فاعلية مستحلب النانو للزيوت العطرية النباتية على الميكروبات والخلايا المناعية الشجرية

غيداء بنت سامي بن محمد عمر بن صديق

لجنة الإشراف

أ.د. ماجدة محمد علي

د. عالية محمد الدهلوي

المستخلص

الخلايا المناعية الشجرية هي خلايا متخصصة في عرض الأنتجينات. ولذلك فهي تعمل على نقل المعلومات المناعية بين المناعة الطبيعية والمناعة المتخصصة والتنسيق بينهما. الميكروبات الممرضة لاتزال مشكلة صحية كبيرة لأنها المسؤولة عن حدوث كثير من الأمراض. الهدف من هذه الدراسة هو تحضير مستحلبات النانو التي من شأنها أن تستخدم كعوامل علاجية لهذه الميكروبات الممرضة وأيضا لمعرفة دور هذه المستحلبات في التأثير على النمط الظاهري للخلايا الشجرية، الموت المبرمج وإفراز السيتوكينات. تم تحضير ثلاثة مستحلبات نانو عن طريق خلط الزيوت الأساسية مع الماء ومادة كيميائية تخفف التوتر السطحي بينهما تعرف بالسطحي. ووجد أن حجم حبيبات مستحلب النانو تتراوح ما بين٢٥-٦٢ نانومتر. تم عزل الخلايا الشجرية معملياً من خلايا الدم أحادية النواة من متبرعين أصحاء ثم التأثير عليها باستخدام السكريات المتعددة وفيتامين د والتركيزات المختلفة من مستحلب النانو المحضر. تم التحقق من تأثير هذه المستحلبات على الشكل الخارجي والنمط الظاهري وموت الخلايا المبرمج وإفراز السيتوكينات للخلايا الشجرية. كذلك تمت دراسة النشاط الميكروبي لهذه المستحلبات على البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام والخمائر. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن مستحلبات النانو أدت إلى خفض نسبة ظهور علامة النضوج CD83 على سطح الخلايا الشجرية بشكل معنوي مقارنةً بالخلايا الشجرية المؤثر عليها بالسكريات المتعددة. أيضا، الجزيئات المحفزة CD80 أدت المستحلبات إلى ارتفاع نسبة ظهورها وخفض نسبة ظهور CD86 على سطح الخلايا الشجرية مقارنةً بالخلايا الغير مؤثر عليها. كذلك أظهرت المستحلبات تأثير بسيط غير معنوي على حيوية الخلايا وموت الخلايا المبرمج عند التركيزات المرتفعة وأدت إلى انخفاض معنوي في إفراز السيتوكين IL-12(p70) وارتفاع معنوي في إفراز السيتوكين IL-10. بالنسبة للنشاط الميكروبي والسمية، كل المستحلبات ليس لها أي سمية ماعدا المستحلب المتكون من زيت الكتان. كذلك أظهرت الدراسة أن جميع المستحلبات لها تأثير مثبط على الميكروبات الممرضة باستخدام تقنية الحد الأدنى للتركيز المثبط. أفضل تركيز مثبط لمستحلب النانو لزيت الكتان كان عند١٠,٩٣ميكروغرام/مل ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بالنسبة لزيت الكزبرة كان عند١٥,٧٠ميكروغرام/مل ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* أما بالنسبة لزيت الشبت كان عند٢١,٠٩ميكروغرام/مل ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*. من ذلك يتضح أن مستحلبات النانو لها تأثير مثبط للاستجابة المناعية ومولد للتحمل، وكذلك لها نشاط مضاد للميكروبات الممرضة المستخدمة.

The Efficacy of Plant Essential Oil Nanoemulsions on some Pathogen and Dendritic cells

Ghaida Sami Mohammed Omar BinSiddik

Supervisory Committee
Prof. Dr. Magda Mohamed Aly
Dr. Alia Mohammed Aldahlawi

Abstract

Dendritic cells (DCs) are specialized antigen-presenting cells that orchestrate the innate and adaptive immune response. Pathogenic microbes remain a major health problem because they are responsible for causing many diseases. **Aim:** The aim of this study was to prepare nanoemulsions (NEs) that would work as new therapeutic agents against pathogenic microbes and to investigate NEs role in controlling DCs phenotype expression, apoptosis, and cytokine secretion. **Method:** Three NEs were produced by mixing essential oils, surfactants and water with droplet sizes of NEs formulations in the range of 25-62nm. DCs were generated *in vitro* from peripheral blood mononuclear cells of healthy donors, followed by stimulation with lipopolysaccharide (LPS), Vitamin D and NEs concentrations. DCs morphology was determined using bright field inverted microscope. Phenotype characteristics and apoptosis were investigated using flow cytometry, and ELISA technique to determine IL-10 and IL-12(p70) production. Antimicrobial activities of the three NEs were examined against some pathogenic Gram positive, negative bacteria and yeast. **Results:** NEs showed significantly lower expression of maturation marker CD83 compared to LPS stimulated DCs. Also, costimulatory molecules CD80 showed higher expression and CD86 showed significantly lower expression compared with unstimulated DCs. In addition, NEs showed minor not significant effect on the viability and apoptosis of DCs at high concentrations, beside secretion significantly low levels of IL-12(p70) and high levels of IL-10. NEs showed no toxic effect against *Artemia salina* except flaxseed (*Linum usitatissimum*) NE. On the other hand, NEs showed antimicrobial activity against all tested microorganism. The best MIC of flaxseed (*Linum usitatissimum*) NEs was 10.93 µg/ml against *Pseudomonas aeruginosa,* for Coriander (*Coriandrum sativum*) NEs was 15.70 µg/ml against *Staphylococcus aureus,* and for Dill (*Anethum graveolens*) NEs was 21.09 µg/ml against *Pseudomonas aeruginosa.* **Conclusion:** Our data suggested that NEs may have tolerogenic effect on DCs and antimicrobial activity against the tested pathogenic microbes.