

تأثير عنصر الزنك في الاستجابة المناعية في خنازير غينيا

حسن علي مطر* ، خليفة احمد خليفة** ، كوكب سليم نجم*** و حمدي عبد الجليل الحديثي****

* كلية الزراعة / جامعة الانبار

** كلية الطب / الجامعة المستنصرية

*** كلية الطب / جامعة النهرين

**** كلية العلوم / جامعة الانبار

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير عنصر الزنك في المناعة باستخدام مستضد *S typhi* وذلك من خلال إجراء بعض الفحوص المناعية المتعلقة بالمناعة الخلوية والمناعة الخلطية . استخدمت 18 خنزير غينيا ,قسمت إلى ثلاث مجاميع (6 حيوانات لكل مجموعة). أعطيت المجموعة (0.08 ملي غرام), والثانية (0.16 ملي غرام) . أعطيت المجموعة الأخيرة الماء المقطر للمقارنة.(أعطيت يوماً لمدة شهرين).اجري فحص الاليزا لقياس مستوى الأجسام المضادة في المصل بعد تلقيح الحيوانات بلقاح جرثومة *S typhi* . لوحظ فرق معنوي في استجابة المجموعتين مقارنة بمجموعة السيطرة, تبين من إجراء فحص شدة الحساسية المتأخرة أن أعلى تأثير كان للمعاملة بالتركيز Zn1 . كذلك الحال بالنسبة لفحص البلعمة فكانت أعلى نسبة بلعمة في المعاملة بالزنك Zn1 . انخفض هذا التأثير عند زيادة الجرعة.. أما عند إجراء فحص تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة فقد لوحظ ان هناك فرق معنوي في التأثير بين المعاملة بالزنك مقارنةً بمعاملة السيطرة . وكذلك لوحظ هذا الفرق بين المعاملة بالتركيز Zn1 مقارنةً بالتركيز Zn2 .

The Study of Zinc's Effect on Immunological Response in Guinea Pigs

Hassan A. M.* , Kalifa A. K.** , Kawkab S. N.*** and Hamdy A.****

* College of agriculture / AL-Anbar university

** College of medicine / Almustanseria university

*** College of medicine / Alnahrain university

**** College of science / Alanbar university

Abstract

The purpose of this study is to determine the effect of zinc on immunity, by use some immunological tests about humeral and cellular immunity. 18 guinea pigs put in three Groups (6 animals for each Group). the first group take a zinc (0.08 milligram),while the second take (0.16).the last treatment take a distill water as a control. (The doses given daily by stomach tube for tow months). ELISA test used to determine the antibodies level after vaccination with *S typhi* vaccine, Therese significant difference in response of different treatments compare to control, where this difference not found between treatments. The delayed type hypersensitivity test show that the highest effect is for treatment with Zn1 more than Zn2. Also with the phagocytic activity, highest phagocytic rate in treatment with Zn1. this effect decrease with

heightened the dose. The macrophage migration inhibition test shows a significant difference in effect of zinc in compare with control.

المقدمة

يلعب الزنك دوراً مهماً في الكثير من العمليات الحيوية في جسم الكائن الحي وحيث انه ثنائي التكافؤ Zn^{++} ولا يستطيع فقد إلكترون فليس له دور في السلسلة التنفسية (Respiratory chain). ويميل الزنك إلى تكوين معقدات مع مجاميع الامين (Amino groups) والكاربوكسي (Carboxy) والثايول (Thiol) في الأحماض الأمينية والبروتينات ولهذا السبب فان ما يقرب من 300 تفاعل إنزيمي تعتمد على وجود الزنك (1).

يشكل الزنك العنصر السابع عشر من مكونات القشرة الأرضية بتركيز حوالي 65 جزء لكل مليون وفي ماء البحار يشكل 9 - 21 جزء لكل بليون. كذلك يتواجد الزنك في كافة الأنسجة النباتية والحيوانية ، وفي جسم الإنسان البالغ يوجد حوالي 2 غرام من الزنك يتوزع بنسبة 65% في العضلات و25% في العظام وما تبقى في أجزاء الجسم الأخرى ، حيث يتواجد الزنك في كافة مكونات الخلايا خصوصاً في النواة . ومن الأنسجة الغنية بالزنك هي الغدة الادرينالية والجلد وبعض المناطق من الدماغ والبنكرياس ومشيمة العين وغدة البروستات والحيوانات المنوية (2).

يتواجد الزنك في اغلب أنواع الأغذية خصوصاً المنتجات الحيوانية وبضمنها الأسماك وفي البقوليات والحبوب. وعلى العموم فان الزنك يوجد بكميات قليلة في الأغذية النباتية وغير متوفر بشكل جيد (3).

يلعب الزنك دوراً مهماً في مختلف الوظائف الحيوية لجسم الإنسان فهو ضروري للنمو والتطور والحفاظ على شهية جيدة ونضج الخصى وسلامة الجلد والوظائف العصبية والتئام الجروح إضافة إلى دوره في المناعة. حيث ان اكثر من 300 إنزيم تعتمد على الزنك تلعب دوراً مهماً في ابيض الكاربوهيدرات والدهون والأحماض الأمينية وفي بناء البروتينات والأحماض النووية إضافة إلى الكثير من العمليات الكيموحيوية. كما وان الزنك يعمل مساعداً لإنزيم السوبراوكسيد ديسموتاز (Superoxide dismutase) المضاد للأكسدة لإزالة الأنواع المتفاعلة من الأوكسجين (Reactive oxygen species) (4).

إن نقص الزنك يؤدي خلل في النمو من خلال تقليل فعالية الإنزيمات الضرورية في عمليات بناء الأحماض النووية (5) والبروتينات (6) كذلك يسبب نقص في عامل النمو المشابه للانسولين (IGF) (Insulin Like Growth Factor) (7) ، وعوامل النمو الأخرى مثل الثايمولين (Thymulin) الذي يساعد في نمو الخلايا الليمفاوية (8).

يتأثر مستوى الزنك في البلازما تأثيراً سريعاً جداً عند تناول غذاء فقير بعنصر الزنك بسبب القابلية المحدودة لهذا العنصر على التحرك من أماكن تخزينه في الجسم. ولهذا السبب نجد ان تركيز الزنك في البلازما ينخفض بحدود 50% عند تناول غذاء فقير بالزنك. حيث ان حوالي ثلث الزنك في البلازما يتواجد مع الكلوبولينات الكبيرة (Macroglobulin) والتي ليس لها أي دور في نقل الزنك (9). يختلف الاحتياج الدقيق للزنك باختلاف العمر وحالة الحمل والرضاعة وتختلف الجرعة الموصى بها تبعاً للبلدان ، ففي الولايات المتحدة الأميركية فان الجرعة المطلوبة هي 15 ملي غرام يومياً للذكور البالغين و12 ملي غرام يومياً للإناث البالغات مع ملاحظة إضافة 5 ملي غرام يومياً في حالة النساء المرضعات في الأشهر الأربعة الأولى من الرضاعة و2.5 ملي غرام يومياً في الأشهر المتبقية من الرضاعة (10) ، إن من أهم أعراض نقص الزنك في الإنسان هي اختلال النمو وتأخر النضج الجنسي وضعف الجهاز الهيكلي والتهاب الجلد وإسهال وقرع وضعف الشهية وتغيرات في السلوك وزيادة الحساسية

للأمراض المختلفة وهي ناتجة عن حدوث خلل في الجهاز المناعي. وتختلف شدة الأعراض تبعاً لشدة النقص (11,4).

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية Laboratory Animals

استخدم في الدراسة الحالية خنازير غينيا بيض اللون ذكور بوزن يتراوح بين 400-500 غرام، جهزت من مركز البحوث والرقابة الدوائية التابع لوزارة الصحة.

لقاح التيفويد Typhoid vaccine

تم الحصول عليه من معهد المصول واللقاحات التابع لوزارة الصحة وهو عبارة عن كامل خلية السالمونيلا المقتولة والمحفوظة بالفينول ، ويحتوي على 910 خلية بكتيرية لكل مليلتر.

جرثومة S. typhi الحية

تم الحصول على هذه الجرثومة من عزلات معهد الصحة المركزي التابع لوزارة الصحة.

طرائق العمل

محلول المشطر اللانوعي PHA

حضر بتركيز 100 مايكرو غرام لكل ملي لتر وذلك بإذابة ملي غرام من PHA في 100 ملي لتر من الماء المقطر ، ثم حفظ بدرجة حرارة -20 م° لحين الاستخدام.

صبغة النايتروبلوتترازوليوم N B T

حضرت حسب تعليمات الشركة المنتجة واجري الفحص حسب(12)

تحضير الأوساط

الوسط أزرعي النسيجي Tissue Culture Medium RPMI-1640

حضر حسب تعليمات الشركة المصنعة Flow Laboratories

وسط آلاكار المغذي Nutrient Agar

استخدم وسطاً لتنمية وخرن جرثومة S. typhi ، أما مكوناته فهي حسب مواصفات الشركة المصنعة (Oxoid CM3).

مرق نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth

استخدم وسطاً إيمانيا لجرثومة السالمونيلا أما مكوناته فهي حسب ما ورد في تعليمات الشركة المصنعة (Oxoid CM225).

عنصر الزنك

تم إذابة 20 ملي غرام من مادة اسيتات الزنك (Zinc acetate) في 20 ملي لتر ماء مقطر ، أضيفت إلى 105 ملي لتر ماء مقطر للحصول على تركيز 0.16 ملي غرام لكل ملي لتر واحد.

الحيوانات المختبرية

اجري فحص الحساسية المتأخرة لخنازير غينيا للتأكد من عدم تعرضها المسبق للإصابة بجرثومة S. typhi كذلك أخذت عينات دم للتأكد من عدم وجود أي مستوى من الأجسام المضادة لهذه الجرثومة ، وضعت الحيوانات

في أقفاص بلاستيكية معدة لتربية هذه الحيوانات وجرعت جميع الحيوانات عن طريق الفم باستخدام أنبوب اللي المعدي (Gastric Tube) وكالاتي :

1.مجموعة السيطرة:أعطيت 0.5 ملي لتر ماء مقطر. (6 حيوانات)

2.مجموعة الزنك Zn1:أعطيت عنصر الزنك بجرعة 0.08 ملي غرام (0.5.ملي لتر) لكل حيوان ولمدة شهرين. (6 حيوانات)

3.مجموعة الزنك Zn2:أعطيت عنصر الزنك بجرعة 0.16 ملي غرام (1 ملي لتر) لكل حيوان ولمدة شهرين. (6 حيوانات)

حسبت الجرعة أعلاه على أساس أن الجرعة Zn1 هي ضمن الحدود الموصى بها مقارنةً بالجرعة المثلّي في الإنسان بوزن 65 كغم.

تمنيع الحيوانات

بعد شهرين من بدأ التجربة منعت الحيوانات المختبرية بإعطائها جرعه أوليه مقدارها 0.25 ملي لتر من لقاح S. typhi الحاوي على خلايا مقتولة ومحفوظة في الفينول تحت الجلد وبعد 15 يوماً أعيد إعطاء اللقاح وبنفس الجرعة.

الحصول على المصل الحاوي على الأجسام المضادة

تم الحصول على المصل حسب (13).

فحص الاليزا ELISA Test

اجري الفحص حسب (14).

فحص تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة

اجري الفحص حسب (15)

فحص الحساسية المتأخرة (DTH)

اجري الفحص حسب (16).

$$\text{Migration Index} = \frac{\text{Mean Migration area in Presence of Ag}}{\text{Mean Migration area in Absence of Ag}}$$

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج فحص مستوى الأجسام المضادة أن هناك فرقاً معنوياً في تأثير الزنك في الاستجابة المناعية الخلطية مقارنة بمعاملة السيطرة عند مستوى احتمال (P= 0.075) عدا تلك المعاملة التي أعطيت الزنك بالتركيز Zn1.

يؤثر عنصر الزنك تأثيراً معنوياً في إنتاج الأجسام المضادة ضد جراثيم S.typhi . إن الجرعة المعطاة من هذا العنصر أحدثت زيادة ملحوظة في الاستجابة المناعية الخلطية لهذه المستضدات . (الجدول 1)

يعد الزنك من بين أهم العناصر الثقيلة المطلوبة بكميات قليلة جداً سواء لأهميته في الجانب المناعي او غير المناعي . من الناحية المناعية فان الزنك يقوي الاستجابة المناعية (17). وهذا ما تمت ملاحظته في الدراسة الحالية ضمن الجرعة المعطاة , إذ إن زيادة هذا العنصر قد تؤدي إلى خفض فعالية الجهاز المناعي وتثبيط

المناعة الناتجة . إن اخذ كميات من الزنك أكثر من المطلوب يؤدي كذلك إلى تأخير امتصاص بعض الأغذية مما يتسبب في حدوث نقص تغذوي.

جدول (1) فحص الاليزا يلاحظ فيه متوسط الكثافة الضوئية لمختلف المعاملات.

| المتوسط الكثافة الضوئية | المعاملة |
|--------------------------|---------------------------|
| 0.0518 ± 0.002* نانوميتر | الزنك Zn1 (0.08) ملي غرام |
| 0.0594 ± 0.002* نانوميتر | الزنك Zn2 (0.16) ملي غرام |
| 0.0404 ± 0.003* نانوميتر | السيطرة C |

0.0152= LSD

* الخطأ القياسي

أشار (18) إلى أن إعطاء جرعه عالية من الزنك (150 ملي غرام/يوم) للمصابين بمرض ولسون (Wilson disease) ولمدة 27 سنة لم يؤثر سلباً على وظائف الخلايا الليمفاوية أو الخلايا القاتلة الطبيعية وهذا يشير إلى المدى الواسع من الأمان في جرعة الزنك التي من الممكن ان تكون لها تأثيرات سلبية في وظائف الجسم المختلفة ومنها وظائف الجهاز المناعي . وفي دراستنا لم يُلاحظ تأثيراً سلبياً على إنتاج الأجسام المضادة عند مضاعفة الجرعة من عنصر الزنك.

وجد إن النقص الطفيف في هذا العنصر ربما يؤدي إلى خفض فعالية السعترية الذي تمثل في قلة أعداد الخلايا التائية والخلايا القاتلة الطبيعية وخلايا العدلات وقلة إنتاج السيتوكينات مع ضعف في قدرة الخلايا على قتل الأحياء المرضية (19) . كذلك أشار (20) إلى أن إعطاء غذاء فقير بالزنك أدى إلى قلة في إنتاج الأجسام المضادة في خنازير غينيا . بينما كان مستوى الأجسام المضادة أفضل في المجموعة التي أعطيت غذاء فيه كميته كافيه من الزنك. وقد وجد (21) ان إعطاء جرعه مناسبة من الزنك يؤدي إلى تقليل عملية الموت المبرمج في الخلايا الليمفاوية وبالتالي الحفاظ على مستوى إنتاج الأجسام المضادة ضمن المعدل الطبيعي , بل ربما قد يؤدي إلى زيادة في فعالية هذه الخلايا لإنتاج الأجسام المضادة . كما أشار (22) إلى ان النقص في عنصر الزنك ممكن ان يؤدي إلى ضعف في تطور الخلايا الليمفاوية البائية وقلة في إنتاج الأجسام المضادة خصوصاً الكلوبولين المناعي IgG .

فحص شدة الحساسية المتأخرة (DTH) . Delayed Type Hypersensitivity .

أظهرت نتائج هذا الفحص أن هناك فرقا معنوياً بين مختلف المعاملات المستخدمة وبين معاملة السيطرة عند مستوى احتمال (P<0.001) مما يعني إن هذه النتائج أيضاً معنوية عند احتمال (P < 0.005) وهذا يشير إلى أن تأثير الزنك في المناعة الخلوية كان ملحوظاً (الجدول رقم 2).

إن فحص شدة الحساسية المتأخرة من الفحوص المهمة لحساب المناعة الخلوية في جسم الكائن الحي . وُجد في هذه الدراسة أن إعطاء عنصر الزنك ضمن الجرعة المطلوبة أدى إلى زيادة واضحة ومعنوية في مستوى المناعة الخلوية من خلال ملاحظة الفرق في شدة الحساسية المتأخرة بين معاملة السيطرة والمعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 . أشار العديد من الباحثين إلى أهمية الزنك في علاج مرض نقص المناعة المكتسب من خلال دوره في تعزيز الخلايا التائية الأصلية (precursor T cells) , والحفاظ على التوازن بين Th1/Th2 (21,22) . أما (20) فقد أشار إلى أن نقص الزنك في غذاء خنازير غينيا أدى إلى ضعف الاستجابة المناعية الخلوية . كذلك فإن الخلل في

جهاز المناعة بسبب نقص الزنك يتجلى في اختزال عدد الخلايا الليمفاوية (Lymphopaenia) وتثبيط الخلايا الليمفاوية التائية , وهذا ربما يفسر ما وُجد في الدراسة الحالية حول تعزيز الاستجابة المناعية الخلوية عند إعطاء عنصر الزنك ضمن الجرعة المطلوبة لخنازير غينيا التي استخدمت في هذه التجربة. ربما يؤثر عنصر الزنك في إنتاج بعض السيتوكينات المهمة في المناعة وخصوصاً تلك التي تُنتج من خلايا البلاعم الكبيرة مثل الانترلوكينات وبقية السيتوكينات المعروفة بالمونوكاينات والتي تؤثر في تحفز الخلايا الليمفاوية التائية (24). كذلك أشار (25) إلى أن استخدام الزنك لتعزيز الجهاز المناعي لكبار السن ناتج عن تأثيره في تعزيز الاستجابة المناعية الخلوية لهؤلاء الأفراد. إن أهمية الزنك في الحفاظ على المناعة الخلوية هي من خلال دوره في الحفاظ على تركيز الثايمولين (Thymulin) في المصل والذي له تأثير في الخلايا الليمفاوية التائية (26) . ان نقص عنصر الزنك ربما يؤدي إلى حدوث نقصان في أعداد الخلايا الليمفاوية التائية وبالذات الخلايا المعاونة CD4 وزيادة الموت المبرمج للخلايا (19) .

جدول (2) شدة الحساسية المتأخرة نلاحظ فيه متوسط ثخن الجلد بالمليمتر في مختلف المجاميع

| المتوسط ثخن الجلد بالمليمتر | المعاملة |
|-----------------------------|---------------------------|
| 11 ± 0.577 * | الزنك Zn1 (0.08) ملي غرام |
| 7 ± 0.408 * | الزنك Zn2 (0.16) ملي غرام |
| 9 ± 0.707 * | السيطرة C |

1.544=LSD

* الخطأ القياسي

لوحظ أن إعطاء جرعه مضاعفه من عنصر الزنك (0.16 ملي غرام/حيوان من خنازير غينيا يومياً) أدى إلى نقص في الاستجابة المناعية الخلوية اتضح من خلال ضعف الاستجابة عند إجراء فحص شدة الحساسية المتأخرة إلى درجة أن الفرق كان معنوياً حتى عند المقارنة مع مجموعة السيطرة, وهذا يعني ان تأثيراً سلبياً في فعالية الخلايا التائية قد حصل . أشار (27) إلى أن إعطاء الزنك لفترة طويلة لفترة أن أدى إلى ضعف في الاستجابة المناعية بشكل عام . وأن الجرعة العالية منه تؤدي إلى تثبيط مباشر لتكاثر الخلايا التائية (24). كذلك ذكر (18) أن إعطاء الزنك لفترة طويلة كعلاج لمرضى ولسون أدى إلى تأثيرات جانبية سلبية في الخلايا الليمفاوية .

إن ما لوحظ من نقص في الاستجابة المناعية الخلوية عند استخدام جرع عالية من عنصر الزنك قد يعزى إلى تأثيره المثبط لإفراز المونوكاين من قبل خلايا الدم أحادية النواة وبالتالي تثبيط الخلايا التائية بصورة غير مباشرة , إضافةً إلى ما ذكر من تثبيط مباشر لهذه الخلايا عند الجرع العالية من الزنك .

فحص فعالية البلعمة Phagocytic Activity Test

أُجري هذا الفحص لمعرفة قدرة خلايا العدلات على التهام معقد صبغة النيتروبولوترازوليوم مع الهيبارين , حيث ظهر فرق معنوي ($P < 0.001$) في قابلية هذه الخلايا على البلعمة بين مختلف المعاملات مقارنة بمجموعة السيطرة, (جدول 3) . كما وجد أن المعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 أدت إلى حصول زيادة في نسبة خلايا العدلات الملتزمة للمعقد بينما انخفضت نسبة الخلايا الملتزمة عند زيادة الجرعة من والزنك بالتركيز Zn2 . وعند إجراء مقارنات مستقلة بين متوسطات هذه المعاملات وجد أن هناك فرقاً معنوياً ($P < 0.001$) بين تأثير المعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 مقارنة بمجموعة السيطرة, كما وجد أن هناك فرقاً معنوياً ($P < 0.001$) بين تأثير

المعاملة كذلك لوحظ أن هناك فرقا معنويا ($P < 0.001$) بين تأثير المعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 والمعاملة بالزنك بالتركيز Zn2 حيث انخفضت قدرة خلايا العدلات على البلعمة مع الزيادة في الجرعة . ولم يكن هناك فرقا معنويا في تأثير المعاملة بالتركيز Zn2 مقارنة بمعاملة السيطرة . تعد الجوانب المناعية غير المتخصصة مثل عمليات الالتهام والالتهاب وبروتينات المتمم وغيرها من بين الوسائل التي يستعملها الجسم وبشكل خاص في المراحل الأولية من التعرض للمسببات المرضية أو المستضدات . ففي عملية البلعمة يحدث التهام الجسم الغريب من قبل الخلايا الملتزمة وتحطيمه بفعل الإنزيمات الهاضمة أو الحالة في هذه الخلايا . وتعد الخلايا متعددة الأشكال النووية أولى هذه الخلايا ، وهي تساهم كخط أول في عمليات الالتهام . هذه الخلايا تتواجد في الدم والأنسجة الليمفاوية مثل الطحال والعقد الليمفاوية وغيرها . كذلك تشارك خلايا البلاعم الكبيرة في هذه الفاعلية بشكل أكثر كفاءة وبشكل خاص حين تتكون وسائط المناعة الخاصة مثل بعض السيتوكينات .

جدول (3) فحص قدرة خلايا العدلات على البلعمة يُلاحظ فيه متوسط حدوث البلعمة في مختلف المجموع

| المعاملة | متوسط حدوث البلعمة % |
|---------------------------|----------------------|
| الزنك Zn1 (0.08) ملي غرام | 3.152 ± 28 * |
| الزنك Zn2 (016) ملي غرام | 2.029 ± 12.6 * |
| السيطرة C | 2.088 ± 12.7 * |

7.1= LSD

* الخطأ القياسي

اجري فحص فاعلية الخلايا متعددة الأشكال النووية (PMNCs) على الالتهام في المجموع المعاملة بعنصر الزنك وبتركيزين مختلفين مقارنة بالسيطرة . وقد ظهر ان هناك فرقا معنويا واضحا في قدرة خلايا العدلات على الالتهام عند إعطاء الزنك ضمن الجرعة المطلوبة مقارنة بمعاملة السيطرة . وحيث أن العلاقة بين جهاز المناعة وعنصر الزنك بمستويات مختلفة هي علاقة معقدة وترتبط بعدة تأثيرات لعنصر الزنك والتي منها أن الزنك عامل مساعد لأكثر من 300 إنزيمًا تؤثر في مختلف وظائف الأعضاء ولها تأثيرات ثانوية في جهاز المناعة . وان له تأثيراً مباشراً في وظائف الخلايا البيضاء . كذلك يؤثر في وظيفة المحفزات المناعية المستخدمة في الأنظمة التجريبية (28). لذا فإن تأثيره في قدرة خلايا العدلات على البلعمة ربما كان إما بصورة غير مباشرة من خلال كونه عاملاً مساعداً لكثير من الإنزيمات أو بصورة مباشرة من خلال تأثيره المباشر في خلايا العدلات . ذكر (29) ان تأثير الزنك في المناعة يكون في اغلب الأحيان بصورة غير مباشرة من خلال تأثيره في الكتلة الخلوية المناعية . إن نقص الزنك يؤدي إلى حصول خلل في وظائف خلايا العدلات وقدرتها على قتل الأحياء الممرضة . وان زيادة الجرعة تؤدي إلى تأثيرات سلبية في المناعة . وقد يعزى هذا التأثير إلى فعل الزنك المباشر في خلايا العدلات وإضعاف قدرتها على البلعمة من خلال تأثيره في جدارها الخلوي كونه وكما أشرنا يشترك في اغلب الأعمال الحيوية للخلية أو انه يؤثر في الخلايا الأصلية للعدلات (Precursors of neutrophils) . (30).

فحص تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة (MIF) Macrophage Migration Inhibition Factor .

أظهرت نتائج فحص تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة أن هناك فرقا معنويا بين المعاملات التي تم إعطاؤها الزنك ومعاملة السيطرة في قدرة الخلايا الليمفاوية على إنتاج مواد مانعه لهجرة خلايا البلاعم الكبيرة عند مستوى معنوية ($P < 0.001$)، (جدول 4) . وكما نلاحظ فان قيمة معامل الهجرة تظهر أن اكبر تثبيط للهجرة قد

حصل في المعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 . أما في بالزنك بالتركيز Zn2 وكما نلاحظ في الجدول فان معامل الهجرة يظهر أن تأثيره لم يكن معنوياً عند المقارنة بمعاملة السيطرة ولكن هذا التأثير وكما نلاحظ اقل حتى من التأثير الملاحظ في معاملة السيطرة .

وعند المقارنة بين تأثير المعاملة بالزنك بالتركيز Zn1 والمعاملة بالزنك بالتركيز Zn2 نجد ان الفرق بين تأثيرهما كان معنوياً ($P<0.001$). كذلك نلاحظ أن زيادة الزنك أدى إلى ضعف في تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة حتى عند المقارنة بمعاملة السيطرة . يعد السيوتوكين المعروف بالعامل المانع لهجرة خلايا البلاعم الكبيرة (MIF) (Migration Inhibition Factor) منظماً مهماً للاستجابة الالتهابية , وهو يفرز من الخلايا الليمفاوية التائية التي تم تحفزها بمستضد معين . ومن الغدة النخامية (Pituitary gland) ومن خلايا الدماغ والكلية والرئة والبروستات والخصية وكذلك من خلايا البلاعم الكبيرة (31,32). وتعد البلاعم الكبيرة مصدراً مهماً لهذا العامل فضلاً عن كونها الهدف لفعل هذا العامل (33). وفي دراستنا الحالية أجري هذا الفحص لتقدير المناعة الخلوية في الطبق من خلال تقدير إفراز عامل منع هجرة خلايا البلاعم الكبيرة وأهمية عنصر الزنك في إفراز هذا العامل . وجد ان إعطاء الزنك وضمن حدود الجرعة المطلوبة (0.08 ملي غرام/يوم) أدى إلى تقليل معامل منع هجرة خلايا البلاعم الكبيرة مما يعني ان هناك زيادة في إفراز هذا العامل من الخلايا الليمفاوية بعد تلقيح الحيوانات بلقاح جرثومة *S typhi* . قد يؤثر الزنك في الخلايا الليمفاوية إما بصوره مباشرة أو بصوره غير مباشرة من خلال التأثير على إفراز اللمفوكينات . كذلك أشار (24) إلى أن الزنك ممكن أن يحفز الخلايا أحادية النواة الدموية المحيطية على إفراز المونوكاين عند إعطائه ضمن الجرعة المطلوبة . بينما فشلت هذه الخلايا في الإفراز عند إعطاء هذا العنصر بجرع عالية.

كما أشرنا فان الجرع العالية من الزنك تعمل على تثبيط الخلايا التائية , وان أي تأثير للزنك في الخلايا التائية أو الخلايا الوحيدة يؤدي إلى زيادة أو قله في إفرازها للسيوتوكينات وحسب جرعة الزنك المعطاة . وبالتالي يحصل إما ضعف أو زيادة في قدرة هذه الخلايا على إنتاج العامل المثبط لهجرة خلايا البلاعم الكبيرة وان ذلك يعتمد على الجرعة التي أعطيت من هذا العنصر .

جدول (4) فحص تثبيط هجرة خلايا البلاعم الكبيرة نلاحظ فيه متوسط معامل الهجرة لمختلف المجاميع

| المعاملة | متوسط معامل الهجرة |
|---------------------------|--------------------|
| الزنك Zn1 (0.08) ملي غرام | 0.61 ± 0.009 * |
| الزنك Zn2 (0.16) ملي غرام | 0.85 ± 0.013 * |
| السيطرة C | 0.77 ± 0.16 * |

0.11 = LSD

* الخطأ القياسي

المصادر

- 1-Kruse,J.D.(1999).Path biochemistry of zinc metabolism and diagnostic principles in zinc deficiency .J-Lab-Med.;23 (3): 141 - 155.
- 2-Venugopal, B and Lucey,T.D.(1978). Metal toxicity in mammals , 2 chemical toxicity of metals and metalloids. Plenum Press New York and London.
- 3-WHO /FAO / IAEA.(1996).Trace elements in human nutrition and health .World Health Organization ,Geneva.

- 4-Walsh,C.T.;Sandstead,H.H.;Prasad,A.S.;Newberne,P.M.Fraker,P.G.(1994).Environmental perspectives 102 (Suppl.2) 4-46.
- 5-Duncan,G.and Hurly,L.(1987). Thymidine kinase and DNA polymerase activity in normal and zinc-deficient develop in rat embryos Proc Soc. Exp. Biol. Med., 159,,39—43.
- 6-Hicks,S.and Wall work,J.(1987). Effects of dietary zinc deficiency on protein synthesis in cell free systems isolated from rat liver J.Nutr,117,123-40.
- 7-Ninh,N. ;Thssen,J. ; Collette,L. ; Gerard,G. ; Khoi,H. ; Ketelslegers,J.(1996).Zinc supplementation increase growth and circulating insulin-like growth factor-1(IGF-1) In growth retarded Vietnamese children.Aam.J.Clin.Nutr,63 ,541—9.
- 8-Prasad,A.;Fitzgerald,J.;Hess,J.Kaplan ,J.;Pelen, F.;Dardenne ,M.(1993).Zinc deficiency in elderly patients ,Nutrition,9,218-24.
- 9-Record.(1991).Nutritional teratogenesis:In Rowland ,I.R .(ed.) Nutrition toxicology and cancer .CRC Press,Bocaraton.
- 10-NAS / NRC (1989) .Recommended dietary allowances .National Academy of Science /National Research Council .Washington DC. National Academy Press.
- 11-WHO (1996).Trace elements in human nutrition and health .World Health Organization .Geneva.
- 12-Khalifa,K.A.;Rhida,Y.P.;Hassan,F.K.;Al-razak,A.A.(1984) .The use of Nitrobluetetrazolium test for detection of phagocytic activity in adult rats infected with bacteria .India J.Comp .Microbiol .Immunol.Infect.Dis,5:47-54.
- 13-Hudson,I.and Hay,F.C.(1989).Practical immunology .3rd .ed. Black . Woo Scientific Oublications,Oxford,London, Ednburg ,Boston..
- 14-Ogasawara,M.;Kobayashi,S.;Hill,J.L.;Kono,D.H.;YuUccla,D.T.Y.(1985).Rabbit antisera against three different bacteria which can induce reactive arthritis :analysis by ELISA , Immunoprecipitation and Western blot.Immunol.54:665-676.
- 15-Federlin,K.;Main,R.N.;Russel,A.S.;Dumond,D.C.(1971). A micro method for peripheral leukocytes migration in tuberculin sensitivity .J.Clin.Path.24:533-536.
- 16- Dham,S.K.;thompson,R.A.(1982a).Studies of cellular and humoral immunity in typhoid fever and TAB vaccinated subjects. Clin.Exp.Immunol..48:389-395.
- 17-Girdon,S.(1999).in Fundamental Immunology ,ed. Pau l,W . (Lippincott-Raven. New York),PP 533-545.
- 18-Brewers,G.J.;Jhonson,V.;Kaplan,J.(1997).J.Lab.Clin.Med.129,649-652.
- 19-Bowers,J.M.(2002).Nutrition and immunity :You are what you eat . ACRIA Update ;11 (2) .
- 20-Gupta,R.P.;Verma.P.C.;Garg,S.R.(2000).Effects of experimental zinc deficiency on immunological responses in Salmonella-infected guinea pigs .J. Comp .Pathol .jul,123(1):1-6.
- 21-Fraker,P.J.;King,L.E.;Laakko,T.;Volmer,T .L.(2000).The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status J-Nutr:130(55suppl) 139—406
- 22-Shankar;A.H.Prasad,A.S.(1998).Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection ,Am.J.Clin .Natur;68(2suppl):4475-4635.
- 23-Spretsma,J.EE.(1999). Modern diets and diseases :NO-zinc balance under Th1 and NO collectively protect against viruses.AIDS, autoimmunity,diabetes

- allergies ,asthma ,infectious diseases atherosclerosis and cancer. *Med. Hypothesis* ,53(1):6-16.
- 24-Wellingheusin,N.;Martin,M.;Rink,L.(1997).Zinc inhibit Interleukine -1 dependent T-cell stimulation. *Eur. J. Immunol* .; 27 (0): 2529 -2535.
- 25-Lesourd,B.M.(1997).Nutrition and immunity in the elderly :modification of the immune response with nutritional treatment .*Am.J.Clin.Nutr.*66(2):4785—4845.
- 26-Prasad,A.S.(2000).Effect of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts .*J. Infect . Dis*:182Suppl 1:562—8.
- 27-Lostra,M.D.;Pastelin,R.;Camacho,A.;Monroy,B.;Aguilar,A.E.(2001) Zinc interaction on macrophages and lymphocytes response .*J.Trace.Elem.Med.Biol.*15(1):5-10.
- 28-Rink,L.and Gabriel,P.(2000).Zinc and the immune system .*Proc. Nutr. Soc* .Nov ; 59 (4):541-52.
- 29-Thurnham ,D.I.(1997).Micronutrients and immune function :some recent developments .*J.Clin.Pathol*.Nov;50(11):887-91.
- 30-Chavakis,T.;May,A.E. ;Preissner,K.T.Kansas,M.(1999). Molecular mechanism of zinc –dependent leukocyte adhesion involving urokinase receptors and B2 - Integrins. *Blood* 93 (9) 1-2976-2983 .
- 31-Bloom,B.R.and Bennet,B.(1966).Mechanism of reaction in vitro associated with delayed type hypersensitivity .*Sci.*153:80-82.[*Pup Med.*].
- 32-Senter,P.D.;Al-
Abed, Y.;Metz,C.N.;Benigni,F.;Mitchell,R.A.;Chesny,J.;Han,J.;Gartner ,C.G .; Nelson,D.N.;Todaro,G.J.;Bucala,R.(2002).Inhibitionof macrophage migration inhibition factor (MIF),tautomerase and biological activities by acetaminophen metabolites.*Proc.Natr.Acad.Sci*.Jan.8;99(1): 144 -149.USA.
- 33-Bucala,R.(1994).MIF previously unrecognized pituitary hormone and macrophage cytokine ,is a pivotal mediator in endotoxic shock.*Circ.Shock*,44:35-39.[*Pub. Med.*]