Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

اثر لوامیزول بر مهار لیشمانیا ماژور در موش BALB/c

سوسن اردستانی (Ph.D.)* ناصر توسلی(M.D.)**
بهناز قره گزلو (M.D.)*** زهیرمحمد حسن(Ph.D.)****

چکیده

سابقه و هدف : عفونت انگل لیشمانیا ماژور می تواند در موش BALB/c ، احشایی شود و در صورت عدم درمان دارویی، حیوان آلوده را از بین ببرد. این انگل باعث آلودگی درشت‌خواران تک هسته ای (ماکروفاژ) می شود که مسؤولیت بلع وحذف انگل رابرعهده دارند. از آن‌جا که این بیماری باعث سرکوب پاسخ‌های ایمنی می شود و معلوم شده است که لوامیزول یک داروی تقویت کننده ایمنی است، تصمیم گرفته شد اثر لوامیزول در فرآیند بیماری لیشمانیوز احشایی ناشی از لیشمانیا ماژور در موش BALB/c بررسی شود.

مواد و روش‌ها : لوامیزول در مقادیر ۱ و ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش، به صورت درون صفاقی، ٤ ساعت قبل و دو هفته پس از چالش با انگل عفونت‌زا به حیوان تزریق شد. سپس رشد زخم پوستی، پاسخ حساسیت شدید تأخیری و فعالیت بلع درشت‌خواران مورد بررسی قرارگرفت.

یافته ها : قطر زخم و میزان مرگ و میر در گروه‌هایی که دارو درمانی شده بودند، به طور معنی داری کاهش نشان داد. مطالعه بلع درشت‌خواران تک هسته ای نیز نشان داد که لوامیزول قادر است فرآیند بلع انگل را افزایش دهد.

استنتاج : نتایج این مطالعه نشان می‌دهد لوامیزول روند بیماری لیشمانیوز احشایی را در موش حساس BALB/c کنترل می نماید.

واژه های کلیدی : لیشمانیاماژور، لوامیزول، ایمنی سلولی، ماکروفاژ، موش BALB/c

مقدمه

جنس لیشمانیا شامل تک یاخته‌هایی است که بدون تاژک (آماستیگوت) به صورت داخل سلولی در میزبانان مهره دار و با تاژک (پروماستیگوت) در روده پشه خاکی و محیط کشت دیده می شود. با نیش پشه، انگل به شکل پروماستیگوت به پوست میزبان منتقل می‌شود و جهت تکمیل چرخه زندگی، سیستم رتیکولواندوتلیال را انتخاب می کند. در داخل این سلول‌ها انگل به صورت آماستیگوت در آمده و پس از چند دوره تقسیم ، با پاره کردن ماکروفاژ از آن خارج شده و به ماکروفاژهای مجاور حمله می‌کند(۱). بر اساس

* استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
✉ تهران : مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
** عضو هیات علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران
**** دانشیارعلوم پزشکی ، گروه ایمونولوژی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت : ۸۲/۸/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۲/۱۰/۲٤ تاریخ تصویب: ۸۳/۳/۱۳

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

گونه لیشمانیا، بیماری ممکن است موضعی و یا منتشر و کشنده باشد. بیماری موضعی لیشمانیوز جلدی بر اثر آلودگی با انگل لیشمانیا ماژور و بیماری سیستمیک لیشمانیوز احشایی بر اثر لیشمانیا دونوانی ایجاد می شود.

آلوده کردن موش با انگل لیشمانیا ماژور، مدل مناسبی جهت مطالعه تنظیم ایمنی بر علیه این عامل بیماری‌زای درون سلولی است(۲). مطالعات نشان می‌دهند بعضی از سویه‌های موش‌ها مثل CBA/j ، C57BL/6، C3H/HC نسبت به این انگل مقاوم بوده و پس از آلودگی با این انگل، معمولاً زخمی در آن‌ها بوجود نمی آید و تنها ممکن است جوش کوچکی در محل تزریق ایجاد شود که بعد از بین می رود(۳). اما سویه دیگر موش‌ها یعنی BALB/c نسبت به این انگل، حساس است و دچار زخم‌های بزرگی در محل تزریق انگل می شود که معمولاً بهبود پیدا نمی‌کند(٤) که از آن در مطالعات به عنوان مدلی از لیشمانیوز احشایی استفاده می‌شود و با توجه به این‌که هنوز واکسن مناسبی برای این بیماری پیدا نشده است، درصدد یافتن دارویی مفید بودیم تا به افرادی که در مناطق اندمیک زندگی می‌کنند، و یا به آن‌جا مسافرت می‌کنند داده شود تا در صورت برخورد با انگل بتوانند به خوبی پاسخ دهند. به این منظور از لوامیزول، که متعلق به خانواده داروهای ایمیدازول است و اولین بار در سال ۱۹٦٦ به عنوان داروی ضد کرم مطرح شد، استفاده شد. لوامیزول یک ترکیب ساختگی با وزن مولکولی کم و قابل حل در آب و محلول‌های اسیدی و حلال‌های قطبی پایدار می‌باشد. اولین خصوصیت ایمنی- درمانی آن در سال ۱۹۷۱ گزارش شد (٥). در سال ۱۹۷۸، ۱۹۸۸، ۱۹۸۹ گزارش‌هایی مبنی بر تاثیر این دارو در کنترل لیشمانیوز جلدی در خوکچه هندی، هامستروموش و بیمارانی با CMI تضعیف شده وجود دارد. از نظر داروشناسی، اثرات این دارو در دوز سمی یا نزدیک این دوز مشاهده می‌شود. پس از تجویز خوراکی به سرعت در دستگاه گوارش جذب شده و ٤-۱ ساعت بعد در پلاسما به حداکثر غلظت خود می‌رسد(٦). این دارو از طریق افزایش Ca^{+2} داخل سلولی باعث افزایش نوکلئوتیدهای حلقوی و در نهایت افزایش فعالیت تکثیری و ترشحی سلول‌ها می‌شود(۷). این دارو به صورت غیر مستقیم و همچنین در التهاب های غیر عفونی از طریق ممانعت از ساخته شدن پروستاگلاندین‌ها و اثر آنتی‌اکسیدانی باعث محدود شدن التهاب می‌شود(۹،۸). در برخورد با انگل لیشمانیا ماژور در موش BALB/c به دلیل نقض در پاسخ ایمنی سلولی، ایمنی حفاظت کننده ایجاد نمی‌شود و در نهایت پیشرفت بیماری و سرانجام مرگ حیوان را سبب می‌شود. و از آن‌جایی که دوز مؤثر و طریقه کنترل این انگل به وسیله لوامیزول در این موش بررسی نشده بود، در این مطالعه، اثر این دارو و غلظت‌های مختلف آن بر سیستم ایمنی موش‌های BALB/c نسبت به انگل لیشمانیا و نقش آن درکاهش قطر زخم وافزایش پاسخ ایمنی اختصاصی سلولی با بررسی ازدیاد حساسیت تاخیری و فعالیت ماکروفاژهای صفاقی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوان و نوع دارو درمانی:

موش ماده BALB/c به سن ۸-٦ هفته از انستیتو سرم سازی رازی کرج خریداری و در پنج گروه پنج تایی در قفس‌های شفاف با سرپوش میله‌ای استیل نگهداری گردید. دمای اتاق $۲۲^{0}C$-۲۰ ، رطوبت ثابت و دوره تاریکی و روشنایی دوازده ساعته برای آن‌ها فراهم گردید. یه گروه مورد آزمایش (گروه اول تا سوم) به ترتیب مقادیر ۱ ، ۲/٥ و ٥ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدنشان به صورت داخل صفاقی، لوامیزول تزریق شد و به گروه شاهد (گروه چهارم و پنجم) به صورت داخل صفاقی بافر فسفات استریل (pH=7.4) تزریق گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

تزریق دارو طبق الگوی فوق، ٤ ساعت قبل و دو هفته بعد از حساس کردن حیوانات با انگل لیشمانیا (توضیح آن در زیر خواهد آمد) انجام گردید.

انگل:

سویه MRHO IRI75/ER لیشمانیا ماژور از انستیتو پاستور ایران تهیه و فرم پروماستیگوت انگل در محیط کشت NNN در 25^0C کشت داده شد. برای جداسازی انگل، ۳-۲ روز پس از کشت مایع محیط NNN مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد و رسوب با بافر فسفات استریل شستشو داده شده و تعداد انگل زنده بالام نئوبار شمارش و غلظت 1×10^7 انگل در میلی لیتر تهیه شد.

حساس کردن موش‌ها:

به گروه‌های اول تا چهارم موش ها 1×10^6 انگل که در فاز ایستا از رشد بودند در حجم ۰/۱ml و به گروه پنجم ۰/۱ml بافر فسفات استریل زیر پوستی در قاعده دم تزریق شد.

بررسی قطر زخم:

از هفته اول تا پانزدهم پس از تزریق انگل ناحیه پشت موش‌ها برای سفتی و زخم مورد بررسی قرار گرفت و پس از ایجاد زخم با استفاده از کولیس ورنیه، قطر زخم‌ها اندازه‌گیری شد.

پاسخ ایمنی:

جهت بررسی ایمنی سلولی ، پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH) و نیز درصد و میزان آلودگی سلول‌های مونونکلئر صفاقی در محیط کشت in vitro مورد بررسی قرار گرفت.

ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH):

با افزودن فنل ۰/٤ درصد به مدت نیم ساعت به انگل‌های زنده، آنتی ژن تهیه شد. سپس انگل‌های کشته شده سه بار شسته و 2×10^7 انگل به ازاء هر موش تهیه شد و در کف پای چپ موش های گروه اول تا پنجم که ١٦ هفته قبل حساس شده بودند، تزریق گردید. بعد از ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعت قطر پای تزریق شده و قطر پای تزریق نشده اندازه گیری و درصد افزایش قطر پای موش‌ها محاسبه شد.

درصد و میزان آلودگی سلول‌های مونونکلئر صفاقی:

ابتدا ۱۰ موش BALB/c ماده ۸-٦ هفته به دو گروه تقسیم شدند. به گروه اول ۲/۵mg/kg لوامیزول و به گروه دوم (شاهد) سرم فیزیولوژی استریل به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ٤ ساعت بعد با تزریق محیط شست‌وشو به محوطه صفاقی، سلول‌های این ناحیه خارج و بعد از شست و شو با دور ۱۵۰۰ r pm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد ، 10^5 سلول به محیط کشت RPMI حاوی (۱۰ درصد) Fetal Calf Serum ، L-گلوتامین (۲ mM) و هپس (۱۰ mM) و آنتی بیوتیک (۲μg/ml) جنتامایسین وپنی سیلین(۱۰ u/ml) اضافه گردید و در انکوباتور 37^oC با ۵ درصد CO_2 و بخار آب قرار داده شد. ٢٤ ساعت بعد از کشت، مایع رویی محیط کشت خارج شد و به میزان ۳-۲ برابر تعداد سلول‌های چسبیده (ماکروفاژها) انگل لیشمانیاماژور که در فاز ایستا بودند به سلول‌ها اضافه گردید. پس از ۳ ساعت، مایع رویی را خارج کرده و از یک سری سلول‌های کشت داده شده یک ساعت بعد و یک سری دیگر ۷۲ ساعت بعد لام تهیه شد. سلول‌های چسبیده شده به ته پلیت را با ضربه مکانیکی جدا کرده و با استفاده از سایتوسانتریفوژ لام تهیه شد. لام‌ها پس از ثابت شدن با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شده و تعداد ماکروفاژهای آلوده، تعداد کل ماکروفاژها و تعداد انگل داخل هر ماکروفاژ در گروه آزمون و شاهد شمارش گردید. جهت بررسی اثر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

دارو در مقاومت به عفونت و فعالیت ضد میکروبی از فرمول‌های زیر استفاده شد :

$$\text{مقاومت‌به‌عفونت} = \frac{\text{درصد ماکروفاژهای عفونی درآزمون} - \text{درصد ماکروفاژهای عفونی درشاهد}}{\text{درصدماکروفاژهای عفونی در شاهد}} \times ۱۰۰$$

$$\text{فعالیت‌ضدمیکروبی} = \frac{\text{درصدماکروفاژهای عفونی در۷۲ساعت} - \text{درصدماکروفاژهای عفونی در۲۴ساعت}}{\text{درصدماکروفاژهای عفونی در ۲۴ ساعت}} \times ۱۰۰$$

ازآنالیز رگراسیون جهت‌بررسی قطرزخم‌درگروه‌های مورد مطالعه استفاده شد و همبستگی تابعیت اندازه قطر زخم‌ها با زمان، در هر گروه بررسی گردید.

پس ازبرآورد ضرایب‌رگراسیون، منحنی پراکندگی و خطوط رگراسیون هر گروه رسم شدو سپس بااستفاده از آنالیز کوواریانس شیب خطوط رگراسیون و منطبق نبودن آنها بر همدیگر و موازی نبودنشان با هم بررسی گردید. در بررسی اندازه‌گیری DTH اختصاصی بر علیه لیشمانیا ماژور از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

بررسی‌تأثیرلوامیزول بر روی قطر زخم‌ناشی ازلیشمانیاماژور در موش BALB/c:

به سه گروه موش به ترتیب ۱ و ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدنشان دوبار لوامیزول تزریق شد.گروه اول تا چهارم با تزریق ۱×۱۰^{۶} انگل در قاعده دمشان حساس شدند و هر هفته ناحیه پشت موش‌ها برای سفتی و زخم مورد بررسی قرارگرفت. تقریباً از هفته پنجم در گروه شاهد مثبت (گروه چهارم) زخم در ناحیه تزریق دیده شد. درگروه سوم (۵mg/kg) از هفته ششم و گروه اول و دوم (۱ و ۲/۵ mg/kg) از هفته هفتم زخم بوجود آمد. درنمودار شماره۱ ، قطر متوسط زخم در هر گروه در طول ۱۵ هفته آمده است. با استفاده از pair T test می‌توان نشان داد قطر زخم در گروه‌هایی که دارو گرفته‌اند، نسبت به شاهد مثبت به طور معنی داری (P value<۰/۰۰۱) کاهش یافته است . حتی بعد از ۱۵ هفته نیز قطر زخم در این گروه‌ها نصف گروه شاهد است. همینطور در گروهی از موش‌ها که ۲/۵mg/kg لوامیزول دریافت کرده‌اند، نسبت به گروهی که ۵mg/kg دارو گرفته، قطر زخم‌ها به‌طور معنی داری (P value<۰/۰۰۱) کاهش داشته است. با رسم خطوط رگراسیون قطر زخم ها در هر گروه با استفاده از آزموا آنالیز کوواریانس ثابت شد که شیب خطوط رگراسیون در گروه‌های مختلف یکسان نیست، یعنی بعد از مدتی قطر زخم در گروه‌های مختلف با هم یکسان نمی شود و قطر زخم درحیواناتی‌که دوزهای مختلف داروگرفته‌اند، متفاوت است وخطوط رگراسیون قطر زخم درگروه‌های مختلف، افقی نیست.

نمودار شماره ۱ : میانگین قطر زخم‌ها در گروه‌های مختلف موش BALB/c در هفته‌های بعد از تزریق دارو و انگل و انگل به تنهایی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

در هیچ‌یک از گروه‌ها تا هفته سیزدهم، مرگ و میری مشاهده نشد. اما از هفته سیزدهم در گروه شاهد مثبت، مرگ و میر مشاهده شد و تا آخر هفته پانزدهم ٦٠ درصد از موش‌های این گروه در اثر عفونت لیشمانیایی مردند؛ در صورتی‌که در گروه‌های درمان شده حتی یک ماه پس از خاتمه بررسی‌ها نیز مرگ و میری مشاهده نشد (داده ها نشان داده نشده است).

بررسی تأثیر لوامیزول بر روی پاسخ ایمنی اختصاصی سلولی در موش آلوده با لیشمانیاماژور:

هفته شانزدهم پس از حساس کردن موش‌ها به ترتیبی که ذکر شد 2×10^{7} انگل کشته شده با فنل ٠/٤ درصد در کف پای چپ به صورت زیر پوستی به حیوانات تزریق شد و پاسخ DTH آن‌ها بعد از ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. در ٢٤ ساعت اول بعد از برخورد با آنتی ژن، اختلافی بین گروه‌ها مشاهده نشد، اما در ٢٤ ساعت دوم و سوم (٤٨ و ٧٢ ساعت) که التهاب ناشی از تزریق برطرف شده بود، این اختلاف‌ها خیلی بهتر مشاهده شد که نتایج در جدول ١ آمده است.

جدول شماره ١: میانگین قطر پا حاصل از پاسخ DTH در اثر تزریق داروی لوامیزول با مقادیر ذکر شده در فواصل زمانی معین را نشان می دهد .

گروه	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ٢٤ ساعت	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ٤٨ ساعت	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ٧٢ ساعت
یک میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	٤٥/٠٢٥±٦/٨٧	٢٨/٣٧±٧/٨*	٨/١٢٥±٣/٢
٢/٥ میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	٤٢/١٣٥± ٣/١٦	٢٧/٠٧٧±٨/٣	٢٧/٠٣±١٢/٥**
٥ میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	١٩/٥±١٩/٥٩٥	١٦/٦٧±١٩/٥	١٠ ±١٤٠١
کنترل منفی	١٨/٨ ±١٠/٦٣	٨/٣٣±٧/ ٧×	٥/١±٥
کنترل مثبت	٣٤/٠٧ ±٣٦	٢١/٨٤±٥/٤	١٢/٤٢ ±٤٠٤

* اختلاف معنی دارو با P value کمتر از ٠/٠٥

** اختلاف معنی دارو با P value کمتر از ٠/٠٠٥

بعد از ٤٨ و ٧٢ ساعت بین گروه‌ها اختلاف معنی داری دیده می شود . بعد از ٤٨ ساعت اختلاف بین گروهی که ١ mg/kg لوامیزول گرفته و شاهد منفی با شاهد مثبت به ترتیب با P value برابر ٠/٠٤ و ٠/٠١ معنی دار است، اما بعد از ٧٢ ساعت اختلاف بین گروهی که ٢/٥mg/kg لوامیزول گرفته با شاهد مثبت به ترتیب با P value برابر ٠/٠٠٣ . معنی دار است. ولی بین گروه‌هایی‌که ١mg/kg و٥mg/kg لوامیزول گرفته‌اند، با شاهد مثبت اختلافی دیده نمی‌شود. پس دوز ٢/٥mg/kg لوامیزول، بیش‌ترین تحریک را در سیستم ایمنی سلولی موش BALB/c آلوده ایجاد کرده است؛در صورتی‌که دوزهای١mg/kg و ٥mg/kg بی تأثیر بوده‌اند و همینطور اختلافی با P value ٠/٠٩ بین گروه شاهد مثبت و منفی نشان می دهد که تزریق انگل در این سوش از موش نمی تواند ایمنی محافظت کننده ایجاد کند، به دلیل کاهش در پاسخ ایمنی سلولی، در این موش پیشرفت بیماری و سرانجام مرگ حیوان دیده می‌شود؛ در صورتی‌که تزریق ٥mg/kg /٢ لوامیزول، سیستم ایمنی سلولی را تحریک کرده و در نتیجه در برخورد با یک مهار کننده سیستم ایمنی (مانند انگل لیشمانیا) موجود را حفاظت می کند و قدرت پاسخ دهی موجود را به آنتی ژن بالا می برد.

تأثیر لوامیزول روی بلع انگل به وسیله ماکروفاژهای صفاقی موش BALB/c در in vitro:

بعد از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با استفاده از بزرگ نمایی ١٠٠X تعداد انگل در هر ماکروفاژ، در گروه‌های مورد آزمایش و شاهد پس از یک ساعت و ٧٢ ساعت شمارش گردید که نتایج در جدول شماره ٢ نشان داده شده است.

همانطور که در جدول ٢ مشخص است درصد ماکروفاژهای آلوده در گروه آزمایش بیش از شاهد است که شاید به علت افزایش قدرت بلع در ماکروفاژهای گروه آزمایش باشد. اما بعد از ٧٢ ساعت درصد ماکروفاژهای آلوده آزمایش هنوز بیش از درصد ماکروفاژهای آلوده شاهد می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

جدول‌شماره ۲ : فعالیت فاگوسیتوزی ماکروفاژهای صفاقی موش در اثر تزریق ۲/۵ mg/kg داروی لوامیزول را نشان می دهد

زمان	گروه	کل ماکروفاژ	ماکروفاژآلوده	تعداد انگل	درصد ماکروفاژ آلوده	تعداد انگل در هر ماکروفاژ آلوده
یک ساعت	آزمون	۳۰۵	٦٤	۱۱۸	۲۰/۹۸	۱/۸٤
پس از کشت	شاهد	۱۹۰	۳۲	۵۳	۱٦/۸٤	۱/٦۵
۷۲ ساعت	آزمون	٤۵۱	۲٤٦	٦۰۰	۵٤/۵٤	۲/٤۳
پس از کشت	شاهد	٤۷۸	۲۵۰	٤۸٤	۵۳/۳۰	۱/۹۳

بحث

انگل لیشمانیا ماژور در موش BALB/c بعلت نقص پاسخ ایمنی حفاظت شده در این حیوان ایجاد زخم کرده و سپس توسعه یافته، تمام اندام‌ها را درگیر نموده و در نهایت موجب مرگ حیوان می‌شود. در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که تزریق ۲/۵ mg/kg لوامیزول باعث کاهش قطر زخم و همینطور افزایش پاسخ DTH و افزایش تعداد و فعالیت ماکروفاژها شده و در نهایت طول عمر موش‌های آلوده BALB/c را افزایش می‌دهد. مهم‌ترین سایتوکاینی که باعث القاء iNOS (Inducible No synthetase) و تولید گونه های فعال نیتروژن می‌شود، IFN–γ می باشد(۱۰). TNF- α. نیز به صورت سینرژیک با IFN – γ عمل می‌کند(۲). در مقابل، سایتوکاین‌های دیگر مثل TGF- β و IL–۱۰ باعث پایین آمدن میزان بیان iNOS در ماکروفاژ می‌شوند (۱۱،۱۲). همین‌طور نشان داده اند که موش‌های مقاوم به لیشمانیا مثل C57BL/6 ، C3H/He و CBA/j با تولید میزان بالای IFN–γ قادر به کنترل بیماری هستند. اما به دلیل این‌که موش‌های حساس BALB/c مقدار کمی IFN–γ تولیدمی‌کنند، بیماری در آن‌ها پیشرفت می‌کند (۱۳تا۱۷). از آن‌جا که در این مطالعه از ابتدای آزمایش لنفوسیت‌ها از محیط خارج شده و حتی در صورت تحریک لنفوسیت‌ها توسط لوامیزول، کمکی از طرف آن‌ها به ماکروفاژها نمی‌رسد، انگل در داخل ماکروفاژها تکثیر نموده و این امر نشان می دهد که احتمالاً حضور مداوم سایتوکاین‌ها برای فعالیت ماکروفاژها در جهت انهدام انگل‌ها ضروری است و یا احتمالاً برای کنترل رشد انگل یا انهدام آن، ۷۲ ساعت، زمان کافی برای بررسی فعالیت ضد انگلی ماکروفاژها و مقاومت به عفونت در آن‌ها نبوده است. به همین دلایل، نتایج بررسی حاضر با عدم کاهش تعداد انگل در ماکروفاژهای درمان شده با لوامیزول مواجه بوده است. در مطالعات انجام شده بر روی لوامیزول معلوم شده است که پاسخ ایمنی سلولی ، تعداد لنفوسیت‌های T ، NK و پاسخ لنفوسیت‌های T به ConA را افزایش می‌دهد(۱۸) همچنین در مطالعه دیگر گزارش شده است که این دارو فعالیت سلول‌های Th-1 را در پاسخ‌های DTH افزایش می‌دهد (۲۰،۱۹) .

در بدن انسان و سایر جانوران، اولین و مهم‌ترین سلولی که انگل لیشمانیا به آن حمله می‌کند و از طریق گیرنده CR1 وارد آن می‌شود، ماکروفاژ است(۲۲،۲۱). وقتی انگل از این طریق وارد می شود، از اثرات انفجار تنفسی سلول در امان خواهد بود(۲۳). در این مطالعه که بر روی فعال سازی ماکروفاژها در بلع و انهدام انگل متمرکز شده بود، نشان داده شد که این دارو سبب افزایش فعالیت ماکروفاژ در بلع می‌گردد (افزایش فاگوسیتوز)؛ در حالی که همان طور که در سطور بالا آمده است، چون در این مطالعه لنفوسیت‌ها قبلاً از محیط کشت خارج شده بودند و در نتیجه محیط کشت ماکروفاژ فاقد سایتوکاین‌های لازم برای القاء اثرات انفجار تنفسی و تولیدگونه‌های فعال نیتروژن بوده است، تنها شاهد افزایش تعداد انگل در داخل ماکروفاژهای درمان شده با لوامیزول بودیم.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

فهرست منابع

1. Chang K.G, Howard G.J, Greenblatt C.L. ***"Human parasitic diseases"*** Chang K.P, Bray R.S. (ed), vol 1, Oxford: Elsevier Press, 1985. PP 1 –31, 111- 163.
2. Stevan L.R,M Locksley R.The regulation of immunity to leishmania major. ***Annu. Rev. Immunol.*** 1995; 13: 151-77.
3. Bogdan C, Gessner A, Rollinghoff M. Cytokines in leishmaniasis: a complex network of stimulatory and inhibitory interaction. ***Immunobiol.*** 1993; 189: 356-96.
4. Liew F.Y,O'Donnell C.A.() Immunology of leishmani-***asis.Adv.Parasitol.*** 1993; 32: 161-259.
5. Renoux G,Renoux M.Immunostimulating effect of an imidotiiazole in the immunization of mice against brucella abortus infection. ***CR Acade Sci Hebd Seances Acad Sci D.*** 1971; 272(2): 349-350.
6. Donald G, Payan M.D. "***Basic & Clinical Pharmacology"*** Bertram G, Katzung (ed) pp:504, Appleton & Lange, A publishing Division of prentice Hall Previous editions, 1992.
7. Hadden J.W, Englard A, Salik J.R, Hadden E.M. The comparative effects of isoprinosine,levamisole,muramyl dipeptide and lymphocyte and macrophage proliferation and activation invitro. ***Int. J. Immunopharmacol***. 1979; 1(1): 17-27.
8. Stringfellow D.A, Fitzpatrick F.A, Sun F.F, McGuire JC. Prostacyclin biosynthesis in activated, stimulated and normal mouse peritoneal cell populations. ***Prostaglandings,*** 1978 Dec;16(6): 901-10.
9. Vanwauwe J, Goossens. The effects of antioxidants on the stimulation of mouse thymocytes by Concanavalin ***A. Int. J. Immunopharmacol.*** 1979; 1(3): 233-7.
10. Ding A.H, Nathan C.F, Stuehr D.J. Realase of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse pertoineal mecrophages.Comparison of activating cytokine and evidence for independent production. ***J. Immunol.*** 1988; 141: 2407-2412.
11. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin-10. ***J. Exp. Med.*** 1991; 174: 1549-1555.
12. Ding A, Nathan C.F, Graycar J, Derynck R, Sduehr D.J, Srimal S. Macropage deactivating factor and transforming growth factors beta 1, beta 2 and beta 3 inhibit induction of macrophage nitrogen oxide by interferon gamma. ***J. Immunol.*** 1990; 145: 940-944.
13. Huang S, Hendricks W, Althage A, Hemmi S, Blue thmann H, Vilcek J, et al. Immune response in mice that lack the interferon gamma receptor. ***Science*** 1993; 259: 1742-1745.
14. Dalton D.K, Pitts-Meek S, Keshav S, Figari I.S, Bradley A, Stewart T.A.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 18:46 +0430 on Monday April 12th 2021

Multiple defects of immune cell function in mice that lack the IFN-gamma gene. ***Science*** 1993; 259: 1739-1742.

15. Assreuy J, Cunha F.Q, Epperlein M, Noronha-Dutra A, O'Donnell C.A, Liew F.Y, et al. Production of nitric oxide and superoxide by activated macrophages and killing of leishmania major. ***Eur. J. Immunol.*** 1994; 24: 672-76.
16. Liew F.Y, Parkinson C, Millott S, Severn A, Carrier M. Tumor necrosis factor-alpha synergizes with IFN-gamma in mediating killing of leishmania major through the induction of nitric oxide. ***Immunology.*** 1990 Apr; 69(4): 570-3.
17. Swihrt K, Fruth U, Messmer N, Hog K, Behin R, Huang S, Del Giudice G, et al. Mice from a genetically resistant background lacking the IFN-gamma receptor are suceptible to infection with leishmania major monunt a polarized T helper cell 1-type CD4 + T cell response. ***J. Exp. Med.*** 1995; 181: 961-971.
18. Hajnzic TF, Kastelan M, Lukac J, Hajnzic T. Immunocompetent cells and lymphocyte reactivity to mitogens in levamisole-treated brain tumor children. ***Pediatr Hematol oncol Jul-*** Aug; 1999; 16(4): 335-40.
19. Prakash MS, Rao VM, Reddy V. Effect of levamisole on the immune status of malnourished children. ***J Trop Pediatr*** Jun; 1998; 44(3): 165-6.
20. Hadden JW. T-cell adjuvants. ***Jnt J Immunopharmacol*** Sep 1994; 16(9): 703-10.
21. Horwitz M.A. Intracellular parasitism. ***Curr. Opin. Immunol.*** 1988; 1(1): 41-46, Review.
22. Martin B.K,Weis J.H.Murine macrophages lack experssion of the Cr2-145 (CR2) and Cr2-190 (CR1) gene products. ***Eur. J. Immunol.*** 1993; 23: 3037-42.
23. Lohoff M, Gessner A, Bogdan C, Rollinghoff M. The Th1/Th2 paradigm and experimental murine leishmaniasis. ***Int. Arch. Allergy. Immumol.*** 1998; 115: 161-202.

www.SID.ir