

دور حمض السياليك في الاستجابة المناعية لمرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد الخاضعين و غير الخاضعين للعلاج الكيميائي

غسان محمد سليمان * ماجد سخي جابر الزيدي **

تاريخ قبول النشر ٢٠٠٤/١١/١

الخلاصة

ان محور هذا البحث يدور حول اهمية مستوى حمض السياليك في الاستدلال عن الحالات المرضية ومنها الاورام السرطانية ومن ثم تقييم استجابة المريض للعلاج وتأثير ذلك على الاستجابة المناعية . هناك الكثير من الأدلة تبين ان الاجزاء الكربوهيدراتية في الببتيدات السكرية و البروتينات السكرية تؤدي دورا هاما في الفعاليات الحياتية و الاستجابة المناعية حيث ثبت في الدراسة الحالية ان مستوى حمض السياليك يكسون معتمدا على عدد مرات تكرار العلاج الكيميائي وان الاستجابة المناعية تتخفف انخفاضاً شديداً بزيادة الجوع الكيميائية المعطاة . لقد تضمنت الدراسة الحالية ٣٥ مريضا مصابا ببيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) تم تقسيمهم الى ست مجاميع اعتمادا على نظام العلاج الكيميائي المستخدم والفترة الزمنية وقورنت النتائج مع مجموعتي مرضى الـ ALL غير الخاضعين للعلاج الكيميائي (عند تشخيص المرض) ومجموعة السيطرة (الأشخاص السليمين) ، وصممت هذه الدراسة لكي تشمل فحص حمض السياليك في مجانس كريات الدم البيض و اختبار البلعمة واختبار التحول والانقسام اللمفاوي ، اظهرت نتائج حمض السياليك حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في مجانس الخلايا نتيجة لتأثير العلاج الكيميائي رافقه انخفاض معنوي ($p < 0.05$) (في الاستجابة المناعية (غير النوعية والخلوية) وهذا ما يشير الى امكانية اعتماد حمض السياليك كعلامة حيائية لتعيين الاصابة والتشخيص المبكر للاورام السرطانية واستجابة المريض للعلاج الكيميائي .

المقدمة

قد تم اجراء تقدم كبير على مدى السنوات الـ 30 الأخيرة في تشخيص الجزيئات المنظمة والمؤثرة والتي تشترك في الاستجابات المناعية بالرغم من ان التحليل الكيميائي قد كشف عن كون معظم هذه الجزيئات هي بروتينات سكرية إلا أن وظيفة جزيئة الكربوهيدرات فيها قد تم تجاهلها لزم من طويل وان هناك عدة خطوط من الأدلة تشير الى ان الحموض السيلالية على سطح الخلية قد تنظم مظاهر مهمة من هذه التفاعلات وفي النهاية تسيطر على تفاعلات مناعية معينة (3) .

تؤلف الحموض السيلالية عائلة من سكريات كربوكسيلية حاوية على تسع ذرات كربون وان

ان الوظيفة الأساسية للجهاز المناعي هي توفير الحماية ضد الإصابات بالأحياء المجهرية المرضية وضد نمو وانتشار الأورام الخبيثة (1) وان الآليات التي تنظم مثل هذه الأنظمة هي البات معقدة جدا وتتكون من اعداد كبيرة من الخلايا ذات الطراز المظهري المتميز والمتداخلة مع بعضها في شبكة معقدة لذلك فان ظاهرة التمييز الجزيئي تؤلف عنصرا مهما ليس فقط لقدرة الجهاز المناعي في التمييز بين الجزيئات الذاتية وغير الذاتية ولكن ايضا في التفاعلات الخلوية والجزيئية المعقدة التي تسمح للجهاز المناعي بان يضمن وجود حماية ذات فعالية وتخصيص عالية ضد الإصابات (2) .

* مدرس مساعد- فرع التقنيات الكيميائية- الإحيائية- قسم العلوم التطبيقية- الجامعة التكنولوجية- بغداد

** مدرس مساعد- فرع التقنيات الكيميائية- الإحيائية- قسم العلوم التطبيقية- الجامعة التكنولوجية- بغداد

(ALL) الراقدين في مستشفى بغداد التعليمي في بغداد . قسمت العينة المرضية إلى ست مجاميع اعتمادا على نوع العلاج الكيميائي المستخدم والفترة الزمنية وكما موضح بالجدول (١) .

جدول (١) : مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد مقسمين الى مجاميع حسب النظام العلاجي والفترة الزمنية للعلاج .

الفترة الزمنية (الشهور)	النظام العلاجي	حجم العينة (أرد)	تسمية التجربة
3	Vincristine + Prednisolone + Adramycin	5	الاولى
5	Vincristine + Prednisolone + Adramycin	5	الثانية
7	Vincristine + Prednisolone + 6-Mercaptopurine	5	الثالثة
11	Vincristine + Prednisolone + 6-Mercaptopurine	5	الرابعة
15	Vincristine + Adramycin + Prednisolone + Methotrexate	5	الخامسة
25	Vincristine + Adramycin + Prednisolone + Methotrexate	5	السادسة

حيث تم مقارنة النتائج مع مجموعتي مرضى (ALL) غير الخاضعين للعلاج الكيميائي (عند تشخيص المرض (العدد=5)) و مجموعة السيطرة (الأشخاص السليمين(العدد=10)).

٢ - الطرق المختبرية:- شملت الطرق المختبرية قياس مستوى حمض السياليك الكلي واختبار البلعمة وقياس الاستجابة المناعية الخلوية .

A- قياس مستوى حمض السياليك الكلي: بعد سحب عينات الدم فصلت كريات الدم البيض buffy coat وتم مجانستها ومن ثم قيس مستوى حمض السياليك لها باستخدام الطريقة اللونية (طريقة الريزورسينول) على امتصاصية مقدارها 580 نانوميتر وفقا لطريقة Sovnerholm, 1958 (13) .

B- قياس الاستجابة المناعية غير النوعية (اختبار البلعمة) phagocytosis test اجري هذا الاختبار حسب طريقة (14)

واستخدم لهذا الغرض عالق بكتريا المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus

بتركيز $10^6 \times 1$ خلية / مل. ولحساب معامل البلعمة استخدمت المعادلة التالية:

معامل البلعمة(%) = عدد الخلايا الملتصمة / العدد الكلي للخلايا البلعمية $\times 100$.

حمض السياليك هو التسمية الشائعة لهذه العائلة و تحتل الموقع الطرفي في النهاية غير المختزلة ضمن صنف السكريات قليلا الوحدات Oligosaccharides والتي تكون بشكل رئيسي من neuraminic acid (NeuSAc) ورمزه الكيميائي N-acetyl

($C_{11}H_{17}O_8N$) (4) . يحتل حمض السياليك الموقع الطرفي للأغشية البلازمية، وهو بذلك يساهم في آليات التنظيم التي تتحكم في الاستجابة المناعية من خلال تأثيره في وظائف مهمة للخلايا المناعية مثل التمييز الخلوي cell recognition

(5) و إنتاج الأضداد وتنشيط المتمم و الخلايا القاتلة الطبيعية (2) ، كما يعمل مستملا للحمات والذيفانات البكتيرية (6) ، و بسبب تنوعها التركيبي وصفاتها الفيزيائية - الكيميائية فأنها تعمل كاقنعة حيائية biological mask لمنع تمييز المستلمات أو مواقع المستضدات (4) بالازفافة إلى دوره في نمو و تكاثر و هجرة الخلايا كما هو الحال في تمايز الخلايا اللمفاوية الثانية (7) . اما في مجال مدعة السرطان cancer immunity فقد اعتمدته العديد من الأبحاث كعلامة حيائية يستدل بها للتشخيص المبكر للسرطان وتعيين حدة المرض في بعض أنواع السرطانات مثل سرطان الرئة Lung cancer (8) و سرطان الكبد hepatocellular carcinoma (9) و سرطان البيض ovary cancer (10) و سرطان الدم ذو عيه الحاد و المزمن (11)

وفي قطرنا يحتل مرض ابيضاض الدم leukemia المركز الأول ضمن الأمراض الخبيثة العشرة الشائعة في الأطفال والبالغين حيث أشارت إحصائيات وزارة الصحة إلى إن الإصابة بابيضاض الدم قد تضاعفت في العقد الأخير من القرن الماضي (12) .

لذا فقد هدفت الدراسة الحالية إلى دراسة بعض جوانب الاستجابة المناعية لمرضى ابيضاض الدم الحاد (acute lymphoblastic leukemia) الخاضعين و غير الخاضعين للعلاج الكيميائي و الاستعانة بحمض السياليك كونه من أهم الواسمات التشخيصية في هذا المجال بالإضافة إلى دوره في تنظيم وظائف مناعية معينة .

المواد وطرائق العمل

١- عينة الدراسة :- شملت الدراسة الحالية 35 مريضا مصاب بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد

عند مقارنتها مع الخلايا الطبيعية (18) والتي تعمل على زيادة المستقبلات الخلوية فيها والتي تكون عبارة عن بر وتينات سكرية يكون حمض الساليك أحد المركبات الأساسية فيها (2). وهذا ربما ما يفسر زيادة مستوى الحمض في مجانس كريات الدم البيض لمرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد .

جدول (1-1) :- تأثير النظام العلاجي Vincristine + Prednisolone + Adramycin في مستوى حمض الساليك الكلي لمجانس كريات الدم البيض و معامل البلعمة و معامل الانقسام والتحول اللمفاوي .

نسبة انقسام كريات الدم البيض	معدل الانقسام و التحول اللمفاوي (%)	نسبة كريات الدم البيض	معدل كريات الدم البيض (%)	نسبة كريات الدم البيض	معدل كريات الدم البيض (%)	الفترة الزمنية للعلاج (ساعات)	حجم كريات الدم البيض (فرد)	مجموع السليبيك الكلي (مجموع)
100	1.82±97.80	100	1.71±81.20	100	2.53±72.66	-	10	
21.75	1.24±10.40 B	22.32	1.65±18.80 B	259.73	3.24±188.72 A	-	5	ALL معتدل
19.24	1.44±19.00 B	49.28	2.39±41.50 B	173.41	1.69±126.00 A	-	3	ALL معتدل
33.05	1.90±15.80 B	43.46	2.76±36.60 B	138.19	2.93±100.41 A	-	5	ALL معتدل

A ارتفاع معنوي (0.05) عند المقارنة مع السيطرة .
B انخفاض معنوي (0.05) عند المقارنة مع السيطرة .

C- قياس الاستجابة المناعية الخلوية (اختبار التحول و الانقسام اللمفاوي) اعتمدت طريقة كل Selyes and Virag (15) لإجراء هذا الاختبار باستعمال العامل المحفز للنمو PHA بتركيز 10 مايكرو غرام / مل حيث تم حساب النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية المتحولة كما في المعادلة :-

النسبة المئوية للخلايا المتحولة = عدد الارومات اللمفاوية / العدد الكلي (الارومات اللمفاوية + الخلايا اللمفاوية) x 100 .

٣. التحليل الاحصائي:- حلت النتائج إحصائياً باستخدام تحليل التباين (ANOVA Analysis of variance) واستخدمت المقارنات المتعددة بطريقتي (Least Significant difference) لمعرفة المجاميع المسببة للفروق المعنوية وتم تثبيت النتائج على هيئة المعدل ± الخطأ القياسي (M) ± standard error (SE) .mean

النتائج والمناقشة

بينت نتائج هذه الدراسة ان مستوى حمض الساليك الكلي لمجانس كريات الدم البيض لمجموعة السيطرة كان 2.73 ± 72.66 ملغم / 100مل بينما بلغ مستوى هذا الحمض لمرضى ابيضاض الدم الحاد (ALL) غير الخاضعين للعلاج الكيماوي 3.24 ± 188.72 ملغم / 100مل وكانت الزيادة معنوية ($p < 0.001$) ونسبة مئوية مقدارها 259.73 % من قيمة السيطرة جدول (1-1). ويعزو سبب الارتفاع هذا إلى ان خلايا الأنسجة الورمية لها القدرة على النمو والتكاثر بشكل كبير إذ تشير الملاحظات المختبرية إلى زيادة في تعداد كريات الدم البيض في ابيضاض الدم الحاد (ALL) ليصل عددها إلى أكثر من 50.000 خلية / ملليمتر المكعب الواحد والعدد التفريقي لها يشير الى وجود نسبة عالية جدا من خلايا ابيضاض الدم الأولية (16) وبالتالي فان هذه الزيادة تؤدي إلى زيادة حمض الساليك على سطوح الأغشية الخلوية كونه صفة ناتجة عن الاضطرابات في المسالك الايضية للبروتينات أو/ والفعالية الأنزيمية للساليو ترانسفيريز sialotransferase والساليالدين sialdase المسؤولة عن بناء وهدم حمض اساليك (17) من خلال تأثير التعبير الجيني المسؤول عن نشاط هذين الأنزيمين بسبب العوامل المسرطنة , إذ وجد ان الخلايا الورمية تظهر اختلافا في محتواها البروتيني و السكري من حيث النوعية والكمية

كما أظهرت النتائج المبينة في الجدول (1-1) حصول انخفاض معنوي شديد ($p < 0.0001$) في الفعالية البلعية ونسبة مئوية مقدارها 22.32 % من قيمة السيطرة .حيث ان هذه الدراسة وثقت الصعوبات في فعالية الخلايا الملتزمة لمرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد خلال مرحلة الانتكاسة وقبل الخضوع للعلاج الكيماوي والتي تعود إلى حالتها الطبيعية في مرحلة الشفاء التام (19). هناك عدة آليات يمكنها تفسير انخفاض الفعالية البلعية قبل تعاطي العلاج الكيماوي كالمستويات المرتفعة من الحموض السالية والموجودة في المصل إذ تشير الدراسات المستحصل عليها من قبل باحثين آخرين إلى ارتفاع مستوى حمض الساليك في سرطان الرئة (20.8) وسرطان المبيض (10) والعقد اللمفاوية (21) و ابيضاض الدم بنوعيه الحاد والمزمن (22.11) والنتيجة عن زيادة نسبة بروتينات الطور الحاد الغنية بحامض الساليك وان هذه البروتينات تنتج من قبل الكبد كنتيجة للفاعل المحفز للهورم (23) بالإضافة الى الدياتات (ذات الطبيعة البروتينية و الحاوية على ثملات حمض الساليك) المفردة من الارومات اللمفاوية والتي تكون مرتفعة بشكل معنوي قبل تعاطي العلاج الكيماوي (24) وكما بينته ابحاث اخرى الى ان

وتحفيز الخلايا احادية الايجابية CD4-CD8+ (26, 27) وتنشيط البلاعم والخلايا للمفاوية B (31) فقد حفز الجزء السيلي GTIb الذي يحتوي على ثلاث جزيئات من حمض السيليك تجزو DNA بنسبة مقدارها 17% عما موجود في مجموعة السيطرة بينما لم يكن هناك أي تأثير عند اضافة الكانكليوسايد غير السيلي لمزروع الخلايا التوتية CD4+CD8+ .
 -CD4+CD8+ (26) الا انها تتناقض مع بعض الدراسات في الحي in vivo التي أشارت الى دور الحموض السيلية في تمايز الخلايا للمفاوية بزيادة محتواها السيلي (32) ان تأثير حمض السيليك ودوره في تمايز الخلايا وملاحظة ان هناك لكتينات معينة تكون قادرة على تحفيز انقسام الخلايا للمفاوية في مزروعها الخلوي (33) ما تزال غير واضحة وتحتاج لدراسات اظافية .
 فقد لوحظ بان الاستجابة التكاثرية للخلايا للمفاوية في الزجاج تكون مثبطة قبل العلاج وان المرضى يمتلكون استجابة مناعية خلوية و خلطية منخفضة (34) حيث كانت استجابة الخلايا للمفاوية إلى المشطرات منخفضة عند المقارنة بمجموعة السيطرة وان الأسباب المحتملة لحدوث هذه الحالة هي اما هيمنة الارومات للمفاوية او / و انخفاض عدد الخلايا للمفاوية او وجود العوامل المصلية المثبطة (35) فقد أشار Humphery وجماعته (36) الى الفعالية التنشيطية للعوامل المصلية من خلال تأثيرها على عملية ارتباط الملزن PIIA مع الخلايا للمفاوية عندما لاحظوا تثبيط الملزن للخلايا للمفاوية للأشخاص السليمين عند استخدام مصول مرضى مصابين بابيضاض الدم للمفاوي الحاد .

جدول (٢-١) :- تأثير نظام العلاجي Vincristine + Prednisolone + 6-Mercaptopurine في مستوى حمض سيليك كافي لمجلس غريت الدم البيض و معامل البلعمة و معامل الانقسام و التمدد لتنفوي .

نسبة نسبة	معدل التمدد و معدل البلعمة (%)	نسبة نسبة	معدل نسبة (%)	نسبة نسبة	معدل نسبة (%)	الفترة الزمنية للعلاج (أسبوع)	حجم العينة (رد)	مجموع نسبة
100	1.82±17.80	100	1.71±14.20	100	2.33±22.64	-	10	سيطرة
21.75	1.24±10.40	22.32	1.65±18.80	219.75	3.24±188.72	A	5	ALL مرجع
33.47	1.41±16.00	40.38	2.14±21.00	118.12	3.05±83.81	A	7	ALL مرجع
25.52	1.35±12.20	30.57	2.74±30.80	102.66	2.75±24.60		11	ALL مرجع

A ارتفاع مغوي (0.05) عند المقارنة مع سيطرة
 B انخفاض مغوي (0.05) عند المقارنة مع سيطرة

حمض السيليك يتواجد في جسم إنسان بثلاث صيغ هي هي حمض السيليك الحر والذي يوجد بنسب ضئيلة في الحالات الطبيعية (25) والحمض المرتبط بالبروتين (26) حيث أشارت دراسات co-labeling باستخدام تقنية flow cytometry ان إضافة التركيب السيلي والمسمى GM1 لمزروع الخلايا للمفاوية يؤدي إلى انخفاض فجائي ومعنوي في التعبير عن المستضد CD4 على الخلايا التوتية و للمفاوية الثانية وكذلك تنظيم استجابة الخلايا البلازمية (27) بالإضافة إلى حمض السيليك المرتبط بالدهون والذي هو عبارة عن دهون سلفينية سكرية تمتلك وظائف تنظيمية مهمة تتضمن عمليات نمو وتكاثر وتمايز الخلايا (28). لذلك فان زيادة المحتوى السيلي في أعشية البلاعم ساهم بشكل فعال في منع الواسمات السطحية من الارتباط بمستضداتها لحصول عملية البلعمة والتي تعد من الخطوات المهمة لعملية الطهاية أو الاستساغة (29) . ومن هذا يمكن القول بان مساهمة الحموض السيلية في العملية التمييزية والتنظيمية التي تجعل الجهاز المناعي قادرا بشكل كفوء على حماية جسم الكائن الحي من المواد الغريبة (دون التأثير على التراكيب الشخصية) وانها تدعم المفهوم القائل بان التغييرات في سيلة سطح الخلية غير المسيطر عليها قد تعود إلى تفاعلات مناعية مرضية لذلك بين Schauer (30) ان وجود مستويات غير فيسيولوجية من فعالية السيلالديز في المحيط الخارج خلوي قد يساهم في نشوء التفاعلات المرضية التي يتسببها الجهاز المناعي حيث تمت ملاحظة مستويات مرتفعة لفعالية السيلالديز في مصل الإنسان عند الإصابات البكتيرية و الفيروسية .

كما ويبين الجدول (1-1) ان معدل التحول والانقسام للمفاوي للمرضى شير المعالجن ينخفض معنويا ($p < 0.001$) عن قيمة السيطرة حيث بلغ (1.82±47.80, 1.12±10.40) على التوالي وبنسبة مئوية منخفضة مقدارها 21.45% من قيمة السيطرة . ان هذا التنشيط الحاصل في تكاثر الخلايا للمفاوية في مرحلة قبل تعاطي العلاج الكيماوي والذي تم من خلال دراستنا في الزجاج in vitro والمرافق لارتفاع مستوى حمض السيليك في مجاز كريات الدم البيض لنفس المجموعة ربما يعود الى التأثير المباشر للحمض فقد أظهرت عدة أبحاث بان الكانكليوسايدات Gangliosides في المزروع الخلوي يمكنها خفض الفعالية الانسامية لخلايا T والمتحفزة بمحفزات الانقسام والمستضدات IL-2 و الخلايا ثنائية الايجابية CD4+CD8+

ابيضاض الدم تأثيرا سلبيا على مناعة الجسم (39) حيث لوحظ انه عند البدء بتعاطي العلاج الكيماوي يحدث انخفاض شديد للعدلات ويبقى لفترة طويلة مما يزيد من خطر الاصابة بالعوامل الممرضة (40) وان المرضى الذين يتعاطون علاجاً كيماوياً شديداً يكونون أكثر استعداداً وعرضة من المرضى في مرحلة الادامة على العلاج الكيماوي نتيجة للتأثير الشديد الذي يحدثه استخدام العلاج الكيماوي (41) ان درجة تأثير العلاج الكيماوي على كل من فعالية الخلايا اللمفاوية و البلاعم تعتمد بدرجة كبيرة على الجرعة والتكرار وان هذا الانخفاض لا يمكن ان يعزى فقط الى التأثيرات العلاجية والتي تؤثر سلباً في عملية انقسام وتكاثر الخلايا داخل نقي العظم (42) وعملية الابيضاض الخلوي (43) او التداخل مع شريط الـ DNA (44) حيث توجد عوامل اخرى منها التغيرات الحاصلة في المستويات السليالية لسطوح هذه الخلايا والتي تمت الإشارة إليها سابقاً ربما اثرت على طبيعة المستقبلات الخلوية ، لذا فقد اشير الى ان ازالة حمض السيليك تؤدي الى تحفيز الوظائف الحياتية لجزيئات معينة (45) بينما تحطم فعاليات جزيئات اخرى (46) . كما هو الحال في مستقبلات المكون الثالث للمتمم C3b receptor يتم تنشيطه من قبل المسلكين الثقليدي والبيديل حيث تؤدي الحموض السليالية دوراً أساسياً في الآليات الجزيئية التي بواسطتها يقوم كل من المسلكين بالتمييز بين السطوح المنشطة و غير المنشطة (2) ان دور الحموض السليالية السطحية في التحكم بعملية تنشيط المسلك البيديل تم توثيقه بعدة دراسات (2، 47، 48) فبالرغم من انه يستطيع التمييز بين الذاتي وغير الذاتي بكونه قادراً على تحليل الكثير من البكتيريا و الطفيليات وكذلك بعض الخلايا السرطانية و الخلايا المصابة بالفايروس دون التأثير على الخلايا الطبيعية (1) فان الحموض السليالية تؤلف عنصراً مهماً في القدرة التمييزية التي يمتلكها هذا المسلك من ملاحظة كون كريات الدم الحمر للخروف لها القدرة على تنشيط المسلك البيديل في الانسان بعد ازالة الانزيمية للحموض السليالية الغشائية وان مدى عملية التنشيط يتناسب مع كمية الحموض السليالية المزالة (48). وان التغيرات في حمض السيليك تترافق غالباً مع التغيرات المعكوسة في المستويات الخلوية لفعالية انزيم السيلاديز خلال تنشيط الخلية وتمازها وبعد العلاج بالعقاقير الكيماوية (49) .

من المثير للاهتمام ان حمض السيليك الغشائي يكون مطلوباً ايضاً لتحفيز عملية البلعمة الخلوية

وعند تقسيم المرضى الى ست فئات اعتماداً على نوع العقار المستخدم وعلى الفترة الزمنية للبرنامج العلاجي المستخدم لوحظ بان مستوى حمض السيليك يتأثر بتكرار الجرعة الكيماوية dose-dependent . حيث اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج باحثين آخرين بينوا ارتفاع مستوى حمض السيليك في أنواع مختلفة من الأورام الخبيثة وان هذه الزيادة تقل بعد تعاطي العلاج الكيماوي الى المستوى الطبيعي أو دون ذلك (23.22.11) . اذ وجد بان الكميات المرتفعة من البروتينات والدهون السكرية السليالية لمحتوى الخلايا السرطانية ترتبط مع القدرة العالية على الانقسام والتكاثر حيث تعمل على زيادة مستلماتها السطحية المرتبطة بالغشاء البلازمي وان استعمال العقاقير الكيماوية ذات التأثير السمي تعمل على خفض مستوى حمض السيليك عن طريق تثبيط عملية تصنيع البروتينات و الحواض النووية التي تعد ضرورية جداً في عملية انقسام وتكاثر الخلايا (11) بتأثيرها على بناء شريط DNA وتصنيع البريميدين كـ Methotrexate و 6-Mercaptopurine (37) او شريط RNA كـ Vincristine (38) وكما مبين في الجداول (1-1) و (2-1) و (3-1)

جدول (3-1) :- تأثير النظام العلاجي Vincristine + Adriamycin + Prednisolone + Methotrexate في مستوى حمض السيليك الكلي لمجتمعات كريات الدم البيض و معامل البلعمة و معامل الانقسام والتحول اللغوي .

الموسم التحريبي	حجم العينة (أرد)	الفترة الزمنية للعلاج (أسبوع)	حمض السيليك (مجم/1000)	نسبة تحول	معدل انقسام (%)	نسبة تحول	معدل الانقسام و تحول الطفرات (%)	نسبة تحول
سيطرة	10	-	2.51±72.66	100	1.71±84.20	100	1.82±47.80	100
ALL علاج	5	-	3.74±188.72 A	219.73	1.65±18.80 B	22.32	1.24±10.40 B	21.75
ALL علاج	5	15	1.89±79.41	98.30	2.99±96.70 B	31.11	1.78±10.30 B	21.91
ALL علاج	5	25	5.17±18.30 B	57.71	2.19±22.60 B	26.81	1.44±10.00 B	20.92

A ارتفاع مستوى (0.05) عند مقارنة مع سيطرة
B انخفاض مستوى (0.05) عند مقارنة مع سيطرة

كما ادى العلاج الكيماوي المستخدم الى انخفاض معنوي ($p < 0.001$) في كل من الفعالية البلعية و الفعالية اللمفاوية المحفزة بالمحز P11A مسببا انخفاضاً تدريجياً بزيادة عدد جرعة العلاج الكيماوي ليصل الى حد معين يعطي به اعلى انخفاض له وبنسبة مئوية مقدارها 26.84 % و 20.92 % على التوالي من قيمة السيطرة وهذا يشير الى ان استمرار التنشيط او الانخفاض يتوافق مع استمرار العلاج الكيماوي حيث تمتلك معظم العقاقير الكيماوية و التي تستخدم للسيطرة على

- Immunology , Raven press ,New York ,pp.3-19.
2. Pilatte, Y.; Bignon, J. and Lambre, C. R.1993. Sialic Acid as Important Molecule in the Regulation of the Immune System : Patho-Physiological Implication of Sialidase in Immunity . Glycobiology ,3:201-217.
 3. Kelm, S. and Schauer R. 1997. Sialic Acids in Molecular and Cellular Interactions. Inter. Rev. Cytol. , 175:137-140.
 4. Schauer ,R. 1982 . Chemistry , Metabolism and Biological Function of Sialic Acids. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. , 40: 231-234.
 5. Greffard , A. Trabelsi ,N. and Terzidis - Trabelsi ,H. 1997 . Inhibition of Acid Sialidase by Inorganic Sulfate . Biochem . Biophys.Acta, 15: 140-148.
 6. Ueda , T.; Fujimori , O.; Tsukise , A. and Yamada , K. 1998 . Histochemical Analysis of Sialic Acid in the Epididymis of the Rat. Histochem. Cell. Biol. , 109: 399-407.
 7. Alvarez , G.; Lascurain, R.; Perez , A. Degand , P. Montano , L. F. ; Martinez , A. ; Cairo , s. And Zenteno , E.1999. Relevance of Sialoglco-Conjugates in Murine Thymocyte During Maturation and Selection in the Thymus . Immunol. Invest. , 28: 9-18.
 8. Isitmangil,T.; Isitmangil,G.; Budac. Y.; Aydilek,R. and Celenk ,M.K.2001. Coparision of Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid Sialic Acid Levels Between Malignant and Bening lung Diseases. BMC Pulm. Med. , 1:4-8.
 9. Pousset , D. ; Piller, V.; Bureaud , N. ; Monsigny, M. and Piller , F. 1997. Increased 3-2,6 Sialylation of N-Glycans in a Transgenic Mouse Model of Hepatocellular Carci-

بواسطة الببتيد الرباعي المشتق من الكلوبوليوسن المناعي IgG والمسمى tuffsin وتنفذ قدرتها على التحفيز بواسطة هذه الجزيئة بعد المعاملة بالسيالدينز (50) مما يشير الى ان الحموض السيلالية قادرة على التأثير في عمية البلعمة بطرق مختلفة . ان حمض السيليك لا يشترك في الالتصاق الخلوي عن طريق كونه مكون تרכيبي للربانط المرتبطة بمستقبلات الالتصاق فقط ولكن ايضا عن طريق قيامه بتعديل التداخلات بين مستقبلات اخرى مع الربانط الخاصة بها مثلا الارتباط بين البروتين السكري CD2 الخاص بخلايا T مع المستقبل المقابل له LFA 3 والذي يتاثر بشكل كبير بالشحنة السالبة على سطح الخلية (51) كما انه قد يؤثر ايضا على الترتيب لمستقبلات مسيلة معينة على الخلية اللغفاوية وبذلك يعدل من الفتحة لهذه الربانط (4). ان وظيفة الخلية اللغفاوية في الجهاز المناعي تعتمد على قدرتها على تامين اتصال وثيق مع الخلايا الاخرى وهي عملية تتوسطها جزيئات الالتصاق على سطوح الخلايا والتي ترتبط مع الربانط المكملة لها على الخلية الاخرى وبذلك تقوي وتؤدي الى استقرارية التداخلات بين خلايا T والخلية التي تعبر على سطحها معقد المستضد مع مستضدات التوافق النسيجي (52) .

لذلك فان آليات الالتصاق و ازالة الالتصاق الخلوي والتي يتم تنظيمها بواسطة التغيرات في التعبير عن المستقبلات السطحية بكثافة الشحنة وكذلك التغيرات التרכيبية في الربانط هي ذات اهمية للفعالية الحياتية والاستجابة المناعية . وان اختلاف المحتوى السيلالي للاغشيب الخلوية يمكن ان يؤثر في نمو ونضج وتمايز الخلايا المناعية سلبا او ايجابا، وان التغيرات غير الطبيعية قد تقود الى حالات مرضية نتيجة لتاثير العقاقير الكيمياوية على المسالك الايضية التي تعمل على بناء وفصل حمض السيليك وهذا ما يدل على امكانية استخدامه كواسم تشخيصي للاستدلال عن الحالات المرضية ومنها الاورام لسرطانية ومن ثم تقييم استجابة المريض للعلاج بتحديد شدة المرض وتأثير ذلك على الاستجابة المناعية اذ تم الاثبات بان مستوى حمض السيليك يكون معتمدا على عدد مرات تكرار العلاج الكيمياوي وان الاستجابة المناعية تتخفض انخفاضاً شديداً بزيادة الجرعة المستخدمة .

المصادر

1. Paul, W.E. 1989. The immune system : An introduction . In Paul, W.E.(ed.) Fundamental

- Alloxan Diabetes .Horm. Metab. Res. , 25: 446-448.
18. Schutter , E. M. J. ; Visser J.J. ; van Kamp , G. J. ; Pouilly , S. M. ; van Dijk , W. ; Hilgers , J. and Kenemans , P. 1992. The Utility of Lipid Associated Sialic acid (LASA or LSA) as a Serum Marker for Malignancy . Tumor Biol . , 13:121-132.
 19. Gregory , L. ; Williams ,R. and Thompson , E. 1972. Leukocyte Function in Down's Syndrome and Acute Leukemia . Lancet , I: 1359-1361 .
 20. Patel , P. S. ; Adhvaryu , S. G. ; Balar ,D. B. ; Parikh , B. J. and Shah , P. M. 1994. Clinical Application of Serum levels of Sialic Acid , Fucose and Seromucoid Fraction as Tumor Markers in Human Leukemia . Anti Cancer Res. , 14: 747-752 .
 21. Shamberger , R.J. 1984 . Serum Sialic Acid in Normals and in Cancer Patients. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. , 22: 647-651.
 22. Patel , P. S. ; Raval , G. N. ; Rawal , R. M. ; Patel , M. M. ; Balar ,D. B. and Patel , d. D. 1997. Importance of Glycoproteins in Human Cancer . Ind. J. Biochem . Bioph., 34: 226-233.
 23. Sverko , V. ; Hadzija , M. ; Gavella , M. ; Lipovac , V. ; Slijepcevic , M. and Radacic , M. 1992 . Serum Sialic Acid Concentration in Mice With Myeloid Leukemia and Alloxan Diabetes .Period. Biol. , 94(4): 245-250.
 24. Nash , K.A. ; Mohammed , G. ; Nadaplan , N. ; Kernahan , J. ; Scott , R. ; Craft , A. W. and Toms , G. L. 1993 . T Cell Function in Children with (ALL) . Br J. Haematol ., 83 :419-427.
 25. Kraml , J. ; Kadlecova , J. and Kolinska , J. 1994. Sialic Acid Marker of Development and Differentiation .Sb. Lek. , 95:271-275.
 - noma . Cancer Res ., 57: 4249-4256.
 10. Dwivedi , C. ; Dixit , M. and Hardy , R. E. 1990. Plasma Lipid-Bound Sialic Acid Alteration in Neoplastic Diseases . Experientia , 46:91-94.
 11. Romppanen , J. ; Petaja , J. ; Heikinheimo , M. ; and Mononen , J. 1998. Total and Lipid-Bounds Serum Sialic Acid in Children with Malignancy or Infections . Anti Cancer Res. , 18: 2793-2798.
 12. Iraqi Cancer Board , Iraqi Cancer Registry Cancer 1999. Results of Iraqi Cancer Registry (1995-1997). Ministry of Health.
 13. Svennerholm , L. 1958. The Resorcinol Method for the Determination of Sialic Acids . Acta Chem . Scand. , 12: 547-553.
 14. Furth , R. V. ; Thedo , L. V. and Leijilt , P. C. 1985 . In Vitro Determination of Phagocytosis and Intracellular Killing by PMN and Monuclear of Phagocytosis . In : Hand Book of Experimental Immunology , 3 rd ed. Vol . 2, Black Well Scientific Publication, U. K. , PP: 189-298.
 15. Selyes , A. and Virag , S. 1988. Phytohaemagglutinin Stimulated Leukocyte Conditional Medium Induced Differentiation in Acute Promyelocytic Leukemia Cell in vitro . Leukemia Res . , 12: 951-953 .
 16. Conter , V. ;Schrapp , M. ; Arico , M. ; Lott , L. and Horbort , J. 1997 . Role of Cranial Radiotherapy for Childhood T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia with High W.B.C. Count and Good Response to Prednisone . J.Clin . Oncol ., 15: 2786-2791 .
 17. Sverko , V. ; Hadzija , M. ; Gavella , M. ; Lipovac , V. ; Slijepcevic , M. and Radacic , M. 1993 . Lipid Bound Sialic Acid Concentration in Mice With Myeloid Leukemia and

- Human Leukocytes . *Cancer Res.*, 20: 462-466.
34. Dupuy, J.M.; Kourilsky, F. M.; Fradelizzi, D.; Feingold, N.; Jaquilat, C. L.; Bernard, J. and Dausset, J. 1981. Depression of Immunologic Reactivity of Patients with Acute Leukemia, 27: 323-331.
35. Hitzing, W. H.; Pluss, H. J.; Holler, P. Pligrim, U.; Tacier, H. and Hakobo, M. 1976. Studies on the Immune Status of Children with (ALL) 1. Early Phase Before and After Remission. *Clin. Exp Immunol.*, 26: 403-413.
36. Humphry, G. B.; Peterson, L.; Whalen; Parker, D. E.; Lankford, J.; Krivit, W. and Nesbit, M. 1975. Lymphocyte Transformation in Leukemia Serum. *Cancer*, 35: 1341-1348.
37. Lennard, L.; Lilleyman, H.S.; Vanloon, J. and Weinshilboum, R. M. 1990. Genetic Variation in Response to 6-Mercaptopurine for childhood (ALL). *Lancet*, 336:225-229.
38. Bleyer, W. A.; Sather, H. N.; Nickerson, H. J. and Coccia, P. (1991). Monthly Pulses of Vincristine and Prednisone Prevent Bone Marrow Testicular Relapsion Low - Risk Childhood (ALL): A report of the CCG-161 Study by the Children's Cancer Study Group. *J. Clin. Oncol.*, 9: 1012-1021.
39. Spanik, S.; Truple, J. and Kunora, A. 1997. Risk Factors Etiology Therapy and Outcome 123 Episodes of Break Through Bacteremia and Fungemia During Antimicrobial Prophylaxis and Therapy in Cancer Patients. *J. Med. Microbiol.*, 46: 517-523.
40. Hughes, W. T. 1971. Fatal Infection in Childhood Leukemia. *Am. J. Dis. Chil.*, 122: 283-287.
41. Chessells, J.M. and Leiper, A. D. 1980. Infection During Remis-
26. Gardiner, T. and Ramberg, J. 2000. The Benefits Throughout Life of Breast Feeding with Emphasis on the Role of Glyco-Conjugates. WWW. USA. Glycoscience. Com. (inter net).
27. Zhou, J.; Shao, H.; Cox, N.R.; Baker, H.J. and Ewald, S. J. 1998. Gangliosides Enhance Apoptosis of Thymocyte. *Cell Immunol.*, 183:90-98.
28. Zhou, J.; Cox, N.R.; Ewald, S. J.; Morrison, N. E. and Baker, H.J. 1998. Evaluation of GM1 Ganglioside-Mediated Apoptosis in Feline Thymocytes. *Vet Immunol. Immunopathol.*, 183:90-98.
29. Verhoef, J. 1998. Phagocytosis. In: *Encyclopedia of Immunology*, by: Delves, P. J. and Roitt, I. M., 2nd ed., Academic Press. Harcourt Brace and Company Publisher, PP: 1935-1940.
30. Schauer, R. 1983. Glycosidase with Special Reference to the Pathophysiological Role of Sialidases. In: Popper, H.; Kottgen, W. Reutter, W. and Gudat, F. (Ed.). *Structural Carbohydrate of the Liver*. M. T. P. Press Ltd. PP: 83-97.
31. Cox, M. R.; Ewald, S. J.; Morrison, N. E.; Gentry, A. S.; Schuler, M. and Baker, H.J. 1998. Thymic Alteration in Feline GM1 Gangliosidosis. *Vet Immunol. Immunopathol.*, 63: 335-353.
32. Whiteheart, S. W.; McLenithan, J. C. and Hart, G. W. 1990. Surface of Murine Lymphocyte Subsets Differ in Sialylation States and Antigen Distribution of Major N-Linked Penultimate Saccharide Structure. *Cell Immunol.*, 125: 337-353. (Cited by Pilatte et al., 1993).
33. Nowell, P.C. 1960. Phyto-aemagglutinin: An Initiator of

48. Frank , M. M. and Fries .L.F. 1991. The Role of Complement in Inflammation and Phagocytosis . Immunol. Today , 12: 322-326.
49. Madoulet , C. ; Trentesaux , C. ; Benoist, H. ; Rehel, G. Dreyfus , H. ; and Jardillir , J. C. 1989. Evidence for Sialidase Activity in K562 Cells : Inhibition by Adriamycin Treatment . Cancer Biochem. Biophys. , 9: 15-23.
50. Constantopoulos, A. and Najjar, V. A.1973. The Requirement for Membrane Sialic Acid in the Stimulation of Phagocytosis by the Natural Peptide Tuftsin . J. Biol.Chem. ,248: 3819-3822.
51. Springer , T. F. 1990. Adhesion Receptors of the Immune System . Nature ,346:425-434.
52. Dustin , M. L. and Springer, T. F. 1991. Role of Lymphocyte Adhesion Receptors in Transient Interactions and Cell Locomotion . Annu. Rev. Immunol. , 9: 27-66.
42. Winkelstein, A. 1983. Mechanism of Immunosuppression Effects of Cyclophosphamide on Cellular Immunity . Blood , 41: 273-283.
43. Vaudaux , P. ; Kiefer , B. Foroni , M. ; Joris, I. Majino , G. and Waldvogel , F. 1984 . Adriamycin Impairs Phagocytosis Function and Induced Morphologic Alterations in Human Neutrophils . Cancer , 54: 400-408.
44. Ninane , J. and Chessells , J. M. 1981. Serious Infection During Treatment of (ALL). Arch. Dis . Child. , 56: 844.
45. Itoh, K. and Kumagai , K. 1980. Effect of Tunicamycin and Neuraminidase on the Expression of Fe-IgM and IgG Receptors on Human Lymphocytes . J. Immunol. , 124: 1830-1863.
46. Fischer, T. ; Thoma , B. ; Scheurich, P. and Pfizenmaier , K. 1990. Glycosylation of the Human Interferon- Receptor. N-linked Carbohydrates Contribute to Structural Heterogeneity and are Required for Ligand Binding . J. Biol. Chem. , 265:1710-1717.
47. Frank , M. M. 1992. The Mechanisms by Which Microorganisms Avoid Complement Attack . Curr. Opin . Immunol. ,4:14-19.

Role of sialic acid in the immune response of chemotherapy – treated and non – treated patients with acute lymphoblastic leukemia .

***GHASSAN MOHAMMAD SULAIMAN**

***MAJID SAKHI JABIR AL-ZAYDI**

***Biochemical Technology Division – Applied Sciences Department – University of Technology**

Abstract

This study deals with the importance of the level of sialic acid as an indicator of diseases including malignant tumors in addition to the evaluation patient's response to the therapy and the effect of therapy on the immune response. There is a multiple evidence that the carbohydrate moieties in the glycoprotein molecules play a crucial role in the biological activity and the immune response. The present study has proved that the level of sialic acid depends on the frequency of chemotherapy and that the immune response is reduced as the dose of chemotherapy increases. The present study included 35 patients with ALL, divided in to six groups depending on the protocol of chemotherapy and the time period of treatment. The results were compared with the group of untreated ALL (at time of diagnosis) and the control group (the healthy individuals). The level of sialic acid in the white blood cells homogenate was tested along with the phagocytosis test and lymphocyte transformation test. The results showed that the level of sialic acid significantly decreased ($p < 0.05$) in the cell homogenate as a result to the effect of chemotherapy. This result was associated with a significant decrease ($p < 0.05$) in the parameters of both nonspecific and cellular responses which indicates the possibility of employing the level of sialic acid as a biological indicator to detect the disease and to early diagnose the malignant tumors and evaluate the response of patients to the chemotherapy.