فعالية إنزيم أدينوسين دي أمينيز Adenosine deaminase في المصل، وغدة التوثة ونخاع العظم للفئران البيض المصابة بالرؤيسات الأولية للمشوكات الحبيبية المعرضة لتيار كهربائي مستمر

أسماء عبد العزيز علي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ١ / ٩ / 2008 ، تاريخ القبول: ١٣ / ١ / ٢٠٠٩)

الملخص

تناولت الدراسة الحالية ، وللمرة الأولى، قياس الفعالية النوعية لإنزيم أدينوسين دي أمينيز Adenosine deaminase (ADA) في المصل serum، وغدة التوثة Thymus ونخاع العظم bone marrow في الفئران السويسرية BALB/c المصابة بالرؤيسات الأولية لدودة المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* المعرضة لتيار كهربائي مستمر $2v = 5.77mA/cm^2$، $3v = 11.82\ mA/cm^2$، ولمدة دقيقتين لكل منهما، بالمقارنة مع فئران السيطرة (الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية غير المعرضة لتيار كهربائي مستمر).

أظهرت النتائج، بعد ثلاثة أشهر من إجراء التجربة ، أن الفعالية النوعية لإنزيم (ADA) في الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة لتيار كهربائي كانت أعلى، وبفروق معنوية ($P<0.01$)، في كل من المصل ،والتوثة و نخاع العظم، منها في مجاميع السيطرة. كما أن التيار الكهربائي ذي الفولتية 2 فولت كان أشد تأثيرا من التيار الكهربائي ذي الفولتية 3 فولت.

إن انخفاض الفعالية النوعية لأنزيم ADA في فئران السيطرة خلال فترة الإصابة يمكن أن يكون مرتبطا بحالة التثبيط المناعي خلال فترة تطور المرض. كما توضح الزيادة في الفعالية النوعية للإنزيم في الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة للتيار الكهربائي التأثير التحفيزي المناعي للتيار الكهربائي المستمر.

الكلمات الدالة:المشوكات الحبيبية، الرؤيسات الأولية ،إنزيم أدينوسين دي أمينيز

ألمقدمة

يمثل داء الأكياس العدرية Hydatid disease مشكلة طبية واقتصادية عامة وخاصة في المناطق الموبوءة من العالم .يتسبب المرض بواسطة المراحل اليرقية لطفيل *Echinococcus granulosus* ويمكن أن تحدث الإصابة في الإنسان وفي أنسجة الكثير من أنواع اللبائن من آكلات الأعشاب وتتواجد الأكياس العدرية بالدرجة الرئيسة في الكبد والرئتين[٢،١].تكمن خطورة المرض في تهديده لحياة الإنسان ، إذ لا يظهر أعراضا سريرية في المراحل المبكرة من الإصابة لحين تقدم المرض وإحداث ضغط على الأنسجة والأعضاء المجاورة[3]، كما أن تمزق الأكياس وتسرب محتوياتها إلى داخل الأوعية الدموية يؤدي إلى تفاعلات فرط الحساسية الحادة Acute hypersensitivity reactions قد تنتهي بالموت المفاجئ[4]. أثبتت الدراسات أن التيار الكهربائي المباشر ذي الفولتية الواطئة (أقل من ١٠ فولت) قاتل للبكتريا[٥ ،٦]، وللطفيليات خارج الجسم [٧ –٩] وداخل الجسم [٧،١٠–١١]. وقد استخدم Sharquie *et al.* [10] التيار الكهربائي بشدة كهربائية مختلفة ضد اللشمانيا الجلدية dermal leishmaniasis خارج وداخل الجسم ، كما تم التحري عن التأثير القاتل للتيارات الكهربائية ذات الشدة المختلفة ضد *Leishmania major* خارج وداخل الجسم[7]، كما توصل باحثون آخرون إلى قتل وتدمير الرؤيسات الأولية بشكل كامل بواسطة وسيلة كهربائية electrolysis device [٦–٨].

ترتبط الوظيفة الأساسية لإنزيم أدينوسين دي أمينيز Adenosine deaminase(ADA) في تطور الجهاز المناعي وبالتحديد تطور الخلايا اللمفاوية التائية T [12] وأنه يترافق مع تمايز الخلايا الوحيدة [13] والخلايا الظهارية[14]. يعمل هذا الإنزيم على تحول الأدينوسين adenosine والأدينوسين منقوص الأوكسجين deoxyadenosine إلى الإينوسين inosine والإينوسين منقوص الأوكسجين deoxyinosine وعلى هذا النحو فهو يخلص الخلايا اللمفاوية من الفعل السمي لهذه المواد[15] .إن حصول طفرة في الجين الذي يعبر عن هذا الإنزيم يؤدي إلى الإصابة بالعوز المناعي الشديد والذي ينتج عنه إزالة شبكة كاملة من الخلايا اللمفاوية التائية وانخفاض متغاير في الخلايا اللمفاوية البائيةB [16].

يتواجد هذا الإنزيم في جميع الأنسجة في اللبائن[15]، وعلى الرغم من حصول النقص في ADA في جميع خلايا الجسم إلا أن التأثير المباشر والأساسي يكون على فعالية الجهاز المناعي[17]. تكون فعالية ADA عالية في الطحال والاثني عشري ،بينما تكون قليلة في الدم والدماغ والعضلات والبنكرياس في الجرذان وخنازير غينيا والفئران[18] ،ووجدت أعلى فعالية للإنزيم في توثة الإنسان[19] وفي الطحال [20] بينما ظهرت أعلى فعالية له في الفئران في الأمعاء الدقيقة [21].

يتوزع إنزيم ADA ضمن الجهاز المناعي في التوثة والطحال والعقدة اللمفاوية بشكل غير منتظم وتتواجد الخلايا الحاوية على هذا الإنزيم في اللب الأحمر في الطحال وفي المنطقة اللبية للعقدة اللمفاوية وفي منطقة القشرة في التوثة وفي خطوط الخلايا المكونة للدم[15]،ولوحظت أعلى فعالية للإنزيم في الخلايا التوثية ،وتكون الخلايا اللمفاوية التائية في الأنسجة المحيطية أعلى فعالية للإنزيم من الخلايا اللمفاوية البائية [22].

لوحظ أن زيادة فعالية هذا الإنزيم في الأعضاء اللمفاوية يمكن أن تحفز الحالة المناعية من خلال عمله المتمثل باختزال مستويات الأدينوسين والحث على نمو وتكاثر الخلايا التائية ، كما وجد أن نقصه يثبط هذه العملية[23] .

لأن هناك علاقة بين فعالية أنزيم ADA والاستجابة المناعية الخلوية، كما أن للتيار الكهربائي دور أيضا في الاستجابة المناعية للفئران من خلال الحد من الإصابة بداء الأكياس العدرية الثانوي[24]،وليس هناك معلومات حول فعالية أنزيم ADA في المصل، والتوثة ونخاع العظم للفئران المصابة بالرؤيسات الأولية لدودة المشوكات الحبيبية والمعرضة لتيار كهربائي مستمر فقد هدفت الدراسة الحالية، وللمرة الأولى، إلى تحديد فعالية أنزيم ADA في المصل والأعضاء اللمفاوية في الفئران المعرضة للتيار الكهربائي بالمقارنة مع مجاميع السيطرة.

المواد وطرائق العمل

الطفيل

جمعت أكباد الأغنام المصابة بالأكياس المائية لدودة المشوكات الحبيبية من المجزرة في مدينة الموصل ونقلت مباشرة إلى المختبر ، فتحت الأكياس تحت الظروف المعقمة. قدرت حيوية الرؤيسات الأولية Protoscolices (Psc)بمزج ٢٠ مايكروليتر من معلق الرؤيسات الأولية مع حجم مماثل له من صبغة الإيوسين المائي ٠,١%، رج المزيج جيدا، أخذت قطرة من المزيج وفحصت تحت المجهر الضوئي الاعتيادي. حسبت نسبة الرؤيسات الأولية الحية التي ظهرت بلون أخضر براق ومتحركة إلى الرؤيسات الأولية الميتة التي اصطبغت باللون الأحمر كمعدل لثلاثة مكررات [25].تم حساب عدد الرؤيسات الأولية المطلوب حقنها عبر التجويف الخلبي وهو ٢٠٠٠ رؤيس أولي لكل فأر من فئران التجارب وفق طريقة Wangoo et al. [٢٦].

الخلية الكهربائية

صممت الخلية الكهربائية بزوايا رباعية ذات أبعاد ٢ سم طولا، ٠,٢٦ سم سمكا و٧ سم ارتفاعا. نصب الكترودان من الكربون بطول ٢ سم موازيان لبعضهما باتجاهات متعاكسة ، بلغت المسافة بين الإلكترودين ١,٢٧ سم كمسافة مثلى [8].

المجاميع

استخدمت مجموعتان من محاليل التحليل الكهربائي (دارئ الفوسفات الملحي phosphate buffer saline ذو دالة اس هيدروجيني ٧,٢) يحوي كل منهما حوالي ٢٠٠٠ رؤيس أولي حي Psc /ملليلتر.عرضت المجموعة الأولى A للتيار الكهربائي 2v = ٥,٧٧ ملي أمبير/سم^2 لمدة دقيقتين ، بينما عرضت المجموعة الثانية B للتيار الكهربائي 3v = ١١,٨٢ ملي أمبير / سم^2 لمدة دقيقتين أيضا، أما مجموعة السيطرة فتتكون من مجموعة واحدة وهي عبارة عن محلول دارئ الفوسفات الملحي pH) (7.2 الذي يحوي حوالي ٢٠٠٠ رؤيس أولي فقط غير معرضة للتيار الكهربائي (جدول ١).

جدول(١) برنامج حقن المجاميع الثلاثة من الفئران

Day	Group A	Group B	Control
٠	2000 PSC 5.77mA/cm^2 for 2min.	2000 PSC 11.82 mA/cm^2 for 2min.	None
٢٠	2000 PSC	2000 PSC	2000 PSC
٩٠	Dissection		

مبدأ الطريقة

ملئت خلية التحليل الكهربائي بمحلول دارئ الفوسفات الملحي (pH 7.2) الحاوي على رؤيسات أولية حية حديثة . بعد تثبيت الفولتية وشدة التيار الكهربائي الملائمين ، مرر التيار الكهربائي ، بعد نهاية التعريض تم إيقاف التيار الكهربائي . حقنت الرؤيسات الأولية المعاملة بالتيار الكهربائي عبر التجويف الخلبي للفئران البيض BALB/c بعمر ثلاثة أسابيع ،وبواقع ثلاثة فئران لكل مجموعة من مجاميع التجارب، بعد عشرين يوما حقنت جميع المجاميع بحوالي ٢٠٠٠ رؤيس أولي حي كجرعة تحدي . شرحت مجاميع الفئران جميعها بعد ثلاثة أشهر من إحداث الإصابة .

قياس فعالية إنزيم أدينوسين دي أمينيز

قيست فعالية إنزيم ADA في المصل ومجانس خلايا التوثة ومجانس خلايا نخاع (نقي) العظم استنادا إلى طريقة Giusti[27].

تحضير المصل

خدرت الفئران باستخدام الإيثر ،سحب الدم من العين باستخدام أنبوبة شعرية وفق طريقة Waynforth [28] ،جمع الدم في أنابيب مدرجة سعة ١٠ سم^3 ،رسب الدم في جهاز منبذة بسرعة ٣٠٠٠ دورة/دقيقة .فصل المصل لقياس فعالية إنزيم ADA.

تحضير مجانس خلايا التوثة وخلايا نخاع العظم

حقنت حيوانات هذا الاختبار قبل قتلها بـ 0.25 سم^3 من محلول الكولجسين داخل غشاء الخلب (الصفاق) بعد ساعتين قتلت الحيوانات ثم شرحت وذلك بعمل شق طولي في الجلد ومن الجهة البطنية لكشف عضلات البطن ، ثم عمل شق طولي أيضا في عضلات البطن ابتداء من الجزء السفلي لمنطقة البطن ولغاية المنطقة الصدرية ، فصلت التوثة وذلك بقطع ارتباطها بالأغشية الرابطة ووضعت في طبق بتري نظيف يحتوي على دارئ الفوسفات الملحي وبدرجة حرارة ٤°م ، ثم استؤصل عظم الفخذ من خلال قطع ارتباطه بمفصلي الركبة والحوض وأزيلت العضلات المحيطة به .

تحضير عالق أحادي الخلية لخلايا التوثة

-ثبتت التوثة من أحد طرفيها بواسطة الملقط وحقنت بـ ٥سم^3 من دارئ الفوسفات الملحي المحضر بواسطة محقنة طبية .

-أعيدت العملية عدة مرات حتى أصبح لون التوثة شاحبا دلالة على خلوها من الخلايا .

-نقل المحلول الحاوي على الخلايا إلى أنبوبة اختبار نظيفة وسحب عدة مرات بواسطة المحقنة لتحطيم ترابط الخلايا مع بعضها .

-نبذت الخلايا بسرعة ٢٠٠٠ دورة/ دقيقة ولمدة ٥ دقائق ، وبعد التخلص من الرائق أضيف إلى الراسب ٥سم^3 من دارئ الفوسفات الملحي لإعادة غسل الخلايا مرة ثانية[29].

تحضير عالق أحادي الخلايا لخلايا نخاع العظم

-بعد استئصال عظم الفخذ قطع رأسي العظم من الطرفين وحقن بدارئ الفوسفات الملحي من أحد الأطراف وجمع المحلول الحاوي على الخلايا من الطرف الآخر للعظم .

-تم تفكيك الخلاياعن بعضها من خلال سحب المحلول عدة مرات بواسطة المحقنة وإعادته .

-نبذت الخلايا بسرعة ٢٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ٥ دقائق وبعد التخلص من الرائق أضيف ٥ سم^3 من دارئ الفوسفات الملحي على الراسب لإعادة عملية الغسل مرة ثانية[29] .

-تم مجانسة الخلايا لكل من التوثة ونخاع العظم باستخدام المجانس اليدوي ، ثم أضيف إلى المجانس ٠,٥ سم^3 من دارئ الفوسفات الملحي بدرجة ٤°م .

-جمدت النماذج وأعيدت عملية إذابتها لثلاث مرات متتالية لضمان تحطم الخلايا وتحرر الإنزيم .

-نبذت النماذج بسرعة ٢٠٠٠ دورة/ دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة واستخدم الرائق لقياس فعالية الإنزيم[30] .

قياس فعالية إنزيم ADA

استخدمت ثلاث أنابيب اختبار وهي Reagent blank, Adenosine blank, Standard واستخدم اثنان من الأنابيب لكل نموذج من النماذج المقاسة وهي:Sample, Sample blank. أضيفت المحاليل إلى الأنابيب الخمسة وكما موضح في الجدول (٢) [27].

مزجت محتويات كل أنبوبة بواسطة المازج ووضعت في حمام مائي بدرجة ٣٧ °م لمدة ٦٠ دقيقة. أضيف إلى كل أنبوب ٣سم^3 من محلول الفينول – نايتروبساید و٣ سم^3 من محلول الهايبوكلورايت القلوي. مزجت محتويات الأنابيب بعد كل إضافة . وضعت الأنابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧ °م ولمدة ٣٠ دقيقة. قرأت الامتصاصية للنماذج بجهاز المطياف Spectrophotometer وعلى طول موجي ٦٢٨ نانوميتر .

جدول (٢) مبدأ طريقة قياس فعالية إنزيم ADA

Reagents / Tubes	Reagent blank (ml)	Standard (ml)	Adenosine blank (ml)	Sample blank (ml)	Sample (ml)
Phosphate buffer	1.0			1.0	
Buffer adenosine solution			1.0		1.0
Ammonium sulphate standard		1.0			
sample				0.05	0.05
Deionized distilled water	0.05	0.05	0.05		

حسبت الفعالية الحجمية Volume activity للإنزيم حسب المعادلة التالية :

$$\text{Volume activity} = \frac{A - B}{C} \times 50(U/l)\ ;\ 37\ C^{o}$$

Where:
A=Sample- Sample blank
B=Adenosine blank-Reagent blank
C=Standard-Reagent blank

وحسبت الفعالية النوعية Specific activity للإنزيم بعد قياس تركيز البروتين الكلي Total protein للنماذج حسب المعادلة التالية:

$$\text{Specific Activity} = \frac{\text{Volume Activity}}{\text{Total protein}} \text{ Unit/mg protein}$$

قياس تركيز البروتين الكلي

اعتمدت طريقة Lowery *et al.* [31] لقياس تركيز البروتين الكلي للنماذج وبالاعتماد على حساب المنحنى المعياري بعد أن قيست الامتصاصية لألبومين المصل البقري وفق الطريقة المعتمدة على طول موجي ٦٠٠ نانوميتر وللتراكيز (٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠، ١٢٥، ١٥٠، ١٧٥، ٢٠٠) مايكروغرام/سم^3.

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائيا باستخدام نظام الحقيبة الإحصائية Statistial Package for Social Science (SPSS). واستخدم اختبار t-student's test لإيجاد الفروق المعنوية بين الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المعرضة للتيار الكهربائي و فئران السيطرة.

النتائج

يوضح الجدول(٣)الفعالية النوعية لإنزيم ADA في مصل الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية المعرضة لتيار كهربائي مستمر ذي الفولتية ٢ فولت(المجموعة A)و٣ فولت (المجموعة B)، بالمقارنة مع فئران السيطرة غير المعرضة (المجموعة C). ويلاحظ من الجدول زيادة فعالية الإنزيم وبفروقات معنوية عالية ($P<0.01$) في كلا المجموعتين A و B(3.4377±0.07944) وحدة/ملغم بروتين (1.9486±0.0584) وحدة/ملغم بروتين بالمقارنة مع فئران السيطرة (0.70116± 0.3509) وحدة/ملغم بروتين .

جدول (٣) فعالية إنزيم ADA في مصل الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة لتيار كهربائي مقارنة بفئران السيطرة.

Serum	Total activity (U/ml) (Mean±SE)	Total protein (mg/ml^3) (Mean±SE)	Specific activity(U/mg) (Mean±SE)
A	٤٩٣,٧٠٨٣ ± ٢.١٦١	143.625± 1.608	3.4377± 0.07944**
B	181.25± 1.4986	93± 1.12618	1.9486± 0.0584**
C	81.25± 1.3792	115.875± 0.9288	0.70116 ± 0.3509

** ألفروق معنوية عند ($P<0.01$) .

كما يلاحظ من الجدول (٤) زيادة الفعالية النوعية لإنزيم ADA في توثة فئران المجموعة A (88.4354±0.5549)وحدة/ملغم بروتين ،وبفروقات معنوية عالية ($P<0.01$)، بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C(22.9748± ٠,٤٨٨٧) وحدة/ملغم بروتين، كما أظهرت فئران المجموعة B انخفاضا في فعالية الإنزيم (٧,٣١٥٩٦± 0.0506) وحدة/ملغم بروتين وبمعنوية ($P<0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

أما الجدول (٥) فيبين زيادة الفعالية النوعية لأنزيم ADA في نخاع العظم لفئران المجموعة A (127.3032±0.3742)وحدة/ملغم بروتين وبمعنوية عالية ($P<0.01$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (9.5238±0.0831)وحدة/ملغم بروتين.كما كانت الفعالية النوعية للإنزيم في المجموعة B أقل منها في المجموعة C.

جدول (٤) فعالية إنزيم ADA في توثة الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة لتيار كهربائي مقارنة بفئران السيطرة.

Thymus	Total activity (U/ml) (Mean±SE)	Total protein (mg/ml^3) (Mean±SE)	Specific activity(U/mg) (Mean±SE)
A	108.333± 0.8696	1.225± 0.0682	88.4354± 0.5549**
B	11.1111± 0.254	1.5187± 0.04244	7.31596± 0.0506*
C	80.5555± 0.4138	3.5062± 0.06084	22.9748± 0.4887

* الفروق معنوية عند ($P<0.05$).

**الفروق معنوية عند ($P<0.01$).

جدول (٥) فعالية إنزيم ADA في نخاع العظم للفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة لتيار كهربائي مقارنة بفئران السيطرة.

Bone marrow	Total activity (U/ml) (Mean±SE)	Total protein (mg/ml^3) (Mean±SE)	Specific activity(U/mg) (Mean±SE)
A	316.6666± 0.776	2.4875± 0.1125	127.3032± 0.3742**
B	1.3888± 0.1075	2.8375± 0.1097	0.4894± 0.02
C	25.0± 0.5343	2.625± 0.0968	9.5238± 0.0831

**الفروق معنوية عند ($P<0.01$).

المناقشة

يقوم إنزيم ADA بدور مهم في توالد ونضج الخلايا اللمفاوية ، ويعد إنزيما مناعيا مؤشرا لتقدير المناعة الخلوية في الأمراض التي تتصف بتكاثر ونضج الخلايا اللمفاوية [32] .وقد تبين بوضوح أن مستويات إنزيم ADA تعكس فعالية ونشاط الخلايا اللمفاوية المحفزة ، كما وترتفع مستوياته أينما حفزت المناعة الخلوية ،كما ترتفع فعاليته في المرض الذي يتصف بتوالد وتنشيط الخلايا اللمفاوية [33].

تبين من نتائج الدراسة زيادة أو ارتفاع فعالية إنزيم ADA النوعية معنويا في المصل ، التوثة ونخاع العظم في الفئران المحقونة بالرؤيسات الأولية لدودة المشوكات الحبيبية المعرضة لتيار كهربائي مستمر ذي فولتية مختلفة ، بالمقارنة مع فئران السيطرة المحقونة برؤيسات أولية غير معرضة لتيار كهربائي .إن انخفاض الفعالية النوعية لإنزيم ADA في مجاميع السيطرة الموجبة يمكن أن يكون مؤشرا لحالة التثبيط المناعي المرتبطة بتطور الأكياس العدرية ، وهذه النتيجة مماثلة لنتاج دراسات أخرى عن داء المنشقات schistosomiasis في الإنسان، fascioliasis في الأغنام [34] ، داء اللشمانيا الجلدي cutaneous leishmaniasis [35] ،داء اللشمانيا الأحشائي (كالأزار) visceral leishmaniasis [36]، ، كما سجل Potapova *et al.* [37] نقصانا في فعالية إنزيم ADA عند ظهور أعراض سرطان الكبد.

إن نقصان الفعالية النوعية لأنزيم ADA يمكن أن يسبب حالة التثبيط المناعي وذلك لأن ADA له دور حاسم في التطور الطبيعي للجهاز المناعي [38].إن حالة التثبيط المناعي هذه يمكن أن تكون العامل الذي يساعد على تطور الأكياس العدرية في مجاميع السيطرة،بالإضافة لذلك فإن اختزال أو نقصان فعالية ADA النوعية تتزامن مع اختزال التوالد الخلوي في خلايا الجهاز المناعي والتي تتمثل في خلايا نخاع العظم [39] .وهذه النتائج تؤكد أن إنزيم ADA له فعالية مختزلة مرتبطة بتطور مرحلة الإصابة بالرؤيسات الأولية لدودة المشوكات الحبيبية ،وهذا الاختزال في الفعالية يرتبط بحالة التثبيط المناعي المرتبطة بتطور المرض [40].

وقد لاحظ Khambu *et al.* [36] زيادة الفعالية النوعية لإنزيم ADA في بداية مرض داء اللشمانيا الأحشائي ، ثم نقصانها بعد مرحلة متقدمة من المرض ، وكذلك الحال في متلازمة النقص الناعي الحاد severe combined immunodeficiency syndrome (SCID) [41] .وقد اقترح الباحثون أن إنزيم ADA في المصل يعكس فعالية خلايا البلاعم الكبيرة /الوحيدة أو العكس في أمراض مختلفة [٤٢-٤٤] .

أما في مجاميع الفئران المعرضة للتيار الكهربائي ذي الفولتية المختلفة ، فتعزى الزيادة المعنوية الحاصلة في الفعالية النوعية لإنزيم ADA ، الذي يرتبط ارتباطا وثيقا بالمناعة الخلوية ،إلى تأثير التيار الكهربائي الذي يلعب دورا مهما أيضا في الحالة المناعية للمضيف.

هناك دليل على أن الفولتية الواطئة للتيار الكهربائي المباشر (أقل من ١٠ فولت) تكون قاتلة للبكتريا والطفيليات خارج الجسم [٦-١٠] وداخل الجسم [٧،١٠-١١].

إن حقن الرؤيسات الأولية المضعفة بالتيار الكهربائي ذي الفولتية الواطئة يمكن أن يختزل عدد الأكياس العدرية في الفئران السويسرية BALB/c إذ بلغت نسبة الاختزال في دراسة سابقة (95.69%) عند التيار الكهربائي 2v و (93.47%) عند التيار الكهربائي 3v [24] ، وربما يسبب التيار الكهربائي تلفا في الرؤيسات الأولية الذي يؤدي إلى تغير في صفاتها متضمنا مستضداتها الفعالة. وربما يحطم التيار الكهربائي المباشر النقل الأيوني لغشاء الطفيل ، مما ينتج عنه تحطيم الأغشية وفقدان حيوية الطفيل . وفي الحقيقة فان الأغشية البايولوجية تنقل مجاميع الآيونات والجزيئات القطبية التي تستطيع أن تحفظ الشحنات الكهربائية المستقرة وسلامة غشاء الخلية[45-٤٦] . وربما تسبب التيارات الكهربائية الخارجية سحب المكونات الحية من سايتوبلازم الخلية وهكذا تثبط الفعالية الفسلجية للخلايا الطبيعية [45] .

أن التغيرات المرضية الكهربائية ربما ليس لها تأثيرا قاتلا مباشرا لآفات معينة مثل اللشمانيا الجلدية [٤٥،٤٧] ، ولكن تعزز سعة الشفاء لأنسجة المضيف و/أو قدرته على تثبيط تضاعف وانتشار الطفيليات [48].والتحفيز الكهربائي ،مثلا، ربما يحث هجرة الخلايا الطلائية [49] ،يجذب العدلات والبلاعم الكبيرة ، ويحفز توالد الخلايا المولدة للألياف [50] ويزيد من بناء الـDNA [51] .وهكذا فان التيار الكهربائي له دور كبير في المناعة الخلوية وبدوره يؤثر في الفعالية النوعية لإنزيم ADA الذي يعد مؤشرا فعالا للمناعة الخلوية [52].

تكون فعالية إنزيم ADA أعلى في خلايا T من خلايا B وتختلف خلال تمايز الخلايا اللمفاوية في الأمراض المختلفة عندما تتحفز المناعة الخلوية [43] .وهذا ما يفسر زيادة الفعالية النوعية للإنزيم في التوثة في الفئران المعرضة للتيار الكهربائي . من جهة أخرى ، فإن الفعالية النوعية المتزايدة لإنزيم ADA في التوثة يمكن أن يكون انعكاسا لتمايز الخلايا اللمفية الفتية إلى خلايا Th_1 بشكل خاص [35] ،ويعد الأنزيم مؤشرا غير نوعي

لتنشيط خلايا T [13] .إن الخلايا اللمفاوية أو النظام الخلوي monocyte-macrophage يعد مسؤولا عن ا لتغيرات في فعالية إنزيم ADA . كما أن زيادة الفعالية النوعية لإنزيم ADA في المصل في الفئران المعرضة للتيار الكهربائي يمكن أن تعكس الفعالية البلعمية للبلاعم الكبيرة،إذ أن هذا الإنزيم يعد ضروريا لنضج ووظيفة خلايا الدم أحادية النواة وكذلك البلاعم الكبيرة للإنسان [٤٣،١٩]. وربما تزودنا هذه الزيادة بمعلومات تشخيصية إضافية لإمراضية داء الأكياس العدرية إضافة إلى المعايير الأخرى المستخدمة. مع هذا فإن ميكانيكيات تغير فعالية ADA في المصل غير واضحة [٥٣،٤٣] . كما أن زيادة مستوى الفعالية النوعية لإنزيم ADA في المصل والتوثة في الفئران المعرضة للتيار الكهربائي ربما تحفز أو تحث عملية البلعمة في الخلايا البلعمية الكبيرة بواسطة IFN-gamma و IL-2 والتي تبنى بواسطة خلايا Th_1 [35] .

أما في نخاع العظم فإن انخفاض فعالية إنزيم ADA في نخاع العظم في مجاميع السيطرة يؤدي إلى تراكم الأدينوسين adenosine والأدينوسين منقوص الأوكسجين 2-deoxyadenosine وهي المواد الأساس لهذا الإنزيم التي تؤثر على نمو وحيوية الخلايا اللمفاوية والتي يرافقها انخفاض عدد الخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي، كما لوحظ أن الأشخاص الذين يعانون من نقص إنزيم ADA يعانون من انخفاض واضح في عدد الخلايا اللمفاوية T و B والخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells في الدم المحيطي [54] . ووجد أن الأشخاص الذين يعانون من نقص ADA يحصل فيهم اختزال في حجم التوثة وفي بعض الأحيان اختفاؤها [55] . وهذه النتيجة تماثل ما تم التوصل إليه في دراسة أخرى [56]. أما في مجموعة الفئران المعرضة للتيار الكهربائي فقد لوحظت زيادة معنوية عالية ($P<0.01$) في فعالية الإنزيم ADA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وكان التيار الكهربائي ٢ فولت أشد تأثيرا من التيار الكهربائي ٣ فولت، وهذا يعزز ما وجدناه في دراسة سابقة [24] .

وحسب البحوث التي اطلعنا عليها في هذا المجال فأن هذه الدراسة تعد الأولى من نوعها حول قياس فعالية أنزيم أدينوسين دي أمينيز في المصل، والتوثة ونخاع العظم في الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية لدودة المشوكات الحبيبية المعرضة لتيار كهربائي مستمر. وربما تستخدم الزيادة في مستويات إنزيم ADA كمؤشر تشخيصي مهم مع المعايير السريرية الأخرى لمراقبة الأمراض المختلفة ومنها داء الأكياس العدرية والاستجابة للعلاج . ولتوضيح ميكانيكيات المستويات المرتفعة لإنزيم ADA في الفئران المعرضة للتيار الكهربائي المستمر فإن ذلك يتطلب دراسات أخرى مستقبلية .

المصادر

1.R. Paredes, V. Jimenze, G. Cabera, D. Iraguen and N. Galanti. J. Cell. Biochem., 100(2007) 5: 1200-1209.
2.A. Pezeski, E.B. Kia, A. Gholizadeh and A. Koohare. Pak. J. Med. Sci., 231(2007): 138-140.
3.R.C.A. Thompson and A.J. Lymbery Echinococcus and hydatid disease.CAB Int. (2007), pp.1-2.
4.C. Polat, R. Sivaci, E. Baki, S. Yalmaz and Y. Arikan. Med. Sci. Monit., 13(2007) 2: 27-29.
5.D.P. Kalinowski, L.E. Edsberg, R.A. Hewson, R.H. Johnson and M.S. Brogan. J.Am.Ped.Med. Assoc., 94 (2004) 6 :565-572 .
6.A. Izadpanah In: 18th international Hydatidology Congress. Lisbon, Portugal. (1997).
7.H. Hejazi and A Dalimi. Ann. Trop. Med. Parasitol., 98(2004) 1:37-42.
8.A. Dalimi, R. Ghasemikhan and B. H. Malayeri. Exp. Parasitol., 109(2005): 237-240.
9.E.E. Wesierska and T. Trziszka. J.Food engineering. XXX(2005) : XXX-XXX .
10.K.E. Sharquie, H. al-Hamamy and D. el-Yassin. J. Dermatol., 25 (1998) 4 :234-237 .
11.L.C. Kloth. The International Journal of lower Extremity Wounds., 4 (2005) 1 :23-44.
12.I.H. Fox and W.N. Kelly. Ann. Rev. Biochem., 47 (1978): 655-686 (Cited by Moriwaki *et al*. 1999) .
13.D. Fischer, M.B. Van der Weyden, R. Synderman and W.N. Kelly. J. Clin. Invrst., 58(1976) : 399-407.
14.P.P. Trotta and M.W. Balis. Cancer Res., 37(1977): 2297-2305 .(Cited by Moriwaki *et al*.1999)
15.Y. Moriwaki, T. Yamamoto and K. Higashino. Histo. Histopathd., 14(1999): 1321-1340.
16.R. Resta and L.F. Thompson. Immunol. Today ,18 (1997) : 364-371.
17.Y.E. Ustun, Y. Ustun, A.B. Karabulut, K. Dogan, M.M Meydanli. and B. Sezgin. Clin. Chem. Lab. Med., 45(2007) 1:78-81.
18.T.G. Brady and C.I. O' Donovan. Comp. Biochem. Physiol., 14(1965):101-120.
19.A. Adams and R.A. Harkness. Clin. Exp. Immunol., 26(1976) : 647-649.
20.M.B. Van der Weyden and W.N. Kelly. J.Biol. Chem., 251 (1976): 5446-5456.
21.K.A. Mohamedali, O.M. Guicherit, R.E. Kellems and F.B. Rudolph. J. Biol. Biochem., 268(1993): 23728-23733.
22.J.L. Sullivan, W.R.A. Osborn and R.J. Wedgewood. Br.J.Haematol.,37(1977): 157-158.
23.B.C. Bandyopadhyay and M.K. Podar. Exp. Clin. Pharmacol., 16(1994): 731-733.
24.A.A. Ali and S.S. Yaseen Accepted for Publication in: Tik. J. Pure Sci. (2008).
25.J.D Smyth and N.J. Barett. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.74(1980):649-652.
26. A. Wangoo, N.K. Ganguly and R.C. Mahajan. Indian. J. Med. Res.89 (1989):40-42.
٢٧. G. Giusti Adenosine deaminase .In: Bergmeyer, H.U.(Ed.) Methods in enzymic analysis (2nd Ed.). Academic Press. 2(1981): 1092-1099 .
28.H.B. Waynforth. Experimental and surgical technique in the rat. Academic Press Inc. London, LTD NWI (1980), pp.29.
29.J.F. Bach and M. Dardenne. Cell. Immunol., 3(1972): 1-6.
30. M .Muralidhara, F. Matsumura and A. Blankenship. J.Biochem. Toxicol., 9(1994): 249-259.
31.O.Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and F.j. Randall. J. Biol. Chem., 193(1951):265- 275.

44.M. Stancikova and J. Rovensky. Int. J. Tiss. Reac., 15(1993): 169-174.
45.J.J. Kilbane and B.A. Bielaga Biotechniques. 10 (1991): 254-365.
46.S. McLaughlin. Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry. 18(1989):113-136.
47.O. Fakhri and M.A. Amin. J.Burn.Care Rehabilitation. 8(1987) :15-18
48.D.S. Weis, W.H. Eaglstein and V. Falanga. Journal of Dermatologic Surgery and Oncology. 15 (1989) :1272-1275.
49.G.O. Winter Advances in Biology of the skin. 5 (1964) :113.
50.M.J. Im, W.P.A. Lee and J.E. Hoopes. Physical Therapy, 70(1990) :37-40.
51.G.D. Genskow. Wounds. 4:227-2235(1992).
52.M.F. Baganha, A. Pego, M.A. Lima, E.V. Gasper, B. Pharm and A.R. Carderio. Chest, 97(1990) :605-610.
53.S.H. Zuckerman, J.M. Olson and S.D. Douglas. Exp. Cell. Res., 129(1980) :281-287.
54.M.B. Aldrich, M.R. Blackburn and R.E. Kellems. Biochem Biophys. Comm.,272(2000):311-315.
55.M. Borzy, H. Schultz- Wassermann, E. Gilbert, S.D. Horowitz, J. Pellet and R. Hong. Clin. Immunol. Immunopathol., 12(1979):31-51 .
56.Z.T.S. Al-Asady. Ph.D. Thesis, Coll. Education, Univ. Baghdad, Iraq (2002).
32.T. Hovi, J.F. Smyth, A.C. Allison and S.C. Williams. Clin. Exp. Immunol., 23(1976): 395-403.
33.G. Gakis, G.M. Calia, A.G. Naitana, A.N. Orto and A. Contu. Chest, 99(1991):1555-1556.
34.E.K. Shubber, A.H. Khaleel, G.H. Al-Khateeb, A.F. Sultan, K.I. Altaif, B.M.A. A-Allak, M.S. Salman and S.S. Kadhom. Unpublished data (2000).
35.O. Erel, A. Kocyigit, M.S. Gurel, B. Bulut, A. Seyrek and Y. Ozdemir. Mim Inst. Oswaldo. Cruz, 93(1998) 4: 491-494.
36.B. Khambu, K.D. Mehta, S. Rijal, M. Lamsal, S. Majhi and N. Baral. Nepal Medial College Journal , 9 (2007) 1.
37.G.I. Potapova, S.N. Khramstova, L.V. Dmitrieva and V.S. Shapot. Neoplasma,34(1987): 453-467.
38.L.F. Thompson and J.E. Seegmiller. Advances in Enzymology,51(1980): 167-201.
39.A.S.M. Juma. M. Sc. Thesis, Saddam College of Medicine, Iraq (1993).
40.A.S.M. Juma T.I. Al-Jebori and E.K. Shubber. Dirasat, Medical and Biological Sciences,27(2000) 2:110-116.
41.B.Chan, D. Wara, J. Bastian, M.S. Hershfield, J. Bohnsack, C. Azen, R. Parkman, K. Weinberg and B. Koh. Clin.Immunol.,117(2005) 2:133-143.
42.G. Gakis, G.M. Calia, A.G. Naitana, D. Pirino and G. Serru . Panminerva Med.,31(1989): 107-113.
43.J.P. Ungerer, H.M. Oosthuizen, S.H. Bisbort and W. Vermaak. J.Clin.Chem.,38(1992):1322-1326.

Adenosine deaminase activity in serum ,thymus and bone marrow of mice infected with protoscoleces of *Echinococcus granulosus* exposed to direct electric current

Asmaa A. Ali
Department of Biology,College of Education, University of Mosul , Mosul, Iraq
(Received 1 / 9 / 2008, Accepted 13 / 1 / 2009)

Abstract
The study investigated , for the first time, measurement of the specific activity of Adenosine deaminase (ADA) in serum ,thymus and bone marrow of BALB/c mice infected with protoscoleces of *Echinococcus granulosus* which are exposed to the electric current 2v = 5.77mA/cm^2 for 2min ، 3v = 11.82 mA/cm^2 for 2min ,in comparison with the control group(mice infected with protoscoleces which are not exposed to the electric current) .
The results revealed, after three months of infection, that the specific activity of ADA in mice infected with protoscoleces which are exposed to the electric current was significantly ($P<0.01$) higher in serum ,thymus and bone marrow than the control group, and the electric current with 2v was more effective than the electric current with 3v.
The reduction in the ADA activity in the control group could be related to the immunosuppression state associated with the development of the disease , and the increase in the specific activity of ADA, in mice infected with exposed protoscoleces ,could be related to the immunostimulator activity of the electric current .