پاسخ ایمنی پستانداران در میاز

دکتر غلامرضا معتمدی - موسسه رازی

مقدمه:

میاز یکی از عوامل کاهش دهنده تولیدات دامی در سطح جهان می‌باشد. در حالی که برنامه‌های انجام شده در اروپا، کانادا، امریکا و ... برای کنترل هیپودرما و دیگر بندپایان ایجاد کنندهٔ میاز با موفقیت همراه بوده و باعث کاهش حیوانات آلوده و افزایش سودهی دامداری گردیده است. اما وجود خطرات ناشی از مصرف داروهای حشره کش در بهداشت عمومی از جمله باقی ماندن مواد شیمیایی در شیر و گوشت، ایجاد مقاومت نسبت به دارو، از بین رفتن عواملی غیر از عوامل ایجاد کننده میاز و آلودگی محیط زندگی، باعث گردیده است که تحقیقات به سوی یافتن روشهای دیگر برای کنترل بیماری سوق داده شود. ایجاد مقاومت مصنوعی در میزبانها یکی از این روشها است. در این مقاله از پیشرفتهایی که در شناخت و درك پاسخ ایمنی میزبان نسبت به گونه‌های هیپودرما و دیگر بندپایان ایجاد کننده میاز انجام گرفته است. همچنین نظریات استفاده از واکسیناسیون برای کنترل بیماری بحث می‌شود.

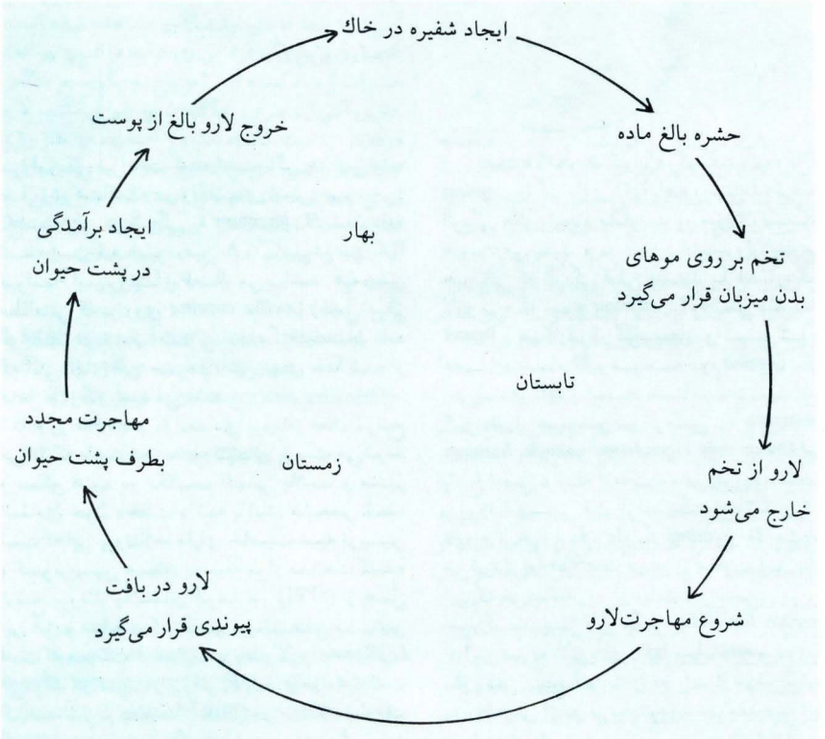
تعریف:

میاز به آلودگی بدن زنده و حیات‌دار انسان و سایر مهره‌داران توسط لاروهای حشراتی گفته می‌شود که از بافتهای زنده و یا مرده، مواد آبکی بدن و یا محتویات رودهٔ میزبان تغذیه نمایند.

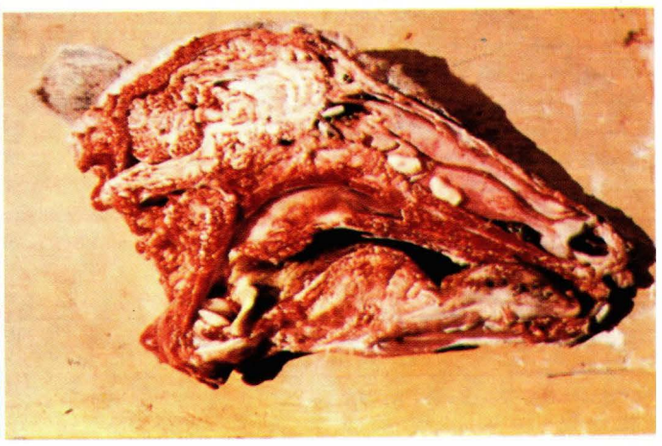
ماهیت واکنشهای میزبان انگل در میاز بستگی به بیولوژی حشره حمله کننده دارد. با وجود اختلاف در نوع حمله (*Hypoderma bovis* و *Hypoderma lineatum* به بافت عمقی حمله می‌کنند و *Oestrus ovis* عامل میاز بینی گوسفند (شکل ۱).و *Cephonomyia ssp* به بافت سطحی حمله می‌کند). و اختلاف در نوع صدمه (*Cochliomyia hominovrax* ایجاد عوارض خفیف و *Neobellieria citellivora* باعث عوارض شدید و حتی مرگ می‌گردد). و پاسخ ایمنی پستانداران در هر شرایط یکسان می‌باشد. در دههٔ گذشته پیشرفتهای زیادی در شناخت و افزایش اطلاعات در پاسخ ایمنی میزبان نسبت به میاز صورت گرفته است.

آنتی‌ژنهای بیماریزا:

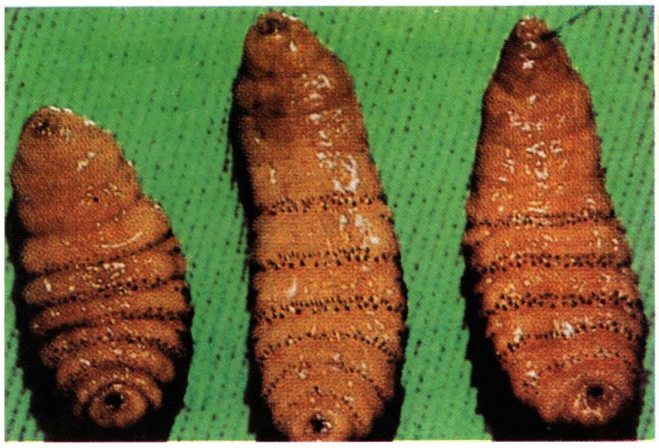
شناخت ماهیت مواد آنتی‌ژنی لاروهای انگل، اولین قدم در درك پاسخ ایمنی‌زایی میزبان می‌باشد. ترشحات آنزیمی از لارو مرحلهٔ اول *H. lineatum* جدا و از نظر ترکیبات بیوشیمیایی بررسی شده است. تجزیه آنتی‌ژنهای اولیه *H. lineatum* و *H. bovis* بوسیلهٔ الکتروفورز، ده باند پروتئینی را نشان میدهد. اختلاف این مواد در دو گونه بار الکتریکی، مقدار و شکل آنها می‌باشد. اما در تجزیه بوسیله پلی‌اکریلامید ژل الکتروفورز (PAGE) وزن مولکولی آنتی‌ژنها در دو گونه یکسان بوده است. پروتئین‌های اصلی در گونه *H. lineatum* شامل سه پروتئاز سرین‌دار بنامهای هیپودرمین C,B,A می‌باشند که این مواد در گاو آلوده و واکسینه شده خاصیت آنتی‌ژنی و ایمنی‌زائی را نشان داده‌اند. با آزمایش وسترن بلاست مشخص شده است که پروتئیهای جدا شده از *H. bovis* با پروتئینهای *H. lineatum* واکنش متقاطع دارند و اپی‌توپ اصلی شرکت کننده در این واکنش هیپودرمین C می‌باشد. این خاصیت بوسیلهٔ آزمایشات



شکل ۱: سیکل زندگی *Hypoderma bovis*: در تابستان حشره بالغ بر روی بدن حیوان تخمگذاری می‌کند و تخم به موهای میزبان می‌چسبد (ش، ۴) پس از چهار روز لارو از تخم خارج و از طریق سوراخی که در پوست ایجاد می‌کند به بافت همبند بین ماهیچه‌ها مهاجرت می‌نماید. در زمستان *H. bovis* عمدتا" در نزدیك کانال نخاعی در حالیکه *H. lineatum* در بافت همبند مری تکامل یافته و در بهار لارو حشره به قسمت پشت حیوان در بافت زیرپوستی مهاجرت می‌نماید. در آنجا ایجاد برآمدگی و سپس مجرائی برای تنفس در پوست ایجاد می‌کند و لارو بکمك شیپور تنفسی به حیات خود ادامه می‌دهد (ش، ۶) پس از ۴۵ روز لارو بالغ از کیست پوستی خارج می‌شود و در زمین به شفیره تبدیل می‌شود. پس از ۳۵ روز مگس بالغ در فصل تابستان بوجود می‌آید و سیکل ادامه پیدا می‌کند.



شکل ۲ - لارو استروس اویس در مجرای بینی



شکل ۳ - لارو درماتوبیا هومنیس

سرولوژیکی نیز ثابت شده است. اگر چه اپی‌توپ اصلی شرکت کننده در واکنشهای ایمنی هیپودرمین C است ولی در آلودگی به *H. lineatum* نشان داده شده است که هیپودرمین A و یاهیپودرمین B,C توانا" ایمینوژنهای فعال می‌باشند. همچنین مطالعاتی که بر روی *Lucilia cuprina* (عامل میاز گوسفند) در نیمکرهٔ شمالی انجام گرفته، نشان داده که آنتی‌ژنهای این حشره با آنتی‌ژنهای جدا شده از عامل میازگاو شبیه می‌باشند.

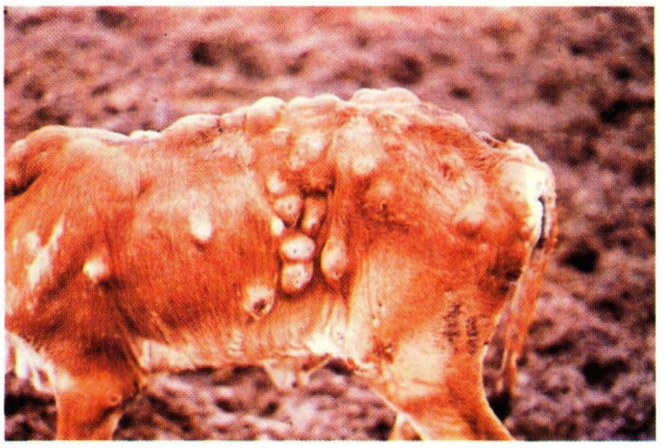
لارو *L. cuprina* تعدادی پروتئاز فعال ترشح می‌کند که باعث تجزیه پروتئینهای پوست می‌شوند و ممکن است در مکانیسم التهابی پلاسما و مسیر انعقادی خون دخالت داشته باشند. مشخص شده است که این پروتئازها دارای خاصیت شبیه تریپسین و کیموتریپسین هستند. بوسیلهٔ مواد ممانعت کنندهٔ ترشح پروتئاز پلاسمای گوسفند[1] (SPPI) از عمل این آنزیم ممانعت کنندهٔ می‌شود و عقیده بر این است که ممانعت از فعالیت پروتئاز لارو *L. cuprina* می‌تواند در عفونت‌زائی اثر بگذارد. و مواد ممانعت کننده آنزیم پلاسما[2] (PPI) در ایجاد مقاومت گوسفند نسبت به آلودگی موثر می‌باشد. گوسفند نسبت به پروتئازهای موجود در غدد بزاقی و مواد هموژن احشاء داخلی لارو واکنش نشان می‌دهد. و آزمایشات نشان داده است که واکنش نسبت به آنتی‌ژنهای کوتیکول لارو مرحله سوم اندك می‌باشد. ترکیب آنتی‌ژنهای ایمنیت‌زا در انواع دیگر عوامل میاز مشخص نشده است اما حدس زده می‌شود که آنتی‌ژنهای ترشحی دفعی غدد بزاقی و روده مهمترین مواد مورد نظر باشند.

ایمنی هومورال:

O.Donnel و همکاران در گوسفند آلوده به لارو *L. cuprina* آنتی‌بادی IgG یافته و مشاهده کردند که آلودگی مکرر ایجاد مقاومت در میزبان نسبت به عفونت می‌نماید. و در آزمایشات سرولوژیك سرم حیواناتی که آلودگی قبلی داشتند با عصاره کامل لارو مرحله سوم *L. cuprina* واکنش داشته‌اند. Bowel و همکاران در گوسفندان واکسینه شده با عصاره خام لارو مرحلهٔ دوم *L. cuprina* به آنتی‌بادی IgE و ایجاد حساسیت شدید اشاره کرده‌اند. همچنین در آلودگی به *Dermatobia hominis*، *Hypoderma tarandi*، *Ostrus ovis* ایجاد پاسخ ایمنی بوسیله آزمایشات سرولوژیک تشخیص و مورد ارزشیابی قرار گرفته است (در شکل ۲ و ۳ لارو و نحوه ابتلاء دام به *D. hominis* مشاهده می‌شود). اما اطلاعات در مورد ماهیت این پاسخ اندك می‌باشد. در آزمایشات تجربی بر روی جوندگان با لارو مگس *Cuterebra fontinella* افزایش سریع آنتی‌بادی IgG نشان داده شده است. بطور کلی سطح آنتی‌بادی در رات از موش بیشتر و در رات پس از دو مرتبه آلوده شدن مقاومت ایجاد می‌شود اما در موش پس از چندین مرتبه آلودگی کماکان حساس باقی می‌ماند. مدلهای مگس-جوندگان برای درک ایمینوبیولوژی و عفونتهای دامی بسیار سودمند خواهد بود. به کمک آن می‌توان تعداد مگسهای موجود، تعداد حیوانات مورد تحقیق و سیکل زندگی حشره را مورد مطالعه و بررسی قرار داد. پاسخ ایمنی هومورال نسبت به گونه‌های هیپودرما در گاو بطور کامل مطالعه شده است. آنتی‌بادی IgG در آلودگی گاو به لارو مرحلهٔ اول *H. lineatum* حدود ۴-۶ هفته پس از آلودگی در سرم قابل تشخیص است و سطح این آنتی‌بادی ۳-۴ هفته پس از تشخیص افزایشی یافته و سپس شروع به کاهش می‌کند، تا اینکه لارو شروع به حرکت به طرف پشت حیوان می‌کند این مهاجرت ۲۵-۲۸ هفته پس از آلودگی است، در این مرحله دوباره حداکثر میزان آنتی‌بادی ۱-۲ هفته قبل از نمایان شدن حداکثر تعداد لارو در پشت حیوان دیده می‌شود. و همزمان با خروج لارو از بدن حیوان این آنتی‌بادی شروع به کاهش می‌کند. وجود آنتی‌بادی در گوساله‌های مبتلا به *H. lineatum* نیز گزارش شده و احتمالا" این آنتی بادی‌ها در اثوزینوفیلی ایجاد شده در گوساله‌های مبتلا با گونه‌های لارو و حشره عامل میازگاوی نقش دارند.

ایمنی سلولی:

آلودگی به گونه‌های هیپودرما در گاو ایجاد ایمنی اکتسابی می‌نماید. این مصونیت در کنترل تعداد لارو فاکتور مهمی بشمار می‌رود و بستگی به تعداد لارو مهاجم و دفعات برخورد میزبان با آلودگی دارد. در حیواناتی که دفعه سوم برخورد با آلودگی را گذرانده باشند تعداد لارو در پشت حیوان و تعداد لارو خارج شونده از پوست کاهش می‌یابد. عقیده بر این است که اجزاء سلولی در ایجاد مصونیت اکتسابی دخالت دارند. انتشار آنتی‌ژن اختصاصی از لنفوسیتها در محیط کشت با مراحل آلودگی تغییر می‌کند و عمدتا" بستگی به مقاومت میزبان دارد. مرگ و میر زیاد در ا وائل آلودگی به افزایش حساسیت نسبت به آنتی‌ژن اختصاصی لنفوسیتها که به علت مقاومت در آلودگیهای قبلی در حیوان پدیدار گشته مربوط می‌شود. در حیواناتی که برای مرتبه اول آلوده می‌شوند. این حالت دیرتر به وجود می‌آید. و نتیجهٔ آن با مرگ لارو در بدن حیوان



شکل ۴ - ایجاد برآمدگی پوستی در اثر آلودگی با درماتوبیا هومنیس در گوساله

آلوده (پشت میزبان) مشاهده می‌شود. دلیل منطقی دخالت ایمنی سلولی در میاز انطباق بین فاکتور ممانعت کننده مهاجرت ماکروفاژی[3] (MIF)، واکنش پوستی تاخیری به آنتی‌ژن‌های لارو زنده و تازه از تخم خارج شده و طول مدت ایمنی است. تحقیقات جدید نشان داده است که حیواناتی که در معرض اولین آلودگی قرار گرفته‌اند و بوسیلهٔ یک مادهٔ تحریک کنندهٔ حساسیت سلولی مانندمونوفسفرپل‌لیپید A[4] (MPL) تحت درمان قرار گیرند باعث افزایش حساسیت میزبان به آنتی‌ژن اختصاصی *H. lineatum* می‌شود. همچنین مشخص شده است که عدم پاسخ ایمنی به آنتی‌ژن تا مدتها پس از آلودگی در حیوان حساس به علت مواد کاهش دهنده ایمنی (Immunosuppressive) و یا به علت تاخیر در ایجاد واکنش ایمنی می‌باشد. در حقیقت امکان دارد روشهای کنترل کننده واکنش التهابی میزبان که بوسیله انگل ایجاد می‌شود باعث زنده ماندن الگل شود، چون هیپودرمین A و B اجزاء مکمل بخصوص جزء C راغیر فعال می‌کنند و با از بین رفتن جزء C در واکنش التهابی میزبان و پاسخ میزبان در آنتی‌ژن اختصاصی اختلال بوجود می‌آید در نتیجه انگل می‌تواند از واکنش ایمنی میزبان رهایی یابد و اینگونه کاهش در پاسخ ایمنی میزبان بطور تجربی در خرگوش مبتلا به *D. hominis* مشاهده شده است.

ایجاد یک پوشش قرمز مثبت Ruthenium بر روی لارو مرحله اول *H. lineatum* در محیط کشت نشانگر وجود پوشش سطحی با بار منفی بر روی این لارو می‌باشد. یک چنین پوششی سطحی باعث کاهش پاسخ التهابی میزبان نسبت به لاروهای مهاجر می‌شود و به عنوان یک عامل در کاهش پاسخ ایمنی دخالت می‌کند. در گوسفندانی که در فاصله دو هفته ۴-۵ مرتبه در معرض آلودگی *L. cuprina* قرار بگیرند مقاومت اکتسابی ایجاد می‌شود و این مقاومت بستگی به بزرگی زخم، تشکیل سریع اکسودای زخم و اندازهٔ واکنش پوستی آرتوس نسبت به تولیدات ترشحی- دفعی لارو دارد. این مقاومت را می‌توان به کمک آزمایش انتقال و یا قرار دادن لارو در معرض سرم گوسفندان آلوده ثابت نمود.

نظریات و پیش‌بینی‌ها برای واکسیناسیون:

با شناخت و درک اینکه آنتی ژنهای مشتق شده از لارو مرحله اول *H. lineatum* ایجاد مقاومت می‌کنند. تحقیقات بیشتری بر روی این آنتی‌ژنها انجام گرفته است. کاهش آلودگی در گاو واکسینه شده بوسیله عصاره خام، و یا آنتی‌ژنهای مترشحه از لارو *H. lineatum* و *H. bovis* در محیط گزارش شده است. این کاهش در تعداد لارو در پشت حیوان، تعداد لارو خروجی از پوست و همچنین کاهش میانگین تبدیل لارو به شفیره بوده است. در یک مطالعهٔ دیگر ایمن‌سازی با عصاره خام لارو باعث کوتاه شدن عمر لارو و به نسبت ۲۶٪ در مقایسه با حیوانات ایمن شده گردیده است. ایمن‌سازی با هیپودرمین A خالص در کوتاه شدن عمر لارو و مرگ و میر و کاهش شفیره زنده نسبت به استفاده از هیپودرمین B و C مخلوط موثرتر است، اما در هر دو روش ایجاد ایمنی می‌گردد.

در گوساله‌هائی که بوسیله مخلوط هیپودرمین A و B و C همراه با مونوفسفریل لیپید ایمن شدند ایمنی سلولی قوی بوجود آمده به کمک آنالیز وسترن بلاست مشخص گردید که گوساله‌های ایمن شده به هیپودرمین A و B و C پاسخ داده‌اند در حالی که کنترلهای آلوده فقط به هیپودرمین B و C پاسخ داده‌اند. همچنین ایمنی هومورال در گوساله‌های واکسینه شده نسبت به کنترل‌های آزمایش نمایانتر بود. وجود اپی‌توپهای مشترک بین پروتئینهای *H. bovis* و هیپودرمین A و C از *H. Lineatum* و ایجاد مصونیت ۹۵٪ بوسیله ایمن‌سازی تائیدی است که این روش در کنترل میاز گاوی موثر است. البته باید مشخص شود که آیا این پروتئینها به تنهائی و یا به صورت مخلوط کدام موثرترند. در این رابطه تحقیقات بیشتری در حال انجام می‌باشد.

ایجاد ایمنی هومورال در میزبان آلوده *L. Cuprina* باعث افزایش توجه به استفاده واکسن در میاز گردیده است. مطالعات نشان می‌دهد که با واکسیناسیون یک مقاومت نسبی بر علیه هجوم حشره ایجاد می‌شود و مشخص شده است که آنتی‌ژنهای داخل بینی نسبت به فرم پوستی (تزریقی) در کاهش تعداد لارو موثرترند. مطالعات انجام گرفته این نوید را می‌دهد که واکسنهای تهیه شده از آنتی‌ژنهای جدید از روده لارو ممکن است ایجاد ایمنی نماید. اما تاکنون با به‌کارگیری این آنتی‌ژنها فقط کاهش رشد لارو مشاهده شده است. اقتصادی‌ترین و موثرترین راه تولید واکسنها بر علیه حشرات ایجادکننده میاز احتیاج به یک منبع خالص سازی آنتی‌ژن دارد و تاکنون از طریق کشت لارو موفقیتی بدست نیامده است و استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیبی می‌تواند این نیاز را بر طرف کند اولین تحقیقات نشان داده است که این روش راه ممکن و اختصاصی برای *Hypoderma* spp. می‌باشد و کوششها در این مورد ادامه دارد.

پاورقی‌ها:

1- SPPI: sheep plasma protease inhibition

2- PPI: plasma protease inhibition

3- MIF: macrophage migration inhibition factor

4- MPL: monophosphoryl lipid A

منابع مورد استفاده:

1- B. J. L. Soulsby. Immune responses in parasitic infections. CRC Press. pp 193-202.

2- Boulard C. and Weintraub J. (1973) Int. J. Parasitology 3. pp 379-386.

3- Sadman. R. M. et al (1990) Int. J. Parasitol. 20, pp 1019-1023.

4- Tarry. D. W. (1986) Parasitology today 2. pp 111-116

5- Bowels. V. M. Carnegie. P. R. and Sadman. R. M. (1987) Int. J. Perasitol. 17, pp 753-758.

6- Geoffrey. Lapage. (1965) Veterinary Helmintolo. and Entomolo.