

تقييم الاستجابة المناعية الخلوية في الهامستر الذهبي المخمخ تجريبيا بالشمانيات الاحشائية و مقارنته بالاستجابة المناعية الخلوية تجاه مستضد كريات الدم الحمر للدجاج

حيدر زهير علي*

استلام البحث 9، تشرين الاول، 2008
قبول النشر 24، شباط، 2011

الخلاصة:

تم تقييم عمل الجهاز المناعي في الهامستر الذهبي المخمخ تجريبيا بالشمانيات الاحشائية و ذلك من خلال متابعة تطور عمل الجهاز المناعي و تحديداً المناعة الخلوية باجراء اختبار فرط الحساسية المتأخر للمجموعات المخمجة و مقارنتها بمجموعات السيطرة و قد تم ذلك باعتماد مؤشر لتقييم عمل الجهاز المناعي و هو كريات الدم الحمر للدجاج ، كونها مستضدات خاملة و لها القابلية على التحسس المناعي للحيوانات المستخدمة كونها حاوية على انوية ، اذ تم اختبار تركيزين من كريات الدم الحمر للدجاج ، الاول 1.5×10^9 كرية / مل و الثاني 3×10^9 كرية / مل و وجد أن التركيز الثاني اعطى اعلى تحسس مناعي و الذي اعتمد في هذا البحث ، و بعد اجراء التمنيع لكريات الدم الحمر للدجاج في الهامستر الذهبي و مجموعة السيطرة اجري اختبار فرط الحساسية المتأخر (بعد جرعة التحدي) للهامستر الذهبي تجاه مستضد اللشمانيات الاحشائية و اعتمدت اربعة اوقات للمتابعة و هي (14، 30، 60، 90) يوماً بعد الخمخ و أظهرت النتائج اعلى معدل في الفرق بين قطر انفخاخ راحتي القدمين بعد اليوم الاول (14) من المتابعة تجاه كل من مستضد اللشمانيات الاحشائية و كريات الدم الحمر للدجاج تلاه هبوط تدريجي في بقية اوقات المتابعة مما يدل على حدوث تنشيط للمناعة الخلوية في بداية الخمخ تبعه هبوط في الاستجابة المناعية الخلوية غير متخصص تجاه مستضد اللشمانيات و كريات الدم الحمر للدجاج.

الكلمات المفتاحية: اللشمانيات الاحشائية، الاستجابة المناعية، كريات الدم الحمر للدجاج.

المقدمة:

الإنسان بتثبيط مناعي شديد للمريض [5] اذ من الممكن عودة الخمخ بوصفه نتيجة للتنشيط المناعي الحاصل نتيجة خمخ مسبق [6 و 7]. كما ان السيطرة على داء اللشمانيات يواجه عقبات اهمها عدم ايجاد لقاح فعال و امن حتى الان فضلا عن الادوية المتوافرة التي تكون اما غير فعالة تماما واما ذات تأثيرات جانبية ، خصوصا في الاطفال، و من الجدير بالذكر ايضا ظهور سلالات جديدة من هذا الطفيلي ايضا تكاد تكون مقاومة للعلاجات المتاحة [8] كما ان غزو اللشمانيات الاحشائية بالطور عديم السوط للبلعوم العملاقة يؤدي الى عرقلة نضوج هذه الخلايا [9]. و ذكرت دراسات عدة ان ميكانيكيات المناعة المتواسطة بالخلايا تؤدي دوراً مهماً جداً في الامراضية و الشفاء خلال الخمخ بالشمانيات الاحشائية اذ ان السيطرة على الخمخ محدد أولاً بميكانيكيات المناعة المتواسطة بالخلايا [10 و 11] و تشير دراسات حديثة الى ان فوعة اللشمانيات تعود الى اتباعها ميكانيكيات سيطرة غير تقليدية تمكنها من تجاهل الجهاز المناعي للمضيف و الوصول الى مصادر البروتين المطلوبة [12] كما ان الاستجابة المناعية يمكن ان تكون من نوع الخلية

خلال دورة حياة طفيلي اللشمانيات يتغير شكل الطفيلي بين شكل مسوط يوجد داخل جسم الحشرة الناقلة و شكل عديم السوط يوجد داخل خلايا البلاعم العملاقة للمضيف الفقري [1] طفيلي اللشمانيات الاحشائية بالطور امامي السوط Promastigote يمثل الطور المعدني لمرض الكلزار او الحمى السوداء ، يعيش هذا الطفيلي داخل البلاعم العملاقة للمضيف و يعيق عملية نضوج هذه الخلايا و يبقى الطفيلي حيا داخلها بمساعدة السكر الفوسفاتي الدهني على جدار الطفيلي (Lipophosphoglycan) [2] و الخمخ بالشمانيات الاحشائية يصاحبه غالباً امراضية نسيجية متقدمة في كبد و طحال المصاب مع تثبيط مناعي واضح خصوصا على المستوى الخلوي [3] كما يؤدي لعاب الحشرة الناقلة من جنس ذبابة الرمل (*Phlebotomus*) دوراً مهماً في بداية انتقال العدوى و حدوث الخمخ اذ يحوي لعاب الحشرة الناقلة على مادة بروتينية مثبتة لمناعة الجسم Salivary Immunosuppressive Protein (SIP) و التي تعمل على كبح المحاولات الاولى للجهاز المناعي في مقاومة الطفيلي [4] ويرتبط الخمخ بالشمانيات الاحشائية الذي يصيب

*دكتور مدرس/ قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بغداد

Email:h.z.ali@scbaghdad.edu.iq

بتركيز 0.5% من كريات الدم الحمر للدجاج في محلول PBS الحاوي على 0.1% من الصوديوم ازيد Na - azid مع 1% مصد دم أرنب طبيعي معاملة بالحرارة لمدة 30 دقيقة بدرجة 56م لايقاف عمل التمم Complement.

تمنيع الهامستر الذهبي بمستضد كريات الدم الحمر للدجاج Animal immunization with chicken red blood cells antigen

تم اختبار تركيزين من كريات الدم الحمر للدجاج، التركيز الأول 1.5×10^9 كرية/مل والتركيز الثاني 3×10^9 كرية/مل إذ حقنت 5 ذكور هامستر بالتركيز الأول و5 ذكور أخرى بالتركيز الثاني وبجرعة مقدارها 100 مايكروليتر (0.1 مل) وتم الحقن في التجويف الخليي Intraparetoneal بوصفه من أحسن المواقع واعطائه تحسناً مناعياً أفضل [14].

إحداث الخمج في الحيوانات بالشماني الاحشائية Infection of Golden Hamsters with L. donovani:

استخدمت العزلة أحادية النسيلة (AL - Bashir, 1992) والمرقمة (AA3) الموجودة في قسم علوم الحياة / جامعة بغداد، بعد ان تم تنشيطها وذلك بتمريرها في الهامستر واسترجاع الطفيلي بعد 30 يوماً.

تم تحضير 500 مل من الوسط ثنائي الطور (NNN Media) ووزع في قناني محكمة الغلق ومعقمة، وتم تلقيح الوسط بالشماني الاحشائية من مزروع نقي غير ملوث وحفظ المزروع في الحاضنة بدرجة 26 م [16] وفي اليوم الخامس بعد الزرع فحصت المزارع مجهرياً للتأكد من عدم التلوث ثم حصدت الطفيليات Harvesting ورسبت بجهاز الطرد المركزي 4000 دورة / دقيقة وغسلت 3 مرات بمحلول اللوك المعقم وفي الغسلة الأخيرة علق الراسب بمحلول اللوك إذ أصبح تركيز الطفيليات 5×10^7 طفيلي / مل [12] وحقن 15 هامستر من كل مجموعة بـ 0.2 مل من التركيز السابق في التجويف الخليي Intraparetoneal وقد تم التعامل مع المجموعة الأولى بعد أسبوعين من أحداث الخمج والمجموعة الثانية بعد شهر والمجموعة الثالثة بعد شهرين والمجموعة الرابعة بعد 3 أشهر (كل مجموعة تتألف من 20 حيواناً - 15 حيواناً للاختبار و 5 للسيطرة).

قياس الاستجابة المناعية الخلوية لكريات الدم الحمر للدجاج Evaluation of cellular immune response

تم ذلك بإجراء اختبار فرط الحساسية المتأخر Delayed Type of Hypersensitivity Test بحسب طريقة [17] مع بعض التحوير من [14]، إذ حقنت هذه الحيوانات بجرعة تحدي مقدارها 50

التائية المساعدة الاولى T helper 1 وينتج عنها ما يسمى بالمناعة المتوسطة بالخلايا (التي تثبط عند الخمج الحشوي بالشماني) والاستجابة الثانية هي من نوع الخلية التائية المساعدة الثانية T helper 2 وينتج عنها تنشيط الخلايا الحمضة وإنتاج الأضداد (التي تنتشط عند الخمج الحشوي بالشماني) [13].

المواد و طرائق العمل :

تقدير جرعة المستضد من كريات الدم الحمر للدجاج Chicken red blood cells antigen dosage :

تم اختبار افضل تركيز من كريات الدم الحمر للدجاج الذي يعطي أعلى تحسس مناعي من خلال اختبار فرط الحساسية الجلدية المتأخر واختبار التراص الدموي المباشر، وكالاتي:

تحضير مستضد كريات الدم الحمر للدجاج [14] Preparation of chicken R.B.C. antigen:

تم الحصول على دجاج بعمر 8 أسابيع من حقل دواجن في قضاء الخالص بمحافظة ديالى، إذ سحب الدم من القلب مباشرة ووضع بطريقة معقمة في قنينة زجاجية حاوية على محلول السيفر Al-Sever solution (14) وبنسبة 1:1، رسبت الكريات الحمر بوساطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق، بعدها تم غسل الكريات الحمر 3 مرات باستخدام دارى الفوسفات الفسلجي Phosphate Buffer Saline (PBS) وفي كل مرة تم رج العالق والترسيب بجهاز الطرد المركزي وبعد الغسلة الأخيرة علق الكريات بالمحلول نفسه إذ تم الحصول على تركيزين هما:-

التركيز الأول = 1.5×10^9 كرية / مل
التركيز الثاني = 3×10^9 كرية / مل

تثبيت مستضد كريات الدم الحمر للدجاج المعاملة بالفورمالين [14] و 15 Formalization of chicken R.B.C]

تم استخدام الفورمالين بنسبة 3% من المحلول الملحي الفسلجي المعقم بوصفه مثبتاً لكريات الدم الحمر لاستخدامها في فحص التراص الدموي المباشر خلال مراحل البحث المختلفة، إذ تم مزج راسب الكريات الحمر بمحلول الفورمالين - سالاين Formalsalin (3%) مع التحريك وحفظ بدرجة 4م وبعد 24 ساعة استبدل محلول Formalsaline بأخر جديد وحفظ إلى اليوم الاتي بدرجة 4م إذ رسبت الكريات الحمر بجهاز الطرد المركزي 2000 دورة / دقيقة ثم غسلت 3 مرات بدارى الفوسفات الفسلجي PBS وعلق راسب الكريات packed cells بعد الغسلة الأخيرة ليصبح العالق

النتائج :

نتيجة تحديد تركيز كريات الدم الحمر للدجاج الذي اعطى اعلى تحسيس مناعي:-

استخدم 10 من ذكور الهامستر، حقن 5 منهم بالتركيز 1.5×10^9 كرية حمراء / مليلتر والخمسة الاخرى حقنت بالتركيز 3×10^9 كرية حمراء/ مليلتر وقد اجري اختبارا التراص الدموي المباشر واختبار الجلد لكل من المجموعتين بعد التمنيع بالكريات الحمراء بأربعة أيام وكانت النتائج كالآتي:-

أ- اختبار التراص الدموي المباشر:

التركيز الأول 1.5×10^9 كرية حمراء / مليلتر:- كان معدل معيار الاجسام المضادة لخمسة حيوانات مساوياً لـ 1.6.

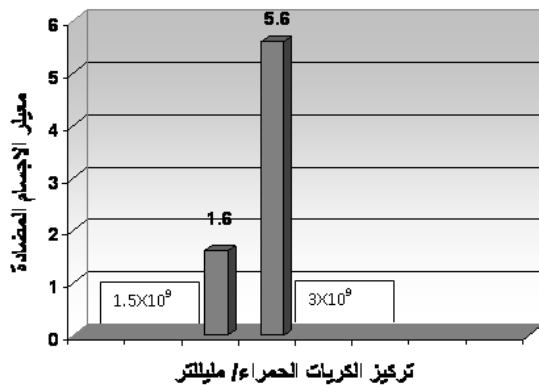
التركيز الثاني 3×10^9 كرية حمراء / مليلتر:- كان معدل معيار الاجسام المضادة لخمسة حيوانات مساوياً لـ 5.6.

ب- اختبار الجلد:

التركيز الأول 1.5×10^9 كرية حمراء / مليلتر:- كان معدل الفرق بين تورم راحتي القدمين مساوياً لـ 0.136 ملم.

التركيز الثاني 3×10^9 كرية حمراء / مليلتر:- كان معدل الفرق بين تورم راحتي القدمين مساوياً لـ 0.394 ملم.

وباستخدام اختبار t (t Test) أظهر التحليل الاحصائي ان التركيز الثاني (3×10^9 كرية حمراء / مليلتر) اعطى تحسيساً مناعياً أعلى من التركيز الأول (1.5×10^9 كرية حمراء / مليلتر) لذا فقد اعتمد التركيز الثاني خلال البحث، شكل (1 ، 2).



شكل (1) يبين معدل معيار الاجسام المضادة لاختبار التراص الدموي المباشر للتركيز 1.5×10^9 و 3×10^9 كرية حمراء/مليلتر من كريات الدم الحمر للدجاج في الهامستر.

مايكروليتراً من كريات الدم الحمر للدجاج بتركيز $10^8 \times 1$ كرية/مل في باطن القدم اليسرى left foot pod اما باطن القدم اليمنى right food pod فقد حقن بمحلول الغسل PBS وبعد 24 ساعة تم قياس سمك راحتي القدمين بواسطة جهاز المايكروميتر (25 micrometer Jiangxi Vernier) المعروف بـ Vernier وحساب الفرق بين القراءتين الذي يمثل شدة التفاعل الالتهابي الحاصل من فرط الحساسية المتأخر و ذلك من خلال قياس معدل قطر انتفاخ القدم المعامل بالمستضد و طرحه من معدل قطر انتفاخ القدم المعامل بدارئ الفوسفات الملحي لمجموعة الاختبار ، و قياس معدل قطر انتفاخ القدم المعامل بدارئ الفوسفات الملحي و طرحه من معدل قطر انتفاخ القدم غير المعامل لمجموعة السيطرة.

قياس الاستجابة المناعية الخلوية تجاه جنس الشمانيا الاحشائية

Delayed type of hypersensitivity :against *L. donovani*
اعتمد اختبار الجلد [18 و 19] لخمس حيوانات مخمجة وخمسة اخرى سيطرة من كل مجموعة.

1. تحضير مستضد الشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* Antigen

تم حصاد الطفيليات لمزروع (في اليوم الخامس من الزرع) وغسلت 3 مرات بدارئ الفوسفات الملحي ورسبت الطفيليات ثم علقت بمحلول الفينول سالين Phenol-saline (0.5 غم فينول / 100 مل سالين) إذ كان تركيزها مساوياً (25×10^6) طفيلي / مل.

2. جرعة التحدي (فحص التحسس الجلدي المتأخر لمستضد الشمانيا)

Challenge dosage (Delayed type of hypersensitivity against *L. donovani*)

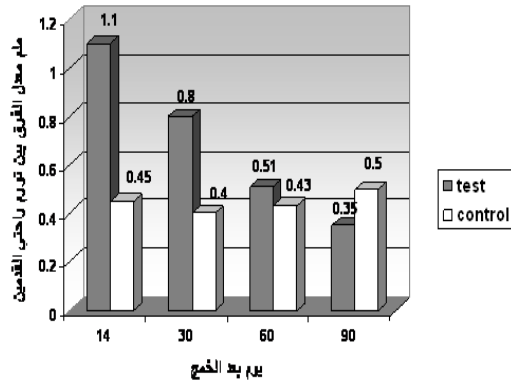
حقنت راحة القدم اليسرى بـ 0.2 مل من التركيز 25×10^6 طفيلي / مل أما راحة القدم اليمنى right footpad فحقنت بـ 0.2 مل من محلول التخفيف Phenol-saline وبعد 24 ساعة قيس سمك راحتي القدمين (باستخدام Vernier) والفرق ما بين القراءتين يمثل مقدار الاستجابة المناعية الخلوية .

التحليل الإحصائي : Data analysis

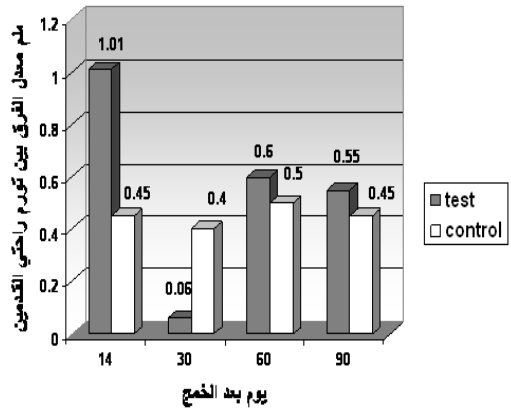
حللت نتائج البحث باستخدام اختبار تحليل التباين Analysis of Variance (ANOVA table) للمقارنات المتعددة بحساب الفرق المعنوي الأصغر Least Significant Difference وكذلك تم اعتماد اختبار t

(t Test) في تحديد تركيز كريات الدم الحمر للدجاج التي أعطت أعلى تحسيساً مناعياً [20]

يوماً بعد الخمج) اعطت 3 حيوانات من اصل 5 نتيجة سالبة لاختبار الجلد أي كان قطر القدم المحقونة بالفينول سلايين فقط أكبر من قطر القدم المحقون بالمستضد، شكل (4).



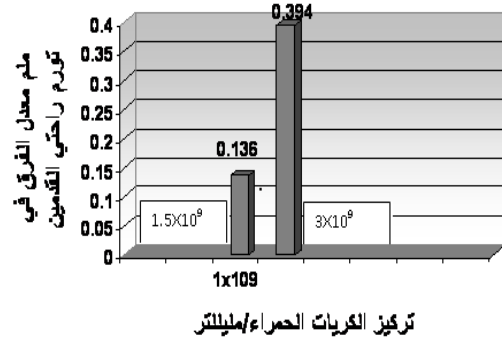
شكل (3) يوضح معدل الفرق بين تورم راحتي القدمين (اختبار الجلد بكريات الدم الحمر) لدى الحيوانات المخمجة والسيطرة خلال اوقات المتابعة الاربعة.



شكل (4) يوضح معدل الفرق بين تورم راحتي القدمين (اختبار الجلد بالشمانيا الاحشائية) لدى الحيوانات المخمجة والسيطرة خلال اوقات المتابعة الاربعة.

المناقشة:

تتلخص مظاهر الخمج بالشمانيا الاحشائية بتضخم الكبد و الطحال و انتاج الاضداد و فرط الغلوبولينات المناعية نوع γ وتغيير في مستويات المتمم فضلاً عن التثبيط المناعي على المستوى الخلوي وهذا ما ينعكس على قلة الاستجابة لمستضدات الطفيلي و /أو تجاه المشطرات سواء داخل الجسم الحي in- vivo أم خارجه in- vitro ، وهذه المظاهر المرضية في النمط التجريبي في الحيوان مشابهة الى حد كبير لما يحدث في الشمانيا الاحشائية للانسان والدراسة الدقيقة للنمط التجريبي في الحيوان مهمة جداً في فهم اليات الطفيلي في امراضه التي تحدث في الكلزار الذي يصيب الانسان [21 و 22] وقد وجد



شكل (2) يبين معدل الفرق في تورم راحتي القدمين للتركيزين (1.5x10⁹، 3x10⁹) كرية حمراء/ملييلتر من كريات الدم الحمر للدجاج في الهامستر.

قياس الاستجابة المناعية الخلوية تجاه كريات الدم الحمر للدجاج Delayed type of hypersensitivity against chicken R.B.C

تم قياس الاستجابة المناعية الخلوية اعتماداً على اختبار الجلد (فرط الحساسية المتأخر) وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) في معدل الفرق بين راحتي القدمين ما بين المجموعات المخمجة وكذلك بين كل مجموعة مخمجة والسيطرة الخاصة بها وقد لوحظ ان هناك هبوطاً تدريجياً في معدل الاستجابة الخلوية للمجموعات المخمجة الاربعة اذ كان (1.10، 0.80، 0.51، 0.35) ملم على التوالي مقارنة بمجموعات السيطرة الاربعة اذ كان معدل الفرق بين تورم راحتي القدمين (0.45، 0.40، 0.43، 0.50) ملم على التوالي، شكل (3).

قياس الاستجابة المناعية الخلوية تجاه جنس الشمانيا الاحشائية Delayed type of hypersensitivity against L.donovani

تم قياس الاستجابة المناعية الخلوية تجاه جنس الشمانيا الاحشائية اعتماداً على اختبار الجلد (فرط الحساسية المتأخر) وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية في معدل الفرق بين راحتي القدمين ما بين المجموعات المخمجة وكذلك بين كل مجموعة مخمجة والسيطرة الخاصة بها بمستوى ($P < 0.01$) لمختلف الاوقات الزمنية ولكن أكثرها كان بعد 14 يوماً من الخمج اذ تقدم الفرق المعنوي بمستوى ($P < 0.001$) عن بقية الاوقات الزمنية وكان معدل الفرق في تورم راحتي القدمين للمجموعات المخمجة الاربعة (1.01، 0.06، 0.60، 0.55) ملم على التوالي مقارنة بالفرق في تورم راحتي القدمين لمجموعات السيطرة الاربعة اذ كان (0.45، 0.40، 0.50، 0.45) ملم على التوالي، وهنا تجدر الاشارة إلى انه في المجموعة المخمجة الثانية (30

tolerance اذ ان اكتساب النتيجة الايجابية لاختبار الجلد في المرضى الذين يشفون من الكالازار يشير إلى انعكاس حالة عدم الاستجابة المناعية في هؤلاء الأفراد وهذا ما يمكن ادراجه تحت نظرية الاجهاض النسيلي المؤقت transitory clonal abortion الذي ينتج عن التعرض لجرع عالية من المستضدات غير المعتمدة على خلايا ت [25 و 26 و 27]

كما بينت بحوث حول هذا الموضوع [27 و 28] أن السمة المميزة لداء اللشمانيا الحشوي في المضائف الحساسة هو التنشيط الكبير الذي يصيب استجابة الخلية للمفاوية التائية T – Lymphocyte تجاه كل من المشطرات Mitogens ومستضد اللشمانيا.

المصادر:

1. Ou Zhang¹, Mattie C. Wilson¹, Wei Xu¹, Fong-Fu Hsu, John Turk, F. Matthew Kuhlmann, Yingwei Wang, Lynn Soong, Phillip Key, Stephen M. Beverley and Kai Zhang. 2009. Degradation of Host Sphingomyelin Is Essential for *Leishmania* Virulence. PLOS Pathogens (5) 12: 1-15.
2. Marquardt, W. C.; Demaree, R. S. and Grieve, R. B. 2000. Parasitology and Vector Biology, 2nd edition, Harcourt Academic Press, U.S.A., PP: 57 – 71.
3. Havid, L; Sorensen, A. L.; Kharazmi, A. and Theander, T. G. 1990. Functional and phenotypic changes in human lymphocytes after coincubation with *Leishmania donovani* in vitro. Infect. Immun., 58 (10): 3163–3167.
4. Martin, E .Winberg; Birgitta Rasmusson and Tommy Sundqvist. 2007. *Leishmania donovani*: Inhibition of phagosomal maturation is rescued by nitric oxide in macrophages. Exp. Parasitol. 177(2): 165-170.
5. Smelt S.C; Cotterell, S. E. J; Engwerda, C. R. and Kaye, P. M. 2000. B cell – deficient mice are highly resistant to *Leishmania donovani* infection, but develop

حدوث تذبذب واضح في الآلية المناعية الخلوية ، اذ ان اختبار الجلد تجاه كريات الدم الحمر للدجاج اثبت وجود تنشيط كبير للمناعة الخلوية في أول اسبوعين من الخمج اعقبه هبوط تدريجي في الاستجابة الخلوية حتى اليوم الاخير من المتابعة (90 يوما بعد الخمج) اما بالنسبة لمستضد الطفيلي فقد لوحظ تحفيز واضح لاختبار الجلد في أول اسبوعين من الخمج تلاه انخفاض ملحوظ بعد شهر من الخمج نتيجة تثبيط المناعة المتواسطة بالخلايا الذي تميز بنتيجة سالبة لاختبار الجلد لبعض الحيوانات ثم عادت النتيجة لتقارب ما يحدث في السيطرة، وجميع هذه المؤشرات تدل على حدوث حالة من فرط التحفيز المناعي في الأسبوعين الأولين من الخمج أعقبها حالة من الخمول المناعي تجاه كريات الدم الحمر ومستضد الطفيلي اذ ان التنشيط المناعي الحاصل لدى الحيوانات المخمجة كان غير متخصص لمستضد الطفيلي وهذا ما يتفق مع ما اشارت إليه دراسات اخرى في الانسان [23] من ان 61 مريضاً بالكزاز لم يظهروا نتيجة ايجابية لاختبار الجلد بالسُّلِّين Tuberculin test أو لمستضد اللشمانيا وقد ظهرت النتيجة الإيجابية بعد 6 أسابيع من العلاج وعزيت هذه النتائج إلى ان خمج الكزاز مرتبط بتثبيط عام غير متخصص للاستجابة المناعية المتواسطة بالخلايا والذي يعود لحالته الطبيعية بعد الشفاء وهذا ما يؤكد دراسة سابقة [24] من ان الخمج باللشمانيا الاحشائية يحدث انخفاضاً في مستوى المناعة المتواسطة بالخلايا وهذا التثبيط نوعي specific وغير نوعي non – specific تجاه مستضدات الطفيلي اذ ان المرضى لم يظهروا نتيجة ايجابية لاختبار الجلد بالمستضدات الآتية:-

➤ مستضد اللشمانيا Leishmanin skin test
 ➤ مشتق بروتيني نقي من لقاح السل (PPD)
 ➤ انزيمات من بكتريا *Streptococcus* وهي Streptokinase and Streptodornase
 ➤ خميرة *Candida albicans*
 وعزوا ذلك إلى ان التثبيط المناعي الحاصل خلال الخمج باللشمانيا الاحشائية يشير إلى نشاط الخلايا الكابحة المتخصصة للمستضد suppressor T cell ضد الخلايا التائية الاصلية التي تقل قابليتها تجاه المستضدات والمشطرات الاخرى اذ ان التثبيط المناعي مرتبط بخلايا (ت) الكابحة طويلة البقاء long lived والتي يستمر وجودها ببقاء المستضد.

كما ان ظهور فرط حساسية واضح في بداية الخمج يتحول بعدها إلى نتيجة سالبة في الطور المتقدم من الخمج يدعو للاعتقاد إلى ان فرط الخمج باللشمانيا هو السبب في تثبيط المناعة المتواسطة بالخلايا وحدث حالة التحمل المناعي immunological

- donovani* antigens encapsulated in positively charged liposomes. Infect. Immun., 65 (6): 2371 – 2377.
12. Maxwell J. Silverman; Simon K Chan; Dale P Robinson; Dennis M Dwyer; Devki Nandan; Leonard J Foster and Neil E Reiner. 2008. Proteomic analysis of the secretome of *Leishmania donovani*. Gen. Biol. 9 (2): 35.
 13. Ronet, Catherine; Torre, Yazmin; Revaz-Breton, Melanie; Mastelic, Beatrice; Tacchini-Cottier, Fabienne; Louis, Jacques and launois, Pascal. 2009. Regulatory B cell shape the development of Th2 immune response in BALB/c mice infected with *Leishmania major* through IL-10 production. J. Immunol. 184: 886-894.
 14. سعيد، إرادة عبد الجبار. 1989. دراسة تأثير اثنين من المضادات الجرثومية على الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية. رسالة ماجستير علوم في علم الأدوية والسموم البيطرية/كلية الطب البيطري، جامعة بغداد/العراق.
 15. خليل، ايمان غضبان. 1994. تأثير الإصابة التجريبية بالاكياس العدرية على الاستجابة المناعية الطبيعية في الفئران المعالجة والفئران غير المعالجة بمعدلات الاستجابة البايولوجية. رسالة ماجستير علوم في علم الطفيليات ، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد/العراق.
 16. El-Hashimi, W.; Al – Shanawi, F. A. and Yanzeel, J. 1997. Observation on thermal tolerance of *Leishmania donovani*. Iraq.J.Biol. Sci., 16:31–39
 17. Ohta, Y.; Sueki, K. Yoneyema, Y.; Tezuka and Yagi, Y. 1983. Immunomodulating activity of thymosin fraction 5 and thymosin- $\alpha 1$ in immunosuppressed mice. Cancer Immunol. Immunother, 15: 108–113.
 18. Guriges, J. S.; Bankhurst, A. D. and Messner, R. P. 1977. Suppression of human T cell mitogenesis by prostaglandins. J. Exp. Med., 146: 1719–1734.
 19. السامرائي، حيدر زهير. 2001. دراسة الاستجابة المناعية في الهامستر الذهبي المخمج neutrophil-mediated tissue pathology. J. Immunol., 164: 3681 – 3688.
 6. Liu, Dong and Uzonna, Jude E. 2010. The p110{delta} isoform of phosphatidylinositol 3-kinase controls the quality of secondary anti-*Leishmania* immunity by regulation and effector function of memory T cell subsets. J. Immunol. 12:1-8.
 7. Argueta-Donohue, Jesus; Carillo, Nuria; Valdes-Reyes, Leonardo; Zentella, Alejandro; Argueta-Garcia, Magdalena; Becker, Ingeborg and Kobeh, Laila-Gutierrez. 2008. *Leishmania mexicana*: Participation of NF- κ B in the differential production of IL-12 in dendritic cells and monocytes induced by lipophosphoglycan (LPG). Exp. Parasitol. 120: 1-9.
 8. Wagner Baetas-da-Cruz , Roger M. Macedo-Silva, Alessandra Santos-Silva, Andrea Henriques-Pons, Maria F. Madeira, Suzana Corte-Real and Leny A. Cavalcante. 2004. Destiny and Intracellular Survival of *Leishmania amazonensis* in Control and Dexamethasone-treated Glial Cultures: Protozoa-specific Glycoconjugate Tagging and TUNEL Staining. J. Histochem. Cytochem. 52(8): 1047-1055.
 9. Santos DO, Coutinho CE, Madeira MF, Bottino CG, Vieira RT, *et al.* 2008. Leishmaniasis treatment—a challenge that remains: a review. Parasitol. Res. 103:1-10.
 10. Dennis, V. A.; Lujan, R; JR, W. L. C. and Hanson, W. L. 1986. *Leishmania donovani*: cellular and humoral immune response after primary and challenge infections in squirrel monkeys, *Saimiri sciureus*. Exp. Parasitol., 61: 319–334.
 11. Afrin, F.; Ali, N. 1997. Adjuvanticity and protective immunity elicited by *Leishmania*

25. Howard, J.G; Hale, C and Liew, F. Y. 1980. Immunological regulation of experimental cutaneous leishmaniasis. III. The significance of specific suppression of cell-mediated immunity. *J. Exp. Med.*, 152: 594–607.
26. Bogdan, C. and Rollinghoff, M. 1998. The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion. *Int. J. Parasitol.*, 28: 121 – 143.
27. Dogra, Nisha; Warburton, Corinna and McMaster, Robert. 2007. *Leishmania major* abrogates gamma interferon-induced gene expression in human macrophages from a global perspective. *Infect. Immunol.* 75(7): 3506-3515.
28. Jacobs, Thomas; Andrä, Jörg; Gaworski, Iris; Graefe, Sebastian; Mellenthin, Katja; Krömer, Manfred; Halter, Roman; Borlak, Jurgen and Clos, Joachim. 2005. Complement C3 is required for the progression of cutaneous lesions and neutrophil attraction in *Leishmania major* infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 194: 143-149.
- تجريبيا بالشمانيا الاحشائية. رسالة ماجستير علوم في علم الطفيليات ، كلية العلوم ، جامعة بغداد / العراق.
20. Kirkwood, Betty R. and Sterne, Jonathan S. C. 2003. *Essential Medical Statistics*. Blackwell Science Ltd., 1st Edition. USA. PP: 30-31.
21. Myler, Peter J. and Fase, Nicolas. 2008. *Leishmania* after the genome. Caister Academic Press. 1st Edition. Norfolk, UK. PP: 244-245.
22. Donovan, Michael J.; Maciuba, Britta Z.; Mahan, Caitlin E. and McDowell, Mary Ann. 2009. *Leishmania* infection inhibits cycloheximide-induced macrophages apoptosis in a strain-dependent manner. *Exp. Paraitol.* 123: 58-64.
23. Rees, P. H.; Kager, P. A.; Muriithi, M; Wambua, P.P.; Shah, S. D. and Butterworth, A. E. 1981. Tuberculin sensitivity in kala-azar. *Trans. R. Soc Trop. Med. Hyg.*, 75 (5): 630–531.
24. May Ho, D. K.; Koech, D. W. I. and Bryceson, A. D. M. 1983. Immunosuppression in Kenyan visceral leishmaniasis. *Clin. Exp. Immunol.*, 51: 207–214

Evaluation of cellular immune response in Golden Hamsters experimentally infected with *Leishmania donovani* comparing with cellular immune response against chicken Red Blood Cells.

*Hayder Zuhair Ali **

*Dept. of Biology/ college of Science / University of Baghdad.

Email:h.z.ali@scbaghdad.edu.iq

Abstract:

The Evaluation of the immune response in Golden Hamsters experimentally infected with *Leishmania donovani* was determined in this study, particularly, the cellular immune response. Follow up has maintained to determine the Delayed Type of Hypersensitivity using skin test both in infected and control lab animals. Chicken red blood cells were used as a parameter to evaluate the immune system; they are dull and have the ability of immunization. Two concentrations of chicken R.B.C were examined to determine which gives the higher titration in Hamsters and those were 1.5×10^9 cell/ml and 3×10^9 cell/ml , the second concentration gave the maximum titration where then used in this work. After sensitization with Chicken R.B.C for both infected and control groups, delayed type of hypersensitivity has been used against *Leishmania donovani* antigen and 4 days of follow up were adopted and they were (14, 30, 60, 90) day after infection.

Results showed that skin test against both antigens (*L.donovani* and chicken R.B.C) was significantly higher than normal at the first day of follow up (day 14) then gradual decreasing were noticed till the last day of follow up (90). This can indicate that the infection with *L.donovani* activated the immune response at the beginning of infection, then leads to cellular immune suppression against both *L.donovani* antigen and chicken R.B.C., so that this immunosuppression is not specific.