



جامعة الموصل  
كلية التربية للعلوم الصرفة  
قسم علوم الحياة

تحسين الاستجابة المناعية ضد الأصابة بداء الجيارديا في

ذكور الجرذان البيضاء

هبة محمود خضر الدليمي

رسالة ماجستير

كلية التربية/ قسم علوم الحياة/ علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ

الدكتورة أسماء عبد العزيز علي

2017 م

1438 هـ

تحسين الاستجابة المناعية ضد الأصابة بداء الجيارديا في

ذكور الجرذان البيضاء

رسالة تقدمت بها

هبة محمود خضر الدليمي

إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في علوم الحياة/ علم الحيوان

الطفيليات

بإشراف

الأستاذ

الدكتورة أسماء عبد العزيز علي



وَلَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ سُلَالَةٍ مِنْ  
طِينٍ (12) ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِإِجٍ قَرَارٍ  
مَكِينٍ (13) ثُمَّ خَلَقْنَا النُّطْفَةَ عَلَقَةً  
فَخَلَقْنَا الْعَلَقَةَ مُضْغَةً فَخَلَقْنَا الْمُضْغَةَ  
عِظَامًا فَكَرَسَوْنَاهَا عِظَامًا لَحْمًا ثُمَّ  
أَنْشَأْنَاهُ خَلْقًا آخَرَ فَتَبَارَكَ اللَّهُ أَحْسَنُ

الْخَالِقِينَ (14)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
العظيم

### إقرار المشرف

أشهد بأن إعداد هذه الأطروحة جرى تحت إشرافي في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع : 

الاسم : د. أسماء عبد العزيز علي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / 2017

### إقرار المقوم اللغوي

أشهد بأن هذه الأطروحة الموسومة بـ " الاستجابة المناعية للجرذ النرويجي *Rattus norvegicus* ضد الإصابة بداء الجيارديا *Giardiasis* باستخدام الموجات فوق الصوتية " تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الأطروحة مؤهلة للمناقشة ويقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع : 

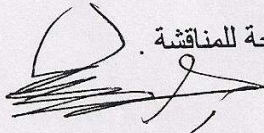
الاسم : د. منى فاضل اسماعيل الحلاجي

المرتبة العلمية : مدرس

التاريخ : / / 2017

### إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناء على التوصيات التي تقدم بها المشرف والمقوم اللغوي أرحش هذه الأطروحة للمناقشة .



التوقيع

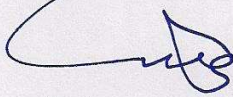
الاسم : د. علي أسلم عبد

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

التاريخ : / / 2017

### إقرار رئيس القسم

بناء على التوصيات التي تقدم بها المشرف والمقوم اللغوي ورئيس لجنة الدراسات العليا في القسم أرحش هذه الأطروحة للمناقشة .



التوقيع

الاسم : د. عامر حسن محمود

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

التاريخ : / / 2017

### قرار لجنة المناقشة

نشهد باننا اعضاء لجنة التقويم والمناقشة ، اطلعنا على رسالة الماجستير للطالبة  
(هبة محمود خضر) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ ٤ / ٥ / ٢٠١٧ ونشهد بانها جديرة بالقبول لنيل  
شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

التوقيع

الاسم: د. اديبة يونس شريف

الدرجة العلمية: أستاذ

رئيس لجنة المناقشة

التاريخ / / ٢٠١٧

التوقيع

الاسم: د. اسماء عبد العزيز علي

الدرجة العلمية: أستاذ

عضو لجنة المناقشة (مشرفاً)

التاريخ / / ٢٠١٧

التوقيع

الاسم: د. هيثم صديق عبد الله

الدرجة العلمية: أستاذ مساعد

عضو لجنة المناقشة

التاريخ / / ٢٠١٧

التوقيع

الاسم: د. نعمة علي احمد

الدرجة العلمية: مدرس

عضو لجنة المناقشة

التاريخ / / ٢٠١٧

### قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية التربية بجامعة الموصل بجلسته ..... المنعقدة في / / ٢٠١٧ م  
وقرر التوصية بمنحها شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

التوقيع :

الاسم :

عميد الكلية

التاريخ : / / ٢٠١٧

التوقيع :

الاسم :

مقرر مجلس الكلية

التاريخ : / / ٢٠١٧

## شكر و عرفان

الحمد لله اولا واخرا متفضل بالنعيم على عباده وله الحمد اذا رضي وله الحمد بعد الرضى والصلاة والسلام على مصباح الهدى رسول الله محمد، المعلم للامة جميعا وقائد رسالة العلم .

حينما نعبر بحر العلم الدؤوب، لا يبقى في داخلنا بعد الله سوى اولئك الذين ساهموا في كتابة هذه الرسالة وبنائها البناء العلمي، اولئك الذين منحونا العزم تلو العزم، لنتخطى الصعاب في بحر العلم ونقف واتقي الخطى نشاطهم الابداع حرفا ولغة لاستاذتي العزيزة ا.د. اسماء عبد العزيز علي على اقتراحها موضوع البحث واشرفت على اعداد هذه الاطروحة فكان لها الفضل الكبير بعد الله في انجاز هذا العمل بوافر علمها وعظيم اخلاقها وعمق ادراكها فجزاها الله عني كل خير، كما اتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى جامعة الموصل وعمادة كلية التربية متمثلة بالسيد العميد الدكتور هاني مال الله حمودي المحترم، والشكر موصل الى رئاسة قسم علوم الحياة اكلية التربية متمثلة بالسيد رئيس القسم الاستاذ عدنان موسى محمد المحترم، وكل اساتذتي في قسم علوم الحياة. كما اقدم شكري وامتناني الى الدكتور خالد محمد داوود المحترم لتحليله النتائج احصائيا، والى الدكتورة منى فاضل اسماعيل الحلاجي لتقييمها الاطروحة لغويا، والى الاستاذ صدام سالم المتبوتي الذي كان عوننا لنا في الحصول على جزء مهم من المصادر خلال فترة البحث فلهم جزيل الشكر والتقدير، كما اشكر زميلتي سمية سامي احمد التي كان لها عوننا كبيرا في ارشادها لي في اجراء التجارب العملية لكونها الاسبق، واخص بالشكر للسيد نزار صديق عطارباشي مسؤول مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم قسم علوم الحياة الذي كان يساعدني في تعريض العينات واشكر الاستاذ قصي خطاب الدليمي لمدته يد العون في امدادي وتزويدي بالمعلومات المهمة عن الموجات فوق الصوتية لاختصاصه في الاشعاع ، واشكر الاستاذ فؤاد سالم الربيعي والاستاذة خديجة يونس والى زميلاتي العزيزات زينة ضبيان ونسرين اسماعيل الاومري، ولايسع حروفي الا تمتزج لتكون كلمات شكر وتقدير واحترام الذي تعجز عن وصفه كلماتي امام الجهد العظيم لوالدي و والدتي الغاليتين اللذان كانا يدعمانني نفسيا ومعنويا واقول من القلب اشكركم وبارك الله فيكم وفي جهودكم واشكر اخوتي محمد وزوجته وزيد ومؤمن وانس وشكر خاص الى الست ليلي فاضل النعيمي .

واخيرا وليس اخرا ... أسأل الله العليم القدير ان يعلمنا ما ينفعنا، و ينفعنا بما علمنا، وان نكون خيرا لمن تبعنا ... والله ولي التوفيق .

هبة

## الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية تحديد تأثير الموجات فوق الصوتية، بوصفها محفزاً للمناعة، ضد الإصابة بداء الجيارديا Giardiasis المتسبب عن طفيلي *Giardia lamblia* في الجرذان النرويجية *Rattus norvegicus*. تم متابعة التغيرات المرضية في الجرذان المجرعة فموياً بأكياس الجيارديا لامبليا المعرضة ولفترات زمنية مختلفة، 60 ثانية، 150 ثانية، 210 ثانية و240 ثانية، على التوالي، وبتردد ثابت لكل المعاملات بلغ 20,000 ذبذبة \ الثانية وكانت القدرة الاشعاعية ( $1.8 \text{ w/cm}^2$ ) مقارنة بمجموعة السيطرة (الجرذان المجرعة فموياً بأكياس الجيارديا لامبليا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية) طيلة فترة التجارب، اعتماداً على معايير عديدة تضمنت التغيرات الحاصلة في طرح الأكياس، أوزان الجرذان، التغيرات في التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض، والاستجابة المناعية المتخصصة (الخلوية) المتمثلة باختبار الجلد - فرط الحساسية المتأخر.

وقد اظهرت نتائج الدراسة ما يأتي:

1. حدوث انخفاض معنوي واضح ( $p>0.01$ ) في طرح الأكياس في الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية المباشرة، مقارنة مع مجموعة السيطرة بلغ أقصاه في الفترة 240 ثانية .
2. ارتفاع معنوي ( $p>0.01$ ) في النسبة المئوية لإوزان الجرذان المعاملة عند مقارنتها بمجموعة السيطرة بلغ أقصاه (404.25%) في الفترة 240 ثانية.
3. ارتفاع معنوي ( $p>0.01$ ) في معدل التعداد الكلي لكريات الدم البيض بلغ أقصاه 10600 خلية/سم<sup>3</sup> في الوقت 210 ثانية، ومن خلال ارتفاع اعداد الخلايا للمفاوية، والتفاوت في اعداد الخلايا الوحيدة في الحيوانات المعاملة.
4. زيادة معنوية ( $p>0.01$ ) في الاستجابة المناعية الخلوية متمثلة بارتفاع معدلات سمك وسادة القدم (الانتفاخ)، بلغ أقصاه 1.75 ملم في الفترة 240 ثانية ، في الحيوانات المعاملة مقارنة بجرذان السيطرة.

الصفحة	العنوان	الفقرة
5-1	الفصل الأول : المقدمة	1.1
الفصل الثاني: استعراض المراجع		
6	داء الجيارديا	1.2
8	آليات الاستجابة المناعية في الحيوانات	2.2
8	المناعة الخلوية	1.2.2
13	التنوع المستضدي	3.2
14	Probiotics	4.2
15	الموجات فوق الصوتية	5.2
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		
22	الحصول على الحيوانات المختبرية	1.3
22	جمع العينات وعزلها	2.3
23	تجريب الحيوانات المختبرية	3.3
23	تصميم التجارب	4.3
24	الجهاز المستعمل في التجربة	5.3
25	المعايير المختارة في الدراسة	6.3
25	طرح الأكياس	1.6.3
25	الوزن	2.6.3
26	الدم	3.6.3
26	دراسة الاستجابة المناعية	4.6.3
26	الاستجابة المناعية الخلوية	1.4.6.3
26	تحضير المستضد	1.1.4.6.3
27	تحطيم خلايا المستضد	2.1.4.6.3
27	تقدير كمية البروتين	3.1.4.6.3
28	حقن المستضد	4.1.4.6.3
28	التحليل الإحصائي	7.3
الفصل الرابع: النتائج		
29	طرح الأكياس	1.4
32	الوزن	2.4

34	التعداد الكلي لكريات الدم البيض	3.4
35	التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض	4.4
35	خلايا الدم البيض الحبيبية	1.4.4
35	خلايا الدم البيض العدلة	1.1.4.4
36	خلايا الدم البيض الحمضة	2.1.4.4
37	خلايا الدم البيض القعدة	3.1.4.4
39	خلايا الدم البيض غير الحبيبية	2.4.4
39	خلايا الدم البيض اللمفاوية	1.2.4.4
40	خلايا الدم البيض الوحيدة	2.2.4.4
42	اختبار فرط الحساسية المتأخر	5.4
44	<b>الفصل الخامس: المناقشة</b>	
57	<b>الاستنتاجات</b>	
58	<b>التوصيات</b>	
59	<b>المصادر</b>	
	<b>ABSTRACT</b>	

## قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الرقم
29	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في انتاج الاكياس للجرذان في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	1a
30	التغيرات الحاصلة في معدل الأنتاج اليومي لأكياس الطفيلي <i>Giardia lamblia</i> في الجرذان المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة	1b
32	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أوزان الجرذان في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	2a
33	التغيرات الحاصلة في معدل الوزن (غم) والنسبة المئوية للزيادة في الوزن للجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة	2b
34	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	3a
35	التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة	3b
36	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض العذلة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	4a
37	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض الحمضة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	5a
37	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض القعدة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	6a
38	التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض الحبيبية(العذلة والحمضة والقعدة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة	4b
39	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض للمفاوية في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	7a
40	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض الوحيدة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	8a
41	التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض غير الحبيبية(المفاوية ووحيدة النواة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة	5b

الصفحة	العنوان	الرقم
42	تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية معدلات فرط الحساسية المتأخر للجرذان في كلا مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة	9a
43	التغيرات الحاصلة في معدلات سمك وسادة القدم (ملم) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة	6b

## قائمة الاشكال

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
7	دورة حياة الجيارديا	1
8	كيس طفيل الجيارديا	2
24	جهاز الموجات فوق الصوتية	3
28	المنحني القياسي للبروتين	4

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

## 1.1 المقدمة:

يعد طفيلي الجيارديا *Giardia lamblia* من الابتدائيات المعوية، التي تصيب الأمعاء الدقيقة للحيوانات الفقرية، البرمائيات، الزواحف، الطيور واللبائن ومن ضمنها الإنسان، وهو واسع الانتشار في البلدان النامية، وتتأثر الإصابة بداء الجيارديا بعدة عوامل هي العمر، الظروف البيئية، الظروف الاجتماعية والاقتصادية، المهنة، الحالة الغذائية، والأس الهيدروجيني ال pH (تفضل المعتدلة) وحالة المضيف المناعية ( Roxstorm-lindquist *et al.*, 2006; ) (Ayca-Kaya *et al.*, 2012; Kamda *et al.*,2012; Samn *et al.*, 2012)، وكان التصنيف لهذا الطفيل بحسب (Carmena, 2010) كالآتي :

Phylum: Sarcomastigophora

Sub Phylum: Mastigophora

Class: Zoomastigophora

Order: diplomonadidea

Sub Order: diplomonadina

Family : Hexamitidae

Genus : *Giardia lamblia*

وتتضمن أفراد مجموعة *G.duodenalis* او ما يسمى بـ *Giardia intestinalis* معقداً من الأنواع مع القليل من الاختلافات الشكلية بينها. وينقسم طفيلي الجيارديا الى ثمانية مجاميع وراثية متميزة هي A,B,C,D,E,F,G,H (Caccio and Ryan, 2008; Xiao and Monis) (et al., 2009, Cotton *et al.*, 2014) مع مجموعتين رئيسيتين تصيبان الانسان هما A و B (Thompson *et al.*,2000; Buret, 2008).

يشكل طفيلي الجيارديا المسبب الشائع للإسهال الشحمي Steatorrhea ويؤدي الى حالات إمراضية ووفيات عالية ( Carmena, 2010; Nkrumah and Nguah, 2011; )

Kamda *et al.*, 2011) ويؤدي أيضاً الى تأخر النمو في الأطفال (Ringqvista *et al.*, 2011  
(2012; Beatty *et al.*, 2014).

يستوطن المرض في المناطق الاستوائية (Kucik *et al.*, 2004) وتقدر نسبة التفشي في المدن الصناعية من 2-5% ويعزى ذلك إلى كثرة حالات السفر والنزوح، بينما تقدر في الدول النامية آسيا، أفريقيا وأمريكا اللاتينية بـ 20-30% بسبب رداءة الظروف الصحية (WHO, 2006; Beatty *et al.*, 2014; Bhargava *et al.*, 2014; Cotton *et al.*, )  
oral\_stool hygiene . يرتبط داء الجيارديا بصحة الفم و المخرج (2014; Gerbaba *et al.*, 2014  
وذلك بتلوث المواد بالبراز الحاوي على الأكياس المعدية إذ ان الجرعة المعدية تكون  
اقل من عشرة أكياس. (Hawrelak, 2003; Grazioli *et al.*, 2006 Carmena, 2010)  
وتشمل المجموعات السكانية الأكثر تعرضاً لخطر الإصابة الأطفال في مراكز  
الحضانة والأشخاص في مؤسسات الرعاية الاجتماعية (Nunez *et al.*, 2003; Yoder and )  
(Beach, 2007).

يكون الأشخاص المثبطون مناعياً (مثل مرضى الايدز و السرطان،  
الاطفال والمسنين)، والأشخاص الذين يعانون من نقص في الكلوبولينات  
المناعية hypogammaglobulinemic أكثر عرضة للإصابة بالجيارديا  
(Roxstorm-lindquist *et al.*, 2006; Ratanapo *et al.*, 2008; Azman *et al.*, )  
2012, 2009; Carmena, 2010; Inabo *et al.*, 2009)، وتكون الإصابة ذات أعراض، فضلاً  
عن طول مدة وشدة الإصابة بعكس الأشخاص الأصحاء والكفوئين مناعياً إذ يمكن ان تحدد  
الإصابة ذاتياً (Adam, 1991) .

يعزى التفشي الكبير للمرض إلى تلوث مياه الشرب (Nygard *et al.*, 2006; )  
2007, O'Reilly *et al.*, 2007)، بينما يعزى التفشي الأقل انتشاراً الى تلوث الطعام  
(Mohammed *et al.*, 2008)، والاتصال مع مياه معادة المعالجة ملوثة متضمنة برك  
السباحة (Dziuban *et al.*, 2006; Katz *et al.*, 2006; Kamda, 2007). على الرغم من  
ان الماء و الغذاء يشكلان معظم وسائل الانتقال الشائعة، فإن بقاء هذا الطفيل وأستمراره يحدث  
عن طريق انتقال الاصابة من الإنسان الى الحيوان وبالعكس (Roxstorm-lindquist *et al.*, )

الى حدوث الاصابة بجرع واطئة، وتكون مقاومة لعمليات المعالجة الملائمة للمياه مما يجعلها مشكلة صحية عامة وخطيرة (Azman et al., 2009; Samn et al., 2012).

لازالت ميكانيكية الأمراض لهذا الطفيلي و استجابة المضيف للإصابة مبهمة (Roxstorm-lindquist et al.,2006)، لكن الدراسات الحديثة تقترح بأن الأطوار المتغذية للطفيل تحت عملية فسلجية مرضية متعددة العوامل تتضمن تحطيم الحافة الفرشائية Brush Border للأمعاء والطبقة المخاطية، حث الاستجابات المناعية و الالتهابية للمضيف، تحطيم وظيفة البنكرياس، تبدل الفلورا الموجودة في الاثني عشري (Ali and Hill, 2003; Beatty et al., 2014; Bhargava et al., 2014; Cotton et al.,2014; Gerbaba et al., 2014).

يعتبر هيدروكلوريد الكيناكرين العلاج المفضل لعلاج داء الجيارديا بجرعة 100 مجم ثلاث مرات باليوم لمدة 5 الى 7 ايام للبالغ . وتقدر جرعة الطفل منه ب 6 مجم/اليوم في ثلاث جرعات بعد الطعام لمدة خمسة أيام (بجرعة قصوى 300 مجم/اليوم) كثيرا ما يحدث دوار وصداع وقياء بفعل هذا الدواء ، وقد يحدث أحيانا ذهان سمي واعتلال دموي وشرى والتهاب جلدي تقشري وخيم وتلون الجلد بالاصفر وتصبغ الأظفار بالأزرق والاسود لذلك يعتبر Metronidazole الدواء البديل في المعالجة بجرعة 250 مجم ثلاث مرات باليوم لمدة 10 ايام للبالغ (حسب توصيات ادارة الدواء والغذاء الأمريكية) حول عدوى الجيارديا وتقدر جرعة الطفل منه ب 15 مجم/اليوم في ثلاث جرعات لمدة خمسة أيام ، تعتبر مشتقات Nitroimidazole التي تتضمن (Ornidazole, Tinidazole) العلاج الفعال داء الجيارديا لكنها لا تفوق Metronidazole في علاج الجيارديا(د. والترريك و د. جون، 2003) وجميعها تثبط بناء الحامض النوويDNA، ووكانت أفضل جرعة مناسبة وذات كفاءة عالية في علاج الجيارديا هو Metronidazole بجرعة 250 ملغم مرتين الى ثلاثة في اليوم لمدة سبعة الى عشرة أيام متتالية أكثر من 90%، ولكن سجلت عدد من التأثيرات الجانبية الحادة له مثل التهاب البنكرياس، تسمم الجهاز العصبي المركزي فضلاً عن كونه من المركبات المسرطنة. استعمل الـ Benzimidazole الذي يتضمن Albendazol وMebendazol لعلاج داء الجيارديا مع نسب نجاح تتراوح بين 62\_95%، فضلاً عن أدوية آخر مثل Quinacrine،

الجيارديا مثل معالجة مياه المجاري *sewages*، غسل الايدي بصورة جيدة واستهلاك المياه النظيفة (Kuick *et al.*, 2004).

وقد اتجه الباحثون إلى ايجاد وسائل أخر لمكافحة الجيارديا منها التيار الكهربائي، إذ هدف الباحثون (Poorsaadat *et al.* (2004) إلى تحديد تأثير التيار الكهربائي المباشر Direct electricity current في تطهير الماء الجاري (ماء الحنفية) من طفيل *G.lambia*، وتأثير التيار الكهربائي على الاستجابة المناعية في الجرذان النرويجية، وأظهرت نتائج (Ahmad (2013) أن التيار الكهربائي ساعد على اختزال مدة بقاء الطفيل في جسم المضيف وقلل من طرح الطور المتكيس بمستوى معنوي عالي، وتبين ان عدداً من سلالات *Lactobacillus* (probiotics) لها تأثير تثبيطي قوي على *G.intestinalis* خارج الجسم، فأنواع بكتريا Probiotics تمنح علاجاً سائداً بديلاً للإصابات المعوية بوساطة عملها كفلورا طبيعية دقيقة بوساطة ميكانيكيات مثل انتاج المواد المضادة للمكروبات و تثبيط انتاج السموم وتثبيط دخول المكروبات إلى داخل الخلية و تحفيز الاستجابة المناعية و المناعة الجهازية(الخلوية والخلطية) والمخاطية ضد داء الجيارديا في مختلف نماذج الحيوانات مثل الكلاب، القوارض والفئران ( Heyman and Menard, 2002 ; Harish and Varghese, ) (2006; Shukla *et al.*, 2008; Simpson *et al.*, 2009; Shukla *et al.*, 2010).

الهدف من الدراسة:

نظراً للأعراض الجانبية الكثيرة التي تسببها الأدوية المستعملة في علاج الجيارديا، لذا هدفت الدراسة الحالية الى استعمال الموجات فوق الصوتية في معالجة الاصابة بداء الجيارديا في الجرذان النرويجية ودراسة تأثيره على المناعة الخلوية فيها من خلال:

1. تأثير تجريع الجرذان بأكياس الجيارديا المعاملة بالموجات فوق الصوتية في الطرح اليومي لأكياس الجيارديا ووزن الحيوان في الحيوانات المعاملة بالمقارنة مع حيوانات السيطرة .
2. تأثيرها في التعداد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض في الحيوانات المعاملة بالمقارنة مع حيوانات السيطرة.
3. تأثيرها في المناعة الخلوية المتمثلة باختبار فرط الحساسية المتأخر في الحيوانات المعاملة مقارنة بحيوانات السيطرة .

الفصل الثاني

Review Literature

## Giardiasis

## 1.2 داء الجيارديا

تكون اصابات الجيارديا ليست غازية non-invasive حيث تصيب القناة الهضمية وقد تمر نادرا الى القناة الصفراوية والمرارة، وتتراوح الإصابة بالمرض من عدم ظهور الأعراض الى المرض المزمن المرتبط بالإسهال الحاد، سوء الامتصاص وفقدان الوزن، تظهر الأعراض عادة بعد 6\_15 يوماً بعد الإصابة وتستمر 2\_4 أيام في المرحلة الحادة وأكثر من أسابيع في الإصابة المزمنة ( Buret, 2007; Buret, 2008; Zhou *et al.*, 2008; Botero-Garces *et al.*, 2014; Bhargava *et al.*, 2009)، أما اهم الاعراض التي تميز الإصابة فهي إسهال مائي شاحب، ألم فوق معدي لاسيما عند اللمس، انتفاخ Bloating، براز شحامي Steatorrhea، فقدان الشهية Anorexia، غثيان Nausea، تقيؤ Vomiting، فقدان الوزن وخروج مخاطي دموي مؤذ ( Carmena, 2008; Eckmann, 2003; Buret, 2008; Langford *et al.*, 2002 )، وقد ترافق هذه الأعراض المعوية أعراضاً خارج معوية مثل الحمى Fever، الارتعاش Tremor، صداع Headache، الشرى Urticaria، طفح جلدي بشري بقعي Maculopapular Rashes، ارتشاحات رئوية Pulmonary Infiltrates، اعتلال الغدد اللعابية Lymphadenopathy، التهاب المفاصل المتعدد Polyarthritis، متلازمة المعى المتهيج Irritable Bowel Syndrome، فضلا عن تبدلات في نفاذية الطلائية المتسببة بوساطة جزيئات مرضية خلوية ذات اصل طفيلي، خلل في البروتين المرتبط بالاتصالات القوية بين الخلايا Zonula\_Occcludin 1(zo-1) والموت المبرمج apoptosis الذي يؤدي إلى تغيرات امتصاصية وهضمية، والتي تؤدي إلى الاسهال الحاد أو المزمن ( Gerbaba *et al.*, 2014; Cotton *et al.*, 2014; Grazioli *et al.*, 2006; Langford *et al.*, 2002).

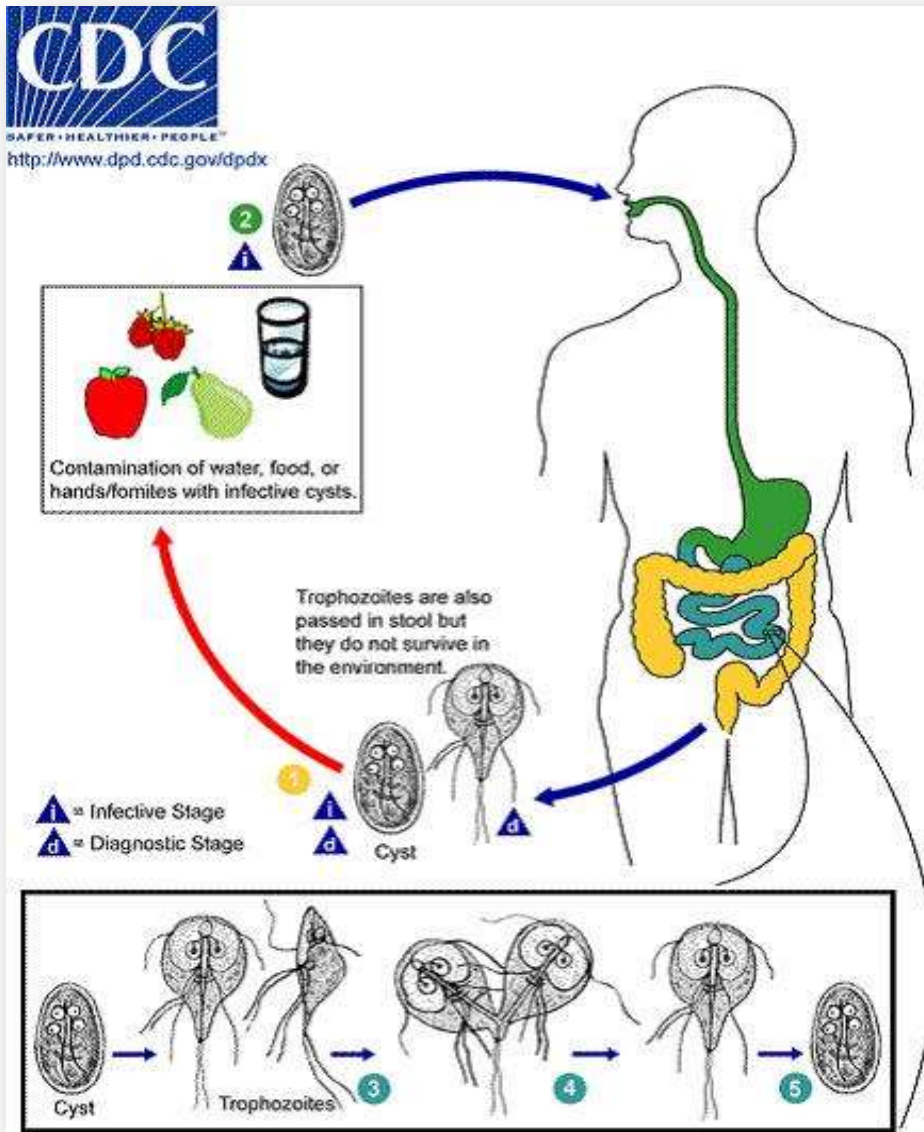
تتضمن دورة حياة الطفيلي (الشكل 1) شكلين أو طورين متميزين هما الطور المتغذي trophozoite ( يمثل المرحلة التكاثرية للطفيلي) والطور الكيسي cyst (الطور المعدي الشكل 2) الذي يكون أكثر مقاومة في تحمله لدرجات الحرارة ودالة الأس الهيدروجيني pH . يؤدي تناول هذه الاكياس مع الطعام أو الشراب إلى تحرر الأشكال المعديّة من الكيس excystation بفعل السائل المعدي و دالة الأس الهيدروجيني المنخفضة في المعدة و

الأنزيمات البنكرياسية الحالة للبروتين الموجودة في الأمعاء. ويعطي كل كيس طورين متغذيين في الجزء العلوي من الاثني عشري، كل منهما ثنائي النواة مع اربعة ازواج من الاسواط و لها قرص ماص بطني الموقع يسمح لها بالالتصاق بالحافة الفرشية الطلائية المعوية. تعاني الاشكال المتغذية الانتشار الثنائي الطولي longitudinal binary fission. تحدث عملية

تحويل الشكل المتغذي إلى الكيس بعملية التكريس encystation مكونة الأطوار المعوية (الشكل

(1) التي تطرح مع البراز لبدء دورة الحياة من جديد (Hawrelak, 2003; Roxstorm-

(lindquist *et al.*, 2006; Carmena, 2010



الشكل (1) دورة حياة طفيلي الجيارديا (CDC)



الشكل (2) يمثل كيس طفيلي الجيارديا (photobucket.com)

يشخص طفيلي الجيارديا بوساطة الفحص المجهرى لنماذج الخروج أو الخزعات المأخوذة للاثنى عشري، ويشترط اجراء أختبارات متكررة للتأكد من الإصابة ( Hawrelak, 2006; Grazioli *et al.*, 2003)، فضلاً عن ذلك استعمل اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) و ذلك بتحديد الاجسام المضادة IgG و IgM إذ تكون مستويات IgM أعلى في مصل دم المرضى المصابين (Goka *et al.*, 1986)، التشخيص الكروموتوغرافي المناعي Immunochromatography diagnosis، والفحوصات التالقية المناعية (IFA) Immunoflourescent assay (Hawrelak, 2003; Grazioli *et al.*, 2006). ويعد تقنية تحليل Polymerase Chain Reaction (PCR) اختباراً تجريبياً في مسح مصادر تجهيز المياه وصيانتها ( Leder and Weller, 2002). وشخص داء الجيارديا أيضاً باستعمال طريقة للشفت ضمن كتلة الأعور بالإبرة الدقيقة الموجهة بالموجات فوق الصوتية الناظرية- Endoscopic Ultrasound- Pu and ) guided with Fine Needle Aspiration of Phantom Cecal Mass (Rosenthal, 2005).

## 2.2 آليات الاستجابة المناعية في الحيوانات

### Mechanisms of Immune Response in Animals

#### Cellular Immunity

#### 1.2.2 المناعة الخلوية

وجد الباحثون أن خلايا T المرتبطة بالأطوار المتغذية في التجويف المعوي للفئران المصابة بالجيارديا تنظم التدفق المتزايد للخلايا اللمفاوية والمتمثلة بالمجاميع الثانوية لخلايا CD4+ و CD8+ داخل الطلائية خلال إصابة الفئران بالجيارديا ( MacDonald and

بوساطة المجاميع الثانوية (Ferguson ,1978; Owen *et al.*,1979; Svard *et al.*,1998 لخلايا CD4+ و CD8+ (Cluster of differntation) (Scott *et al.*, 2004)، إذ تدعم الدراسات مشاركة خلايا CD4+ في الجهاز المناعي والحماية بينما خلايا CD8+ يتم تضمينها في الأمراض الفسلجية، وهكذا فإن استنفاد خلايا CD4+ للمفاوية المحفزة في الفئران المصابة بـ *G.muris* ينتج عنه الإصابة المزمنة ( Singer and Nash, 2000 ) ، وخلافاً لذلك فقد أظهرت الفئران المصابة المستنفدة من المجاميع الثانوية لخلايا CD8+ للمفاوية المثبطة/ السمية الخلوية الأزالة الطبيعية للطفيل (Heyworth *et al.*, 1987).

تفشل الفئران التي تعاني عوزاً في خلايا T في السيطرة على الإصابة بـ *G.muris* و *G.lambli* ، ويمكن للاستنفاد التخصصي لخلايا CD4+ وليس CD8+ أن يطور الإصابة المزمنة بداء الجيارديا ( Singer and Nash ,2000b). فالتجارب التي أستعملت لنقل خلايا T إلى حيوانات غير مصابة أظهرت أن الأذى في الحافة الفرشية للأمعاء والاختلال في الجيارديا كان متواسطاً بالخلايا للمفاوية CD8+، في حين ظهر أن الخلايا CD4+ هي مسؤولة عن إزالة الطفيل (Scott *et al.*, 2004)، وفي الحقيقة فإن المجاميع الكلية للخلايا للمفاوية للعقد الميفية المساريقية وخلايا CD8+ المنقاة وليس خلايا CD4+ من الفئران المصابة سابقاً كانت لها القدرة على حث تقصير الزغيبات الدقيقة ونقص أنزيم السكريز في الصائم والمستقبلات الطبيعية.

بشكل عام تحت الإصابة بالكائنات الممرضة المعوية تعبير السايوتوكينات والكيموكينات في الطلائية المعوية للمضيف، وعلى الرغم من ذلك، فما يعرف عن هذه العمليات خلال الإصابة بداء الجيارديا يعد قليلاً. فتحليل تعبير الجين لسايوتوكينات مختلفة عديدة في خلايا الطلائية المعوية وذلك لمدة 5 ساعات بعد الإصابة بداء الجيارديا خارج الجسم الحي لا يُظهر أية سايوتوكينات محته عند مستوى عالٍ (Jung *et al.*, 1995). مقابل ما هو معروف نموذجياً في الإصابات المعوية المسببة للالتهاب يعد IL-8 السايوتوكين المتاح الذي يحث الالتهاب خلال الإصابات المعوية البكتيرية (Maaser and Kagnoff, 2002)، والمستوى الواطئ له يوضح جزئياً المستويات الواطئة للالتهاب. وتوضح الإصابات التجريبية التي تصيب الفئران أهمية

IFN- $\gamma$  في ازالة الطفيلي (Venkatesan *et al.*, 1997) ووجد أيضاً أن خلايا CD4+ T تنتج IFN- $\gamma$  بعد التحفيز بالجيardia (Ebert, 1999).

تناولت الدراسات السابقة البحث في أثر الساييتوكينات المختلفة في المناعة ضد الجيارديا، وقد أظهرت تلك الدراسات أن IL-6 (interleukin-6) له أثر حاسم في السيطرة المبكرة على الإصابة بهذا الطفيلي ويكون ضرورياً مع الفعالية التنظيمية لـ IgA لإزالة *G.lamblia* في الفئران (Bienz *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2003) وعلى الرغم من ان هذا الساييتوكين لايعزز فقط خلايا CD4+ T فحسب وإنما خلايا أخرى أيضاً، فالأهمية الفسلجية للسيطرة على داء الجيارديا تمثل أولى الأمثلة للوسيط المحدد IL-6 مع الوظيفة التنظيمية غير المباشرة في دفاع المضيف ضد الجيارديا (Eckmann, 2003).

ان الفئران التي تعاني نقصاً في حث انتاج IL-6 لا تستطيع المقاومة كالفئران البرية على الرغم من أنه لوحظ فيها الانتاج الطبيعي لـ IgA المتخصص بالطفيل ( Bienz *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2003)، وقد أظهرت دراسة أن IL-6 هو ساييتوكين متعدد الوظائف، فهو يمتلك العديد من الأدوار في الاستجابات المناعية التي تتضمن تعزيز إنتاج الأجسام المضادة لاسيما الـ IgA (Muraguchi *et al.*, 1988)، تطور الخلايا التشرجية اذ وجد ان الخلايا التشرجية الخالية من IL-6 مختلفة وظيفياً عن الخلايا التشرجية المنتجة لـ IL-6 من حيث نضجها وقدرتها على تنشيط خلايا T (2004; Park *et al.*, 2004; Bleier *et al.*، وأيضاً دوره في توجيه تطور خلايا T الى Th17 (Weaver *et al.*, 2006; Kimura *et al.*, 2007). ويعد IL-6 ضرورياً للسيطرة على الإصابة، ولكن دوره التحفيزي غير واضح او في اي خلايا يكون مطلوباً لتنشيط المناعة الفعالة ، اذ تم تحليل الاصابات في سلالة من الفئران التي تحتوي خلايا متخصصة معينة فقدت قدرتها على انتاج IL-6 ولتحديد اي المصادر من IL-6 هي التي لعبت دوراً مهماً في السيطرة على الإصابة، وقد اظهر تحليل نماذج نخاع العظم ان الخلايا المشتقة من نخاع العظم الحساسة للاشعاع يمكن ان تنتج IL-6، كما اظهرت خلايا T الافتراضية بان انتاج خلايا T من IL-6 ليس ضرورياً، وبواسطة نقل الخلايا التشرجية من الفئران النوع البري الى الفئران التي تعاني عوزاً في IL-6 اظهر الباحثون بان نقص الخلايا

التشجيرية يكون مسؤولاً عن عدم قدرة الفئران التي تنتقص IL-6 للاستجابة لجرعة التحدي (Kamda et al., 2012).

بين الباحثون (Zhou et al. (2008) ان السيطرة المؤثرة على الإصابات بالجيارديا في الفئران تتضمن IgA، خلايا T ، خلايا الصاري، وIL-6. وقد وجدوا ان عامل نخر الورم Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) يلعب دوراً مهماً في السيطرة المبكرة على داء الجيارديا. فالفئران المعاملة بالأجسام المضادة ضد TNF $\alpha$  (anti- TNF $\alpha$  anti body)

او ينقصها وراثياً TNF $\alpha$  اصيبت بعزلة الجيارديا *G. lamblia* GS/(M)\_H7. في كلا الحالتين فإن الفئران التي تفتقد الى TNF $\alpha$  اظهرت اعداداً اعلى من طفيليات الجيارديا مما في مجاميع السيطرة خلال الاسبوعين الاولين من الاصابة، مع هذا فإن مستويات IgA المضادة للطفيل، استجابات خلايا الصاري، ومستويات IL-4, IL-6, mRNA ( messenger RNA) لم تتغير معنويًا بغياب TNF $\alpha$ . بالإضافة الى ذلك وجد الباحثون (Zhou et al. (2008) ان الفئران المصابة بـ *G. lamblia* تظهر نفاذية معوية متزايدة، بصورة مشابهة لإصابة الجيارديا في الانسان، وهذه الزيادة تحدث في كلا نوعي الفئران البرية wild-type والتي تفتقد الى TNF $\alpha$  (TNF $\alpha$ \_deficient mice)، وقد استخلص الباحثون ان TNF $\alpha$  يعد ضرورياً لمقاومة المضيف للإصابة بـ *G. lamblia*.

تؤدي خلايا T دوراً في تبدل نفاذية الغشاء القمي apical membrane للخلايا المعوية enterocytes التي ترتبط بالإصابة بالجيارديا في الفئران ولكن من دون التأثير في فعالية الحاجز المعوي (Scott et al., 2002)، وبموجب ذلك لم تظهر الفئران المزالة منها غدة التوتة athymic اي تغيرات نسيجية بعد الاصابة بداء الجيارديا ، كما وجد (Buret (2005) ومن خلال التجارب التي استخدمت نموذج الفأر المصاب المزالة منه غدة التوتة ان هذه الاختلالات الطلائية كانت معتمدة على خلايا T. تعزز المعلومات المختبرية دور خلايا T و B في الاستجابات المناعية لحماية الفئران، اذ ان الفئران المزالة منها غدة الثايموس كانت غير قادرة على ازالة *G.muris* من الامعاء الدقيقة حتى اعيد تجهيزها بخلايا T الناضجة (Stevens et al., 1978).

تكون الفئران المستنفدة من خلايا B والاجسام المضادة وكذلك الفئران التي تعاني نقصا مناعيا وخطا في خلايا B غير قادرة على ازالة داء الجيارديا وان معالجتها بحقنها بالـ IgM يعيد قابليتها على ازالة الطفيل (Snider *et al.*,1985; Snider and Underdown, 1986). وتقترح معظم البحوث ان خلايا B لها اهمية في ازالة الطفيل فإصابات الانسان بـ *G.lambli*a والفئران بـ *G.muris* ينتج عنها انتاج اجسام مضادة ضد الجيارديا والتي هي الانواع المتماثلة في الإنسان والحيوان لـ IgA و IgG و IgM في الافرازات المخاطية ومصل الدم، ويرتبط الانتاج المتخصص للاجسام المضادة بازالة الجيارديا ( Snider and Underdown, 1986; Nash *et al.*,1987; Heyworth *et al.*, 1989; Faubert, 2000).

اقترحت دراسة على نماذج حيوانية ان خلايا B لها دور محدد في المناعة ضد الجيارديا، مثلا الفئران التي تعاني خطا في خلايا B بسبب عوزها المناعي يمكن ان تطور مناعة مكتسبة ضد جرعة التحدي الثانوي بـ *G.muris* (Skea and Underdown,1991) خلافاً لذلك الفئران التي تعاني نقصا في خلايا B والتي تولدت باستهلاك الجين تكون غير قادرة على ازالة الاصابة بـ *G.lambli*a و *G.muris* (Stager and Muller, 1997;) (Langford *et al.*, 2002) هناك دعم اخر لدور خلايا B من دراسات للفئران التي تعاني نقصا وراثيا لانتاج IgA، هذه الفئران لاتستطيع التخلص من الاصابة بـ *G.lambli*a و *G.muris* على الرغم من انها تمتلك سعة محددة لتقليل عبء الاصابة بعد فترات طويلة ، خلافا لذلك الفئران التي تعاني نقصا في افراز IgM لاتظهر خطا في ازالة الجيارديا *G.muris* وهذا يوضح انه يمكن الاستغناء عن IgM في دفاعات المضيف ضد داء الجيارديا، هذه الملاحظات اوضحت ان IgA يكون له دور رئيس في ازالة الجيارديا في المضيف الفأري ، ويقترح وجود دفاعات مضيف غير معتمدة على IgA ولكن العديد من الدراسات رجحت ان خلايا B لها دور مركزي في دفاعات المضيف ضد داء الجيارديا (Langford *et al.*, 2002).

أظهرت تجارب اخر أجريت على الفئران التي تعاني نقصاً في IgA الإفرازي أن لخلايا B أثراً في المرحلة المتأخرة من الإصابة (بعد أسبوعين) (Langford *et al.*, 2002)، في حين تعد ميكانيكات أخرى غير معتمدة على خلايا B مهمة في الإصابة المبكرة ( Singer and Nash, 2000; Li *et al.*,2004)، يمكن أن يحدد IgA المضاد لداء الجيارديا في لعاب

الإنسان وحليب الثدي (Faubert, 2000; Tellez *et al.*, 2003). وتستطيع الأجسام المضادة في حليب الأم أن تحمي الطفل من الإصابة بداء الجيارديا في حياته المبكرة (Tellez *et al.*, 2003).

تعد خلايا الصاري mast cells مهمة للسيطرة على الإصابة بداء الجيارديا وهي كونها مصدر مهم لـ IL-6 في التجارب التي أجريت على الحيوانات المختبرية (Li *et al.*, 2004)، إذ تظهر الإصابة في الفئران والجربيع تراكم خلايا الصاري في الأمعاء الدقيقة بعد الإصابة (Leitch *et al.*, 1993; Hardin *et al.*, 1997; Venkatesan *et al.*, 1997). وتظهر دراسات بأن خلايا الصاري يمكن أن تؤثر في تطور وتضخيم وحركية الاستجابات المناعية المكتسبة من خلال التأثير على الخلايا الشجرية dendritic cells ، خلايا B و/أو خلايا T (Galli *et al.*, 2005). وقد وجد Li *et al.* (2004) أن خلايا الصاري مهمة للحماية من الإصابة بالديدان المعوية وكوسائط لأمراض الحساسية ، اما أثرها في الإصابات الابتدائية فيبدو غير واضح بشكل جيد، لذا قام الباحثون بتحليل استجابات خلايا الصاري والسيطرة على الطفيل بالفئران المصابة بالابتدائي *G.lambli*، ووجدوا أن خلايا الصاري مهمة للسيطرة السريعة على الإصابات بداء الجيارديا في الفئران . فضلاً عن ذلك تبين أن IL-6 ليس ضرورياً لاستجابات خلايا الصاري، وعوضاً عن ذلك اقترح أن إنتاج خلايا الصاري من IL-6 لا يكون ضرورياً للسيطرة على هذه الإصابة. وجد الباحثون أن الفئران التي تكون غير قادرة على إنتاج استجابة خلايا الصاري تعاني خـلالاً في إزالة إصابات الجيارديا (Li *et al.*, 2004).

### 3.2 التنوع المستضدي Antigenic Variation

بينت الدراسات أهمية الجزيئات السطحية لطفيلي الجيارديا التي تعمل كمحددات مستضدية في تحفيز انتاج أجساماً مضادة من قبل الجهاز المناعي للمضيف، ولإزالة دور هذه المستضدات قيد الدراسة. وقد حُدد 150 جيناً تقريباً في تشفير مختلف بروتينات السطح المتغيرة في جينوم الجيارديا التي ينتج عنها واحدة فحسب لكل طور متغذي (Crossley and Holberton, 1983; Clark and Holberton, 1986; Edson *et al.*, 1986; Char *et*

إذ تعد بروتينات السطح المتغيرة التي تغطي السطح الكلي للطفيلي من أكثر المستضدات المعروفة التي تعاني تغييراً مستضدياً و تكون بذلك أهدافاً مناعية وتشخيصية (Nash, 1997). يبقى طفيلي الجيارديا تفاعلات المضيف بواسطة التغير المستضدي الرئيس للمستضد السطحي المسمى بـ (VSP) Variant Surface Protein ، وتعد بروتينات السطح المتغيرة (VSP) هذه من عائلة فريدة من البروتينات الغنية بالسستين والتي تكون متباينة لأقصى درجة في حجمها، وتعد ظاهرة التغير المستضدي ضرورية لبقاء تفاعل الطفيلي بنجاح في مضيف الفئران الأم وذريتها بواسطة استعمال عذلة جيارديا في الانسان كإنموذج للطفيلي، وقد تم تمييز التغير المستضدي لعذلة الجيارديا بواسطة تنوع مجموعة الطفيلي المعوية إلى خليط معقد من أنواع المستضدات المتباينة المختلفة (Muller and Gottstein, 1998). وتعد مستضدات داء الجيارديا من أفضل أفراد عائلة مستضدات السطح المتغيرة التي تكون الجزء المتغلب من بروتينات السطح في الأطوار المتغذية (Singer et al., 2001). يمكن أن يحدث التغير المستضدي خارج الجسم ( Svard et al., 1998; Carranza et al., 2002) وداخل الجسم (Von Allmen et al., 2004). وقد أظهر تحليل الأجسام المضادة IgA الإفرازية (SIgA) المضادة لداء الجيارديا في حليب الثدي للأمهات التي تعيش في بيئة موبوءة بالجيارديا، وربما باصابات متعددة بسلالات مختلفة من الجيارديا، أن بروتينات السطح المتنوعة تمثل بروتيناً مناعياً فعالاً متغلباً (Tellez et al., 2005). وقد تمكن بروتينات السطح المتنوعة الجيارديا من التهرب من مناعة المضيف (Buret, 2008).

## Probiotics 4.2

درس الباحثون (Benyacoub et al., 2005) قدرة بكتريا *Enterococcus faecium* من سلالة SF68 العائدة لـ Probiotics على مقاومة إصابة الفئران بـ *G.intestinalis*، إذ إن تجريع الفئران ببكتيريا *E. faecium* سلالة SF68 الذي بدأ قبل سبعة أيام من تجريعها بالأطوار المتغذية للجيارديا، زاد من معنوية إنتاج IgA المعوي المتخصص المضاد للجيارديا و IgG ، انعكست هذه الاستجابات الخلوية عند المستوى الخلوي على زيادة النسبة المئوية لخلايا CD4+ T في نماذج الطحال في الفئران التي أعطيت الـ SF68. وقد أرتبط التحسن

في الاستجابات المناعية المتخصصة في الفئران التي جرعت بالبكتريا بنقص طرح مستضدات الجيارديا GSA65 protein في الأمعاء.

وجد (2009) Simpson *et al.* أن المعاملة بالبكتريا *E. faecium* SF68 حفزت المناعة الجهازية والمخاطية في مختلف نماذج الحيوانات ومنها الكلاب الصغيرة أيضاً وفضلاً عن اختزالها اكياس الجيارديا وطرح المستضدات في القوارض. وقد لاحظ باحثون في دراسات اخر أن استعمال Probiotics من نوعي *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* أدى إلى تعديل داء الجيارديا في الفئران وذلك بتقليل مدة بقاء المرض (Shukla *et al.*, 2008; Shukla *et al.*, 2010). درس (Goyal *et al.*, 2011) الفعالية الوقائية لسلاسل مختلفة من *Lactobacillus* لمعالجة داء الجيارديا في الفئران. وقد توصلوا من خلال التجارب الى ان استعمال أي من هذه البكتريا (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* or *L. rhamnosus* GG) كمكملات لمدة سبعة أيام قبل التجريع بالأطوار المتغذية لـ *G. lamblia* قلل نسب طرح الأكياس بالمقارنة مع الفئران المصابة. واستنتج الباحثون أن بكتريا *L. rhamnosus* GG كانت أكثر الأنواع تأثيراً في تقليل فترة دورة حياة الجيارديا كبكتريا في الفئران ضد داء الجيارديا.

## 5.2 الموجات فوق الصوتية Ultrasonic waves

تمثل تقنية الموجات فوق الصوتية مدىً واسعاً من الترددات فوق مستوى سمع الإنسان تتراوح بين 20 كيلوهيرتز\_2 ميكاهيرتز، تتولد الموجات فوق الصوتية من طاقة كهربائية بواسطة ناقل فوق صوتي (Botha, 1993)، ويتكون ناقل الموجات فوق الصوتية النموذجية من بلورات Piezoelectric Crystals تقوم بتغيير شكلها عندما تمر التيارات الكهربائية خلالها (Mindlin, 1971; Chapelon *et al.*, 2000).

بين الباحثون أنه عند تطبيق تقنية الموجات فوق الصوتية على الماء قد تحدث تفاعلات فيزيائية وكيميائية محتملة فوق معدل التردد، ويمكن أن تستعمل التفاعلات الفيزيائية والكيميائية عند مدى من الترددات والشدة لتكوين فقاعات في مجرى الماء (Botha, 1993)، ممّا

يسمى بالتكهف فوق الصوتي Ultrasonic Cavitation، وعند مرحلة الفقاعات الارتدادية تتولد درجات حرارة قصوى 5000 K ومستويات ضغط عالية 500 بار ( Neis, 2000)، تكون هذه الدرجات الحرارية العالية ومستويات الضغط العالية مسؤولة عن التغييرات الفيزيائية والتفاعلات الكيميائية الواضحة (تفاعلات كيميائية صوتية) والتي تحدث في الماء . ويمكن وصف التفاعلات الكيميائية الصوتية بتكوين الجذور الحرة H ، OH ، وبيروكسيد الهيدروجين H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>، وتمتد بقاء هذه الجذور لفترة أكثر من الفقاعات ، وهكذا تكون الجذور متوفرة لتفاعلات أخرى في الماء، تعتمد طبيعة النواتج الكيميائية الصوتية على الطاقة الصوتية (الشدة، التردد) ، تضعيف الصوت، نمط الخلية المعرضة ،الحرارة ،الضغط الخارجي وصفات المحاليل وأيضاً على طبيعة الغاز المذاب ( Botha, 1993; Neis, 2000).

استعملت تقنية الموجات فوق الصوتية بشكل واسع لتحليل الخلية وإزالة التلوث من الماء والغذاء بسبب خصائصها الفيزيائية والكيميائية، فضلاً عن ذلك فقد أستعملت تقنية الموجات فوق الصوتية لتنظيف الفلاتر المستعملة في تنقية المياه، وقد أظهرت نتائج الباحثين أن تعريض أكياس *Giardia* والأكياس البيضية لطيفلي *Cryptosporidium* يمكن أن يقلل فترة بقائها حتى لو كان زمن التعريض محدداً بثوانٍ قليلة، وعند زيادة وقت التعريض للموجات فوق الصوتية فإن التغييرات في صفات الطفيل يمكن ملاحظتها بصورة مبكرة، هنالك عوامل أخرى توضح تأثير تقنية الموجات فوق الصوتية على الطفيل متضمنة الطاقة الصوتية للموجات فوق الصوتية وفي الوقت نفسه تأثير درجة الحرارة للمادة الأساس، وقد استنتج الباحثون أن الموجات فوق الصوتية تكون مضرّة للابتدائيات المنقولة بالماء حتى لو طبقت لفترة قصيرة جداً ( Al-Sabi et al., 2011).

ذكر الباحثون أن تقنية الموجات فوق الصوتية عالية الشدة ( HIFU ) High Intensity Focused Ultrasound تعد تقنية جديدة غير اختراقية مما يسبب موت الخلية ( Zou et al., 2009; Liu et al., 2013; Zhang et al., 2013 ) ونخر الأنسجة Necrosis بوساطة تركيز الموجات فوق الصوتية عالية الشدة على الموقع المنفرد ( Yi, 2009; Zou et al., 2009)، وهدف الباحثون الى التحري عن تأثير تقنية HIFU على الرؤيسات الأولية لدودة المشوكة الحبيبية وفي الوقت نفسه التحري عن التأثير التثبيطي لتقنية

HIFU على نمو الأكياس العدرية النامية من الرؤيسات الأولية المعرضة مما له تأثير تحطيمي للرؤيسات الأولية بواسطة تتبع موت الطفيلي بعد التشعيع ، بينما تم متابعة التأثير التثبيطي بواسطة إجراء التجارب داخل الجسم ( Yi, 2009; Zou *et al.*, 2009; Zhang *et al.* 2013; Cai *et al.*, 2013). وقد أوضحت نتائج الباحثين أن تقنية الموجات فوق الصوتية عالية الشدة كانت قادرة على تحطيم الرؤيسات الأولية وأن التأثير القاتل للطفيلي كان معتمداً على الجرعة (Zou *et al.*, 2009; An, 2010). وقد ترتبط ميكانيكية هذه التقنية بالتحطيم المباشر، حيث الموت المباشر، تنشيط الفعالية الأنزيمية، حيث الاستجابة المناعية للمضيف ضد الطفيلي (Yi, 2009)، وظهر أن نمو الرؤيسات الأولية التي بقيت حية بعد تعريضها لتقنية HIFU قد ثبتت بشكل واضح خارج الجسم وأن معدل وزن الأكياس العدرية الناتجة عن هذه الرؤيسات الأولية داخل الجسم كانت أقل منها في مجاميع السيطرة ( Yi, 2009; Zou *et al.*, 2009)، فضلاً عن ذلك فإن تركيب الطبقة الجرثومية في الأكياس العدرية المتطورة أو النامية من الأكياس المشععة لم يكن طبيعياً (سليماً) بالمقارنة مع الأكياس غير المشععة ( Yi, 2009; Zou *et al.*, 2009; An, 2010)، ولوحظت تغييرات مظهرية لتلف هذه الأكياس مما يبين أن تقنية HIFU استطاعت منع الرؤيسات الأولية من تطور أو نمو الغشاء الجرثومي وبالنتيجة أوقفت توالد الأكياس العدرية الثانوية (Zou *et al.*, 2009).

وقد توصل الباحثون الى أن نسبة موت الرؤيسات الأولية في الأكياس العدرية قد ارتفعت بصورة واضحة باستعمال التشعيع الخطي المباشر بالموجات فوق الصوتية عالية الشدة HIFU Direct Linear Irradiation أو باستعمال التشعيع الدائري متعدد الطبقات للموجات فوق الصوتية عالية الشدة HIFU Direct Circular Multilayer Irradiation، فقد كانت نسبة موت الرؤيسات الأولية في التقنية الثانية أعلى منها في الأولى، ووجد الباحثون أيضاً أن جدران الكيس الداخلية الدائرية للأكياس العدرية أصبحت منحنية، سميقة، صلبة، بيضاء وأقل شفافية، ولوحظ انفصال الطبقات الجرثومية عن الطبقات الصفائحية، وأظهر الفحص المجهرى تغيراً في القوام الليفي للطبقة الصفائحية بشكل واضح، وظهر أيضاً تكسر الخلايا الجرثومية عند الفحص بالمجهر النافذ Transmission Electrone Microscope (An, 2010)،

ولوحظت تغييرات مظهرية سلبية بعد التشعيع بتقنية HIFU حول منطقة الأكياس، وقد تزايد محتوى خلايا CD<sub>4</sub>، CD<sub>8</sub> في الوقت نفسه في الخلايا اللمفاوية (Yi, 2009).

وقد وجد الباحثون في دراسات سابقة أن تقنية HIFU حددت التأثير التحطيمي للرؤيسات الأولية خارج الجسم وأنها يمكن أن تكون خياراً علاجياً محتملاً لداء المشوكات الحبيبي (Zou *et al.*, 2009)، ولكن فعالية التحطيم كانت محددة بوساطة سائل الكيس العدري بسبب خصائصه في قلة تركيز الطاقة للموجات فوق الصوتية والفقدان السريع للطاقة (Liu *et al.*, 2013; Cai *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2004) لذلك اقترح باحثون آخرون (Zhang *et al.*, 2011) أنه يمكن إضافة مادة خاصة ذات قابلية عالية للامتصاص إلى السائل العدري للمشوكة الحبيبية مما تساعد في تركيز طاقة الموجات فوق الصوتية عالية الشدة وهي مادة (SAP) Super Absorbent Polymer، وتعد مواد البوليمر عالي الامتصاص شبكات محبة للماء وشديدة الامتلاء بحيث تستطيع امتصاص (إبقاء) كميات كبيرة من الماء وتستطيع هذه المواد أخذ الماء بنسبة عالية تصل إلى 100% (Zohurian-Mehr and Kabiri, 2008) وأما Zhang *et al.* (2013) فقد حدد نسبة 20.000% لامتصاص الماء.

درس عدد من الباحثين تأثير تقنية HIFU على قتل الرؤيسات الأولية والتأثير التعزيزي لـ SAP على كفاءة هذه التقنية، سبب تعريض الرؤيسات لتقنية HIFU رفع درجة حرارة معلق الرؤيسات الأولية ببطء وكانت نسبة موت الرؤيسات الأولية 73.7% بالمجموعة المعاملة لمدة 30 ثانية، وعلى الرغم من ذلك، فإن المعاملة نفسها والفترة الزمنية نفسها بالإرتباط مع SAP أدت إلى رفع درجة حرارة المعلق بسرعة وكانت نسبة موت الرؤيسات 100%، وسببت اختلالاً في وظيفة الماييتوكونديريا مما أثر في تنظيم مسارات موت الخلية للرؤيسات الأولية، ولاحظ الباحثون أيضاً التأثير القاتل 100% لتقنية الموجات فوق الصوتية عالية الشدة HIFU وبطاقة صوتية 100w لمدة 50 و60 ثانية وبمساعدة SAP، على الرؤيسات الأولية، إذ اصطبغت الرؤيسات الأولية الميتة باللون الأزرق وكانت مجمدة، ولوحظت أيضاً حويصلات متكلسة وأشواك مختزلة غير طبيعية، وفي الوقت نفسه فقدت عدد من الرؤيسات أشواكها ولوحظ أيضاً وجود ثغور في غشائها وعدد كبير من الخلايا التنخرية (Zhang *et al.*, 2013).

أصبح عامل التباين فوق الصوتي (UCA) Ultrasound Contrast Agent مهماً جداً في بحوث تعزيز الأستئصال بتقنية HIFU (Tung *et al.*, 2006) وهو عامل مساعد مهم في التصوير الطبي يمكن أن يحسن معنوياً كفاءة التصوير في التشخيص بالموجات فوق الصوتية بحساسية وتخصصية عاليتين (Robbin, 2001) وقد أثبت الباحثون أن هذه المادة آمنة وكفوءة ومن دون تأثيرات جانبية (Borden *et al.*, 2010)، وقد تم التحري حديثاً عن UCA التي تحتوي فقاعات دقيقة (صغيرة) لغرض استعمالها في العديد من التطبيقات العلاجية (الطبية) (Zderic *et al.*, 2006; He *et al.*, 2011) ، وقد وجد الباحثون أن التأثير التحطيمي لتقنية HIFU على الرؤيسات الأولية يمكن أن يعزز بإضافة UCA الى المحاليل المعلقة للرؤيسات الأولية (Kong *et al.*, 2011).

وقد تحرى الباحثون حديثاً عن الآثار التحطيمية لتقنية HIFU على الأكياس العدرية في التجاويف البطنية للأرناب بمساعدة عامل التباين فوق الصوتي UCA والبوليمر عالي الامتصاص SAP كل على انفصال أو بارتباطهما معاً، وقد تم إجراء التجارب بوساطة زراعة الأكياس العدرية المعزولة من أكباد الأغنام المصابة في الأرناب، وباستعمال HIFU لاستئصال الأكياس المزروعة بمساعدة UCA و SAP بشكل منفصل أو بارتباطهما معاً، واستناداً الى الدراسات السابقة فقد حقن خليط مكون من 0.1 gm من SAP و 0.5 ml من إيثانول لامائي ومطول 0.1 ml من UCA. كما صبغت الرؤيسات الأولية بصبغة الأيوسين الحامضية Eosin. وقد لوحظت تراكيب الرؤيسات الأولية بواسطة المجهر الضوئي ودرس الباحثون التأثيرات المرضية في جدران الأكياس العدرية المستأصلة بوساطة تقنية HIFU لمعرفة التأثيرات التحطيمية لتقنية HIFU. أوضحت نتائج الباحثين أن تقنية HIFU لها عدد من التأثيرات المميتة على الأكياس العدرية وزيادة نسبة موت الرؤيسات الأولية، والتحطيم التركيبي للأكياس الأولية والتحطيم الكامل أو حتى اختفاء الطبقة الصفائحية والجرثومية في المجموعة المعاملة بتقنية HIFU بالإرتباط مع SAP و UCA بشكل منفصل أو مرتبطين معاً، وفضلاً عن ذلك فقد لاحظ الباحثون أن التأثير التحطيمي لتقنية HIFU المعزز بالإرتباط مع SAP و UCA معاً على الأكياس العدرية كان أكثر تأثيراً منه باستعمال HIFU المعزز بالإرتباط مع SAP و UCA كل على حدا، وقد أقترح الباحثون أن SAP و UCA يمكن استعمالها كعامل معزز

لتقنية HIFU لتحسين كفاءة استئصال الأكياس العذرية والتي قد تكون خياراً علاجياً لداء المشوكات الحبيبي (Cai *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013) .

ذكر الباحث (Mabin *et al.* (2012) أن إزالة الأعصاب الكلوية التي تغذي بطانة الأوعية الدموية بوساطة الموجات فوق الصوتية يعد تقنية آمنة ومؤثرة علاجية لضغط الدم المقاوم Resistant Hypertension. وقدر الباحثون (Orsi *et al.* (2010) درجة أمان طريقة الإستئصال العلاجية وكفاءتها بتقنية الموجات فوق الصوتية HIFU للسرطانات الصلدة في المواضع الصعبة، و بينوا أن أقطار الأورام قد تغيرت بعد يوم واحد من المعاملة بالموجات فوق الصوتية واستنتجوا بأن الاستئصال بتقنية HIFU يمكن أن يعد طريقة آمنة وملائمة للسيطرة على السرطانات الصلدة في المناطق الصغيرة .

طبقت تقنية HIFU، كطريقة حرارية لاستئصال الأنسجة لمعالجة مختلف أنواع الأمراض التي تضم التليف تحت المخاطي Submucosal Fibroid (Wang *et al.*, ) (2012)، سرطان الخلايا الكبدية Hepatic Cellular Carcinoma (Cheung *et al.*, ) (2012)، السرطان الغدي البروستاتي Prostate Adeno Carcinoma (Winterberg, ) (2012)، تليف الرحم Uterine Fibrosis، سرطان البنكرياس Pancreatic Carcinoma، سرطان الثدي Breast Carcinoma، سرطان الغدد اللمفاوية المنتشر Lymph Node Metastasis، سرطان العظام الخبيث المنتشر Malignant Osteo Carcinoma، سرطان الأنسجة الرابطة والعضلية Sarcoma، سرطان الكلى Renal Carcinoma وأورام الغدد الصم العصبية Neuroendocrine Tumors (Raso *et al.*, ) (2005; Winterberg, 2009; Orsi *et al.*, 2010; Al-Bataineh *et al.*, 2012; NICE, 2012).

أوضح الباحثون (Monte-Raso *et al.*, 2005) في دراسة تجريبية للموجات فوق الصوتية العلاجية أجريت على تجدد العصب الوركي المعرض الى أذى في الجرذان، أن الموجات فوق الصوتية واطئة الشدة العلاجية تعزز تجدد العصب الوركي في الجرذان (Raso *et al.*, 2005). ووجد الباحثون أن الموجات فوق الصوتية المركزة بشدة يمكن أن تستعمل كطريقة غير اختراقية لتوليد الحرارة في المنطقة المحصورة بمكان التعريض والتخثر داخل البشرة

أو التراكيب التي تقع تحتها وهذه الملاحظات لها أهمية في تطوير الطرائق العلاجية الجديدة غير الاختراقية في مجال الأمراض الجلدية (علم الجلود Dermatology) . ( Laubach *et al.*, 2008).

أستعملت الموجات فوق الصوتية لعمليات شد بشرة الوجه والعنق ( Alam *et al.*, 2009)، وكما استعملت تقنية الموجات فوق الصوتية أيضاً في شفاء الكسور ( NICE, 2010). وبذلك أصبحت تقنية الموجات فوق الصوتية وسيلة استثنائية موثوقة ومعتمدة في الطب في حين لم يستطع الباحثون تقدير درجة التأثيرات الجانبية للموجات فوق الصوتية، وعلى الرغم من ذلك فإن على كل أم في الدول الصناعية أن تتلقى فحصاً بالموجات فوق الصوتية مرة واحدة على الأقل، ومن المحتمل أن تعريض الجنين بشكل مستمر للموجات فوق الصوتية له تأثيرات جانبية تطويرية غير متوقعة للجنين ( Blake and Panter, 2011; Cai *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and

Methods

### 1.3 الحيوانات المختبرية Laboratory animals

تم الحصول على الجرذان النرويجية نوع *Rattus norvegicus* بعمر (6-7) أشهر من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري في جامعة الموصل، وتم تكثير هذه الحيوانات في غرفة تربية الحيوانات في كلية التربية/قسم علوم الحياة في جامعة الموصل. جرى فحص براز الحيوانات بالطريقة المباشرة للتأكد من خلوها من الطفيليات المعوية. كثرت هذه الحيوانات وعزلت الذكور منها عن الإناث في أقفاص لوحدها وبواقع 4 ذكور لكل قفص، إذ استخدمت في التجارب المختلفة بعمر (3\_4) أسابيع، مع مراعاة الحفاظ عليها في ظروف ملائمة من درجة حرارة وغذاء ملائمين لنموها حيث تتراوح درجة الحرارة من 20\_25 م وكان الغذاء نحصل عليه من القسم وهو عبارة عن علف يتضمن الحنطة والشعير وبروتين ومكونات أخرى.

### 2.3 جمع العينات وعزل الطفيلي Collection and Isolation of Samples

أخذت عينات من البراز من مختبر الطفيليات في مستشفى السلام في الموصل للفترة من تشرين الثاني 2012 ولغاية تشرين الأول 2013 بعد فحص الغائط الوارد إلى المختبر المذكور فحصاً مباشراً باستعمال المحلول الملحي الفسليجي 0.9% Normalsaline ومحلول اليوداللوكالي Lugol's iodine لغرض التحري عن طفيلي الجيارديا. عزلت أكياس طفيلي الجيارديا بحسب طريقة ( Roberts Thomson, 1976; Sheffield and Bjorvatan, ) (1977; Bingham *et al.*, 1979) مع عدد من التحويلات التي اتبعتها (Shnawa 1995)، إذ خففت عينة الغائط بالماء المقطر بنسبة 1:10، ثم رشحت خلال أربع طبقات من الشاش من خلال مناخل معدنية ذات ثقوب بقطر (125,90) مايكروميتر، على التوالي. أخذ 5 مل من الراشح وأضيف إليه 3 مل من محلول السكروز بتركيز 0.85 مولاري وكانت طريقة التحضير بقانون المولارية حيث تساوي  $\frac{wt \times 1000}{m.w \times 100}$  وكان الوزن الجزيئي للسكروز هو 342.30 (Bingham *et al.*, 1979).

وضع المعلق في جهاز الطرد المركزي المجهز من قبل شركة Unimedica بدرجة حرارة الغرفة وتم تشغيل الجهاز بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق لفصل الراسب عن الراشح . أهمل الراسب وأخذ الراشح وحُفّف بالماء المقطر بنسبة (10:1) وأعيدت عملية الفصل وبالسّعة والمدة نفسيهما المذكورتين في أعلاه.

علق الراسب في 4 مل من المحلول الملحي، وكررت عملية الطرد المركزي ثلاث مرات، واستعمل المعلق الحاوي على الأكياس النقية مباشرة في تجارب حقن الحيوانات المختبرية، وحفظ المعلق في درجة حرارة 4°م لمدة يومين فحسب حتى يحين وقت استعمالها (Craft, 1982). قدر عدد الأكياس/مل في المعلق باستعمال شريحة تعداد كريات الدم Roberts-thomson *et al.*, ) Improved Neubauer Haemocytometer (1976).

### 3.3 تجريب الحيوانات المختبرية Inoculation of laboratory animals

جرعت الجرذان المختبرية عن طريق الفم orally في جميع التجارب بمعلق الأكياس في المحلول الملحي الفلجسي الحاوي (2×10<sup>4</sup>) كيس/مل وباستعمال إبرة معقوفة Gavage needle قياس 18G، إذ أدخلت الإبرة عن طريق الفم إلى المريء ثم المعدة ودفع السائل الحاوي على الأكياس إلى داخل المعدة مباشرة (Roberts-Thomson *et al.*, 1976).

### 4.3 تصميم التجارب Experimental design

قسمت الحيوانات الى خمسة مجاميع شملت كل مجموعة أربعة حيوانات عدت المجموعة الاولى مجموعة السيطرة فيما مثلت المجاميع الأربع الباقية المجاميع التجريبية.

#### المجموعة الأولى:

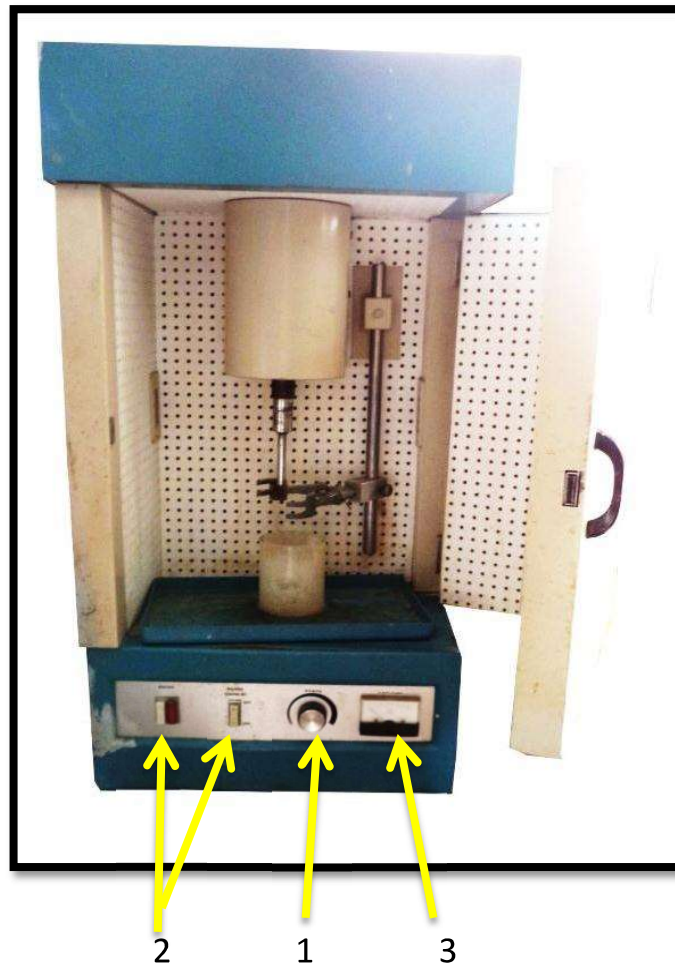
هي مجموعة السيطرة الجرعة بكييس طفيلي الجيارديا وغير المعاملة بالموجات فوق الصوتية، وهي عبارة عن أربعة جرذان تمت إصابتها بطفيلي الجيارديا عن طريق التجريب الفموي وبمعدل (2×10<sup>4</sup> كيس/مل)، إذ درست فيها المعايير المستعملة في الدراسة الحالية.

المجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة :

شملت أربعة مجاميع من الجرذان الذكور المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة بالموجات فوق الصوتية عند التردد 20 ألف ذبذبة /ثانية ولفترات زمنية مختلفة (60 ثانية، 150 ثانية، 210 ثانية، 240 ثانية)، وبواقع أربعة جرذان لكل تجربة ودرست فيها المعايير نفسها المستعملة في الدراسة الحالية.

3.5 الجهاز المستعمل في التجربة :

هو جهاز الموجات فوق الصوتية ULTRASONIC انكليزي الصنع وكان دليل التعليمات (رقم الكتلوك 1\96\40\80\3\4 ) ومجهز من شركة Omniinternational ( الشكل 2):



الشكل (2): جهاز الموجات فوق الصوتية

يتكون الجهاز مما يأتي:

(1) Power قوة التشغيل .

(2) Mains و Power stand by للتشغيل ايضا عند تعريض العينة .

(3) Amplitude السعة وتبدأ من 0-28 ، التردد 20 الف ذبذبة/ثانية .

عزلت أكياس طفيلي الجيارديا وفق الطريقة المذكورة في الفقرة 2.3 ( Roberts Thomson, 1976; Sheffield and Bjorvatan, 1977; Bingham *et al.*, 1979)، تم حساب عدد الأكياس باستعمال شريحة تعداد كريات الدم Haemocytometer نوع Improved Neubauer، ثم حسب حجم العينة التي ستجرع للحيوانات فموباً، وضعت العينة في جهاز الموجات فوق الصوتية لغرض تعريضها له، ووضع حول العينة كمية من الثلج لغرض الحفاظ على العينة من الحرارة المتولدة من الجهاز أثناء التشغيل، عرضت العينات للفترات 60 ثانية، 150 ثانية، 210 ثانية، 240 ثانية، على التوالي، مع فترات توقف 30 ثانية كل 30 ثانية تعريض.

### 6.3 المعايير المختارة في الدراسة Parameters Selected For Study

#### 3.6.1 طرح الأكياس Cysts Excesion

تم تقدير الإنتاج اليومي لأكياس طفيلي الجيارديا وذلك بوضع الجرذان في أقفاص نظيفة وخالية من نشارة الخشب لمدة ساعتين، وجمع البراز خلال هذه الفترة وعلق في 3 مل من الماء المقطر، وعزل باستعمال طريقة العزل المذكورة في الفقرة 2.3، وأعيد تعليق الراسب الناتج في 5 مل من المحلول الملحي الفسلجي. قدرت اعداد الاكياس باستعمال شريحة تعداد كريات الدم (Roberts-Thomson *et al.*, 1976; Craft, 1982).

#### 3.6.2 الوزن Weight

وزنت جميع الجرذان المستعملة في الدراسة ( الحيوانات الجرعة بطفيلي الجيارديا غير المعاملة بالموجات فوق الصوتية السيطرة والحيوانات الجرعة بطفيلي الجيارديا المعاملة

بالموجات فوق الصوتية) قبل الحقن وتم مراقبة التغير في الوزن خلال مدة الإصابة، إذ وزنت الحيوانات خلال فترات زمنية ثابتة، كل 72 ساعة .

### 3.6.3 الدم Blood

خدرت الجرذان باستعمال الايثر Diethylether وسحب الدم من العين باستعمال أنبوية شعرية وفق طريقة (Waynforth(1980)، وجمع الدم في أنابيب بسعة 5 مل حاوية على مانع التخثر Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) واستخدم لأحتساب العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض.

### 4.6.3 الاستجابة المناعية Immune response

#### 1.4.6.3 الاستجابة المناعية الخلوية Celluler Immune Response

#### اختبار فرط الحساسية المتأخر Delayed-type Hypersensitivity Test

#### 1.1.4.6.3 تحضير المستضد Preparation of Antigen

تم تحضير المستضد وفقاً لطريقة (Craft and Nelson (1982)، إذ عزلت أكياس الجيارديا ونقيت، ثم غسلت مرتين باستعمال محلول الغسل (الماء المقطر المعقم) ووضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد وتم تشغيل الجهاز بسرعة 5000دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 4°م. أزيل الراشح وعلق الراسب في 10مل في محلول معقم حاوي على Pencillin (500 G وحدة دولية/مل) و Gentamycin (50ملغم/مل)، وحضن المعلق لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37°م ثم أزيل الراشح وأخذت حملة حلقة الزرع من الراسب ووضعت في وسط Thiglycolate السائل لتقييم درجة التعقيم ، وتم التلقيح على وسط Eosin-Methylene Blue (EMB) ووسط أكار الدم الحاوي على 5% من دم الأغنام. كررت العملية للتأكد من خلو المعلق من التلوث الجرثومي. رسبت الأكياس بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي المبرد وشغل الجهاز بسرعة (500 دورة/دقيقة) لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 4°م، وعلق الراسب في 10مل من (0.01) مولار من حامض الهيدروكلوريك HCL. حضن المحلول في درجة حرارة 37°م لمدة ساعة واحدة فقط، ثم نبذ المحلول مرة ثانية لمدة 10 دقائق، واخيراً غسل الراسب مرتين باستعمال الماء المقطر المعقم. تم تقدير أعداد الأكياس باستعمال شريحة تعداد كريات الدم

للحصول على معلق حاوي على  $2 \times 10^4$  كيس/مل، وخزنت في درجة حرارة  $20^\circ\text{C}$  حتى يحين وقت استعمالها.

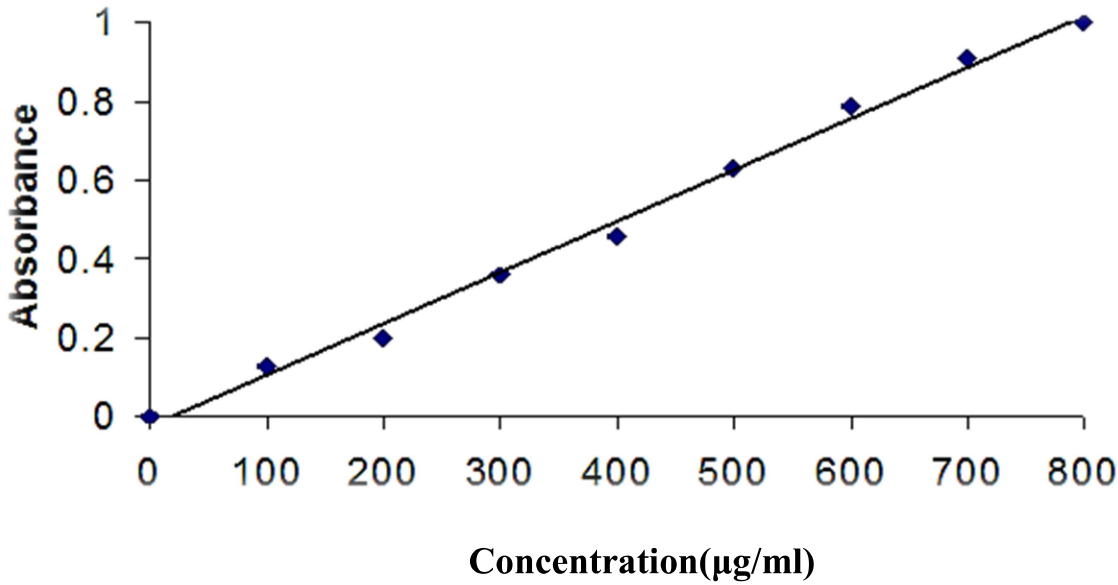
### 2.1.4.6.3 تحطيم خلايا المستضد Antigen sonication

حُطمت أو فُجرت الأكياس للحصول على مستضد الجيارديا باستعمال جهاز الترددات فوق الصوتية Ultrasonic disintegrator المجهز من شركة Omniinternational وذلك بتسليط 12000 ذبذبة لكل ثانية لمدة 15 ثانية، كُررت العملية أربع مرات مع فترات توقف لمدة 5 دقائق تقريباً لغرض الحفاظ على درجة حرارة المحلول واطئة. أُجريت بعد ذلك عملية الديليزة Dialysis لمدة 48 ساعة ضد الماء المقطر.

### 3.1.4.6.3 تقدير كمية البروتين Estimation of Protein

قدرت كمية البروتين الكلي وفق طريقة (Schacterle and Pollack (1973)، إذ أخذ 0.1 مل من العينة مع 0.9 مل من الماء المقطر، أُضيف إليه 1 مل من محلول كيريتات النحاس القاعدية  $\text{CuSO}_4$ ، مزج المحلول جيداً وترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق، وأُضيف إليه بعد ذلك 4 مل من كاشف فولن، ومزج المحلول جيداً ووضع في الحمام المائي بدرجة  $55^\circ\text{C}$  لمدة 5 دقائق ثم برد بسرعة تحت ماء الحنفية لمدة دقيقة واحدة وأُخذت شدة الامتصاصية عند طول موجي 650 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer single beam) نوع (CAMBRIDGE.1011) المجهز من قبل شركة Cecil Instrument limited .

تم تحديد تركيز البروتين الكلي في العينة باستعمال المنحني القياسي للبروتين الذي حضر بأخذ تراكيز مختلفة تراوحت بين (0\_1000) مايكروغرام/مل من ألبومين المصل البقري (Bovine Serum Albumin (BSA) (الشكل 3).



الشكل (3): المنحني القياسي لتقدير كمية البروتين

#### 4.1.4.6.3 حقن المستضد Injection of Antigen

أثبتت طريقة (Ali Khan (1978) لقياس فرط الحساسية المتأخر، إذ حُقنت وسادة القدم اليمنى للجرذ بمستضد أكياس طفيل الجيارديا بتركيز 174 مايكروغرام بعد تعقيم منطقة الحقن بالكحول 70% وباستعمال محقنة طبية حجم امل ذات إبرة قياس 25G، أما القدم الأخرى فحقنت الحجم نفسه من دارئ الفوسفات الملحي المعقم. تم قياس سمك وسادة القدم باستعمال القدمة Vernea بعد 3، 24، 48 ساعة من الحقن لحساب الفرق بين القراءتين لوسادتي القدم اليمنى واليسرى بوصفها مقياساً لفرط الحساسية المتأخر.

#### 7.3 التحليل الإحصائي Statistical analysis

حللت بيانات الصفات المختلفة بحسب طريقة التصميم العشوائي الكامل (أختبار دنكن) واختبرت الفروقات بين متوسطات العوامل (الوقت والذئبة) وكذلك التوافق بين العوامل بحسب طريقة دنكن المتعدد المدى (Gomez and Gomez, 1983) نفذت التحاليل الإحصائية جميعها باعتماد البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS) Statistical Analysis System V.9 .

الفصل الرابع

النتائج

Results

## 1.4 طرح الأكياس Cyst excretion

يتبين من الجدول رقم (1b) في الصفحة التالية معدل الإنتاج اليومي لأكياس طفيلي الجيارديا للجرذان المجرعة بأكياس طفيل الجيارديا وغير المعاملة بالموجات فوق الصوتية (السيطرة) والجرذان المجرعة بأكياس طفيل الجيارديا والمعاملة بالموجات فوق الصوتية حتى نهاية الإصابة. لوحظ أول طرح للأكياس في غائط المجموعة الأولى (السيطرة) في اليوم الثالث بعد التجريع، وقد لوحظ استمرار طرح الأكياس في مجموعة السيطرة إلى اليوم الخامس والأربعين (السابع والأربعين بعد التجريع)، أما في مجموعة الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المعاملة بالموجات فوق الصوتية فقد لوحظت الأكياس في اليوم الثالث بعد التجريع، وقد أعطت ألفترة 240 ثانية (بتردد 20 ألف ذبذبة 1 ثانية، ثابتة لكل المعاملات) أفضل نتيجة، إذ اختفت الأكياس بعد اليوم السابع من الإصابة، (اليوم التاسع بعد التجريع)، تلتها ألفترة 210 ثانية، إذ اختفت الأكياس بعد اليوم التاسع من الإصابة (الحادي عشر من التجريع)، وأعقبته الفترة 150 ثانية إذ اختفت الأكياس بعد اليوم العاشر من الإصابة (الثاني عشر من التجريع)، ثم الفترة 60 ثانية، إذ اختفت فيها الأكياس بعد اليوم التاسع عشر من الإصابة (الحادي والعشرون بعد التجريع)، وقد تبين من نتائج جدول تحليل التباين (ANOVA) (1a) أن الفروقات بين إنتاج الأكياس في المجاميع المعاملة بالموجات فوق الصوتية جميعها والسيطرة كانت معنوية عند  $(p>0.01)$ .

الجدول رقم (1a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير ترددات الموجات فوق الصوتية في إنتاج الأكياس للجرذان في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	678.984	169.746	171.73**	$>0.0001$
الزمن	44	144.005	3.272	3.31	$>0.0001$
فترات التعريض × الزمن	176	434.124	2.48	2.51	$>0.0001$
الخطأ	672	664.25	0.988		

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

جدول رقم ( 1b ) التغيرات الحاصلة في معدل الطرح اليومي لأوكياس طفيل الجيارديا في  
الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

240 ثانية	210 ثانية	150 ثانية	60 ثانية	السيطرة	الأيام
المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	
					1
					2
0.25 $\pm$ 0.5l-m	0.5 $\pm$ 0.577l-m	1 $\pm$ 1.414l-m	1.25 $\pm$ 0.5 g-h	2.25 $\pm$ 0.5 g-h	3
0.25 $\pm$ 0.5l-m	0.25 $\pm$ 0.5 l-m	0.75 $\pm$ 0.5 l-m	1.5 $\pm$ 0.577 g-h	0.5 $\pm$ 0.577 l-m	4
1 $\pm$ 0.816 l-m	0.25 $\pm$ 0.577 l-m	1 $\pm$ 0.816l-m	4.5 $\pm$ 1.29b-c	2.25 $\pm$ 0.5g-h	5
0.5 $\pm$ 1 l-m	0.75 $\pm$ 0.5 l-m	0.75 $\pm$ 0.5 l-m	1 $\pm$ 1.154 l-m	2.25 $\pm$ 2.217g-h	6
1 $\pm$ 0.816 l-m	0.75 $\pm$ 0.5 l-m	1.25 $\pm$ 0.957 l-h	1.25 $\pm$ 0.5 l-h	1.75 $\pm$ 0.957 g-h	7
0.75 $\pm$ 0.957 l-m	0.75 $\pm$ 0.577 l-m	1 $\pm$ 0.816 l-m	2 $\pm$ 1.414 g-h	1 $\pm$ 0.816 l-m	8
0.75 $\pm$ 0.957l- m	0.5 $\pm$ 0.577 l-m	0.5 $\pm$ 0.577 l-m	2 $\pm$ 1.414 g-h	3.5 $\pm$ 2.081 d-e	9
0.00 $\pm$ 0 m	0.75 $\pm$ 0.957 l-m	1.5 $\pm$ 0.577 g-h	2 $\pm$ 0.816 g-h	1 $\pm$ 3 l-m	10
0.00 $\pm$ 0 m	0.5 $\pm$ 0.577 l-m	2 $\pm$ 0.816 g-h	2.25 $\pm$ 0.5 g-h	1 $\pm$ 0 l-m	11
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	1.25 $\pm$ 0.5 l-h	3 $\pm$ 1.825 g-h	3.25 $\pm$ 1.154 g-e	12
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	2.25 $\pm$ 0.952g-h	2.75 $\pm$ 1.707 g-h	13
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	2.75 $\pm$ 1.25 g-h	1.75 $\pm$ 2.872 g-h	14
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	2.5 $\pm$ 1.29 g-h	1.25 $\pm$ 0.957 l-h	15
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	2.5 $\pm$ 0.5 g-h	3 $\pm$ 0.5 g-h	16
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	2.5 $\pm$ 1.5 g-h	4 $\pm$ 1.825 d-c	17
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	3 $\pm$ 1.825 g-h	2.25 $\pm$ 3.915b-c	18
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	1.75 $\pm$ 0.952g-h	4.5 $\pm$ 1.258 b-c	19
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	1 $\pm$ 0 l-m	3.75 $\pm$ 6.403 d-e	20
0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.00 $\pm$ 0 m	0.5 $\pm$ 0.577 l-m	2.5 $\pm$ 1.258g-h	21

0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.5±2.08g-h	22
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.25±0.577 l-h	23
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2±0.5g-h	24
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2±0.816g-h	25
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.25±1.414g-h	26
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.25±1.25l-h	27
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	5.75±0.957 a	28
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	3.5±4.193 d-e	29
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.75±1.732 g-h	30
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.75±3.095 g-h	31
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.5±1.707 g-h	32
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.25±1.29 l-h	33
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.25±0.5 g-h	34
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	3.75±2.872 d-e	35
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1±2.5 l-m	36
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	6.5±0.816 a	37
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.75±1 g-h	38
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.5±0.957 g-h	39
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	3.7±1.914 d-e	40
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.25±4.5 g-h	41
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.75±1.25g-h	42
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2±0.957g-h	43
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2.75±0.816 g-h	44
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	1.25±0.957 l-h	45
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	2±0.5 g-h	46
0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	0.00±0 m	47

## 2.4 الوزن Weight

يوضح الجدول رقم ( 2a و 2b ) أوزان الجرذان لمجموعتي السيطرة والمعاملة بالموجات فوق الصوتية، إذ لوحظت الزيادة في أوزان الجرذان في كلا المجموعتين المعاملة بالموجات فوق الصوتية والسيطرة وان النسب المئوية للزيادة الحاصلة في الوزن أثناء فترة الإصابة ( ابتداءً من اليوم الذي جرعت فيه الجرذان بأكياس طفيلي الجيارديا وأثناء مدة بقائها في الجسم)، ظهر أن الزيادة في المجموعة المعاملة كانت أكبر بشكل عام من مجموعة السيطرة ولاسيما عند الفترة 240 ثانية، إذ لوحظت في اليوم الخامس والأربعون من التجريع أفضل زيادة لوزن الحيوانات وبلغت (404%) غم تقريبا، تلتها الفترة نفسها في اليوم الثاني و الأربعين بعد التجريع إذ بلغت الزيادة 387.35%، وكانت جميع الفروق بين المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة معنوية ما عدا الفترة 150 ثانية، عند ( $p > 0.01$ ). أما في الأيام الأخيرة من الإصابة فقد زادت الأوزان في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة لكنها بقيت أعلى معنويا في المجاميع المعاملة مقارنة بالمجموعة المصابة وعند ( $p > 0.01$ ).

الجدول رقم (2a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في اوزان

الجرذان في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	257677.951	64419.487	600.7**	.0001>
الزمن	15	200530	13368.701	124.66	.0001>
فترات التعريض × الزمن	60	62671.345	1044.522	9.74	.0001>
الخطأ	240	25737.885	107.241		

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

الجدول رقم (2b) يوضح التغيرات الحاصلة في معدل الوزن (غم) للجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

	240 ثانية		210 ثانية		150 ثانية		60 ثانية		مجموعة السيطرة	
معدل الزيادة في الوزن %	المعدل ± الانحراف القياسي	معدل الزيادة في الوزن %	المعدل ± الانحراف القياسي	معدل الزيادة في الوزن %	المعدل ± الانحراف القياسي	معدل الزيادة في الوزن %	المعدل ± الانحراف القياسي	معدل الزيادة في الوزن %	المعدل ± الانحراف القياسي	المرتبة
	39.54± 3.712 b-m		23.85± 1.118 m-n		30.89± 7.41 i-n		20.92± 1.49 n		26.05± 2.027 l-n	1
25.34	49.56± 3.756 a-z	34.5	32.08± 2.318 g-n	3.23	32± 7.331 h-n	14.77	24.01± 1.523 m-n	9.09	28.42± 1.543 k-n	3
60.84	63.6± 4.192 o-w	66.96	39.82± 2.33 b-m	8.93	33.65± 7.251 f-n	52.34	31.87± 2.287 h-n	18	30.74± 3.213 j-n	6
94.05	76.73± 7.899 i-p	79.58	42.83± 2.668 a-z	18.12	36.49± 8.128 d-n	67.34	35.14± 2.374 e-n	33.43	34.76± 2.979 e-n	9
126.6	85.8± 5.384 h-l	92.15	45.53± 3.786 a-z	28.29	39.63± 9.315 b-m	81.45	37.96± 1.963 c-n	42.68	37.17± 2.379 c-n	12
134.85	92.86± 4.033 g-i	101.97	48.17± 4.129 a-z	39.39	43.06± 12.748 a-z	96.94	41.2± 2.847 a-z	55.66	40.55± 2.621 a-m	15
165.88	105.13± 8.862 f-g	151.22	51.33± 4.35 a-z	45.96	45.09± 12.752 a-z	113.09	44.58± 1.253 a-z	74.7	45.51± 4.488 a-z	18
195.75	116.94± 6.199 e-f	127.12	54.17± 3.608 a-z	52.96	47.25± 12.69 a-z	114.66	47± 2.16 a-z	88.4	49.08± 7.32 a-z	21
212.16	123.43± 7.557 e	135.63	56.43± 3.516 a-z	58.46	48.95± 12.353 a-z	139.19	50.04± 3.431 a-z	93.01	50.28± 6.75 a-z	24
232.9	131.63± 12.491 e	146.79	58.86± 4.259 p-z	65.84	51.23± 12.492 a-z	160.03	54.4± 2.676 a-z	103.03	52.89± 6.038 a-z	27
310.9	162.47± 16.258 d	163.73	62.9± 4.582 o-w	73.13	55.3± 12.562 a-z	176.86	57.4± 3.368 a-z	121.19	57.62± 4.642 a-z	30
336.83	172.725± 19.825 c-d	189.48	69.043± 4.855 l-s	29.84	59.57± 13.385 q-w	201.17	63.005± 2.707 o-x	149.71	65.05± 5.093 n-v	33
365.31	183.985± 19.818 b-c	218.1	75.868± 4.053 i-p	107.74	64.173± 13.19 o-v	221.6	67.28± 2.723 m-s	178.96	72.67± 4.463 j-s	36
367.62	184.898± 20.462 a-b	249.72	83.41± 2.907 h-m	107.74	68.815± 12.833 l-s	246.16	72.418± 2.145 k-s	215.73	82.258± 5.047 h-m	39
387.35	192.7± 21.288 a	273.68	89.125± 3.164 g-k	143.37	75.178± 13.746 j-r	270.16	77.438± 2.48 i-o	245	89.973± 5.906 g-j	42
404.25	200.965± 58.284 a	310.18	97.83± 3.609 g-h	168.86	83.053± 13.03 h-m	297.84	83.23± 1.75 h-m	266.37	95.443± 5.529 g-h	45

### 3.4 التعداد الكلي لخلايا الدم البيض

يظهر الجدولان رقم (3a و 3b) التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في مجموعة حيوانات السيطرة والمجاميع المعاملة بالموجات فوق الصوتية، وقد لوحظ ارتفاع عدد خلايا الدم البيض في الجرذان المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ سجلت الفترة (210 ثانية) أعلى عدد لخلايا الدم البيض حيث بلغ (10600 خلية/سم<sup>3</sup>) في الأسبوع الأول من الإصابة، تلتها الفترة 150 ثانية، مسجلاً (10163 خلية/سم<sup>3</sup>) في الأسبوع الثالث من الإصابة و ثم الفترة 240 ثانية مسجلاً في الأسبوع الرابع للأصابة (10000 خلية/سم<sup>3</sup>) عند معنوية ( $p>0.01$ )، في الأسبوع الثالث لوحظ ارتفاع كريات الدم البيض في المعاملات مقارنة بمجموعة السيطرة التي عانت انخفاضاً في الأسبوع الثالث والرابع أيضاً أثناء الأصابة . وقد كانت جميع الفروقات في التعداد الكلي لكريات الدم البيض معنوية بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة عند درجة معنوية ( $p>0.01$ ).

الجدول رقم (3a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في مجموعتي السيطرة ا والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	84340437	21085109	4.68 **	0.0024
الزمن	3	1553425	5178083	1.15	0.3369
فترات التعريض × الزمن	12	84489812	7040817	1.56	0.1279
الخطأ	60	2704825	4508041		

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

الجدول رقم (3b): التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

240 ثانية	210 ثانية	150 ثانية	60 ثانية	السيطرة	الأسابيع
المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	
8400±2033.0 a-c	10600±3813.1 a	8050± 1369.9 a-c	8000±1689.18 a-c	4250±491.596 d	الأول
9400±1883.2 a-c	9175±3284.68 a-c	8100±2171.02 a-c	8575±1456.88 a-c	8013±3766.60 a-c	الثاني
9750±1112.0 a-c	8125±2473.02 a-c	10163±1898.8 a	7063±1931.05 a-d	6200±730.296 b-d	الثالث
10000±2127.9 a	6250±191.48 a-c	7650±2259.05 a-d	7525±2418.85 a-d	5713±647.269 c-d	الرابع

#### 4.4 التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض

##### Differential count of Leucocyte

##### 1.4.4 خلايا الدم البيض الحبيبية Granular Leucocytes

##### 1.1.4.4 خلايا الدم البيض العدة Neutrophils

يتضح من الجدول رقم (4b) التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض، إذ لوحظ انخفاض أعداد الخلايا العدة في مجاميع الحيوانات المعاملة في الأسبوعين الأول والثاني، إذ بلغ أدناها 16.5% في المجاميع المعاملة للفترة 240 ثانية، في الأسبوع الأول مقارنة بمجموعة السيطرة 37.5%، أما في الأسبوع الثالث والرابع فقد استمر الانخفاض في مجموعتي الحيوانات المعاملة للفترة 210 ثانية و 240 إذ بلغ أدناها 10% في المجموعة المعاملة للفترة 210 ثانية في الأسبوع الثالث مقارنة بمجموعة السيطرة 27.75% . أما المجموعة المعاملة للفترة 60 ثانية فقد

سجلت ارتفاعا في الخلايا العدلة في الأسبوعين الثالث و الرابع مقارنة بمجموعة السيطرة.وقد كانت الفروق معنوية بين مجموعة الحيوانات المعاملة ومجموعة السيطرة عند ( $p>0.01$ ).

الجدول رقم (4a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في اعداد خلايا الدم البيض المتعادلة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	3898.825	974.706	8.4 **	$.0001>$
الزمن	3	219.2	73.066	0.63	0.5987
فترات التعريض×الزمن	12	2874.67	239.556	2.06	0.0334
الخطأ	60	6961.5	116.025		

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

#### 2. 1.4.4 خلايا الدم البيض الحمضة (Eosinophils (acidophils)

يبين الجدولان رقم (5a و 4b) أعداد خلايا الدم البيض الحمضة في مجاميع الجرذان المعاملة بالموجات فوق الصوتية مقارنة بمجموعة السيطرة، إذ لوحظ أن الخلايا الحمضة ظهرت فقط في المجاميع المعاملة بالفترة 60 ثانية في الأسبوع الثاني وبلغت 0.25% خلية، في حين بلغت في المجموعة المعاملة بالفترة 210 ثانية في الأسبوع الرابع، وبلغت 0.5% خلية، وانعدمت هذه الخلايا في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة الأخرى وكانت الفروق غير معنوية بين المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة عند ( $p>0.05$ ).

الجدول رقم (5a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في اعداد خلايا الدم البيض الحامضية في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	0.2	0.05	0.8	0.53
الزمن	3	0.137	0.045	0.73	0.536
فترات التعريض × الزمن	12	0.8	0.066	1.07	0.403
الخطأ	60	3.75	0.062		

#### 3.1.4.4 خلايا الدم البيض القعدة Basophils

يبين الجدولان رقم ( 6a و 4b) أعداد الخلايا القعدة في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بالموجات فوق الصوتية، إذ لوحظ انعدام هذه الخلايا في كل المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة .

الجدول رقم (6a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض القاعدية في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	0	0	.	.
الزمن	3	0	0	.	.
فترات التعريض × الزمن	12	0	0	.	.
الخطأ	60	0	0		

الجدول رقم(4b): التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض الحبيبية (العدلة والحمضة والقعدة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

نوع الخلية	السيطرة	60 ثانية	150 ثانية	210 ثانية	240 ثانية
	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي
Neutrophil	37.5 ± 16.583 a-c	21.25 ± 2.5 b-e	21.25 ± 7.417 b-e	23.75 ± 4.32 b-e	16.5 ± 9.25 e-d
	33.5 ± 13.17 a-d	27.25 ± 14.15 b-e	28.25 ± 18.09 b-e	25 ± 9.38 b-e	19.25 ± 13.4 e-d
	27.75 ± 8.693 b-e	32.5 ± 9.255 a-d	38.5 ± 10.954 a-c	10 ± 5.477 e	12 ± 1.414 e
	38.75 ± 17.61 a-b	45.5 ± 11.618 a	20.25 ± 7.13 c-e	16.25 ± 8.539 e-d	18.5 ± 5.259 e-d
Eosinophil	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b
	0.00 ± 0 b	0.25 ± 0.5 a-b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b
	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b
	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.00 ± 0 b	0.5 ± 1 a	0.00 ± 0 b
Basophil	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a
	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a
	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a
	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a

## 2.4.4 خلايا الدم البيض غير الحبيبية Non-Granular Leucocytes

### 1.2.4.4 خلايا الدم البيض اللمفاوية Lymphocytes

يتبين من الجدولين رقم (7a و 5b) اعداد الخلايا اللمفاوية، إذ لوحظ ارتفاع أعداد الخلايا اللمفاوية في المجاميع المعاملة في الأسبوع الأول مقارنة بمجموعة السيطرة، وكانت أعلى زيادة حصلت للخلايا اللمفاوية في الأسبوع الثالث للمجموعة المعاملة بالفترة 240 ثانية وبلغت 87.25% خلية، والمجموعة المعاملة بالفترة 210 ثانية إذ بلغت 87% خلية وبدرجة معنوية عند ( $p>0.01$ ). فيما انخفضت أعداد الخلايا اللمفاوية في المجاميع المعاملة في الأسبوع الثاني والثالث ولكن بقيت أعلى مما في السيطرة التي انخفضت فيها أعداد الخلايا اللمفاوية فيها بدرجة معنوية عند ( $p>0.01$ )، ويلحظ من الجدول أن الخلايا اللمفاوية بقيت مرتفعة في المجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة طيلة فترة الأسابيع الأربعة وكانت الفروق معنوية بين المجاميع المعاملة عند ( $p>0.01$ ) ومجموعة السيطرة.

الجدول رقم (7a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في اعداد خلايا الدم البيض اللمفاوية في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	4034.67	1008.668	8.37 **	.0001>
الزمن	3	300.337	100.112	0.83	0.4825
فترات التعريض × الزمن	12	12616.225	218.018	1.81	0.0672
الخطأ	60	7234.75	120.579		

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

#### 2.2.4.4 Monocytes خلايا الدم البيض الوحيدة

يظهر الجدول رقم (5b,8a)، انخفاضاً في أعداد الخلايا الوحيدة في الحيوانات المعاملة، إذ بلغ أدناه 0.75% في فترة التعريض 240 ثانية، أعقبها الفترة 60 ثانية و150 ثانية مسجلةً 1%، وارتفعت أعداد الخلايا الوحيدة أيضاً في الفترة 210 ثانية خلال الأسابيع الثانية والثالثة والرابعة، وكذلك في الفترة 150 ثانية في الأسبوع الثاني فحسب وكانت الفروق غير معنوية بين مجاميع الحيوانات المعاملة ومجموعة السيطرة عند ( $p > 0.05$ ).

الجدول رقم (8a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية في أعداد خلايا الدم البيض الوحيدة في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	26.25	6.562	0.97	0.4292
الزمن	3	37.637	12.545	1.86	0.1461
فترات التعريض × الزمن	12	60.55	5.0458	0.75	0.6994
الخطأ	60	404.75	6.7458333		

جدول رقم (5b): التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض غير الحبيبية(المفاوية ووحيدة النواة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

نوع الخلية	السيطرة	60 ثانية	150 ثانية	210 ثانية	240 ثانية
	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي	المعدل ± الانحراف القياسي
Lymphocyte	60±18.293 c-d	75.25±5.56 a-c	76±3.651 a-c	74.25±3.403 a-c	81.25±10.436 a-b
	64.5±12.87 b-d	67.25±10.9 b-d	65.75±22.58b-d	70.75±7.675 a-d	79.25±13.257 a-b
	69.5±7.505a-d	67±9.831 b-d	60.25 ±9.53c-d	87±6.976 a	87.25±2.061 a
	59.5±17.82c-d	53.5±11.618 d	78.75±7.135 a-b	80.5±5.802 a-b	80±6.976 a-b
Monocyte	2.5±1.732 a-b	3.5±3.109 a-b	2.75±4.193 a-b	2±1.825 a-b	2.25±2.217 a-b
	2.5±2.061 a-b	2.5±1.914 a-b	6±4.69 a	4.25±4.349 a-b	1.5±1.732 b
	2.75±3.095a-b	1.0±0.577 b	1.75±2.061 a-b	3±2.309 a-b	0.75±1.5 b
	1.75±2.217a-b	1±0.816 b	1±0 b	2.75±3.403 a-b	1.5±2.38 b

#### 5.4 اختبار فرط الحساسية المتأخر

##### Delayed-type hypersensitivity test

يوضح الجدول رقم (6b,10a) التغيرات الحاصلة في معدل سمك وسادة القدم في الجرذان المعاملة بالموجات فوق الصوتية والجرذان غير المعاملة (السيطرة)، إذ ارتفعت معدلات سمك وسادة القدم بعد ثلاث ساعات في المجاميع المعاملة وانخفضت في مجموعة السيطرة بفروق معنوية عند ( $p>0.01$ ) وقد سجلت الفترة 240 ثانية أعلى معدل لسمك وسادة القدم بلغ 1.75 ملم، ثم تلتها الفترة 150 ثانية مسجلةً 1.325 ملم. وقد انخفضت تلك المعدلات بعد 24 ساعة من الحقن في المجاميع المعاملة ولكن بقيت أعلى مما في مجموعة السيطرة وبفروق معنوية عند ( $p>0.01$ )، ثم عادت إلى الانخفاض بعد 48 ساعة في المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة .

الجدول رقم (10a) : تحليل التباين ANOVA لتأثير الموجات فوق الصوتية على معدلات فرط الحساسية المتأخر للجرذان في مجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيمة الاحتمالية
فترات التعريض	4	2.727	0.681	8.66**	.0001>
الزمن	2	2.652	1.326	16.83	.0001>
فترات التعريض × الزمن	8	1.324	0.165	2.1	0.055>
الخطأ	45	10.249			

\*\* قيمة F المحسوبة اعلى من قيمة F الجدولية عند 0.01

الجدول(6b): التغيرات الحاصلة في معدلات سمك وسادة القدم (ملم) في الجردان

المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة

240 ثانية	210 ثانية	150 ثانية	60 ثانية	السيطرة	
الانحراف ± المعدل القياسي	الانحراف ± المعدل القياسي	الانحراف ± المعدل القياسي	الانحراف ± المعدل القياسي	الانحراف ± المعدل القياسي	
1.75±0.15 a	1.025±0.129 a-d	1.325±0.282 a	1.2±0.355 a-c	0.225±0.05 g	بعد 3 ساعات
0.725±0.35 c-f	0.8±0 b-f	0.825±0.208 b-f	0.8±0.173 c-f	0.4±0.216 f-g	بعد 24 ساعة
0.725±0.12 c-f	0.575±0.05 e-g	0.475±0.206 e-g	0.5±0.17 e-g	0.375±0.408 f-g	بعد 48 ساعة

الفصل الخامس

Discussion

## Discussion

## المناقشة

اتجه الباحثون في السنوات الأخيرة إلى تطبيق تقنية الموجات فوق الصوتية كطريقة حرارية، غير اختراقية لاستئصال الأنسجة ولمعالجة الأمراض المختلفة التي تضم التليف تحت المخاطي Submucosal Fibroid (Wang et al., 2012)، سرطان الخلايا الكبدية Hepatic Cellular Carcinoma (Cheung et al., 2012)، السرطان الغدي البروستاتي Prostate Adeno Carcinoma (Winterberg, 2009; Liu et al., 2013)، تليف الرحم Uterine Fibrosis، سرطان البنكرياس Pancreatic Carcinoma، سرطان الثدي Breast Carcinoma، سرطان الغدد اللمفاوية المنتشر Lymph Node Metastasis Carcinoma، سرطان العظام الخبيث المنتشر Malignant Osteo Carcinoma، سرطان الأنسجة الرابطة والعضلية Sarcoma، سرطان الجهاز البولي Renal Carcinoma وأورام الغدد الصم العصبية Neuroendocrine Tumors (Winterberg, 2009; Orsi et al., 2010; Al-) وقد طبقت تقنية الموجات فوق الصوتية أيضاً لمعالجة الأمراض البكتيرية (Monsen et al., 2009) والأمراض الطفيلية مثل داء الأكياس العدرية Hydatid Disease (Zou et al., 2009; Cai et al., 2013; liu et al., 2013;) وأكياس الجيارديا خارج الجسم (Al-Sabi et al., 2011). ومن خلال الأطلاع على ما تم نشره من بحوث علمية، فإنه لم يلحظ أستعمال تقنية الموجات فوق الصوتية لمعالجة الجيارديا المستخدمة لأحداث إصابة تجريبية داخل الجسم الحي، في الجرذان النرويجية من خلال تعريض الأكياس الى الموجات فوق الصوتية ولفترات مختلفة، وفي هذا البحث أجري تعريض أكياس الجيارديا ألى الموجات فوق الصوتية بتردد 20 الف ذبذبة/ثانية ولأربع فترات زمنية (60 ، 150 ، 210 و 240) ثانية على التوالي .

تبين من خلال الجدول رقم (1b) الذي يوضح الطرح اليومي لأكياس الجيارديا في المجموعتين كليهما، المجموعة المجرعة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية (السيطرة) والمجموعة المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية أن أول ظهور لأكياس الجيارديا في غائط مجموعة السيطرة وفي الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة

للموجات فوق الصوتية كان في اليوم الثالث بعد التجريع، وهذه الفترة كانت موافقة، بالنسبة للحيوانات المعاملة، لما ذكره (Al-Dabbag and Rahemo (2010) اللذان بيّنا أن أول ظهور للأكياس في غائط الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المشععة بأشعة كاما لمدة ساعتين و24 ساعة، على التوالي، حدث في اليوم الرابع بعد الإصابة، بينما كان أول ظهور للأكياس في غائط الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا غير المشععة، بأشعة كاما، في اليوم السادس بعد الإصابة . واختلفت نتائج الدراسة الحالية عما ما ذكرته (Ahmad (2013) التي بينت أن أول ظهور للأكياس في غائط المجموعة المجرعة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للتيار الكهربائي حدث في اليوم السادس بعد التجريع وفي اليوم الخامس بعد التجريع في الجرذان المجرعة بالأكياس المعرضة للتيار الكهربائي، أوضح كل من (Ali and Yousif (2008) أن أول ظهور للأكياس في غائط الجرذان المجرعة بالجيارديا غير المعاملة بالسكر المتعدد الدهني حدث في اليوم السادس بعد الإصابة وفي اليوم الخامس في الجرذان المجرعة بالجيارديا المعاملة بالسكر المتعدد الدهني، وقد سجل الباحثون السابقون فترات مختلفة لأول ظهور الأكياس، إذ سجل (Aggarwal et al. (1980) أول ظهور لأكياس الجيارديا في اليوم الأول بعد الحقن في الفئران غير المشععة، وفي اليوم الثالث بعد الحقن في مجاميع الفئران المعاملة بالكورتيزون والمشععة بأشعة كاما . وأشار (Craft (1982) الى أن أول ظهور للأكياس كان في اليوم الرابع بعد الإصابة في الجرذان، كما ذكرت (Shnawa (1995) أن أول ظهور للأكياس في غائط الجرذان المصابة بالجيارديا كان بعد 7 أيام من أحداث الإصابة، وعليه يمكن القول أن سبب الاختلاف في فترة أول ظهور للأكياس قد يكون مرده اختلاف نوع المعاملة فضلاً عن اختلاف المضيف وسلالة الطفيلي .

استمرت الإصابة في الدراسة الحالية لفترة تراوحت بين 1-45 يوماً (السابع والأربعين بعد التجريع ) في جرذان السيطرة (المجرعة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية)، في حين تراوحت مدة الإصابة بين 7-19 يوماً في الجرذان المصابة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية، وهذه النتيجة مقاربة، مع اختلاف نوعية المعاملة، لما ذكره (Ali and Yousif (2008) و (Al-Dabbage and Rahemo (2010) إذ استمرت الإصابة في جرذان السيطرة لمدة 42 يوماً، لكنها اختلفت عن نتائج دراسة (Ahmad (2013)

التي استمرت فيها الإصابة لمدة 30 يوماً . وقد ذهب (1982) Craft الى أن الإنخفاض التلقائي في أعداد أكياس الجيارديا حدث بعد (28-42) يوماً في 96% من الجرذان المصابة، بينما سجل (1983) Hill *et al.* فترة بقاء للجيارديا في الفئران الرضيعة تراوحت بين (7-21) يوماً و(21-82) يوماً في الفئران الأكبر ، فضلاً عن ذلك، فقد سجلت فترة بقاء مختلفة في مضائف أخرى أيضاً، إذ سجل (1982) Hewlet *et al.* فترات بقاء للطفيلي في الكلاب الهجينة وصل إلى (7-166) يوماً . يتضح من ذلك أن فترة بقاء الإصابة قد ترتبط بنوع المضيف، ومن ناحية أخرى ذكرت (1995) Shnawa أن فترة بقاء الجيارديا في الجرذان تراوحت بين (35-42) يوماً في 75% من الجرذان المستعملة، وأن الإصابة استمرت لغاية 56 يوماً في عدد منها، ولغاية 70 يوماً في مجموعة أخرى، وأشارت أيضاً إلى أن هذا الأختلاف يعود سببه إلى اختلاف سلالات الجيارديا التي جمعت من مرضى مختلفين .

أما في الدراسة الحالية، فأن الاختلاف الواضح بين فترة بقاء الطفيلي في الحيوانات المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية وحيوانات السيطرة ، يعزى الى تأثير الموجات فوق الصوتية . إذ ذكر الباحثون أن هناك ميكانيكيتين في الاستئصال بوساطة تقنية الموجات فوق الصوتية عالية الشدة (HIFU) High Intensity Focused Ultrasound أحدهما بوساطة تحول الطاقة الميكانيكية الى حرارية، والثانية التكيف (إحداث فجوات) Cavitation (Kennedy *et al.*, 2003)، وأن التأثير الحراري لتقنية HIFU هو توليد الحرارة وذلك بسبب امتصاص الطاقة فوق الصوتية بواسطة النسيج الموضعي وتحولها الى حرارة ، فيؤدي ارتفاع درجة حرارة النسيج إلى أكثر من 56° م في ثانية واحدة، الى موت الخلية غير المعكوس من خلال التخر التبخري (التجلطي) Coagulative Necrosis الذي يعد الميكانيكية الأولية لتعطيم الخلايا الورمية المعالجة بتقنية HIFU (Zou *et al.*, 2009; ) (Crouzet *et al.*, 2010). ويعد التكيف الصوتي Acoustic Cavitation هو نتيجة لتفاعل الموجات فوق الصوتية والفقاعات الدقيقة Micro-Bubbles للماء في النسيج المعرض للموجات فوق الصوتية Sonicated Tissue . وقد يؤدي هذا التفاعل الى موت الخلية غير المعكوس الذي يحدث من خلال ارتباط الضغوط الميكانيكية Mechanical Stresses والاذى الحراري Thermal Injury (Crouzet *et al.*, 2010; Al-Bataineh *et al.*, 2012) .

كشف الباحثون (Cai *et al.*, 2013) التأثيرات التحطيمية وميكانيكيات تقنية HIFU على المشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* . وتم التحري عن التأثير التحطيمي لتقنية HIFU على الرؤيسات الأولية بواسطة متابعة موت الطفيلي بعد التشعيع ، في حين تم التحري عن التأثير التثبيطي بواسطة الإصابة التجريبية داخل الجسم، إذ أوضحت نتائج الباحثين أن تقنية HIFU حطمت الرؤيسات الأولية وكان التأثير القاتل للرؤيسات الأولية معتمداً على الجرعة (Zhou *et al.*, 2008) ، وتم الكشف أيضاً عن التأثيرات التحطيمية وميكانيكيات تقنية HIFU على الأكياس العدرية . إذ ازدادت معنوياً نسبة الموت الفوري للرؤيسات الأولية في الأكياس العدرية، بعد معاملة الأكياس بتقنية HIFU عند طاقة صوتية 100، 150، 200 و 250 واط، مع زيادة الطاقة الصوتية (Wang *et al.*, 2009) . وأشار Wang *et al.* (2007) إلى أن التشعيع بتقنية HIFU بواسطة المسح متعدد الطبقات الدائري حول جدران الأكياس أظهر تلفاً مرضياً نسيجياً أكثر خطورة على جدران الأكياس العدرية . وعززت تقنية HIFU أيضاً نفاذية الغشاء الحيوي للجزيئات الكبيرة، ما نتج عنه التأثير الحراري والتكهف (Li and Wang , 2008) .

أوضح باحثون آخرون (McGuigan *et al.*, 2006) في دراستهم لأمكانية استعمال أشعة الشمس كمطهر (معقم) Batch Solar Disinfection (SODIS) لتثبيط فعالية الأكياس البيضية لطفيل *Cryptosporidium parvum* وأكياس الجيارديا *Giardia muris* التي تصيب الفئران في الماء الملوث تجريبياً، أن أوقات التعرض لمدة أقل من 10 ساعات جعلت الأكياس البيضية لطفيلي *Cryptosporidium parvum* غير معدية، أما أكياس *G. muris* فقد تحولت الى غير معدية تماماً في خلال 4 ساعات، وبينت دراسة المجهر الإلكتروني الماسح Scanning Electron Microscope والحيوية على الأكياس البيضية لطفيل *Cryptosporidium parvum* أن التثبيط يتسبب بواسطة تحطيم جدار الكيس البيضي . وقد توصل باحثون آخرون (Mtapuri-Zinyowera *et al.*, 2009) الى نتائج مماثلة باستعمال حرارة الشمس في تعقيم مياه الشرب الملوثة بأكياس *G. duodinalis* و *Entamoeba histolytica / dispar*، إذ أظهرت نتائج دراستهم أن 99.9% من أكياس

الطفيليات المذكورة ثبتت عندما وصلت درجة حرارة الماء إلى 56° م بعد التعرض لأشعة الشمس.

وفسر باحثون آخرون ( Craik *et al.*, 2000; Linden *et al.*, 2002; Mofidi *et al.*, 2006; Neto *et al.*, 2006) أن التأثير القاتل الحيوي Biocidal Effect للأشعة فوق البنفسجية (UV) من مصادرها الطبيعية والصناعية على أكياس *G. muris* و *G. lamblia* يعزى إلى امتصاص فوتونات الأشعة فوق البنفسجية بواسطة الحامض النووي الذي أوكسي رايبوزي Deoxyribonucleic Acid (DNA) مسبباً Dimerization للقواعد النووية المجاورة (البريميدين). وأعتقد الباحثون في دراستهم أن الميكانيكية الأولية لتنشيط الكائنات الحية الدقيقة بواسطة ضوء الأشعة فوق البنفسجية هي التحطيم الداخلي للجزيئات الحيوية الخلوية داخل المضيف (Vega-Mercado *et al.*, 1996).

لا تزال الميكانيكية التي بواسطتها تثبط الموجات فوق الصوتية البكتريا غير معروفة ولهذا اقترحت ميكانيكيات لإحداث تفكيك الخلية في الحقل الصوتي في المادة السائلة منها: الضغوط التي تعزى إلى الرنين السطحي لجدار الخلية والذي يبدأ بالتكهف Cavitation الذي يسبب جهداً ميكانيكياً أو إعياءً Fatigue للخلية، وأيضاً القوى الناتجة عن مجرى السوائل Microstreaming داخل الخلية، فضلاً عن الضغوط الناتجة من ارتداد الفقاعات الغازية على أو بالقرب من جدار الخلية، وقد ينتج التلف أو التحطيم من حادثة مفردة أو من الإجهاد الذي يتضمن الوقت الحرج Threshold، فضلاً عن أن الرنين الإشعاعي للفقاعات يولد ضغطاً وتدرجات للضغط، والضغط المتولد عن تأثيرات السرعة الناتجة عن المصباح الصوتي المباشر الذي يتولد من تكثيف الموجات وتخلخلها (Botha, 1993)، الهجوم الكيميائي الذي يتكون من مدى واسع من الجذور الحرة لاسيما  $H^{\cdot}$  و  $OH^{\cdot}$  في السوائل المائية. وهذه الجذور الحرة قد تهاجم جدار الخلية وتضعفه إلى درجة الانفجار. وعلى الرغم من ذلك، فقد وجد أن انفجار الخلية وتكوين الجذور الحرة يحدث مستقلاً أحدهما عن الآخر، فضلاً عن الهجوم الكيميائي والميكانيكي (Neppiras *et al.*, 1964; Monsen, 2009).

إن تأثيرات الموجات فوق الصوتية على الأنسجة الهدف ومخاطرها ذات العلاقة معروفة أيضاً، ولكن لا زالت الميكانيكيات الخلوية المحثة بالموجات فوق الصوتية بحاجة إلى تفسير . ولغرض دراسة التأثيرات التثبيطية والتحفيزية للموجات فوق الصوتية على مزارع الخلية ، فمن الضروري مراقبة النواة والغلاف النووي، بشكل خاص، ويعد الغلاف النووي نظام ديناميكي معقد متكون من أغشية وبروتينات، وعند معاملته أو تعريضه للموجات فوق الصوتية العلاجية فإن ما ينتج عن تفاعل الغشاء بالموجات فوق الصوتية هو تغيرات فيزيائية حيائية في تراكيب البروتين ومما يؤدي إلى تغيرات وظيفية تحدد بوساطة تقنيات البايولوجي الجزيئي والفيزياء الحياتية ، وهذه التغيرات تستهل سلسلة من العمليات الثانوية وتنتهي أخيراً إلى النتيجة العلاجية.

ترتبط الدراسات التي تناولت الموجات فوق الصوتية العلاجية بقياس كفاءة الغشاء (Mazzanti *et al.*, 2001) ، التغيرات في نقل أيونات الكالسيوم  $Ca^{+2}$  عبر الغشاء (Roehring *et al.*, 2003; Hassan *et al.*, 2010) ، أو شمول الغلاف النووي في حيوية الخلية وتكاثرها أو توالدها ( De Deyne and Kirsch-Volder , 1995; Roehrig *et al.*, 2010; Zhong *et al.*, 2011; Tsai *et al.*, 2005; Bernard *et al.*, 2008; 2010; *al.*, 2003). تصف هذه الدراسات التغيرات المرتبطة بوظائف الغلاف (نفاذيته) فحسب ويعرف القليل عن الشكل المظهري للأغشية بعد ألتعرض للموجات فوق الصوتية العلاجية . وبسبب تركيبها الدقيق المعقد، فإن الثقوب النووية في هذه الدراسات تشير إلى معقدات الثقوب النووية Nuclear Pore Complexes (NPCs) ، ولا توجد دراسة وافية لتغيرات مواقع الثقوب النووية بسبب توزيعها الطبيعي المتنوع (Antonin *et al.*, 2006; Mashemia *et al.*, 2004; Rabut *et al.*, 2008) ، والتي قد تختلف في كل طور من الدورة الخلوية (Sugie *et al.*, 1971; Maul *et al.*, 1994).

بين الباحثون (Vaskovicova *et al.*, 2013) تأثيرات الموجات فوق الصوتية على تراكيب غشاء الخلية، وما يترتب على المعاملة بالموجات فوق الصوتية على تراكيب الوحدات الثانوية للغشاء . وقد ركز الباحثون على التغيرات المظهرية في الغلاف النووي وقدموا ملاحظات مفصلة عن تراكيب الغشاء المعرض للموجات فوق الصوتية العلاجية . وقد نتج عن المعاملة بالموجات فوق الصوتية تغيرات مميزة في توزيع معقدات الثقوب النووية Nuclear Pore

Complexes ومعدل أعدادها بعد مرور 30 دقيقة على المعاملة، وظهر أيضاً تبدلات في أقطار هذه المعقدات للأغشية النووية المتكسرة بعد 10 دقائق من المعاملة . ولم تظهر التأثيرات القصوى للموجات فوق الصوتية على الغلاف النووي ومعقدات الثقوب النووية بشكل آني . لكنها أتضحت بعد المعاملة . وقد تساهم نتائج هذه الدراسة في إعطاء فكرة عامة عن التأثيرات الفيزيائية الحياتية للموجات فوق الصوتية العلاجية على شكل الخلية، وبشكل خاص، ارتباط هذا التأثير بالغلاف النووي .

إن الأهتزازات الصوتية المطبقة على الأنسجة ومزارع الخلايا تؤثر بصورة أولية على الأغشية بسبب تعقدها المستند على احتوائها على عدد كبير من الوحدات البروتينية التي يمكن أن تعمل كمؤشر غير مباشر لأي فعل ميكانيكي للموجات فوق الصوتية على الأغلفة النووية، وقد لا تكون التغييرات في التركيب الداخلي في معقدات الثقوب النتيجة الوحيدة لتأثير الموجات فوق الصوتية على الروابط الكيميائية الضعيفة بين البروتينات ولكن هناك تغيرات أيضاً في شكل وصفات التكسرات التي تحدث في معقدات الثقوب النووية والتي تعزى الى القوى المختلفة للأواصر بين الوحدات الثانوية للبروتين . قد ينتج عن تحطيم الوحدات الثانوية إزالة التكامل في منطقة الثقوب، مما يمكن إثباته بوساطة تغير توزيع الثقوب وأعدادها . وفقاً لذلك، فقد لوحظ الإختزال في معدل عدد الثقوب النووية بعد 30 و 60 دقيقة من التعرض للموجات فوق الصوتية العلاجية (Vaskovicova et al., 2013) . وسجل باحثون آخرون نتائج مماثلة أظهرت تغير نفاذية الأغشية النووية للجزيئات الكبيرة والجزيئات ذات الشحنات الكهربائية خلال وبعد التعرض للموجات فوق الصوتية (Bernard et al., 2008; 2010) .

وقد أظهرت الدراسة التي تناولت اختراق العوامل المضادة للسرطان الى داخل النواة أن إعطاء الدواء بالتزامن مع تطبيق تقنية الموجات فوق الصوتية قد يعزز التأثيرات التنشيطية للدواء ويزيل خلايا ورمية إضافية مقارنة بإعطاء الدواء لوحده فحسب . ونتيجة لذلك، فإن زيادة تأثير أي دواء يعطى بالتزامن مع تطبيق الموجات فوق الصوتية قد يستعمل لتحسين أو زيادة كفاءة الدواء، ويستعمل في الوقت نفسه لتكاثر الخلايا خلال عملية الشفاء في التجارب السريرية (Vaskovicova et al., 2013) .

لوحظ من نتائج الدراسة الحالية (الجدولين 2a و 2b) وجود زيادة في الوزن في المجموعتين السيطرة والمعاملات ولكن الزيادة كانت أكبر في المعاملات من السيطرة، وهذا يتفق مع ما وجدته (Ahmad (2013) التي لاحظت أن الزيادة الحاصلة في وزن الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للتيار الكهربائي كانت أكبر مما هي عليه في جرذان السيطرة المحقونة بأكياس الجيارديا غير المعرضة، كما بين ذلك (Ali and Yousif (2008) اللتان لاحظتا أن الزيادة الحاصلة في وزن الجرذان المعاملة بالسكر المتعدد الدهني والمحقونة بأكياس الجيارديا كانت أكبر مما هي عليه في جرذان السيطرة غير المعاملة، وبين (Al-Dabbag and Rahemo (2010) في دراستها عند مقارنة أوزان الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المشعة ومع نظيرتها المحقونة بأكياس الجيارديا غير المشعة، مع الأخذ بنظر الإعتبار مدة بقاء الطفيل في الجسم ظهر أن النسبة المئوية للزيادة في وزن الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا المشعة لمدة ساعتين و24 ساعة أعلى مما هي عليه في الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا غير المشعة . أما سبب زيادة النسبة المئوية للوزن في الحيوانات المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية فتعزى الى تأثير الموجات فوق الصوتية في تقليل الإصابة وبالتالي زيادة وزن الحيوانات .

يعزى نقص الوزن في مجموعة حيوانات السيطرة المحقونة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية إلى الأعراض المصاحبة للأصابة ومنه احالة فقدان الشهية التي ترافق الإصابة، او المنافسة في التغذية أو سوء الإمتصاص المعوي ( Beatty et al., 2014; Cotton et al., 2014; Bhargava et al., 2014)، وتتضمن آليات سوء الإمتصاص عدد الطفيليات الموجودة في تجويف الأمعاء، كما يعتقد أن الإرباك الحاصل في حركة الأمعاء أو التنافس الموجود بين الطفيليات على الغذاء في الأمعاء يسبب تحطم الطبقة الطلائية المتسببة عن الطفيلي وهي عوامل تؤدي دوراً في عملية سوء الإمتصاص . ( Buret, 2005; Zhou et al., 2008; Botero-Garces et al., 2009; Beatty et al., 2014; Bhargava et al., 2014; Cotton et al., 2014).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (الجدولان 3a،3b) ارتفاعاً ملحوظاً في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في مجموعة الحيوانات المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية

مقارنة مع مجموعة السيطرة وبفروق معنوية ( $p > 0.01$ ) بلغ أقصاها 10600 خلية اسم3 في الفترة 210 ثانية عند التردد 20 ألف ذبذبة/ ثانية، ويمكن أن تعزى الزيادة في التعداد الكلي لكريات الدم البيض إلى ان مكونات خلية الطفيل التي تعمل كمحفز مناعي يعمل على زيادة التعداد للخلايا التي تلعب دورا في المناعة ، إذ إنه يحفز إنقسام الخلايا داخل الجسم، وخارج الجسم ولاسيما هجرة البلاعم والخلايا العدلة وانقسامها .

وقد اتفقت نتائج البحث هذه مع ما توصل إليه كل من Al-Dabbag and Rahemo(2007)، إذ لاحظنا زيادة في التعداد الكلي لكريات الدم البيض نتيجة إحداث الإصابة في الجرذان النرويجية بأكياس الجيارديا المشععة بأشعة كاما لمدة ساعتين و24 ساعة، على التوالي، مقارنة بمجموعة السيطرة المجرعة بالأكياس غير المشععة . فضلاً عن اتفاقها مع نتائج كل من (Al- Rubee (2013) and Ahmad (2013)، في دراستهما لتأثير التيار الكهربائي المباشر في الاستجابة المناعية للجرذان النرويجية المجرعة بأكياس الجيارديا والفئران المحقونة بالبرؤيسات الأولية للمشوكة الحبيبية *E. granulosus* المعرضة للتيار الكهربائي، على التوالي، إذ لاحظ كل من الباحثين زيادة في التعداد الكلي لكريات الدم البيض مقارنة بمجاميع حيوانات السيطرة . وهو ما توصل اليه كل من (Yousif and Sadoon (2012 باستخدام الأشعة تحت الحمراء Infrared ضد الإصابة بداء الأكياس العدرية للمشوكة الحبيبية في الفئران .

وأظهرت نتائج البحث التي أجريت على الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية (السيطرة) انخفاضاً في التعداد الكلي لكريات الدم البيض مقارنة بالجرذان المعاملة وذلك لارتشاح كريات الدم البيض وهجرتها من الدم ووصولها الى مواقع الطفيلي (Cotton et al., 2014)، وقد بين الباحثون أن الارتشاح المتزايد للخلايا للمفاوية داخل البريتون مرتبط بداء الجيارديا (Faubert, 2000; Al-Dulaimi, 2004) . وأوضحت دراسة (Vinayak et al. ( 1991 أن الطور الحاد للإصابة بطفيلي *G. duodenalis* في الفئران يصاحبه زيادة الخلايا للمفاوية التي تعود الى مجاميع CD8<sup>+</sup> Cytotoxic T cell داخل الطلائية والصفحة الأصلية. ومما تجدر الإشارة إليه أن هذه الزيادة في الارتشاح قد سجلت في

الحيوانات الكفوءة مناعياً، وكذلك في الحيوانات عديمة الصعترية المصابة بالجيارديا أيضاً ( Scott *et al.*, 2000).

أما فيما يتعلق بالتعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض، فقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية إنخفاضا واضحا في معدلات أعداد الخلايا العدلة (الجدولان 4a و 4b) في مجموعة الحيوانات المعاملة في الأسابيع الأربعة، مقارنة بمجموعة السيطرة، باستثناء الحيوانات المعاملة بالفترة 60 ثانية و 150 ثانية، إذ سجلت إرتفاعاً في أعداد الخلايا العدلة في الأسبوع الرابع، مقارنة بمجموعة السيطرة غير المعاملة، وكانت الفروقات جميعها معنوية عند ( $p>0.01$ ) . ويعزى إنخفاض الخلايا المتعادلة في الحيوانات المعاملة الى عمل الموجات فوق الصوتية التي تعمل على تحفيز إنقسام الخلايا البلعمية والخلايا العدلة وهجرتها إلى مواقع الإصابة، وهذه النتيجة مماثلة لدراسات أخرى أستعمل الباحثون فيها التيار الكهربائي ( Mycielska *et al.*, 2004; Mc Caig *et al.*, 2005; Pullar *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; Cinar *et al.*, 2009).

وفيما يخص تعداد خلايا الدم البيض الحمضة (الجدولان 4b,5a) فقد ظهرت في مجاميع الجرذان المعاملة بالموجات فوق الصوتية للفترة 60 ثانية، في الأسبوع الثاني، وبلغت 0.25%، اما في المجموعة المعاملة لمدة 210 ثانية بلغت 0.5% في الأسبوع الرابع . في حين انعدم ظهورها في بقية المجاميع سواء مجاميع المعاملة منها أوالسيطرة، ولم تكن الفروقات معنوية بين المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة . وأنعدم ظهور الخلايا البيض القعدة في جميع المجاميع المعاملة والسيطرة . وتعد الخلايا الحامضية من الخلايا البلعمية التي تعود الى الجهاز البلعمي النخاعيني Myeloid Phagocytic، التي تلي الخلايا العدلة في عملية البلعمة، لهذا يعزى إختفاؤها إلى آلية الموجات فوق الصوتية وتحفيز ارتشاحها إلى أماكن الإصابة ( Male *et al.*, 2007).

يبين الجدولان (5b و 7a) أعداد الخلايا اللمفاوية، إذ ظهرت زيادة معنوية واضحة عند ( $p>0.01$ ) في المجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة، بلغ أقصاها 87.25% خلية في المجاميع المعاملة لمدة 240 ثانية، في الأسبوع الثالث. وقد انخفضت أعداد الخلايا في الأسبوع الثاني والثالث في المجاميع المعاملة لكنها بقيت أعلى من مجموعة السيطرة غير

المعاملة . ويمكن أن تفسر زيادة أعداد الخلايا للمفاوية بتأثير الموجات فوق الصوتية، بما يماثل ما ذكره باحثون آخرون عن تأثير التيار الكهربائي على إنقسام الخلايا للمفاوية كونه يعمل على تحفيز وتوجيه انقسام الخلايا (Song *et al.*, 2007; Cinar *et al.*, 2009)، وقد جاءت هذه النتيجة موافقة أيضاً لدراسات أخرى تناولت تأثير التيار الكهربائي على أعداد الخلايا للمفاوية، في الجرذان المصابة بأكياس الجيارديا المعرضة لأشعة كاما والتيار الكهربائي (AI-) (Dabbag and Rahemo 2007; Ahmad, 2013)، وفي الفئران المصابة بالرؤيسات الأولية المعرضة للتيار الكهربائي المباشر (Al-Rubee, 2013) .

أما انخفاض أعداد الخلايا للمفاوية في مجاميع السيطرة فيمكن أن يفسر بهجرة الخلايا للمفاوية وانتقالها إلى مواقع الإصابة (Faubert, 2000; Buret, 2005; Cotton *et al.*, 2014)، لتستقر في الطبقة الطلائية للأمعاء، وتكون مجهزة مناعياً لمنع دخول أي مستضد من الطفيلي إلى داخل الطبقة الطلائية، أو تكون جاهزة للتمايز إلى خلايا آخر تساهم في إفراز الكلوبولينات المناعية. (Mc Donald and Ferguson, 1978). ووجد Heyworth *et al.* (1985) أن معظم الخلايا المحصورة من التجويف المعوي للفئران المصابة بطفيلي *G. muris* كانت خلايا لمفاوية مع عدد ضئيل من البلاعم الكبيرة . وعندما شخّصت الخلايا باستخدام تقنية التآلق المناعي Immune Fluorescent Staining، ظهر أن 50% تقريباً من الخلايا البيض داخل التجويف كانت T للمفاوية، وتوصل Carlson *et al.* (1986,a,b) إلى أن أعداد الخلايا البيض للمفاوية T و B تضاعف عند الإصابة بطفيلي *G. muris* في الفئران BALB/c، لكن تلك الأعداد عادت إلى مستويات السيطرة عندما أزيلت الإصابة من الأمعاء . ويعود هذا التفاوت إلى إرتباط أعداد الخلايا للمفاوية بمدة الإصابة في الجرذان المعاملة .

أما ما يتعلق بالخلايا الوحيدة فقد أظهرت الدراسة إنخفاضاً معنوياً ( $p > 0.01$ ) بشكل عام في معدلات أعداد الخلايا الوحيدة في مجاميع الحيوانات المعاملة مقارنة بمجاميع السيطرة، ويعزى ذلك إلى تأثير الموجات فوق الصوتية في تحفيز هجرة الخلايا الوحيدة إلى مواقع الإصابة بالطفيلي كونها من الخلايا البلعمية التي تعود إلى الجهاز البلعومي أحادي النواة (Male *et al.*, )

2007) فضلاً عن أن الموجات فوق الصوتية تحفز توجيه إنقسام وتطور الخلايا المناعية لاسيما خلايا البلاعم الكبيرة والخلايا المتعادلة داخل الجسم، وهذه النتيجة مماثلة لدراسات سابقة أجريت باستعمال التيار الكهربائي المباشر (Song et al., 2007; Cinar et al., 2009).

وأظهرت نتائج الاستجابة المناعية الخلوية المتمثلة باختبار الجلد\_ فرط الحساسية المتأخر\_ Delayed Type Hypersensitivity(DTH) (الجدولان 6b,10a) في الجرذان الجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية إرتفاعاً معنوياً ( $p>0.01$ ) في معدلات سمك وسادة القدم اليمنى المحسوسة بالمستضد والمقاسة بالمليمتر بلغ أقصاه 1.75 ملم بعد ثلاث ساعات من حقن المستضد ، للفترة 240 ثانية، مقارنة بمجموعة السيطرة . ثم بدأ بالانخفاض بعد 24 ساعة واستمر الانخفاض بعد 48 ساعة . وتعزى هذه الزيادة إلى قدرة الموجات فوق الصوتية على حث المناعة الخلوية المتمثلة بالانتفاخ في وسادة القدم والذي استمر حتى بعد 24 ساعة من حقن المستضد .

ويمكن أن يكون سبب الزيادة في سمك وسادة القدم هو تأثير الموجات فوق الصوتية على الخلايا البلعمية وتفعيلها الذي أدى بدوره إلى زيادة أعداد الخلايا اللعفاوية (Weiser et al., 1990) والذي يؤدي إلى حصول تنسيق بينهما وتنظيم حجم الاستجابة المناعية الخلوية، ويزيد من إفراز مركبات اللمف المنظمة للاستجابة المناعية (Abul-Abbas and Litchman, 2007; Male et al., 2005). فضلاً عن أن التحفيز بالموجات فوق الصوتية يعد معززاً لهجرة الخلية (Faurie et al., 2005).

جاءت هذه النتائج متوافقة مع دراسة باحثين آخرين لجأوا إلى استعمال التيار الكهربائي . فقد ذكروا أن الحقول الكهربائية تحفز هجرة البلاعم الكبيرة والمتعادلة (Eberhardt et al., 1986)، خلايا القرنية الطلائية والخلايا المولدة للألياف (Cho et al., 2000; Gunja et al., 2011). وقد تطابقت هذه النتائج مع نتائج باحثين آخرين (Yaseen, 2010; Al-Rubee, 2013) قاموا باستعمال التيار الكهربائي المباشر وتأثيره على المناعة الخلوية المتمثلة بفرط الحساسية المتأخر في الفئران المصابة بالرؤوسات الأولية المعرضة للتيار الكهربائي المباشر، إذ لاحظ الباحثان إرتفاعاً معنوياً ( $p>0.01$ ) في معدل سمك وسادة القدم في المجموعة المعاملة

مقارنة بمجموعة السيطرة، وحصل التطابق في النتائج أيضاً مع دراسة (2013) Ahmad التي استعملت التيار الكهربائي المباشر ودرست تأثيره على المناعة الخلوية في الجرذان النرويجية المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للتيار الكهربائي .

إن الصفة المميزة لتفاعلات فرط الحساسية هي تراكم الخلايا الحمضة في الأنسجة الذي يسبقه عملية تراكم الخلايا للمفاوية المساعدة  $TH_2$  helper cells T-، حيث تم أستعمال لقاح Bacillus Calmette Guerin (BCG) مع مساعد فروند الكامل Complete Freund's Adjuvant أو مع بيوض المنشقات المانسونية *Schistosoma mansoni* في اختبار فرط الحساسية المتأخر في وسادة قدم الفئران، واتضح أن تفاعلات فرط الحساسية المتأخر تحفز إنتاج مواد كيميائية جاذبة وجزيئات الارتباط بالخلايا الأندوثيلية الضرورية لهجرة الخلايا الحمضة، وتم تثبيط عملية هجرة الخلايا الحمضة باستنزاف خلايا  $TH_2$  أو بأستعمال أصداد الأنترفيرون كما (anti-IFN- $\gamma$ ) anti-interferon-Gamma، مما يدل على الدور الحيوي الذي تؤديه خلايا  $TH_2$  و IFN- $\gamma$  في تفاعلات فرط الحساسية المتأخر (Biederman et al., 2000; Teixeira et al., 2001)، وقد تعزى الزيادة الحاصلة في سمك وسادة القدم أيضاً إلى تحفيز الجيارديا المعاملة بالموجات فوق الصوتية لإفراز IFN- $\gamma$  و Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )، إذ أشار Willy et al.(2008) إلى أن interleukin-2 (IL-2) و IFN- $\gamma$  و IFN- $\alpha$ ، المفرز من قبل الخلايا للمفاوية المساعدة (T-helper cells (Th1)، هو المسؤول عن تفاعلات فرط الحساسية المتأخر . إن حث فرط الحساسية المتأخر يعد دليلاً على المناعة الخلوية، وأن الورم يعود الى أرتشاح العدلات والبلاعم الكبيرة والخلايا الوحيدة والخلايا للمفاوية عند الفحص النسيجي لوسادة القدم (Ryu and Kim, 2000) .

الاستنتاجات و التوصيات

Conclusions

and

Recommendations

## الاستنتاجات:

يتبين من هذه الدراسة، التأثير الواضح للمعاملة بالموجات فوق الصوتية، بوصفها محفزة للمناعة المتخصصة (الخلوية)، في الجرذان النرويجية المجرعة بأوكياس الجيارديا المعرضة للموجات فوق الصوتية المباشرة، ضد الإصابة بداء الجيارديا نتيجة لما يأتي:

1. التقليل من طرح الأوكياس في الجرذان المعاملة.
2. زيادة وزن الجرذان المعاملة.
3. زيادة معدل التعداد الكلي لكريات الدم البيض من خلايا لمفاوية وعدلة.
4. زيادة الاستجابة المناعية المتخصصة الخلوية متمثلة بانتفاخ سمك وسادة القدم.

## التوصيات:

من خلال تأثير الموجات فوق الصوتية بوصفها محفزاً للاستجابة المناعية الطبيعية والخلوية، ضد الإصابة بداء الجيارديا في الحيوانات المختبرية، توصي الدراسة بما يأتي :

1. دراسة الموجات فوق الصوتية ضد الإصابة بأمراض طفيلية مختلفة بالابتدائيات أو الديدان خارج الجسم الحي وداخله، وفي حيوانات مختبرية مختلفة.
2. دراسة تأثير الموجات فوق الصوتية ضد أمراض طفيلية مختلفة وبأستعمال جرع التحدي في حيوانات مختبرية مختلفة.
3. دراسة تأثير الموجات فوق الصوتية على معايير كيميائية مناعية كفعالية أنزيمي أدينوسين دي أمينيز وبولي أمين أوكسيديز ضد الأمراض الطفيلية في الحيوانات المختبرية.
4. دراسة تأثير الموجات فوق الصوتية ضد الأمراض الطفيلية في الحيوانات المختبرية على الإستجابة المناعية المتخصصة الخلوية.

المصادر

References

أولاً : المصادر العربية

والتر بيك ' جون ديفيز (2003) علم الطفيليات الطبية ' ترجمة محمد خيرى الحلبي . الطبعة

الاولى \_مركز تعريب العلوم الصحية . الكويت

ثانيا : المصادر الاجنبية

**Abul Abbas, K., and Lichtman, A.H. (2005).** "Cellular and molecular immunology". 5th.ed. Elsevier sanders. Philadelphia.USA.

**Adam, R.D. (1991).** The biology of *Giardia spp.* Microbiological Reviews. 55: 706-732.

**Ahmad, S.S. (2013).** Effect of direct electric current in immun response of Norvegicus rat "*Rattus norvigcus* " against infection with giardiasis . M.Sc. Thesis, Education College For Pure Sciences, University of Mosul, IRAQ . (In arabic)

**Aggarwal, A., Sharma, G.L., Bhatia, A., Naik, S.R., Chakravarti, R.N. and Vinayak, V.K. (1980).** Effect of corticosteroid and irradiation on experimental *Giardia lamblia* infection in mice. Ann. Trop. Med. Parasitol., 74 (3): 369-371.

**Alam, M., White, L. E.,Martin N., Witherspon J., Yoo S. and West D. P. (2009).** Ultrasound tightening of facial and neck skin: Arater-blinded prospective. cohort study .J.Am. Acad. Dermatol., 62(2): 262-269.

**Al-Bataineh, O., Jenne, J. and Huber, P.(2012)** Clinical and future applications of high intensity focused ultrasound in Cancer . Treat Rev., 38 (5): 346-353.

- Al-Dabbag, F.A. and Rahemo, Z.F.(2007).** Effect of radiation in immune response of rats infected expermintally with *Giardia lamblia* . J.Edu.Sci., 19(1) : 26-41 . (In Arabic)
- Al-Dabbag, F.A. and Rahemo, Z.F. (2010).** Effect of gamma radiation on expermintal infection with giardia in white Norwegian rats . J.Edu.Sci., 23(2) : 42-57 . (In Arabic)
- Al-Dulaimi, H. K. H. (2004).** Study the effect of some chemical compounds on *Giardia lamblia* Parasite. Experimental study *in vitro* and *in vivo*. M. Sc. thesis, Coll. Sci., Univ. Al-Mustansiriya. (In Arabic)
- Ali, A.A. and Yousif, S.Y. (2008).** Immune response in *Rattus rattus norvegicus* rats against infection with giardiasis by the lipopolysaccharide extracted from *Escherichia coli* .I. Cysts production and animal weight . 5th Scientific Conference in the College of Nursing , University of Mosul /Mosul .24(25):97-116.
- Ali Khan, Z. (1978).** *Echinococcus multilocularis*: Cell mediated immune response in early and chronic alveolar murine hydatidosis. Exp. Parasitol., 46: 157-165.
- Ali, S.A. and Hill, D.R. (2003).** *Giardia intestinalis*. Current Opinion in Infectious Diseases. 16:453-460.
- Al-Rubee, F.S.( 2013).** Effect of direct electrical current on protoscolices of *Echinococcus granulosus in vitro* and in immune response of BALB/c mice against infection with secondary hydatid disease . Ph.D. Thesis, Education College for Pure Sciences, University of Mosul, IRAQ . (In Arabic)

- Al-Sabi, M.N.S., Gad, J., Klinting, M., Mogensen, C., Kurtzhals, J. and Enemark, H.L.(2011).** Effects of Ultrasound on the survival and characteristics of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in GM Bulman (ed.), Proceedings 32rd WAAVP 2011. AAPAVET, Guided Autonoma de Buenos Aires .
- An, W.J.(2010).** High intensity focused ultrasound on hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* . PH.D. Thesis. Cgopngqing Medical University, CHINA .
- Antonin, W., Ellenberg, J. and Dultz, E.(2008).** Nuclear pore complex assembly through the cell cycle: regulation and membrane organization. FEBS Lett. 582: 2004–2016
- Aycan Kaya, M., A., Atambay, M., Yula, E., Ozyalin, F., Koksaldi Motor, V., Motor, S., Celik, M. and Daldal, M. (2012).** Assessment of the levels of nitric oxide (NO) in chronic diarrhea patients infected with *Giardia intestinalis*. African Journal of Microbiol. Res., 6(14) : 3550-3553.
- Azman, J., Init, I. and Wan Yusoff, W.S. (2009).** Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* (oo)cysts in the river water of two recreational areas in Selangor, Malaysia. Tropical Biomedicine 26(3): 289–302.
- Beatty, J., Bhargava, A., Motta, J., Feener, T., McKnight, G., Wallace, J., Akierman, S., Rioux, K. and Buret, A. (2014).** *Giardia duodenalis* cysteine proteases modify human microbiota biofilms: a role in post-infectious epithelial dysfunction?. CDDW and the Annual CASL Winter Meeting . February 8-11, Toronto, Ontario .

- Benyacoub, J., Perez, P.F., Rochat, F., Saudan, K.Y., Reuteler, G., Antille, N., Humen, M., De Antoni, G.L., Cavadini, C., Blum, S. and Schiffrin, E.J. (2005).** *Enterococcus faecium* SF68 enhances the immune response to *Giardia intestinalis* in mice. *J. Nutr.*, 135 (5):1171 -1176.
- Bernard, V., Škorpíková, J. and Mornstein, V. (2008).** The combined effect of ultrasound exposure and cisplatin on human ovarian carcinoma cells A2780. *Folia Biol.*, (Praha), 54: 97–101
- Bernard V, Škorpíková J, Mornstein V. and Slaninová I.( 2010).** Biological effects of combined ultrasound and cisplatin treatment on ovarian carcinoma cells. *Ultrasonics*. 50: 357–362
- Bhargava, A., Ctton, J., Amat, C., Yates, R. and Buret, A. (2014).** *Giardia duodenalis* Cathepsin-Like cysteine proteases disrupt human intestinalis villin, and MUC2 proteins . CDDW and the Annual CASL Winter Meeting . February 8-11, Toronto, Ontario .
- Biedermann, T., Kneilling, M., Mailhammer, R., Maier, K., Sander, C.A., Kollias, G., Kunkel, S.L., Hultner, L. and Rocken, M. (2000).** Mast cells control neutrophil recruitment during t-cell mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein-2. *J.Exp.Med.*, 192: 1441-1452.
- Bienz, M., Dai, W.J., Welle, M., Gottstein, B. and Muller, N. (2003)** Interleukin-6-deficient mice are highly susceptible to *Giardia lamblia* infection but exhibit normal intestinal immunoglobulin A responses against the parasite. *Infect. Immun.*, 71:1569-1573.

- Bingham, A. K., Jarroll, E. I. and Meyer, E. A. (1979).** *Giardia Sp.:* Physical factors of excystation *in vitro* and excystation vs eosin exclusion as determinants of viability. *Exp. Parasitol.*, 47: 284-291.
- Blake D. And Panter R.(2011).** Ultrasound : Autism, Agriculture , and a Future Tool for treating Neurological Diseases . *Explorational Biological, Earth, and Phisycal Sciences . 6:* 3-21.
- Bleier, J.I., Pillarisetty, V.G., Shah, A.B. and DeMatteo, R.P. (2004).** Increased and long-term generation of dendritic cells with reduced function from IL-6-deficient bone marrow . *J.Immunolo.*, 172: 7408–7416.
- Borden M.A., Qin S. and Ferrara, K. W.(2010).** Ultrasound contrast agents .in: *Molecular imaging . B. C Decker,Inc., Hamilton,* p p. 425-444.
- Botero-Garces, J.H., Garcia-Montoya, G.M., Grisales-Patino, D., Aguirre-Acevedo, D.C. and Álvarez-Uribe, M.C. (2009).** *Giardia intestinalis* and nutritional status in children participating in the complementary nutrition program, Antioquia, Colombia, May to october 2006. *Rev. Inst. Med. trop. S. paulo.* 51(3):155-162.
- Botha, C.J. (1993 )** A study of hydrodynamic cavitation as a method of water treatment . M. Sc. in Engineering, University of Natal, September,.
- Buret, A. G. (2005).** Immunopathology of giardiasis: the role of lymphocytes intestinal epithelial injury and malfunction .*Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.*, 100 (1): 185-190.
- Buret, A.G. (2007).** Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut*, 56: 316-317.

- Buret, A.G. (2008)** Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasitology*, 15(3) : 261–265.
- Cacciò, S.M. and Ryan, U. (2008)** Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol. Biochem. Parasitology*, 160:75-80.
- Cai, H., Chen, L. Ye, B., Liu, A., Zhang, J. and Zhao, Y. (2013)**. The destructive effects of high intensity focused ultrasound on hydatid cysts enhanced by ultrasound contrast agent and superabsorbent polymer alone or in combination . *Parasitol. Res.*, 112:707-717.
- Carlson, J.R., Heyworth, M.H. and Owen, R.L. (1986a)**. Response of Peyer's patch lymphocyte subsets to *Giardia muris* infection in BALB/c mice. I. T-Cell subset. *Cell Immunol.*, 97: 44-50.
- Carlson, J.R., Heyworth, M.H. and Owen, R.L. (1986b)**. Response of Peyer's Patch lymphocyte subsets to *Giardia muris* infection in BALB/c mice. II. B-cell subsets: Enteric antigen exposure is associated with Immunoglobulin isotype switching by peyer's patch B cells. *Cell. Immunol.*, 97: 51-58.
- Carmena, D. (2010)**. Waterborne transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia*: detection, surveillance and implications for public health. *Technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology* A. Mendz-vilas(Ed.) ©Formatex.3-14.
- Carranza, P.G. Feltes, G., Ropolo, A., Quintana, S.M., Touz, M.C. and Luján H.D. (2002)**. Simultaneous expression of different variant-specific surface proteins in single *Giardia lamblia* trophozoites during encystation. *Infect. Immun.*, 70, 5265–5268.

- Char, S., Shetty, N., Narasimha, M., Elliott, E., Macaden, R. and Farthing, M.J.G. (1991).** Serum antibody response in children with *Giardia lamblia* infection and identification of an immunodominant 57 kDa antigen. *Parasite Immunol.*, 13: 329-337.
- Chapelon, J. Y., Cathignol, D., Cain, C., Ebbini, E., Kluiwstra, J.U., Sapozhnikov, O.A., Fleury, G., Berriet, R., Chupin, L. and Guey, J.L. (2000).** New piezoelectric transducers for ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 26(1): 153-159.
- Cheung, T.T., Chu, F.S., Jenkins, C.R., Tsang, D.S., Chok, K.S., Chan, A.C., Yau, T.C., Chan, S.C., Poon, R.T.P., Lo, C.M. and Fan, S.T. (2012).** Tolerance of high intensity focused ultrasound ablation in patients with hepatocellular carcinoma. *World J. Surg.*, 36(10) : 2420-2427 .
- Cho, M.R., Thatte, H.S., Lee, R.C. and Golon, D.E. (2000).** Integrin-dependent human macrophage migration induced by oscillatory electrical stimulation. *Ann. Biomed. Eng.*, 28:234–243.
- Cinar, K., Comlekci, S. and Senol, N. (2009).** Effects of a specially effects of a specially pulsed electric field on an animal model of wound healing . *Lasers Med. Sci.*, 24:735–740.
- Clark, J.T. and Holberton, D.V. (1986).** Plasma membrane isolated from *Giardia lamblia*: identification of membrane proteins. *Eur. J. Cell. Biol.*, 42: 200-206.

- Cotton, J., Bhargava, A., Ferraz, J., Beck, P. and Buret, A. (2014).** An assemblage a *Giardia* cathepsin b protease degrades interleukin-8 and attenuates neutrophil chemotaxis . CDDW and the Annual CASL Winter Meeting . February 8-11, Toronto, Ontario .
- Craft, J.C. (1982).** Experimental infection with *Giardia lamblia* in rats. J. Infect. Dis., 145(4): 495-498.
- Craft, J.C. and Nelson, J.D. (1982).** Diagnosis of giardiasis by counter-immunoelectrophoresis of feces. J. Infect. Dis., 145(4): 499-504
- Craik, A.S., Finch, G.R., Bolton, J.R. and Belosevic, M. (2000)** Inactivation of *Giardia muris* cysts using medium- pressure ultraviolet radiation in filtered drinking water. Wat. Res., 34(18): 4325-4332.
- Crossley, R. and Holberton, D.V. (1983)** Characterisation of proteins from the cytoskeleton of *Giardia lamblia*. J. Cell. Sci., 59: 81-103.
- Crouzet, S., Murat, F.J., Pasticier, G., Cassier, P., Chapelon, J.Y. and Gelet, A. (2010).** High intensity focused ultrasound (HIFU) for prostate Cancer : current clinical status, outcomes and future perspectives . Int. J. Hyper., 26(8) : 796-803 .
- De Deyne, P.G. and Kirsch-Volder, M.(1995).** *In vitro* effects of therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. Phys. Ther., 75: 629–634.

- Dziuban, E.J., Liang, J.L., Craun, G.F., Hill, V., Yu, P.A., Painter, J., Moore, M.R., Calderon, R.L., Roy, S.L. and Beach, M.J. (2006).** Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with recreational water–United States, 2003-2004. *MMWR Surveill Summ.*, 55(12) :1-30.
- Eberhardt, A., Szczypiorski, P. and Korytowski, G. (1986).** Effects of transcutaneous electrostimulation on the cell composition of skin exudate. *Acta Physiol. Pol.*, 37:41–46 .
- Ebert, E.C. (1999).** *Giardia* induces proliferation and interferon  $\gamma$  production by intestinal lymphocytes. *Gut*. 44: 342-346.
- Eckmann, L. (2003).** Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunolo.*, 25: 259–270.
- Edson, C.M., Farthing, M.J.G., Thorley-Lawson, D.A. and Keusch, G.T. (1986).** An 88000 MW *Giardia lamblia* surface protein which is immunogenic in humans. *Infect. Immun.*, 54: 621-665.
- Espelage, W., Heiden, M.A., Stark, K. and Alpers, K. (2010).** Characteristics and risk factors for symptomatic *Giardia lamblia* infections in Germany. *BMC Public Health*. 10(41): 1-9.
- Faubert, G. (2000).** Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin. Microbiol Rev*; 13: 35-54.
- Faurie, C., Golzio, E.P., Teissie, J. and Rols, M.P. (2005).** Electric field- induced cell membrane permeabilization and gene transfer: theory and experiments. *Eng. Life Sci.*, 5:179–186.
- Galli, S.J. Nakae, S. and Mindy, T. (2005)** Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.*, 6 (2) : 135–142.

- Gerbaba, T., Gupta, P., Wang, X., Rioux, K., Hansen, D. and Buret, A. (2014).** *Giardia*-induced alteration of microbiota and gut interactions: *Caenorhabditis elegans* as a model system . CDDW and the Annual CASL Winter Meeting . February 8-11, Toronto, Ontario .
- Goka, A.K.J., Mathan, V.I., Rolston, D.K. and Farthing, M.G. (1986).** Diagnosis of giardiasis by specific IgM antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *The Lancet.*, 2:184-186.
- Gomez, K.A. and Gomez, A.A. (1983).**" Statistical procedures for agricultural. Research" 2nd ed., John Wiley and sons, New York.
- Goyal, N., Tiwari, R.P. and Shukla, G. (2011).** *Lactobacillus rhamnosus* GG as an Effective Probiotic for Murine Giardiasis. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases.* 1-6
- Grazioli, B., Matera, G., Laratta, C., Schipani, G., Guarnieri, G., Spiniello, E., Imeneo, M., Amorosi, A., Focà, A. and Lizza, F. (2006).** *Giardia lamblia* infection in patients with irritable bowel syndrome and dyspepsia: A prospective study. *World J. Gastroenterol.*, 12(12): 1941-1944.
- Gunja, N.J., Dujari, D., Chen, A., Luengo, A., Fong, J.V. and Hung, C.T. (2011).** Migration Responses of Outer and Inner Meniscus Cells to Applied Direct Current Electric Fields. *Journal of Orthopaedic.*, 30:103–111.
- Hardin, J.A., Buret. A.G., Olson, M.E., Kimm, M.H. and Gall, D.G. (1997).** Mast cell hyperplasia and increased macromolecular uptake in an animal model of giardiasis. *J. Parasitol.*, 83(5): 908–912.

- Harish, K. and Varghese, T. (2006).** Probiotics in humans. Calicut Medical J., 4:1-3.
- Hassan, M.A., Campbell, P. and Kondo, T. (2010).** The role of Ca<sup>2+</sup> in ultrasound-elicited bioeffects: Progress, perspectives and prospects. Drug Discovery Today. 15: 892–906 .
- Hawrelak, J. (2003).** Giardiasis: Pathophysiology and Management. Alternative Medicine Review. 8(2): 129-141.
- He, W., Wang, W., Zhou, P., Wang, Y. X., Li, R.S., Wang, J. S. and Alhuja, A.T.(2011)** Enhanced ablation of high intensity focused ultrasound within microbubbles : An experimental study on rabbit hepatic VX2 tumors. Cardiovasc Intervent Radiol., 34(5):1050-1057.
- Hewlet, E. L., Andrews, J. S., Ruffier, J. and Schaefer, F. W. (1982).** Experimental infection of Mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. J. Infect. Dis., 145(1): 89-93.
- Heyman, M. and Menard, S.M. (2002).** Probiotic microorganisms: How they affect intestinal pathophysiology. Cellular and Molecular Life Sciences. 59(7):1151–1165.
- Heyworth, M.F. (1989).** Intestinal IgA responses to *Giardia muris* in mice depleted of helper T lymphocytes and in immunocompetent mice. J Parasitol., 75: 246–251.
- Heyworth, M.F. (1990).** Biological significance of *Giardia* specific antibodies. West.J.Med., 152: 293-295.
- Heyworth, M.F., Carlson, J.R. and Ermak, T.H., (1987).** Clearance of *Giardia muris* infection requires helper/inducer T lymphocytes. J. Exp. Med.,165: 1743–1748.

- Heyworth, M.F., Owen, R.L., Seaman, W.E., Schaefer, F. and Jones, A.L. (1985).** Harvesting of leukocytes from intestinal lumen in murine giardiasis and preliminary characterization of these cells. *Dig. Dis. Sci.*, 30: 149-153.
- Hill, D.R., Guerrant, R.L., Pearson, R.D. and Hewlett, E.L. (1983).** *Giardia lamblia* infection of suckling mice. *J. Infect. Dis.*, 146: 217-221.
- Inabo, H., Aminu, M., Muktar, H. and Adenran, Sh. (2012).** Profile of intestinal parasitic infections associated with diarrhoea in HIV/AIDS patients in a Tertiary Hospital in Zaria, Nigeria. *World J. Life Sci. Med. Res.*, 2(2):43.
- Isolauri, E. Yelda, S. Pasi, K. Heikki, A. and Seppo, S. (2001).** Probiotics: Effects on immunity. *American J. Clin. Nut.*, 73: 444-450.
- Jung, H.C., Eckmann, L. and Yang, S.K. (1995).** A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. *J. Clin. Invest.*, 95:55–65.
- Kamda, J.D. (2007).** A role of dendritic cells in *Giardia lamblia* infection. ProQuest Dissertation and Thesis. p 920.
- Kamda, J.D., Nash, Th.E. and Singer, S.M.(2012).** *Giardia duodenalis*: Dendritic cell defects in IL-6 deficient mice contribute to susceptibility to intestinal infection. *Exp. Parasitol.*, 130: 288–291.
- Katz, D.E., Heisey-Grove, D., Beach, M., Dicker, R.C. and Matyas, B.T. (2006).** Prolonged outbreak of giardiasis with two modes of transmission. *Epidemiology and Infection*, 134(5):935-941.

- Kennedy, J., Tear Hear, G. and Cranston, D. (2003).** High intensity focused ultrasound: Surgery of the future? *Brit. J. Radiol.*, 76(909): 590-599
- Kimura, A., Naka, T. and Kishimoto, T. (2007).** IL-6-dependent and independent pathways in the development of interleukin 17-producing T helper cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 104: 12099–12104.
- Kong, J., Ye, B., Zhang, J., Han, X.M., Yang, Y.H. and Li, F.Q. (2011)** Effect of high intensity focused ultrasound on *Echinococcus granulosus* protoscolices with the aid of microbubble contrast agent . *Chin. J. Zoon.*, 27(8):687-691
- Kucik, C. J., Martin, G. L. and Sortor, B. V. (2004).** Common intestinal parasites. *Am. Fam. Phy.*, 69(5): 1161-1171.
- Langford, T.D., Housley, M.P., Boes, M., Chen, J., Kagnoff, M.F., Gillin, F.D. and Eckmann, L. (2002).** Central importance of immunoglobulin A in host defense against *Giardia spp.* *Infect. Immun.*, 70: 11-18.
- Laubach, H.J., Barthe P. G., Slayton M. H. and Manstein D.(2008).** Intense focused ultrasound: Evaluation of a new treatment modality for precise microcoagulation within the skin. *Dermatol. Surg.*, 34: 727-734 .
- Leder, K. and Weller, P. (2002).** Giariasis In: Rose, B.D. ed. *Infections disease.* Wellesley, Mass: Up to Date.
- Leitch, G.J., Udezulu, I.A., He, Q. and Visvesvara, G.S. (1993).** Effects of protein malnutrition on experimental giardiasis in the Mongolian gerbil. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28: 885–893.

- Li, E., Zhou,,P. Petrin, Z. and Singer, S.M. (2004).** Mast Cell-Dependent control of *Giardia lamblia* infections in mice. *Infect. Immun.*, 72: 6642–6649.
- Li, X.J. and Wang, Y. (2008).** Experimental research on ultrasonic wave promoting traditional chinese medicine penetrating skin. *J. Pract. Med. Techn.*, 13(15):1650-1650
- Linden, K.G., Shin, G., Faubert, G., Cairns, W. and Sobsey, M.D. (2002).** UV Disinfection of *Giardia lamblia* cysts in water. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 2519-2522.
- Liu, A., Cai, H., Ye B., Chen, L., Wang, M., Zhang, J. and Zhao, Y.(2013).** The damages of high intensity focused ultrasound to transplanted hydatid cysts in abdominal cavities of rabbits with aid of ultrasound contrast agent and superabsorbent polymer . *Parasitol. Res.*, 112: 1865-1875.
- Maaser, C. and Kagnoff, M.F. (2002).** Role of the intestinal epithelium In orchestrating innate and adaptive mucosal immunity. *Z. Gastroenterol.*, 40: 525–529.
- Mabin, T., Sapoval, M., Cabane, V., Stemmett, J. and Iyer, M. (2012).** First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension . *Euro. Intervention.*, 8: 57-61.
- MacDonald, T.T. and Ferguson, A. (1978).** Small intestinal epithelial cell kinetics and protozoal infection in mice. *Gastroenterol.*, 74: 496-500.

- Maeshima, K., Yamata, K., Sasaki, Y., Nakatomi, R., Tachibana, T., Hashikawa, T., Imamoto, F. and Imamoto, N. (2006).** Cell-cycle-dependent dynamics of nuclear pores: pore-free islands and lamins. *J. Cell Biol.*, 119: 4442–4451 .
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D. and Roitt, I. (2007).** "Immunology" 7<sup>th</sup> ed. Inter. Edith Mosby Elsevier Ltd. U.K.
- Maul, G.G., Price, J.W. and Lieberman, M.W. (1971).** Formation and distribution of nuclear pore complexes in interphase. *J. Cell Biol.*, 51: 405-418
- Mazzanti, M., Bustamante, J. O. and Oberleithner, H.(2001).** Electrical dimension of the nuclear envelope. *Physiol. Rev.*, 81: 1–19
- McCaig, C.D., Rajnicek, A.M., Song, B. and Zhao, M. (2005).** Controlling cell behavior electrically: current views and future potential. *Physiol. Rev.*, 85: 943–978.
- McGuigan, K.G., Mendez-Hermida, F., Castro-Hermida, J.A., Ares-Mazas, E., Kehoe, S.C., Boyle, M., Sichel, C., Fernandez-Ibanez, P., Meyer, B.P., Ramalingham, S. and Meyer, E.A.(2006).** Batch solar disinfection inactivates oocysts of *Cryptosporidium parvum* and cysts of *Giardia muris* in drinking water. *J. App. Microbiol.*,101: 453-463.
- Mindlin, R.D. (1971).** High Frequency vibrations of piezoelectric crystal plates. *International Journal of Solids and Structures*, 8(7):895-906. DOI: 10.1016/0020-7683(72)90004-2.

- Mofidi, A.A., Meyer, E.A., Wallis, P.M. Chou, C.I., Meyer, B.P., Ramalingam, Sh. and Coffey, B.M. (2002).** The effect of UV light on the inactivation of *Giardia lamblia* and *Giardia muris* cysts as determined by animal infectivity assay (P-2951-01). *Water Res.*, 36:2098–2108.
- Monis, P.T., Cacciò, S.M. and Thompson, R.C. (2009).** Variation in *Giardia*: Towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*. 25:93-100.
- Monte-Raso, V.V., Barbieri, C. H., Mazzer, N. and Fasan, V. S.(2005).** Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves?. *Journal of Neuroscience Methods*, 142 :185-192.
- Monsen, T., Lövgren, E., Widerström, M. and Wallinder, L. (2009).** *In vitro* effect of ultrasound on bacteria and suggested protocol for sonication and diagnosis of prosthetic infection . *American Society for Microbiol.*, 8: 2496-2501
- Mtapuri-Zinyowera, S., Midzi, N., Muchaneta-Kubara, C.E., Simbini, T. and Mduluza, T. (2009).** Impact of solar radiation in disinfecting drinking water contaminated with *Giardia duodenalis* and *Entamoeba histolytica/dispar* at a point-of-use water treatment. *J. App. microbiol.*, 106: 847-852.
- Müller, N. and Gottstein, B. (1998).** Antigenic variation and the murine immune response to *Giardia lamblia*. *Int. J. Parasitol.*, 28(12): 1829-1839.
- Muraguchi, A., Hirano, T., Tang, B., Matsuda, T., Horii, Y., Nakajima, K. and Kishimoto, T.(1988).** The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J. Exp. Med.*, 167: 332–344.

- Mycielska, M.E. and Djamgoz, M.B. (2004).** Cellular mechanisms of direct-current electric field effects: Galvanotaxis and metastatic disease. *J. Cell Sci.*, 117: 1631–1639.
- Nash, T.E. (1997).** Antigenic variation in *Giardia lamblia* and the host's immune response. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 352:1369-1375.
- Nash, T.E. (2002).** Surface antigenic variation in *Giardia lamblia*. *Mol. Microbiol.*, 45: 585–590.
- Nash, T.E. and Mowatt M.R. (1992).** Characterization of a *Giardia lamblia* variant-specific surface protein (VSP) gene from isolate GS/M and estimation of the VSP gene repertoire size. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 51: 219–227.
- Nash, T.E., Herrington, D.A., Losonsky, G.A. and Levine, M.M.(1987).** Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.*, 156:974-984.
- National Institute For Health and Clinical Excellence Interventional Procedure Guidance 374(NICE) (2010).** Low intensity pulsed ultrasound to promote fracture healing. nice .org. uk. guidance Nice .Org. UK. Guidance. IPG 424
- National Institute For Health and Clinical Excellence Interventional Procedure Guidance 424(NICE) (2012).** Focal therapy using high-intensity focused ultrasound for localised prostate cancer . Nice .Org. UK. Guidance. IPG 424
- Neis, U. ( 2000).** “Ultrasound in water, wastewater and sludge treatment”. *Water*, 21: 36 – 59.

- Neppiras, E.A., and Hughes, D.E.(1964).** “Some Experiments on the disintegration of yeast by high intensity ultrasound”. *Biotechnology and Bioengineering*, VI: 247 – 270 .
- Neto, R.C., Santos, J.U. and Franco, R.M.B. (2006).** Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of *Giardia* species cysts and *Cryptosporidium* oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, South-East Brazil. *Water Science and Technology*, 54 (3): 89–94.
- Nkrumah, B. and Blay Nguah, S. (2011).** *Giardia lamblia*: A major parasitic cause of childhood diarrhoea in patients attending a district hospital in Ghana. *Parasites and Vectors*. 4(163): 1-7.
- Nunez, F.A., Lopez, J.L., de la Cruz, A.M. and Finlay, C.M. (2003).** Risk factors for *Giardia lamblia* infection in children in daycare centers in Havana, Cuba. *Cadernos de saude publica/Ministerio da Saude, Fundacao Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saude Publica* 19(2):677-682.
- Nygaard, K., Schimmer, B., Sobstad, O., Walde, A., Tveit, I., Langeland, N., Hausken, T. and Aavitsland, P. (2006).** A large community outbreak of waterborn giardiasis-delayed detection in a non-endemic urban area. *BMC public health*. 6:141.
- O’Reilly, C.E., Bowen, A.B., Perez, N.E., Sarisky, J.P., Shepherd, C.A., Miller, M.D., Hubbard, B.C., Herring, M., Buchanan, S.D., Fitzgerald, C.C., Hill, V., Arrowood, M.J., Xiao, L.X., Hoekstra, R.M., Mintz, E.D. and Lynch, M.F. (2007).** A waterborne outbreak of gastroenteritis with multiple etiologies among resort island visitors and residents: Ohio, 2004. *Clin. Infect. Dis.*, 44(4):506-512.

- Orsi, F., Zhang, L., Arnone, P., Orgera, G., Bonomo, G., Vigna, P. D., Monfardini, L., Zhou, K., Chen, W., Wang, Z. and Veronesi, U. (2010).** High-intensity focused ultrasound ablation : Effective and safe therapy for solid tumors in difficult locations . *AJR.*, 195: 245- 252.
- Owen, R.L., Nemanic, P.C. and Stevens, D.P. (1979).** Ultrastructural observations on giardiasis in a murine model. I. Intestinal distribution, attachment, and relationship to the immune system of *Giardia muris*. *Gastroenterology*, 76: 757–769.
- Park, S.J., Nakagawa, T., Kitamura, H., Atsumi, T., Kamon, H., Sawa, S., Kamimura, D., Ueda, N., Iwakura, Y., Ishihara, K., Murakami, M. and Hirano, T. (2004).** IL-6 regulates *in vivo* dendritic cell differentiation through STAT3 activation. *J. Immunol.*, 173: 3844–3854.
- Poorsaadat, L., Jamshidifard, A.R. and Davami, M.H. (2004).** Effect of direct electric current on water infected with *Giardia lamblia*. *J. med. Res. (JMR).*, 3(1):65-70.
- Pu, R. and Rosenthal, D. L. (2005).** Incidental giardiasis diagnosed by fine-needle aspiration of phantom cecal "mass". *Diagnostic Cytopathology*, 33(4): 287-288 .
- Pullar, C.E., Baier, B.S. and Isseroff, R.R. (2006).**  $\beta$ 4 Integrin and EGF coordinately regulate electric field-mediated directional migration via Rac1. *Mol. Biol. Cell*, 17: 4925–4935.

- Ratanapo, S., Mungthin, M., Soontrapa, S., Faithed, C., Siripattanapipong, S., Rangsin, R., Naaglor, T., Piyaraj, P., Taamasri, P. and Leelayoova, S. (2008).** Multiple modes of transmission of giardiasis in primary schoolchildren of a rural community, Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78(4): 611–615.
- Rabut, G., Lénárt, P. and Ellenberg, J. (2004).** Dynamics of nuclear pore complex organization through the cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16: 314–321.
- Ringqvista, E., Avesson, L., Söderbom, F. and Svard, S.G. (2011).** Transcriptional changes in *Giardia* during host–parasite interactions. *Int. J. Parasitol.*, 41: 277–285.
- Roberts-Thomson, I.C., Stevens, D.P., Mahmoud, A.A.F. and Warren, K. S. (1976).** Giardiasis in the mouse: an animal model. *Gastroenterology*, 71: 57-61.
- Robbin M.L.(2001).** Ultrasound contrast agents : A promising future. *Radiol. Lin. N. Am.*, 39 (3):399-414.
- Roehrig, S., Tabbert, A. and Ferrando-May, E. (2003).** *In vitro* measurement of nuclear permeability changes in apoptosis. *Anal Biochem.*, 318: 244–253.
- Roxstrom-Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D.S., Ringqvista, E. and Svard, S.G. (2006).** *Giardia* immunity – an update. *Trends in Parasitology*. 22(1) : 26-31.
- Ryu, H. and Kim, C. (2000).** Immunologic reactivity of a lipopolysaccharide-protein complex of type A *Pasteurella multocida* in mice. *J. Vet. Sci.*, 1 (2): 87-95.

- Samn, K.A.M., Samn, A.A.M. and Abou El-Nour, M.F. (2012).** A survey of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in rural and urban community in North Delta, Egypt. *New York Science Journal*, 5(3): 49-54.
- Schacterle, G.R. and Pollack, R.L. (1973).** A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biologic materials. *Anal. Biochem.*, 51: 654-655.
- Scott, K.G.E., Logan, M.R., Klammer, G.M., Teoh, D.A. and Buret, A.G. (2000).** Jejunal brush border microvillous alterations in *Giardia muris* infected mice: Role of T lymphocytes and interleukin-6. *Infect. Immun.*, 68: 3412-3418.
- Scott, K.G., Yu, C.H. and Buret, A.G. (2004).** Role of CD8+ and CD4+ T lymphocytes in jejunal mucosal injury during murine giardiasis. *Infect. Immun.*, 72: 3536-3542.
- Scott, K.G., Meddings, J.B., Kirk, D.R., Lees-Miller, S.P. and Buret, A.G. (2002).** Intestinal infection with *Giardia* spp. Reduces epithelial barrier function in a myosin light chain kinase-dependent fashion. *Gastroenterology* 123(4) 1179–1190.
- Sheffield, H.G. and Bjorvatan, B. (1977).** Ultrastructure of the cyst of *Giardia lamblia*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26(1): 23-30.
- Shnawa, B.H. (1995)** Biological and immunological studies on *Giardia lamblia*. Ph.D. Thesis, Univ. Basrah. (In Arabic)
- Shukla, G., Devi, P. and Sehgal, R. (2008).** Effect of *Lactobacillus casei* as a probiotic on modulation of giardiasis. *Digestive Diseases and Sciences*. 53 (10):2671–2679.

- Shukla, G., Sharma, G. and Goyal, N. (2010).** Probiotic characterization of *Lactobacilli* and yeast strains isolated from whey beverage and therapeutic potential of *Lactobacillus* yoghurt in murine giardiasis. *Am. J. Biomed. Sci.*, 2: 248–261.
- Simpson, K.W. Rishniw, M., Bellosa, M., Liotta, J., Lucio, A., Baumgart, M., Czarnecki-Maulden, G., Benyacoub, J. and Bowman, D. (2009).** Influence of *Enterococcus faecium* SF68 probiotic on giardiasis in dogs. *J. Vet. Inter. Med.* 10: 1-6.
- Simpson, K.W. Rishniw, M., Bellosa, M., Liotta, J., Lucio, A., Singer, S.M. and Nash, T.E. (2000).** T-cell-dependent control of acute *Giardia lamblia* infections in mice. *Infect. Immun.*, 68: 170-175.
- Singer, S.M. and Nash, T.E. (2000).** The role of normal flora in *Giardia lamblia* infections in mice. *J. Infect. Dis.*, 181: 1510–1512.
- Singer, S.M., Elmendorf, H.G., Conrad, J.T. and Nash TE. (2001).** Biological selection of variant-specific surface proteins in *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.*, 183: 119–124.
- Skea, D.L. and Underdown, B.J. (1991).** Acquired resistance to *Giardia muris* in x-linked immunodeficient mice. *Infect. Immun.*, 59:1733-1738.
- Snider, DP., Gordon J., McDermott, M.R. and Underdown, B.J. (1985).** Chronic *Giardia muris* infection in anti-IgM-treated mice. I. Analysis of immunoglobulin and parasite-specific antibody in normal and immunoglobulin-deficient animals. *J. Immunol.*, 134:4153-4162.

- Snider, D.P. and Underdown, B.J. (1986).** Quantitative and temporal analyses of murine antibody response in serum and gut secretions to infection with *Giardia muris*. *Infect. Immun.*, 52:271-278.
- Song, B., Gu, Y., Pu, J., Reid, B., Zhao, Z. and Zhao, M. (2007).** Application of direct current electric fields to cells and tissues *in vitro* and modulation of wound electric field *in vivo*. *Nature protocols*. 2(6):1479-1489.
- Stager, S., and Muller, N. (1997).** *Giardia lamblia* infection in B cell-deficient transgenic mice. *Infect. Immun.*, 65(9): 3944-3946.
- Stevens, D.P., Frank, D.M. and Mahmoud, A.A.F. (1978).** Thymus dependency of host resistance to *Giardia muris* infection: Studies in nude mice. *J. Immunol.*, 120: 680-682.
- Sugie, S., Yoshimi, N., Tanaka, T., Mori, H. and Williams, G.M. (1994).** Alterations of nuclear pores in preneoplastic and neoplastic rat liver lesions induced by 2-acytaminofluorene. *Carcinogen.*, 15: 95–98.
- Svard, S.G. Meng, T.C., Hetsko, M.L., McCaffery, J.M. and Gillin, F.D.(1998).** Differentiation-associated surface antigen variation in the ancient eukaryote *Giardia lamblia*. *Mol. Microbiol.*, 30(5): 979-989.
- Tellez, A. Winiacka-Krusnell, J., Paniagua, M. and Linder, E. (2003).** Antibodies in mother's milk protect children against giardiasis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 35: 322–325.
- Tellez, A., Palm, D., Weiland, M., Alemán, J., Winiacka-Krusnell, J., Linder, E. and Svard, S. (2005).** Secretory antibodies against *Giardia intestinalis* in lactating Nicaraguan women. *Parasite Immunol.*, 27:163-169.

- Thompson, R.C., Hopkins, R.M. and Homan, W.L. (2000).** Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitol. Today*. 16(5):210-213.
- Teixeira, M. M. , Talvani, A. , Tafuri, W. L., Lukacs, N. W. and Hellewell, P. G. (2001).** Eosinophil recruitment into sites of delayed-type hypersensitivity reactions in mice . *J. Leukoc. Biol.*, 69 : 353-360 .
- Tsai, W.C., Hsu, C.C., Tang, F.T., Chou, S.W., Chen, Y.J. and Pang, J.H. (2005).** Ultrasound stimulation of tendon cell proliferation and upregulation of proliferating cell nuclear antigen. *J. Orthop Res.*, 23: 970–976.
- Tung, Y.S., Liu, H.L., Wu, C.C., Ju, K.C., Chen, W.S. and Lin, W.L. (2006).** Contrast-agent-enhanced ultrasound thermal ablation. *Ultrasound Med. Biol.*, 32(7):1103-1110
- Vaskovicova , N., Druckmüllerova, Z., Janisch, R., Škorpikova, J. and Mornstein, V. (2013).** Effects of therapeutic ultrasound on the nucleare envelope and nucleare pore complexes . *J. Appl Biomed.*, (11) : 235-242 .
- Vega-Mercado, H., Pothakamury, U.R., Chang, F.J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. (1996).** Inactivation of *Escherichia coli* by combining PH, ionic strength and pulsed electric fields. *Research international*. 29(2) :117-121.
- Venkatesan, P., Finch, R.G. and Wakelin, D. (1997).** A comparison of mucosal inflammatory responses to *Giardia muris* in resistant B10 and susceptible BALB/c mice. *Parasite Immunol.*, 19: 137–143.

- Vinayak, V.K., Dutt, P. and Puri, M. (1991).** An immune enzymatic dot-ELISA for the detection of *Giardia lamblia* antigen in stool eluates of clinical cases of giardiasis. J. Immunol. Methods, 137: 245-251.
- Vinayak, V.K., Khanna, R. and Kum, K. (1991).** Kinetics of intraepithelium and lamina propria lymphocyte responses during *Giardia lamblia* infection in mice. Microb. Pathog., 10: 343-350.
- Von Allmen, N., Bienz, M., Hemphill, A. and Müller, N. (2004).** Experimental infections of neonatal mice with cysts of *Giardia lamblia* clone GS/M-83-H7 are associated with an antigenic reset of the parasite. Infect. Immun., 72(8): 4763–4771.
- Walt, E. (2002).** The effect of ultraviolet light, cavitation flow and ultrasound on protozoan cysts and oocysts, bacteriophages and clostridium . Biennial Conference of the water Institute of Southern Africa (WISA), Durban, South Africa.
- Wang, J.A., Zou, X.Y., Ye, B., Zhang, C.W. and Zhao, F.S.(2007).** Pathological change in hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* treated with high intensity focused ultrasound . Chin. J. Parasitol. Parasite Dis., 25(6):462-465
- Wang, J.A., Zou, X.Y., Ye, B., Zhang, C.W., Zhao, F.S., Han, X.M., Li, F.Q. and Zou, J.Z. (2009).** High intensity focused ultrasound kills hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* . Acta Acad Med Mil. Tert., 31(14):1333-1336
- Wang, W., Wang, Y., Wang, T., Wang, J., Wang, L. and Tang, J.(2012).** Safety and efficacy of us-guided high intensity focused ultrasound for treatment of submucosal fibroids. Eur. Radiol., 22(11) : 2553-2558.

- Waynforth H. B. (1980).** Experimental and Surgical Technique in the Rat . Academic Press Inc. , (London) LTD , NWI , 29 .
- Weaver, C.T., Harrington, L.E., Mangan, P.R., Gavrieli, M. and Murphy, K.M. (2006).** Th17:an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity*. 24: 677–688.
- Weiser, W. Y., Pozzi, L. A. and David, J. R. (1990).** Human recombinant migration inhibition factor activates human macrophages to kill *Leishmania donovani*. *J. Immunol.*, 174: 2006-2011.
- Winterberg, F. (2009).** Treating cancer with strong magnetic fields and ultrasound. ARVIX : 0906-0742 .
- Willey, J.M., Sherwood, L.M. and Woolverton, C.J. (2008).** "Prescott, Harley and Klein's microbiology". 7<sup>th</sup> Ed., McGraw-Hill Companies, Inc., USA, 782-788.
- World Health Organization (2006).** Guidelines for drinking-water quality .Recommendations . Geneva, World Health Organization: 1.
- Xiao, L. and Fayer, R. (2008).** Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission . *Int. J. parasitol.*, 38(11):1239-1255.
- Yaseen, S. S. (2010).** The effect of protoscoleces treated with direct electric current on the cellular immune response in mice infected with secondary hydatid disease . *J. Edu. Sic.*, 23(1) :15-23 .

- Yi, Z. X. (2009).** Study on the effect of high intensity focused ultrasound on hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* . Ph. D. Thesis, School Of Chongqing Medical University, CHINA.
- Yoder, J.S. and Beach, M.J. (2007).** Giardiasis surveillance—United States, 2003-2005. MMWR Surveill Summ. 56(7):11-18.
- Yousif, S.Y. and Sadoon, H.S. (2012).** Effect of infrared in the innate immune response of albino mice injected with irradiated protoscoleces of *Echinococcus granulosus*. J. Edu. Sic., 2(25):126-139. (In Arabic)
- Zderic, V., Brayman, A.A., Share, S.R., Crum, L.A. and Vaezy, S. (2006).** Microbubble-enhanced hemorrhage control using high intensity focused ultrasound .Ultrasonics, 45 (1-4) :113- 120.
- Zhang, J., Kong, J., Ye B., Zou, X.Y. and Wu, W.H. (2011).** Preparation and water absorptive properties of starch based superabsorbent resin for hydatid fluid . Chin. J. Zoon., 27 (12): 1090-1093.
- Zhang, J., Ye B., Kong, J., Cai, H., Zhao, Y., Han, X. and Li, F. (2013).** *In vitro* protoscolicidal effects of high intensity focused ultrasound enhanced by superabsorbent polymer . Parasitol. Res., 112:385-391.
- Zhong, W., Sit, W.H., Wan, J.M.F. and Yu, A.C. (2011).** Sonoporation induces apoptosis and cell cycle arrest in human promyelocytic leukemia cells. Ultrasound Med. Biol., 37: 214-2159.
- Zhou, P., Li, E., Shea-Donohue, T. and Singer, S.M. (2008).** Tumor necrosis factor  $\alpha$  contributes to protection against *Giardia lamblia* infection in mice. Parasite Immunol., 29(7): 367–374.

**Zhou, P., Li, E., Zhu, N., Robertson, J., Nash, T. and Singer, S.M. (2003).** Role of interleukin-6 in the control of acute and chronic *Giardia lamblia* infections in mice. *Infect. Immun.*, 71:1566-1568.

**Zohurian-Mehr, M.J. And Kabiri, K. (2008).** Superabsorbent Polymer materials . A Review . *Iran. Polym. J.*, 17 (6): 451-477 .

**Zou, X., Wang, J. , Zhao, H.L., Zhang, J., Wu, W.H. and Ye, B. (2009).** *Echinococcus granulosus* :Protoscolicidal effect of high intensity focused ultrasound . *Exp. Parasitol.*, 121:312-316 .

ثالثا: المواقع الالكترونية

[https:// www.cdc. gov> parasites> pathogen](https://www.cdc.gov/parasites/pathogen)

[photobucket. com> images> giardia cyst](http://photobucket.com/images/giardia_cyst)

## ABSTRACT

The present study investigated the effect of the direct ultrasonic waves, as an immune stimulator, against infection with giardiasis caused by *Giardia lamblia* in Norwegian rats *Rattus norvegicus*. The pathological changes occurred in the rats administered orally with the cysts of *G. lamblia*, exposed to different durations of ultrasonic waves 60 seconds, 150s, 210s and 240s, respectively, with constant frequency 20.000 pulse\second( $1.8\text{w}/\text{cm}^2$ ) were followed in comparison with the control group (rats administered cysts orally of *G. lamblia*, without exposure to the ultrasonic waves), along the experiments period, depending on many criteria, included the changes in cysts expel, weights of animals, changes in the total and differential count of leukocytes (WBCs), and specific (cellular) immunity, represented by skin- delayed type hypersensitivity test.

### **The results of The present study revealed:**

1. An obvious significant decrease ( $p>0.01$ ) in cysts expel in the rats administered with cysts exposed to direct ultrasonic waves in comparison with the control group, the maximum was at duration 240 seconds .
2. A significant elevation ( $p>0.01$ ) in percentage of weights in the treated animals when compared with the control group, the maximum was 404. 25% , at duration 240 seconds .
3. A significant increase ( $p>0.01$ ) in the total count of leukocytes, the maximum count was  $10600\text{ cell}/\text{cm}^3$  at duration 210s, expressed by increase in lymphocytes, variation in monocytes numbers in treated animals.
4. A significant increase ( $p>0.01$ ) in the cellular immunity, represented by elevation in the rates of foot pad thickness (swelling), the maximum thickness was 1.75mm at duration 240s in treated animals, in comparison with control group.

**University of Mosul**  
**College of Education**  
**For pure sciences**



**Immune Response Improvement**  
**Against Giardiasis In Male Albino Rats**

**A Thesis Submitted**

**By**

**Hiba Mahmood Khether Al-Dulaimi**

*To*

*The Council of College of Education University  
of Mosul*

*in Partial Fulfillment of Requirements for the  
degree of M.Sc.*

**in**

**Biology / Zoology**

**Supervised by**

**Prof. Dr. Asmaa Abdul-Aziz Ali**

**2017 A.D.**

**1438 A.H.**

**University of Mosul  
College of Education for  
pure sciences**



**Immune Response Improvement  
Against Giardiasis In Male Albino Rats**

**Hiba Mahmood Khether Al-Dulaimi**

**M.Sc. Thesis  
Biology / Zoology**

**Supervised By  
Professor  
Dr. Asmaa Abdul-Aziz Ali**

**2017 A.D.**

**1438A.H**