

بعض المؤشرات المناعية لدى النساء المصابات بداء المبيض المهبلي

هديل عبد اللطيف مجيد**، د.امنة نصيف جاسم*، خالد عبدالرزاق حبيب*

تاريخ قبول النشر 2006/12/24

الخلاصة

اجريت الدراسة لمعرفة بعض المؤشرات المناعية لدى النساء المصابات بداء المبيضات المهبلي الذي تسببه انواع Candida حيث حصل انخفاضاً معنوياً لخضاب الدم Hb عن معدل عند النساء المصابات بهذا المرض مقارنة مع نساء السيطرة كما اشترت نتائج العد التفريقي لخلايا الدم الى حصول زيادة معنوية في معدل الخلايا العدلة والخلايا احادية النواة لدى النساء المريضات عند مقارنتهن مع نساء السيطرة. انخفضت النسبة المئوية لمعامل البلعمة عند النساء المريضات (66.45 ± 15.03) معنوياً مقارنة مع نسبتها لدى نساء السيطرة (73.72 ± 3.77)، كما انخفضت النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية المكونة للتشكيل الزهري الثاني (57.75 ± 18.787) معنوياً مقارنة مع نسبتها لدى نساء السيطرة (74.25 ± 7.759).

المقدمة

يلعب الجهاز المناعي دوراً كبيراً في حماية الجسم من الاصابة وفي الاخص الاستجابة المناعية الخلوية (CMA) cell mediated immunity بالإضافة الى دور الكلوبولين من صنف أ Immunoglobulin A (IgA) الموجود موضعياً في انسجة المهبل، والكلوبولين المناعي من صنف G Immunoglobulin G (IgG) الموجود في جهاز الدوران، في حماية جسم المرأة من اصابة المبيضات للانسجة السطحية للمهبل(1).

معظم البحوث التي تناولت دراسة داء المبيضات المهبلي (VC) توصلت الى نتيجة واحدة وهي ان الخميرة Candida albicans مسؤولة عن 85% - 90% من حالات الاصابة بداء المبيضات المهبلي، بالإضافة الى وجود انواع اخرى من هذه الخميرة تسبب الداء نفسه(2).

على الرغم من ان داء المبيضات المهبلي هو الاصابة الفطرية الأكثر شيوعاً لدى نسبة كبيرة من النساء في سن الاخصاب، لكن امراضيته والاستجابة المناعية للهجوم الفطري يكتنفها الكثير من الغموض (3, 4).

لوحظ ان مستوى الاجسام المضادة Anti-candida Antibodies في امصال مريضات داء المبيضات المهبلي مرتفع نوعاً ما، وعلى الاخص في الاصابات المزمنة، وهكذا تركز الدراسات الحديثة على دور الاضداد في الحماية ومنع الاصابة (5). لم تكن هناك دراسات كثيرة في العراق تناولت الجانب

المناعي باستثناء الدراسات التي تناولت الجوانب الميكروبيولوجية والتمهنية في مبيحة علوم الحياة* وعلى هذا الاساس ارتأينا اجراء هذه الدراسة التي تتناول بعض المؤشرات المناعية لدى المصابات بهذا الداء.

المواد وطرائق العمل

- 1- عينات الدم والامصال Serum & blood Samples
لاجراء بعض الاختبارات الدموية والمناعية، جمعت عينات الدم والامصال، اذ تم سحب 10 مل من الدم من النساء المريضات والمصابات بداء المبيضات المهبلي Vulvo vaginal candidiasis بعد ان اخذت مسحات مهبلية لهن وزرعت بالمختبر والتأكد من الاصابة بالخميرة Candida albicans قسمت عينات الدم على النحو الاتي:
I. وضعت 5 مل من الدم في انبوبة حاوية على Heparine
II. وضعت 2 مل من الدم في انبوبة تحتوي على Ethylene Diamin Tetra Acetic Acide (EDTA)
III. وضعت 3 مل من الدم في انبوبة بلاستيكية. اجريت الاختبارات الدموية الاتية:
1- فحص صورة الدم الكاملة Complete Blood picture
2- قياس خضاب الدم Hemoglobin (Hb)
3- عدد خلايا الدم البيض White blood cell counting (WBC) (7).
4- العد التفريقي لخلايا الدم Differential counting (WBCs)
عملت مسحة من الدم على شريحة زجاجية نظيفة وتركت لتجف، ثم صبغت بصبغة لشماني Leishman stain لمدة دقيقتين، غسلت الشريحة باستخدام داريء صبغة لشماني لمدة 10 دقائق. فحصت باستخدام العدسة الزيتية وعدت 100 خلية بيضاء بصورة عشوائية ومن ثم حسبت النسبة المئوية لهذه الخلايا.
2- البلعمة Phagocytosis

، ثم اخرجت الانبوبة وازيلت المادة الطافية ومزج الراسب بحذر مع ما تبقى من المادة الطافية ، ثم وضعت قطرة من المزيج على شريحة عد الخلايا المكونة للتشكيل الزهري كما يأتي:

$$\text{معامل التشكيل الزهري} = \frac{\text{عدد الخلايا المكونة للتشكيل الزهري}}{100 \times \text{العدد الكلي}}$$

تحليل النتائج :

حلت النتائج بأستعمال مربع كاي (-Chi Square) واختبار t (t-test) لمعرفة اذا كانت هناك فروق معنوية بين مجموعة الاختبارات التي اجريت وتحت مستويات معنوية 0.001,0.01,0.05.

النتائج

اولا: فحص صورة الدم الكاملة

اظهرت نتائج قياس خضاب الدم ال Hb انخفاضا معنويا بمعدله لدى مريضات داء المبيض المهبلي مقارنة مع نساء السيطرة (p < 0.01). اما نتائج قياس العد الكلي لخلايا الدم البيض WBC فقد اظهرت عدم وجود فرق معنوي في معدلها عند النساء المصابات بهذا المرض مقارنة بمعدل العدد الكلي لخلايا الدم البيض لنساء السيطرة (p < 0.05) كما اظهرت نتائج العد التفريقي لخلايا الدم البيض زيادة معنوية في معدل الخلايا العذلة (p < 0.05) ومعدل خلايا احادية النواة (p < 0.01) لدى المريضات عند مقارنتهن مع نساء السيطرة. بينما لم تظهر معدلات الخلايا اللمفاوية والخلايا الحمضة والخلايا القعدة فروقا معنوية بين مريضات داء المبيضات المهبلي ونساء السيطرة (p < 0.05) (جدول 1).

جدول (1) : صورة الدم الكاملة لمريضات داء المبيضات المهبلي ونساء السيطرة

P	نساء السيطرة عدد (32) المعدل ± الانحراف المعياري Mean ± SD	نساء مصابات بداء المبيضات المهبلي عدد (55) المعدل ± الانحراف المعياري Mean ± SD	الفحوصات الدموية
0.003	12.588/ 0.731	11.924/1.081	قياس الهيموكلوبين Hb
0.288	7.034 ± 1.315	7.44± 0.939	العدد الكلي لخلايا الدم البيض
0.001	52.609 ± 5.884	73.553 ± 12.788	الخلايا العذلة
0.002	1.469 ± 0.761	2.2 ± 1.161	الخلايا احادية النواة
0.313	32.53± 5.7	30.69 ± 9.27	الخلايا اللمفاوية
0.100	1.28± 1.53	1.69 ± 2.01	الخلايا الحمضة
0.362	0.2 ± 0.3	0.27 ± 1.08	الخلايا القعدة

ثانيا: قياس معامل البلعمة ومعدل الخلايا المكونة للتشكيل الزهري الثاني:

اشارت نتائج هذه الدراسة الى عدم وجود فرق في معدل النسبة المئوية لمعامل البلعمة بين مريضات داء المبيضات المهبلي ونساء السيطرة (p < 0.05) بينما اوضحت النتائج حصول انخفاض معنوي في

سحب 1 مل من الدم من انبوبة EDTA اذا خلط 50 ml من الخميرة المقتولة مع 200 ml من الدم ، ووضع المزيج في حمام مائي تحت درجة 37 °م لمدة 30 دقيقة ، اخذت قطرة من المزيج ووضعت على شريحة زجاجية ، تركت لتجف ثم صبغت بصبغة لثمان لمدة دقيقتين ، وغسلت بداريء لثمان لمدة 10 دقائق ، فحصت الشريحة تحت المجهر على القوة (100) ثم حسب معامل البلعمة على النحو الاتي:

$$\text{معامل البلعمة} \% = \frac{\text{عدد الخلايا المتبلعمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا}} \times 100$$

3- التشكيل الزهري Rosett Forming cell يعتبر هذا الاختبار اكثر قبولا لتشخيص الخلايا اللمفاوية من النوع T والذي اجري على النحو التالي :

- سحب 5 مل من الدم ووضع في انبوبة تحتوي هيبارين Heparine
- سكب الدم بلطف في انبوبة حاوية على 3 مل من محلول متدرج الكثافة (محلول لمفورب Lymphoprep solution) كثافة النوعية 1.077 بحيث ينساب الدم على جوانب الانبوب حتى لا يؤثر على المنطقة الفاصلة بينهما.
- نبد المزيج بجهاز النبد المركزي بسرعة 2900 rpm مدة 30 دقيقة . لوحظ بعد اخراج الانبوبة ان محتوياتها قسمت الى اربعة طبقات ، الطبقة الاولى هي بلازما صفراء اللون والثانية هي الطبقة الحاوية على خلايا لمفاوية ذات لون ابيض ضبابي ، اما الثالثة فكانت شفافة وهي طبقة (Lymphoprep) في حين كانت الاخيرة اللون تمثل RBCs
- سحبت الطبقة الثانية الحاوية على الخلايا اللمفاوية بواسطة ماصة باستور ووضعت في انبوبة نظيفة ومعتقة.
- غسلت الخلايا بمحلول هانكس الملحي المتوازن Hanks Balance salt solution (HBSS) ثلاث مرات وفي كل مرة نبد بسرعة 2000 rpm عدا المرة الاخيرة فنبتت بسرعة 1000rpm مدة خمس دقائق . ازيلت المادة الطافية بعد عملية الغسل ، ثم مزج الراسب مع 1 مل من محلول HBSS واخذ 50 ml ومزج مع 450 ml من صبغة تريبان Trypan blue stain للتعرف على حيوية الخلايا .
- اخذت قطرة من المزيج ووضعت على شريحة عد الخلايا.

عدد الخلايا الحية

$$\text{حيوية الخلايا} = \frac{\text{عدد الخلايا الحية}}{\text{العدد الكلي}} \times 100$$

- مزج 200 ml من الخلايا في انبوبة اختبار نظيفة مع 200 ml من معلق كريات الدم الحمراء للاغنام Sheep Red Blood Cells (SRBC) ونبد المزيج بسرعة 2000 rpm مدة 5 دقائق ووضع في الثلجة تحت 4 °م ولمدة ساعة واحدة

الخلايا القعدة والحمضة على وضعها عند النساء المصابات ربما يعود لعدم الاستجابة لهذين النوعين من الخلايا عند الإصابة بالخميرة. أما الانخفاض المعنوي في عدد الخلايا للمفاوية المكونة للتشكيل الزهري الثاني فقد يكون ناتج عن القصور المناعي الذي هيا للإصابة والذي يترافق مع حالة الحمل وتعاطي المركبات المثبطة للمناعة (1). لقد ازداد عدد خلايا وحيدة النواة معنويا لدى النساء المريضات . ان فعالية قتل المبيضات بواسطة الخلايا وحيدة النواة تتفعل بواسطة (CSF) Colony Stimulating Factor المتحررة من الخلايا للمفاوية الثانية وان النساء المصابات بداء المبيضات المهبل المتكرر تتكاثر لديهن خلايا الدم وحيدة النواة بنشاط مقارنة بالنساء الطبيعيات. (4 ، 11).

References

1. Granger, S.E.1992.The aetiology and Pathology of Vaginal Candidiasis.Brit. J .Clin .Pract.46.
2. Whitkin ,S.S and P.C.Giraldo .2000 . The quandary of Vulvo Vaginal Candidiasis J.Patiant Care,34: 123 - 129 .www.patientcare line.com.
3. Santoni,G.;M.Boccanera.; D.Adriani. ; R.Lucciarini. C.Amatini : S.Morrone;A.Cassone andI, F.De-Bernardis .2002 . Hmune Cell--Mediated Protection against Vaginal Candidiasis: Evidence for a Major Role of Vaginal CD4T Cells and possible prnticipation of other Local Lynlphocyte Effectors. Infect .Immune. 70:4791 - 4797.
4. Vultaggio A.;C.Scaletti; M.J .Gromez; S.Romagnani; A.Cassone .E.Maggi and P.Piccini .2000.Vnginnl T-Cells of Women suffering from Recurrent vulvo vaginal Candidiasis exhibit A Th, profile I . National Conference siica.g.dilprete @ dmi.unifi. it.
5. Little,C.H;G.M.Georgiou ; A. Marceglia ;H.Ogedgebe ;R.E.Cone & D.Mazz.2000.Mcasurnlent of T- Cells derived Antigen Binding Molecules and Immunoglobulilne G Specific to C'andida albicans Mannan in Sera Patients with Recurrent Vulvo vaginal Candidiasis. Infect .: 6 8: 3840 - 3847 .
6. Ahmed, W.I.2003.Microbiological and inmounological Aspects of

معدل النسبة المئوية للخلايا المكونة للتشكيل الزهري الثاني لدى مريضات داء المبيضات المهبل عند مقارنتها مع نساء السيطرة ($p < 0.01$) (جدول 2).

جدول (2) : النسبة المئوية لمعامل البلعمة للخلايا العدلة والخلايا للمفاوية المكونة للتشكيل الزهري الثاني لدى مريضات داء المبيضات المهبل ونساء السيطرة

معدل النسبة المئوية للخلايا المكونة للتشكيل الزهري الثاني % معدل ± الانحراف المعياري Mean ± SD	معدل النسبة المئوية للخلايا المكونة للتشكيل الزهري الثاني % معدل ± الانحراف المعياري Mean ± SD	
57.750 ± 18.747	66.45 ± 15.03	نساء مصابات بداء المبيضات المهبل N = 30
74.250 ± 7.759	73.72 ± 3.77	نساء السيطرة N = 30
0.007	0.052	P

المناقشة:

رغم ان داء المبيضات المهبل يعد الإصابة الأكثر شيوعا في سن الاخصاب الا ان آليات دفاع المضيف ضد الإصابة بهذا الداء لم تفهم جيدا لحد الان (3 ، 4).

اذ يعود انخفاض خضاب الدم الـ Hb لدى المريضات الى تركيز الحديد في الجسم ، اذ ان 75 % من الحديد في الجسم يكون موجودا بالهيموكلوبين ، ولهذا فان اي انخفاض في تركيز الحديد في الجسم يسبب انخفاضا في تركيز خضاب الدم (9).

ان زيادة خلايا الدم في المهبل يعد مؤشر مختبري عالي الحساسية لالتهابات المهبل ، اما زيادتها في الدم فيعد مؤشر مختبري عالي الخصوصية لالتهابات المهبل (10).

ان الزيادات في معدل عدد الخلايا العدلة لدى مريضات داء المبيضات المهبل ربما يعود لكونها خط الدفاع الاول الذي يستجيب لالتهابات من جهة ومن جهة اخرى امتلاكها اعلى فعالية في قتل المبيضات وذلك من خلال انزيم (Myelo peroxidase (MPO ووجود بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بالاضافة لدور colony stimulating factor (G-CSF) في زيادة انتاج الخلايا العدلة في نخاع العظم في جسم الانسان لمقاومة الإصابة بالمبيضات البيضاء (11).

اما بالنسبة لفعالية خلايا البلعمة للخلايا العدلة رغم ان الانخفاض في معدلها لم يكن معنويا الا ان الابحاث السابقة قد اشارت الى ان لحالة التعايش الموجودة بها المبيضات بالمهبل دورا في جعل الاستجابة المناعية فقيرة في عمقها تجاه الإصابة الفطرية في المهبل (12) ابحاث اخرى رجحت ان يكون للمنظمات المناعية دورا للحد من فعالية خلايا الدم البيض متعددة الانوية ضد المبيضات (13) . اما سبب بقاء

upper genital tract infection *Obstet Gynecol.* 87 :730 - 736.

11. Ashman ,R.B and J.M.Papadinlitrou .1995.Production and Function of Cytokines in Natural and acquired Immunity to *Candida albicans* Infection *Microbial Rev.*,59:664 - 672.

12. Wormley , E.L. ; J.R Joseph and P.L.Fidel . 2001.Cell Adehcsion Molecule and Lynphocyte activation Marker Expression during Experimental Vaginal candidiasis . *Infect .Immun* 69:5072 – 079.

13. Fidel, P.L.;W.Luo ;C.Stcele. ; J .Chabain ; ,M.Baker and F. Wonnley. 1999. Analysis of Vaginal Cell Population' during experimental Vaginal Candidiasis .*Infect.Immun.* 67:3135 - 3140.

Candidiasis in human.Ph.D.Thesis.Ujnviversity of Baghdad. College of Veterinary Medicine .Iraq.

7. Weir,D.M.1989 .Hand book of Experimental Immunology .2:Black weel Scientific publication .pp:321 - 329.

8. Wozniak,K.L;F.L.Wonnley and P.L. Fedial .2002.Candida Specific Antibodies during Experillental Vaginal Candidiasis In Mice.*Infect Immn.*70:5790 - 5799 .

9. Saradesia ,V.1997. Introduction to Clinical Nutrition Marcel D.ekker.lnc .New York .pp77 - 128 .

10. Peipert , J.F;L. Booardnlan ;J. W.1-Hgan ; J.Sung and K mayer . 1996, Laboratory Evaluation of acute

Some Immunological Parameters Paraw in Women with vaginal candidiasis

Hadeel A. Majeed**

Amna N Jassim*

Khalid A. Habib*

*Baghdad University , Science college for Women , Dept. Biology

**M.Sc. .

Abstract

This study was conducted to know some Immune responses in women with vaginal candidiasis by *Candidia* species. Hemoglobin (Hb) was decreased significantly in patient women comparing with control group. The differential count of Blood cells revealed that neutrophils and monocytes were increased significantly in patient women comparing with control group. The percentage of the Phagocytosis index was decreased significantly in patient women (66.45 + 15.05) comparing with control group (73.72 + 3.77) and the T- lymphocytes were decreased also in patient women (57.75 + 18.787) comparing with control group (74.25 + 7.759).