التأثيرات المناعية لأنزيم بولي أمين اوكسيديز المنقى جزئياً من السائل المخي الشوكي ضد الخمج بداء الاكياس العدرية الثانوي في الفئران III. نمو وتطور الأكياس العدرية♦

خولة احمـــد آل فليح — قسم الكيمياء
أسماء عبد العزيز علي — قسم علوم الحياة
وثبة إدريس علي — قسم الكيمياء
كلية التربية / جامعة الموصل

ABSTRACT

The study included immune response to infection with secondary hydatid disease in BALB/c mice activated by partially purified Cerebrospinal fluid-polyamine oxidase CSF-PAO with spermine (Spm) and infected with protoscoleces of *Echinococcus granulosus*. The pathological changes occurred in mice activated by different concentrations of PAO(200-1600µg/10gm body weight) with constant concentration (200µg/10gm body weight) of substrate (spermine), and by the same concentration of spermine alone, were followed in comparison with positive control group along one month, depending on many criteria. These criteria included changes in numbers, weights and diameters of hydatid cysts, and their percentage reduction. In addition, changes in weights of liver and spleen and their organ indices .The results revealed an obvious decrease in numbers, weights and diameters of secondary hydatid cysts grown for one month in activated mice, in comparison with the +ve control group, supported by elevation in the percentage of reduction of hydatid cysts in activated mice.A decrease in the mean of liver and spleen weights, and a variation in organ indices in activated mice occurred within one month, whereas no change was observed in the mean of spleen weight, in comparison with +ve control group.

Therefore, it may be concluded here that PAO isolated from CSF with Spm could be considered as an effective immunumodulator against infection with secondary hydatid disease.

الخلاصة

تضمنت الدراسة استجابة الجهاز المناعي للإصابة بالأكياس العدرية الثانوية في الفئران البيض BALB/c المفعلة بانزيم PAO المستخلص من CSF مع السبرمين (Spm) والمخمجة بالرؤيسات الاولية لدودة المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus*. تمـــت متابعـــة

♦ البحث ملقى في المؤتمر الأول لعلوم الحياة في كلية التربية جامعة الموصل للفترة 4 – 5 أيلول 2007

التغيرات المرضية الحاصلة في الفئران البيض المفعلة باستخدام تراكيز مختلفة (200-1600 مكغم/10 غم وزن الجسم) من انزيم PAO مع تركيز ثابت(200 مكغم/10 غم وزن الجسم) من مادة الاساس السبرمين، وكذلك باستخدام التركيز نفسه من مادة الاساس السبرمين لوحده، بالمقارنة مع مجاميع السيطرة الموجبة طوال فترة شهر واحد، بالاعتماد على معايير عدة تضمنت التغيرات الحاصلة في معدل أعداد، أوزان، أقطار الأكياس العدرية والنسب المئوية لاختزال عددها، فضلا عن دراسة التغيرات الحاصلة في معدل أوزان الكبد والطحال ومعدل تضخمهما.

اظهرت النتائج حدوث انخفاض واضح في معدل اعداد، اوزان واقطار الاكياس العدرية الثانوية في الفئران المفعلة، وعلى مدى شهر، بالمقارنة مع فئران السيطرة الموجبة، وعزز ذلك ارتفاع النسب المئوية لاختزال اعداد الاكياس العدرية في الفئران المفعلة. كما حدث انخفاض في معدل اوزان الكبد والطحال وتفاوت معدلات تضخمهما في الفئران المفعلة على مدى شهر واحد، بالمقارنة مع فئران السيطرة الموجبة .اتضح من هذه الدراسة ان انزيم PAO المستخلص من CSF الاطفال مع السبرمين يعمل معدلا مناعيا مؤثرا ضد الاصابة بداء الاكياس العدرية الثانوية.

المقدمة

مركبات متعددة الأمين

إن أنزيمات بولي أمين اوكسيديز Polyamine Oxidases (PAO) تحفز أكسدة وحذف مجاميع الأمين من مركبات متعددة الأمين مثل سبرمين Spermine (Spm) وسبرمدين Spermidine (Spd) ومشتقاتهما بألفة عالية، وله دور هام في تنظيم مستويات مركبات PA داخل وخارج الخلايا [2,1]. وجدت إنزيمات PAO في معظم الأنسجة وسجلت أعلى فعالية له في عضيات المايتوكوندريا، السايتوبلازم البيروكسي سومات[3].

تمتلك البلاعم الكبيرة macrophages المنشطة فعالية متزايدة للـ PAO، وانه مسؤول عن الاحداث التي تؤدي إلى قتل الطفيليات[4]، اذ وجد أن المنشقة المانسينية *Schistosoma mansoni* والدودة الخيطية *Dirofilaria immitis* كانت عالية الحساسية لنظام (PA-PA0) خارج الجسم في الزجاج،اذ حصل تحطيم ليرقات الديدان الخيطية بعد حضنها مع Spm او Spd بوجود المصل الحاوي على PAO او PAO المنقى جزئيا [5].

داء الأكياس العدرية hydatid disease أو داء المشوكات الكيسي cystic echinococcosis من الأمراض القديمة المهمة والمشتركة بين الإنسان والحيوان zoonotic disease [6] .ويعد من الأمراض الطفيلية المزمنة وغالبا ما يستمر وجود الكيس العدري

طيلة مدة حياة المضيف . ينشأ المرض عن تطور أكياس عدرية في أعضاء مختلفة من جسم الإنسان والمضائف الوسطية الأخرى بعد ابتلاع بيوض الدودة الشريطية التي تتبـــع جـــنس المشوكات *Echinococcus* .ينتج الكيس العدري hydatid cyst أوطور الشريطية البعدية Metacestode بعد أن يفقس الجنين سداسي الأشواك oncosphere من البيضة في الأمعاء الدقيقة ويخترق جدار الأمعاء لينتقل مع الدم إلى أعضاء الجسم المختلفة حيث تنمو الأكيـــاس بصورة مألوفة في الكبد الذي يعد المرشح الأول في الجسم ، ولكنها يمكن أن توجـــد أيـــضا وبدرجات مختلفة في الرئتين والتجويف البطني والدماغ والطحال والكليتين والعظام ، ويعـــد الإنسان مضيفا وسطيا عرضيا لهذا الطفيل [7] .ومنذ عرف داء الأكياس العدريـــة وتـــأثيره المرضي بشكل واضح بدأ الإنسان بمحاربته من خلال محاولات جادة للقضاء عليه باستخدام عقاقير مختلفة .وقد نجحت هذه المحاولات نجاحا جزئيا إلا أن هذا النجاح لا يمكن أن يعتمـــد عليه كمؤشر للقضاء على هذا المرض بشكل كامل .

اتجهت البحوث في العقود الأخيرة إلى البحث عن مـــواد تعمـــل محفـــزات مناعيـــة Immunostimulators او معدلات مناعية Immunomodulators للوقاية من الأمـــراض الطفيلية أو المساعدة في معالجتها، سواء كانت تلك التي تعمل بشكل نوعي Specific أو غير نوعي non-specific في تحسين الاستجابة المناعية للمضيف وتطويرها. ومن خلال البحوث التي حصلنا عليها من مصادر مختلفة، والاطلاع على ما نشر عن إنزيم PAO ، تبين انه لم يسبق وان استخدم هذا البروتين بوصفه معدلا مناعيا ضد الخمج بالأكياس العدرية، لذا فقـــد اختير في الدراسة الحالية لهذا الغرض كمحاولة أولى للتعرف علـــى تـــأثيره ضـــد الخمـــج بالأكياس العدرية.

المواد وطرائق العمل

عينات السائل المخي الشوكي

تم الحصول على15 عينة CSF وبواقع 0.5–1 ملي لتر للعينة الواحدة، من أطفـــال أصحاء تراوحت أعمارهم بين سنة – خمس سنوات (5 ذكور و10 اناث) ،جمعت العينـــات من مختبرات مستشفى ابن سينا التعليمي في الموصل.

تقدير كمية البروتين في الـــ CSF

استخدمت طريقة لاوري المعدلة [9,8] في تقدير كمية بروتين الـــ CSF.

قياس فعالية أنزيم PAO في الـ CSF

قيست فعالية أنزيم PAO باستخدام طريقة فليح المحورة [10] وDahel [11]. استخدمت الظروف المثالية التي يعمل عليها أنزيم PAO للـ CSF [12].تمت التنقية الجزئية لأنزيم PAO من CSF الأطفال باستخدام طريقة الفرز الغشائي[13] وكروماتوغرافيا التبادل الأيوني [14].

الحيوانات المختبرية

استخدمت الفئران البيض سلالة BALB/c في الدراسة الحالية.عزلت الذكور في أقفاص وبواقع 5-6 / قفص إذ استخدمت في التجارب المختلفة بعمر 3-4 أسابيع مع مراعاة الحفاظ عليها في الظروف الملائمة لنموها .

الأكياس العدرية

تم الحصول على الأكياس العدرية من الجزارين في مدينة الموصل والتي عزلت من أكباد الأغنام المذبوحة. استخدمت طريقة Smyth [15] للحصول على الرؤيسات الأولية و قدرت حيوية الرؤيسات [16].حقنت الفئران عبر التجويف ألخلبي Intraperitoneal Cavity بمايقارب 2000 رؤيس أولي حي [17].

تصميم التجارب

التجربة الأولى

حقن 25 فارا عبر الخلب بتركيز 200 مكغم /10 غرام من وزن الجسم بمادة الأساس سبرمين مضافا اليها تراكيز مختلفة (1600,1200,800,400,200 مكغم /10 غرام من وزن الجسم) من أنزيم PAO المستحصل من القمة الأولى من عملية التنقية باستخدام التبادل ألايوني، ثم خمجت الفئران بما يقرب من 2000 رؤيس اولي حي /فار بعد 24 ساعة من التفعيل . حقنت 5 فئران عبر الخلب بتركيز 200 مكغم /10 غرام من وزن الجسم بمادة الأساس سبرمين)، وبواقع 5 فئران/ تركيز، ثم خمجت الفئران بما يقرب من 2000 رؤيس اولي حي /فار بعد 24 ساعة من التفعيل . خمجت 5 فئران بالعدد نفسه من الرؤيسات الأولية الحية فقط كمجموعة سيطرة موجبة (+ ve Control) .شرحت الفئران جميعها بعد شهر من إحداث الخمج . تم تحديد التركيز الامثل للانزيم من هذه التجربة .

المعايير المختارة للدراسة

نمو الأكياس العدرية

ثبتت الفئران بعد تخديرها في طبق تشريح ، وفتحت البطن للتحري عن وجود الأكياس العدرية وانتشارها بمساعدة العدسة المكبرة .عزلت هذه الأكياس عن الجسم لغرض تعيين وزنها وقياس إبعادها باستخدام القدمة Vernea.

دراسة التغيرات الحاصلة في أوزان الكبد والطحال

عين وزن الكبد والطحال بعد فصلهما عن الجسم بوساطة ميزان حساس ، وحسب معامل العضو Organ Index وفق المعادلة التالية [18]:

$$\text{معامل العضو} = \left(\frac{\text{وزن العضو}}{\text{وزن الجسم - وزن الكيس}} \right) \times 1000$$

التحليل الاحصائي

تم تحليل نتائج تجارب اعداد ، اوزان واقطار الاكياس العدرية ، اوزان الكبد والطحال ومعدلات تضخمهما،باستخدام اختبار t [19].

النتائج والمناقشة

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

معدلات أعداد وأوزان وأقطار الأكياس العدرية باستخدام جرعات PAO مختلفة التركيز

يتبين من الجدول (1) التغيرات الحاصلة في معدلات أعداد، أوزان، أقطار الأكياس العدرية والنسب المئوية لاختزال أعدادها في الفئران المفعلة بجرعة واحدة من إنزيم PAO وبتراكيز تتراوح من (200-1600 مكغم/10غم وزن الجسم) مع تركيز ثابت من Spm (200مكغم/10غم وزن الجسم)، وباستخدام التركيز نفسه من Spm لوحده، قبل 24 ساعة من الخمج لمدة شهر واحد مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة . لوحظ انخفاض معنوي عال ($P < 0.001$) في معدلات أعداد الأكياس في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO ولكل من تراكيز PAO المستخدمة، بلغ أقصاه عند التركيز 1200 مكغم/10غم وزن الجسم 0.8،كما لوحظ انخفاض في معدل عدد الاكياس في الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده بلغ 2.8 وكان الفرق معنويا($P < 0.005$)، بالمقارنة مع معدل عدد الاكياس لمجموعة السيطرة الموجبة.

أما بالنسبة لمعدلات أوزان الأكياس، فقد لوحظ انخفاض معنوي ($P < 0.001$) في معدلات أوزان الأكياس في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO ولكل من تراكيز PAO المستخدمة، بلغ اقصاه عند التركيز 1200 مكغم/10غم وزن الجسم 0.14 ملغم.اما مجموعة الفئران

المفعلة بالـ Spm لوحده، فقد انخفض معدل وزن الاكياس وبفرق معنوي عال ($P < 0.001$)،اذ بلغ 0.26 ملغم مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة 1.12 ملغم.

وفقا لذلك فقد انخفضت معدلات أقطار الأكياس انخفاضا معنويا عاليا($P < 0.001$) في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO، إذ اظهر التركيز 1200 مكغم/10غم وزن الجسم انخفاضا كبيرا في معدل قطر الاكياس بلغ 0.042 ملم،بينما بلغ معدل قطر الاكياس في مجموعة الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده 0.10 ملم وكان الفرق معنويا عاليا($P < 0.001$)، مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة 1.05 ملم .يتبين من الجدول نفسه ارتفاع واضح في النسبة المئوية لاختزال أعداد الأكياس في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO،إذ أن أعلى نسبة اختزال كانت عند التركيز 1200 مكغم/10غم وزن الجسم 84%.بينما كانت النسبة المئوية لاختزال عدد الاكياس في الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده مرتفعة ايضا 44%.

ان الاختزال الواضح في أعداد الأكياس العدرية الثانوية مع انخفاض أوزانها وأقطارها في الفئران المفعلة يشير الى عدم قدرة او ضعف قابلية الرؤيسات الأولية على التغلب على الجهاز المناعي في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO مقارنة مع فئران السيطرة المخمجة غير المفعلة. وقد تعود قلة نمو الأكياس العدرية في الفئران المفعلة بنظام Spm -PAO الى زيادة تنشيط البلاعم (بوصفها خطا دفاعيا مهما) بوساطة هذا النظام[20].وقد اشارت الدراسات الى استخدام PAO وPA-PAO ضد إصابات طفيلية مختلفة، إذ لاحظ الباحثون [21] تثبيط نمو أربع عزلات مختلفة من طفيلي الملاريا الخبيثة *Plasmodium falciparum*عند تحضينها مع خليط من PA-PAO في الزجاج، غيران الباحثين اقترحوا ان التأثير القاتل سببه الاكرولين، احد نواتج التفاعل الإنزيمي، الذي يمتلك تاثيرا سميا للخلايا حقيقية النواة [22]وبدائية النواة [23] واشار باحثون آخرون [24]أن المركبات الوسطية الفعالة للأوكسجين (ROI) والنتروجين(RNI) التي تتحرر من البلاعم الكبيرة المنشطة لها تأثير على حث توقف تكاثر الطفيلي *Plasmodium spp.* و *Babesia bovis* فضلا عن تأثير الاكرولين عليهما. بهذا فان قلة نمو الاكياس العدرية في الفئران المفعلة بنظام PAO-Spm في الدراسة الحالية قد يعزى ايضا الى تاثير الاكرولين ناتج التفاعل الانزيمي للنظام .

يلاحظ الانخفاض المعنوي الحاصل في كل من اعداد، أوزان وأقطار الأكياس العدرية اضافة الى النسبة المئوية الواضحة لاختزال أعدادها في الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده. ان الفعل التثبيطي للسبرمين قد يعود الى امتلاك هذا المركب عدة خواص مميزة ، منها قابليته على التاصر ألايوني مع مركبات سالبة الشحنة لمكونات الكيس مثل الفسفوليبيدات [25]، فضلا عن قدرته على تحرير مركبات فعالة بايولوجيا كنواتج هدمية بتاثير الاكسدة مثل الامونيا، بيروكسيد الهيدروجين، الاكرولين ومركبات الالديهايد [26] ويمكن ان يكون هناك

ارتباط للـــ Spm مع الاحماض النووية لمكونات الكيس مما يؤدي الى ضـــعف الوظـــائف البايولوجية للاحماض النووية وينتج التشوهات التركيبية الحاصلة [27].

الجدول(1): التغيرات الحاصلة في معدلات أعداد، أوزان، أقطار الأكياس العدريـــة والنـــسب المئوية لاختزال أعدادها في الفئران المفعلة باستخدام تراكيز مختلفة من إنزيم PAO مـــع تركيز ثابت من مادة الأساس Spm، وباستخدام التركيز نفسه من Spm لوحده، وبجرعـــة واحدة قبل 24 ساعة من الخمج مقارنة بفئران السيطرة المخمجة لمدة شهر واحد.

التراكيز (مكغم)		أعداد الأكياس	أوزان الأكياس (ملغم)	أقطار الأكياس (ملم)	النسبة المئوية للاختزال %
PAO	Spm				
200	200	1.51±*2.6	0.05±****0.25	0.03±****0.134	48
400	200	0.54±****2.4	0.09±****0.26	0.01±****0.142	52
800	200	0.89±****1.6	0.08±****0.20	0.02±****0.094	68
1200	200	0.83±****0.8	0.16±****0.14	0.04±****0.042	84
1600	200	0.70±****2.0	0.12±****0.30	0.01±****0.104	60
–	200	0.84±***2.8	0.05±****0.26	0.01±****0.100	44
C+		0.70±5.0	0.09±1.12	0.11±1.050	0

C^+ فئران السيطرة المخمجة فقط بدون تفعيل

* الفروق معنوية عند ($P < 0.05$) *** الفروق معنوية عند ($P < 0.005$)

** الفروق معنوية عند ($P < 0.01$) **** الفروق معنوية عند ($P < 0.001$)

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

ان نتائج دراستنا باستخدام نظام Spm -PAO و Spm لوحده كمعدلات مناعية ضد الاصابة الثانوية بداء الاكياس العدرية في الفئران البيض كانت مشابهه لنظيراتها المستحصل عليها من استخدام السكر المتعدد الدهني المعزول مـــن بكتيريـــا *Escherichia coli* [28] و *Pseudomonas aeruginosa* [29] .

معدلات أوزان الكبد والطحال ومعدلات تضخمهما باستخدام جرعات PAO مختلفة التركيز

يتبين من الجدول (2) التغيرات الحاصلة في معدلات أوزان الكبد والطحال ومعدلات تضخمهما في الفئران المفعلة بجرعة واحدة من إنزيم PAO وبتراكيز تتراوح مـــن (200-1600 مكغم/10غم وزن الجسم) مع تركيز ثابت من Spm (200 مكغم/10غم وزن الجسم)، وباستخدام التركيز نفسه من Spm لوحده، قبل 24 ساعة من الخمج لمدة شهر واحد مقارنـــة بفئران السيطرة الموجبة (المخمجة وغير المفعلة)،إذ أظهرت التراكيز انخفاضا في معـــدلات

أوزان الكبد في مجاميع الفئران المفعلة بلغ أدناها 1.44غرام عند التركيزين (1200و 1600 مكغم/10غم وزن الجسم)، وبفروق معنوية ($P < 0.05$) ،مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 1.67 غرام. أما معدلات تضخم الكبد فقد اظهرت تباينا في قيمها، إذ اظهر التركيز 1600 مكغم/10غم وزن الجسم انخفاضا قليلا 68.6 ،مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 69.2 ،في حين أظهرت بقية التراكيز معدل تضخم أعلى من السيطرة الموجبة ، وكانت الفروق جميعها غير معنوية .

بالنسبة لأوزان الطحال، فقد أظهرت الحيوانات المفعلة بنظام Spm-PAO ولجميع التراكيز المستخدمة انخفاضا في معدلات أوزانها بلغ أدناها 0.08 غرام عند التركيز 400 مكغم/10غم وزن الجسم وكانت الفروق معنوية عالية($P < 0.001$)مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 0.13 غرام. أما معدلات تضخم الطحال، فقد تباينت التراكيز المختلفة في معدلات التضخم . أظهرت مجموعة الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده (200 مكغم/10غم وزن الجسم)، وكما مبين في الجدول (2)، انخفاضا في معدل وزن الكبد 1.10 غرام، مقارنة بفئران السيطرة الموجبة، وكان الفرق معنويا عاليا($P < 0.001$). اما معدل تضخم الكبد فقد اظهرت هذه المجموعة انخفاضا غير معنوي 65.8 ، مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة.

فيما يخص اوزان الطحال، اظهرت مجموعة الفئران المفعلة بالـ Spm لوحده انخفاضا في معدلها 0.08 غرام، مقارنة بفئران السيطرة الموجبة، وكان الفرق معنويا عاليا ($P < 0.001$) . اما معدل تضخم الطحال فقد اظهرت هذه المجموعة انخفاضا معنويا عاليا ($P < 0.001$) بلغ 5.09 ، مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة. ربما يعود هذا التباين في أوزان الكبد والطحال ومعدلات تضخمهما في الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO إلى الاختلاف في التراكيز المستخدمة للـ PAO . وتعزى الزيادة الحاصلة في معدلات التضخم في بعض المجاميع المفعلة إلى زيادة أعداد البلاعم والخلايا اللمفاوية نتيجة انقسامها، وهذا يتفق مع ما لاحظهIbrahim [30]في الفئران المعاملة بالسكر المتعدد الالجينيت المستخلص من بكتيريا *Ps. aeruginosa* والمصابة بداء الأكياس العدرية و AL-Grawy [31] في الجرذان المعاملة بالسكر المتعدد ألدهني المستخلص من بكتيريا *E. coli*173a .قد يعزى الانخفاض الحاصل في أوزان الكبد والطحال في مجاميع الفئران المفعلة بنظام Spm-PAO مقارنة بمجاميع السيطرة المخمجة وغير المفعلة الى اختزال الخمج في هذه الأعضاء نتيجة قلة أعداد الطفيليات مع قلة الورم الحبيبي فيها وهذا يتفق مع ما وجده عدد من الباحثين [33,32,29,28] عند استخدام السكر المتعدد الدهني المستخلص من بكتيريا *E.coli* ، السكر المتعدد المستخلص من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* والسكر المتعدد البوليولان ضد داء الأكياس العدرية،على التوالي.

الجدول(2): التغيرات الحاصلة في معدلات أوزان الكبد والطحال (غم) ومعدلات تـــضخمهما في الفئران المفعلة باستخدام تراكيز مختلفة من إنزيم PAO مع تركيز ثابـــت مـــن مـــادة الأساس Spm، وباستخدام التركيز نفسه من Spm لوحده، وبجرعة واحدة قبل 24 ساعة من الخمج مقارنة بفئران السيطرة المخمجة لمدة شهر واحد .

التراكيز (مكغم)		الكبد		الطحال	
PAO	Spm	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم	معدل الوزن (غم)	معدل التضخم
200	200	0.16±1.46	4.65±73.8	0.008±0.12	0.65±*6.07
400	200	0.14±1.49	6.54±72.6	0.008±****0.08	0.43±****3.90
800	200	0.09±*1.45	8.52±69.8	0.008±****0.10	0.31±*4.96
1200	200	0.16±*1.44	6.14±74.2	0.007±0.12	0.43±***6.42
1600	200	0.10±*1.44	5.72±68.6	0.008±****0.09	0.25±****4.15
–	200	0.13±****1.10	5.49±65.8	0.008±****0.08	0.09±****5.09
C-		0.06±****1.11	5.13±*57.6	0.008±****0.06	0.71±***3.11
C+		0.13±1.67	7.12± 69.2	0.008± 0.13	0.08±5.38

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

* الفروق معنوية عند ($P < 0.05$) *** الفروق معنوية عند ($P < 0.005$)

** الفروق معنوية عند ($P < 0.01$) **** الفروق معنوية عند ($P < 0.001$)

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

المصادر

1. Abraham A.K., Olsnes S. and Pihl A. FEBS. Lett. 101:93 (1979)
2. Binda C., Coda A., Angelini R., Federico R., Ascenzi P. and Mattevi A. Acta.crystallogr.D.Biol.Crystallogr,54(2):1429-1431 (1998).
3. Holtta E. Biochemistry, 16:91(1977).
4. Morgan D.M.L., Christensen J.R. and Allison A.C. Biochem. Soc. Trans., 9:563-564 (1981).
5. Ferrante A., Ljungstrom I., Rzepczyk C.M. and Morgan, D.M.L. Infect. Immun. 53(3):606-610 (1986a).
6. Eckert J. and Deplazes P.x. Clin. Microbiol.Rev.,17(1):107-135 (2004).
7. Vuitton D.A. Clin. Rev. Aller. Immumol., 26(2):93-104 (2004).
8. Scharcterle G.R. and Pollack R.L. Anal. Biochem., 51:654-655. (1973).
9. Lowrey O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J. J. Biol. Chem., 193: 265-275. (1951).
10. Flayeh K.A. Clin. Chem.,34: 401-403 (1988).
11. Dahel K.A.D. M.Sc. Thesis, Univ. Mosul.(in Arabic). (1995).

12. AL-Katib S.M.Y. Ph.D. Thesis, Coll. Edu. Univ. Mosul.(in Arabic) (2000).
13. Hames B.D. and Hooper N.M.(2000). "Instant notes on biochemistry". 2nd ed. Bios. Scientific Publishers Limited.
14. Clark J.M. and Switzer R.L.(1976). "Experimental Biochemistry". 2nd ed., W.H. Freeman and Company San Francisco.
15. Smyth J.D. Proc. 13th ed., Int. Cong. Hydit, Madrid, PP.84-95 (1985).
16. Smyth J.D. and Barett N.G. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 74:649-652 (1980).
17. Wangoo A., Ganguly N.K. and Mahajan R.C. Indian. J.Med.Res.89:40-42. (1989).
18. Kroeze W.K. and Tanner C.E. Int. J. Parasitol., 171(4):873-883 (1987).
19. Bruning J.L. and Kintz B.L. "Computational handbook of statistics". 2nd ed., Scott Foresman Company, Gleriew (1977).
20. Morgan D.M.L., Ferluga J. and Allison A.C. "Polyamine oxidase and macrophage function". In: Polyamines in Biomedical Research, (Gaugas, J.M., ed.), 303-308, Wiley, Chichester and New York (1980).
21. Rzepczyk C.M., Saul A.J. and Ferrante A. Infect. Immun., 43(1):238-244 (1984).
22. Alarcon R.A. Arch. Biochem. Biophys., 106:240-242 (1964).
23. Kimes B.W. and Morris D.R. Biochem. Biophys. Acta, 228:223-234 (1971).
24. Johnson W.C., Cluff C.W., Goff W.L. and Wyatt C.R. Ann. N.Y. Acad. Sci.,791(1):136-147 (1996).
25. Flayeh K.A. and Sulayman K.D. MIRCEN. J., 3:275-279 (1987).
26. Campbell R.A., Hunt-Retzlaff Z., Russi J.B. "Polyamines in health and disease". In:The physiology of polyamines. Bachrach U., Heimer YM(eds) CRC Press. (1987). p10
27. Bacchi C.J., Weiss L.M., Lane S., Frydman B., Valasinas A., Reddy V., Sun J.S., Marton L.J., Khan I.A., Moretto M., Yarlett N. and Wittner M. AAC., 46(1):55-61 (2002).
28. Ali A.A. and Yaseen S.S. 4th scientific conference , Coll.of Veterinary Medicine,Univ.Mosul,P:211-228. (2006)
29. Ali A.A. and Abdulla I.T. Riv. Parassitol., XXI (LXV)-1:3–10 (2004).
30. Ibrahim Z.A.A. Ph.D. Thesis, Coll. Sci., Univ. AL-Mustansiriya (2000) (in Arabic).
31. AL-Grawy J.G.A. Ph.D. Thesis, Coll. Sci. Univ. Baghdad (1999) (in Arabic).
32. Ali A.A. Riv. Parassitol., XVII (LXI)-2:183-193. (2000)
33. Ali A.A. and Salih N.E. Riv. Parassitol.,XVII(LXI)- :299-313 (2000).