani, A., Photodermatol Photoimmunol. Photomed., 17: 261-265 (2001).

21) Martin, C.; Al-Qaoud, K. M.; Ungeheuer, M. N.; Paeahle, K.; Vuong, P. N.; Bain, O.; Fleischer, B. and Hoerauf, A. Med. Microbiol. Immunol., (Berl) 189:67-74 (2000).

22) Pohlea, S.; Ernest, R.; Mackenzieb, C.; Spicherd, M.; Romigc, T.; Hemphilld, A. and Grippa, S. Elsevier Inc. (2010).

23) Brehm, K. Parasitology, 137, pp. 537-555 (2010).