تاثير خميرة الـ *Candida albicans* في بعض المعايير الدموية والكيموحيوية في الفئران المختبرية

حنان عبد الرضا محمد* اقبال عبد العزيز حزام* محمد حسن خضر**

*كلية العلوم / قسم علوم الحياة /جامعة البصرة

** كلية الطب البيطري /جامعة البصرة

الخلاصة

استخدمت في هذه الدراسة (32) من الفئران المختبرية بيضاء اللون من سلالة Balb/c ومن كلا الجنسين بعمر شهرين اذ قسمت الى اربع مجاميع متساوية ثمان فئران لكل مجموعة واعطيت المجاميع الثلاثة الاولى بطريقة الحقن بالبريتون 0.5 مل من المعلق الخميري لخميرة الـ *Candida albicans* وبالجرع $1x10^6$,$1x10^8$,$3 x10^8$خلية خميرية/ مل على التوالي ،فيما اعطيت المجموعة الرابعة جرعة مقدارها 0.5 مل من المحلول الملحي المنظم المعقم وبالطريقة نفسها واعتبرت مجموعة سيطرة ثم شرحت جميع الحيوانات بعد ستة ايام من الحقن ودرست تاثيرات الخميرة على المعايير الدموية (والتي شملت عد خلايا الدم الحمر (RBC) والبيض(WBC) وقياس تركيز خضاب الدم Hb والحجم الخلوي المضغوطPCV) والمكونات الكيموحيوية والتي شملت قياس تركيز البروتين والكلايكوجين والكوليسترول في الانسجة . كما لوحظ انخفاض عدد خلايا الدم الحمر وزيادة عدد خلايا البيض في الحيوانات المعاملة مقارنة بحيوانات السيطرة، فيما لم تظهر قيم PCV وHb اختلافاً ملحوضاً عنها . لوحظ انخفاض قيم الكوليسترول معنوياً عن مجموعة السيطرة واختلافات القيم بين الانسجة المختلفة ($P<0.01$) . لم تختلف قيم البروتين في الحيوانات المعاملة عن مجموعة السيطرة ولكنها اختلفت باختلاف الانسجة المدروسة ($P<0.01$) . كما شهد محتوى الكلايكوجين انخفاضاً معنوياً عن مجموعة السيطرة فيما لم تشهد الانسجة المدروسة اي اختلاف معنوي فيما بينها .

The effect of *candida albicans* on some blood and biochemical parameters in laboratory mice .

Summary

In the present study , 32 white mice Balb /C (two months age) were used ,there were divided into four equal groups . Three groups were injected with fungal suspention of *candida albicans* in doses of $1x10^6$,$1x10^8$ and $3x10^8$ cell/ml ,whereas the fourth group was regarded as control and injected with 0.5 ml normal saline solution . All were dissected after 6 days of injection to study the physiological effect of the yeast on blood , which include RBCand WBC count ,

Hb concentration and PCV ratio . And on biochemical content which include the determination of protein , glycogen and cholestrol in liver ,kidney and muscles .

The results showed that the number of RBC were decreased ,while WBC were increased in the injected mice ,but there were no signifficant effect on PCV and Hb . On the other hand ,cholestrol values were decreased significantly in the injected mice in comparison with control,but this decrease was varied in different tissues ($P<0.01$).The value was lower in liver ,whereas no signifficant difference was found between Kidney and muscles . Protein values were not signifficantly different in comparison with control , but it was different among tissue studied .muscles was the highest value and the liver was lowest . Glycogen decreased signifficantly in comparison with control ,but not among tissues.

المقدمة

داء المبيضات Candidiasis هو اصابة فطرية اولية او ثانوية تنتج عن خميرة الـ*Candida* (Baron و جماعته ، 1999) وقد تكون حادة شديدة او متوسطة مزمنة وتحدث الاصابة الثانوية اثر الاصابة بمرض التدرن الرئوي او أي اخماج بكتيرية او فايروسية اذ اكد Magalhaes (1995) انه تم عزل خميرة الـ *Candida* من مرضى التدرن الرئوي فوجد ان النوع *C.albicans* هو المسبب المرضي الاكثر شيوعاً لداء المبيضات فيما تعد انواع الـ *Candida* الاخرى مثل*C.parasilasis*, *C.krusei*, *C.tropicalis* مسببات ثانوية للاصابة (Ashmanوجماعته، 1999 و Ellis ,1994)

وتهدف الدراسة الحالية الى تسليط الضوء على التاثيرات التي تحدثها خميرة الـ *C.albicans* على بعض المعايير الدموية والمكونات الكيموحيوية في الفئران المختبرية .

المواد وطرائق العمل

1 – تحضير المعلق الخميري :-

حضنت خميرة الـ*Candida albicans* والمشخصة من قبل Khudor (1998) تحت درجة حرارة 37 $^{\circ}$م لمدة من 5-3 ايام واضيفت الى 5 مل من محلول الملح المنظم المعقم المضاف اليه 0.05 مل توين -80 وبعد الرج في جهاز الهزاز Shaker ولمدة ساعتين حسبت الخلايا الخميرية باستخدام جهاز الهيموسايتوميتر المطور(, Sadana,Chandhary1988).

2 – الحيوانات التجريبية المستخدمة :-

استخدم في هذة الدراسة 32 من الفئران المختبرية البيضاء ذكوراً واناثاً من سلالة Balb/c وبعمر شهرين حيث قسمت الفئران الى اربع مجاميع (ثمان حيوانات لكل مجموعة اربعة ذكور ومثلها اناث) ثم اعطيت احدى المجاميع جرعة مقدارها 0.5 مل من المحلول الملحي المنظم المعقم عن طريق الحقن بغشاء الجنب البريتوني واعتبرت مجموعة سيطرة ، فيما اعطيت المجاميع الثلاثة الاخرى وبالطريقة نفسهاالجرع x108,1x108,1x106 3خلية خميرية / مل من المعلق الخميري بعد ذلك لوحظت الحيوانات لمدة ستة ايام ، شرحت بعدها ودرست تاثيرات الخميرة الفسلجية على معاييرها الدموية ومحتواها الكيموحيوي في الانسجة .

3 – جمع عينات الدم :-

شرحت الفئران بعد تخديرها بمادة الايثر ثم جمع الدم من القلب مباشرة ووضع في انابيب بلاستيكية سعة 5 مل مزودة بمادة مانعة للتخثر EDTA لغرض دراسة التاثيرات الحاصلة على عوامل الدم .

4- تحاليل الدم :-

اجريت جميع التحاليل الخاصة بالدم في اليوم ذاته بالاعتماد على الطرق المذكورة في Schalmو جماعته(1975) و Coles (1986) .

5- التحاليل الكيموحيوية :-

تم قياس المكونات الكيموحيوية والمتضمنة تركيز كل من الكوليسترول والبروتين والكلايكوجين لانسجة الكبد والكلية والعضلات باستخدام طريقة Southerlandوجماعته(1942) و Krishnaswamy و Srinivassan (1961) و Varley(1967) على التوالي .

6- التحليل الاحصائي :-

استخدم تحليل التباين test 2way- ANOVA لمعرفة تاثير الخميرة على الصفات المدروسةباستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز الMinitab.

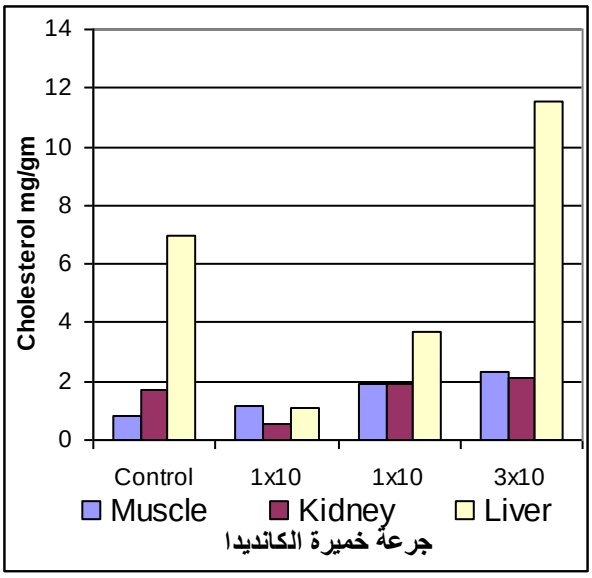
النتائج

1- المكونات الكيموحيوية :-

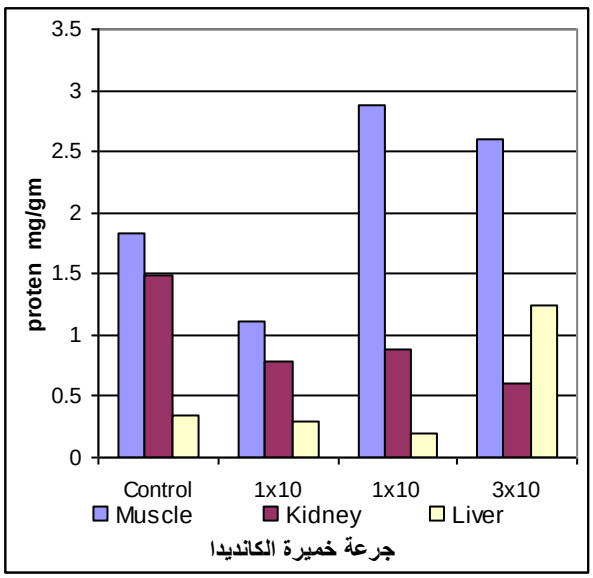
اظهرت النتائج انخفاض قيم الكوليسترول معنوياً شكل (1) ($P<0.01$) عن معاملة السيطرة وظهرت اختلافات معنوية ($P<0.01$) في قيمته باختلاف الانسجة المدروسة اذ ازدادت في الكبد ولم تظهر الكلية اختلافاًمعنوياً عن العضلات كما لم تختلف قيم البروتين معنوياً شكل (2)عن معاملة السيطرة الا ان الاختلافات كانت معنوية ($P<0.01$)باختلاف الانسجة المدروسة ، اذ ارتفعت في العضلات تلتها في الكلية ثم في الكبد وشهد محتوى الكلايكوجين شكل (3) انخفاضاً معنوياً عن معاملة السيطرة فيما لم تشهد الانسجة المدروسة اي اختلاف معنوي فيما بينها .

2- المعايير الدموية :-

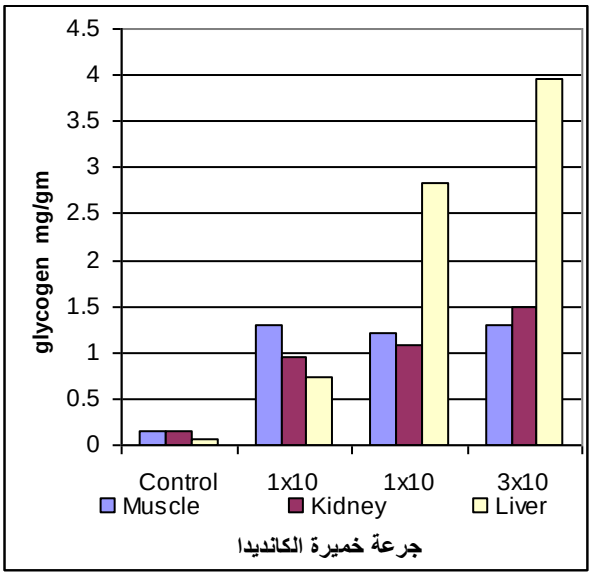
اظهرت النتائج وجود اختلافات معنوية ($P<0.01$) في عدد WBC شكل (4) في الفئران المحقونة بالتراكيز المختلفة للخميرة اذ ازدادت في الحيوانات المحقونة بالمعلق الخميري مقارنة بمعاملة السيطرة وكانت في الذكور اقل مما في الاناث بينما شهدت اعداد RBC شكل (5) انخفاضاً معنوياً ($P<0.01$) مقارنة بمعاملة السيطرة ولم تختلف الجرعتان $1X10^8$,$1X10^6$ خلية خميرية /مل معنوياً وتميزت الذكور بارتفاع العدد معنوياً عن الاناث ولم يظهر وجود اختلافات معنوية ($P>0.05$) في قيم PCV و Hb شكل (6,7) باختلاف التراكيز المستخدمة مقارنة بمعاملة السيطرة وكذلك لم تظهر اختلافات معنوية($P>0.05$) في قيم PCV و Hb بين الذكور والاناث .



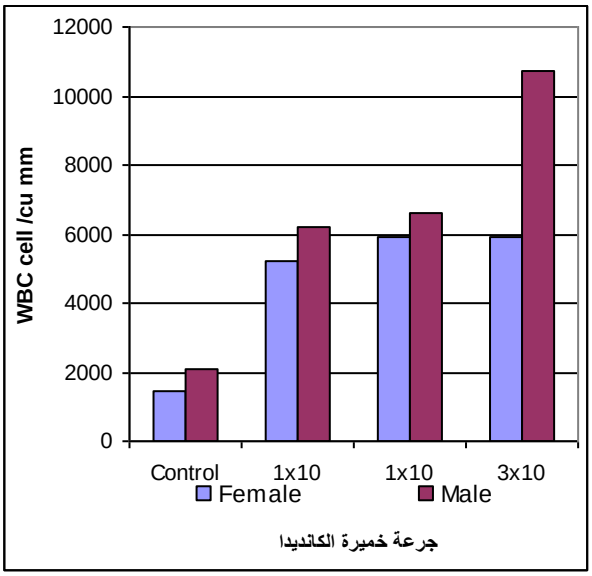
شكل (1) تأثير خميرة *Candida albicans* في محتوى الكوليسترول في الانسجة المختلفة بالفئران .



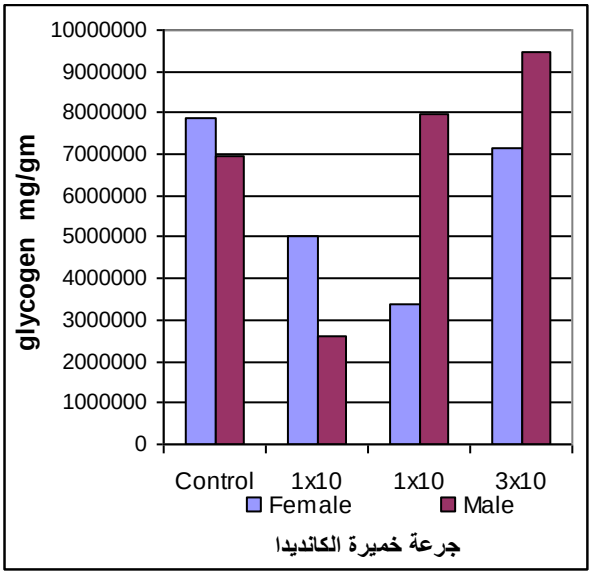
شكل (2) تاثير خميرة *Candida albicans* في محتوى البروتين في الانسجة المختلفة بالفئران.



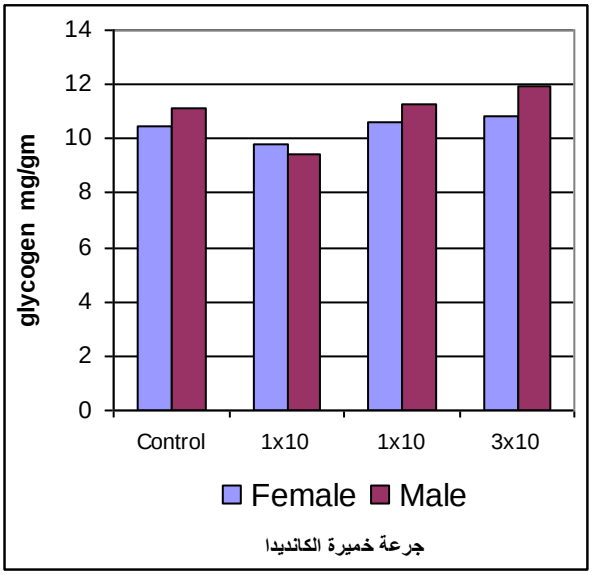
شكل (3) تاثير خميرة Candida albicans على محتوى الكلايكوجين في الفئران المختبرية



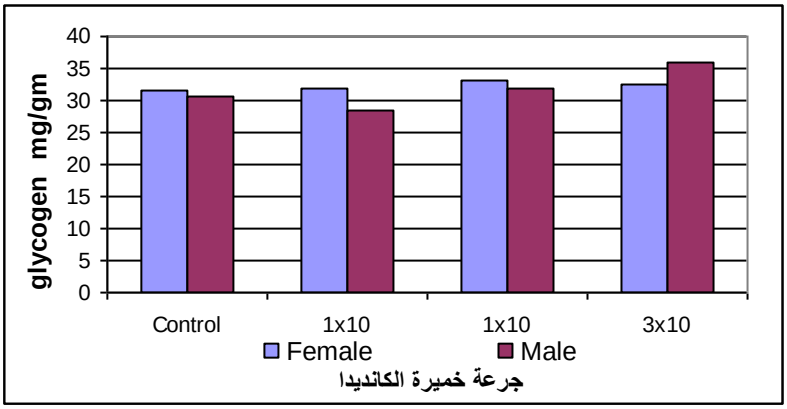
شكل (4) تاثير خميرة Candida albicans في عدد خلايا الدم البيض في دم الفئران



شكل (5) تاثير خميرة Candida albicans في عدد خلايا الدم الحمر في الفئران



شكل (6) تاثير خميرة Candida albicans على خضاب الدم



شكل (7) تاثير خميرة Candida albicans على كريات الدم المضغوطة

المناقشة

تشير الزيادة المعنوية الحاصلة في اعداد خلايا الدم البيض في الفئران المحقونة بالـ *Candida albicans* بالمقارنة مع فئران السيطرة الى مقدار الاستجابة المناعية الشديدة للاصابة الفطرية ، اذ تعتبر كريات الدم البيض الخط الدفاعي الاول لتلك الاستجابة اثر الاصابات المختلفة(Anderson,1980) وعموماً تتميز اغلب الاصابات الطفيلية بحدوث زيادة ملحوظة في اعداد خلايا الدم البيض اذ يعد ذلك احد ابرز علامات الاستجابة المناعية للاصابة وتحدث الزيادة استجابة لتحرر الهستامين لاسيما وان هذة المادة تعد عامل جذب كيمياوي وان اي حالة تؤدي الى تحطيم الخلايا البدينة (Mast cells) وبالتالي تحرر الهستامين من حبيباتها تساعد على زيادة خلايا الدم البيض لاسيما الحمضية منها (Archer,1968) وقد يكون هذا تفسيراً ينطبق على ما يحدث في الاصابات الفطرية .

ومن جهة اخرى قد يكون لقدرة الفطر على الانتشار واصابة الاعضاء ومنها الرئة تفسير لتلك الزيادة فقد لاحظ Fulenma وجماعته (1995) دراسته للامراضية النسيجية histopatholgy في الفئران المصابة بداء المبيضات الرئوي Pulmonary Candidiasis زيادة ملحوظة في اعداد خلايا الدم البيض متعددة الانوية Polymorphonuclear Leukocytes نتيجة لارتشاحها من الانسجة الى الدم المحيطي .

في حين كان للانخفاض المعنوي لاعداد خلايا الدم الحمر في ذكور واناث الفئران المحقونة مقارنة بمعاملات السيطرة موشراًواضحاً على تاثير الفطر على مراكز خزن هذة الكريات واهمها الكبد والطحال ، فقد ذكر Muret وجماعته (1995) ان للاصابة بداء المبيضات الجلدي cutaneous candidiasis التي تسببها الـ *Candida* دوراً رئيساً في حصول فقر الدمaplastic anaemia .لم يكن للفطر المدروس تاثير معنوي على قيم بروتين المصل في كلا المجموعتين (فئران السيطرة والفئران المصابة) ولكن كان الاختلاف معنوياً عند مقارنة قيم البروتين في التركيزين $1x10^6$,$1x10^8$ خلية خميرية / مل الذي اتسم بالزيادة الواضحة في التركيز الاول والانخفاض الملحوظ في التركيز الثاني وربما يعزى السبب في هذا الاختلاف الى اسباب تقنية في العمل ليس لها علاقة بالاصابة الفطرية وتاثيراتها الفسلجية على المعايير المدروسة ، اذ لم يكن هذا الاختلاف (الزيادة والنقصان) معنوياً عند مقارنته مع عينة السيطرة .وعند دراسة تاثير الاصابة على قيم البروتين في الانسجة ، لوحظ زيادة تركيزه في العضلات مقارنة بنسيجي الكبد والكلى وربما يعطي ارتفاع الكوليسترول في نسيج الكبد تفسيراً للالية التي انخفض بها بروتين الكبد كنتيجة لمدى الضرر الذي الحقته الاصابات الفطرية لذلك النسيج باعتباره مركزاً لخزن تلك البروتينات وصنعها وقد يكون نقصان البروتين نتيجة للطلب المتزايد عليه في الجسم لتعويض النقص الحاصل مما ادى الى استنفاذ البروتين من مخازنه الرئيسية (Kanekoوجماعته ،1997) .

رافق الاصابة الفطرية للفئران نقصان حاد في قيم كوليسترول مصل الدم مما يشير الى قدرة الفطر على غزو نسيج الكبد واتلافه اذ يعد الكبد عضواً مسؤولاً ومسيطراً على اغلب الفعاليات الايضية فهو العضو الخازن للكلايكوجين والدهون وبعض الفيتامينات والمسؤول عن تصنيع بروتينات البلازما وبضمنها العوامل المسؤولة عن تخثر الدم اثناء الجروح وهو العضو المسؤول عن ازالة السمية(Detoxification ,1980Anderson) .

وجميع ما سبق ذكره يمكن ان يكون تفسيراً مقنعاً للنقص الحاد في قيمة كوليسترول المصل نتيجة ترسبه في نسيج الكبدمما ادى الى زيادة تركيزه في ذلك النسيج وحسب النتائج الموضحة في (شكل 1) .ومن ملاحظة المسار الايضي للكوليسترول ، نجد انه ليس للكلى والعضلات دور فاعل في ايض الكوليسترول مما يفسر عدم وجود اي اختلاف في قيمة هذا المعيار البايوكيمياوي في كلا الجنسين (Kaneko وجماعته ، 1997).ساهمت الاصابة الفطرية في زيادة تركيز الكلايكوجين معنوياًفي الفئران المصابة مقارنة مع حيوانات السيطرة ، وربما يعزى السبب في ذلك الى الضرر الحاصل في نسيج الكبد مما ادى الى طرحه الى مصل الدم بتراكيز عالية بعد فقدانه من النسيج المتضرر ، اذ يعد الكبد مخزناً رئيساً للكلايكوجين في الجسم (Anderson ,1980).

References

1. Anderson , J.R.(ed.) (1980) . Muirs textbook of pathology . 11th . ed., Edward Arnold , London : 652PP.
2. Archer,G.T.(1988) . Mast cell changes in rats with Eosinophilia. Bath. Bact., 195.(217-224).
3. Ashman,R.B., papadiamitrion, J.M. and Fulurija, A.(1999) .Acute susceptibility of aged mice to infection with *candida albicans* . J.Med.48: 1095-1102.
4. Baron , C., Howard , M. and Turner, L. (1994) . Medical microbiology, 2nd ed.,New York.
5. Chandhary, S.K. and Sadana, J.R (1988) . Experimental aspergillosis in Japanes quails (Cotarnix Cotarnix Japonica) Clinical Signs and haematological changes. Mycopathol. 102:179-
6. Coles, E. H. (ed.) (1986).Veterinary Clinical Pathology . 4th ed., W.B. Sannders Company ,Philadelphia, London : 457.
7. Ellis , D. H. (1994). Clinical Mycology. The human opportunistic mycosis, Gillingham Printers Pty Ltd . Australia: 76.
8. Fulenma, M.; Higa, F.;Zhang, K. X.; Kusano, N,and Saito , A.(eds.) (1994) . Effect of biological response mochfers against Pulmonary Candidiasis in neutropenia mice . Apr .; 68 (4) : 531-519.

9. Kaneko, J.; Harvey , J. W. and Beass, M.L. (eds,) (1997) . Clinical biochemistry of domestic animals . 5th ed., Academic press, London; 907 PP.
10. Khudor , M.H. (1998) .A study on vaginal Candidiasis in Basrah women and effect of fine antifungal drugs on some clinical isolates. MSC. Theseis college of science , university of Basrah . Iraq.
11. Krishnswamy, S.and Srinlivassan , V. V. (1967) . Asimple method for the determination of glycogen concentration in marine animal . Curr. Sci. 30: 353.
12. Magalhaes, O.M.C., Ade Qaeiroz, L. and de Souza , C. M. (1995) . Sputum colonization by *Candida* In – Patients of the pneumology unite of general hospital Recife (Brasil) . II. Boletin micologico. 10 < 1-2> : 101 – 106.
13. Muret, A.; Machet , L. and Grangeponte, M.C.(eds) (1995) . cutaneous candidiasis due to *Candida parapsilosis* occurring in the course of idiopathic aplitic anaemia. Ann pathol ., 15(4) : 276-279 .
14. Southerland , E. W., Cori, C. F., Haynes, and R. Lesom , N.S.O.(1942) . Purification of the hyper glycemic glycogenolytic factor from insline and from gastric mucosa . J. Biol. 180: 824 – 637.
15. Schalm, O. W., Jain, N. C. and Carroll, E.J.(eds.) (1975) . Veterinary hematology . 3rd ed., Lee and Febiger, Philadelphia: 807.
16. Varley, H.(1967) . Lipids. In Practical clinical biochemistry . Ed. By Varley , Heinemann London and wiley (inter science) New York : 309-326.