REVIEW ARTICLE

Last Decade Developments on Leishmania Vaccines with Emphasis on Nanovaccines

Javad Akhtari[1],
Masoud Soosaraei[2],
Hajar Ziaei[3],
Mahdi Fakhar[4]

[1] Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] PhD Student in Medical Parasitology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor , Department of Parasitology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Associate Professor, Department of Parasitology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 10, 2016 ; Accepted February 12, 2017)

Abstract

Leishmaniasis is an infectious disease caused by the protozoan parasites of the genus Leishmania. Leishmaniasis annually affects the socioeconomic status of some societies. Evidence show that vaccination could prevent Leishmania and many studies are done on this, particularly nanovacines. So, this article aimed at reviewing recent developments in this field. In current narrative review article, five English databases including Ebsco, Science Direct, PubMed, Google Scholar, and Scopus and four Persian databases including Magiran, Elm Net, Barakat Knowledge Network System, and the Scientific Information Database (SID) were searched for articles published between 2005 and 2016. Current treatment of leishmaniasis is based on chemical drugs but their application is limited due to high cost, toxicity, side effects, and low efficacy. In addition, vaccines can modulate the immune response in removing Leishmania in favor of the hosts. We attempted to review different types of Leishmania vaccine and their development trends, carriers, vaccine candidates, and strategies and delivery systems in last decade. It was found that nanovaccines consisting of multiple antigens and adjuvant are well developed in conjunction with IL-12 as Leish-111f and MPL-SE, therefore, they could be more successful. Current researches on vaccination clearly indicate the need for more research and investment in developing Leishmania vaccine.

Keywords: leishmaniasis, nanovaccine, liposome, nanoparticle

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (146): 232-253 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

مـــروری

مجـلـــه دانـشـــگاه عـلـــوم پـزشـکـــی مـــازنـــدران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۶ اسفند سال ۱۳۹۵ (۲۵۳-۲۳۲)

پیشرفت های دهه اخیر در خصوص واکسن های لیشمانیا با تاکید بر نانوواکسن ها

جواد اختری[۱]
مسعود سوسرایی[۲]
هاجر ضیایی[۳]
مهدی فخار[۴]

چکیده

لیشمانیوز یک بیماری عفونی ناشی از انگل تک یاخته‌ای از جنس لیشمانیا است. این بیماری سالانه عوارض اقتصادی و اجتماعی فراوانی بر جوامع تحمیل می‌کند. شواهد میدانی، حاکی از قابل پیشگیری بودن بیماری لیشمانیوز به وسیله واکسیناسیون می‌باشند. با توجه به این که مطالعات وسیعی در خصوص واکسن‌ها علیه لیشمانیا به ویژه انواع نانو واکسن‌ها انجام شده است، لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی مطالعات انجام شده در خصوص پیشرفت‌های اخیر درباره این واکسن‌های جدید می‌باشد. این مطالعه مروری غیر نظام مند طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۶ به جستجو در پنج پایگاه انگلیسی زبان (Science Direct, Scopus ,Ebsco, PubMed and Google Scholar) و چهار پایگاه داده های فارسی (Barakat Kowlege Network system, Magiran, Elm Net , Scientific Information Database (SID)) می‌پردازد. درمان فعلی انواع لیشمانیوز بر اساس داروهای شیمیایی می‌باشد، اما کاربرد آن‌ها با محدودیت‌های جدی مانند هزینه بالا، سمیت، عوارض مصرف دارو و اثربخشی کم مواجه است. علاوه بر این، واکسن‌های علیه لیشمانیا به ویژه انواع نانو واکسن‌ها می‌توانند با تعدیل پاسخ ایمنی در از بین بردن انگل *لیشمانیا* به نفع میزبان در تعامل باشند. لذا در مطالعه حاضر تلاش شد تا انواع واکسن‌های لیشمانیایی و روند توسعه آن‌ها، انواع حاملین، انواع کاندیدهای واکسن، استراتژی‌ها و سیستم‌های رهایش از گذشته تا حال مرور شود. در پایان می‌توان گفت نانو واکسن های ترکیبی متشکل از آنتی‌ژن‌های متعدد و به خوبی توسعه یافته همراه با ادجوانت اینترلوکین ۱۲ مانند Leish-111f و MPL-SE، بهترین شانس برای موفقیت در این زمینه است. موفقیت‌هایی که در زمینه واکسیناسیون *لیشمانیا* به دست آمده، به‌طور مشخص نشانگر نیاز بیش‌تر به انجام تحقیقات و سرمایه گذاری در زمینه تولید واکسن مناسب علیه *لیشمانیا* می‌باشد.

واژه های کلیدی: لیشمانیوز، نانو واکسن، لیپوزوم، نانوذره

مقدمه

لیشمانیوزها از جمله بیماری‌های انگلی غفلت شده گرمسیری هستند که طیف وسیعی از علائم بالینی و پراکندگی جغرافیایی متنوعی را به خود اختصاص می‌دهند. این بیماری در شمار بیماری های زئونوز است که بیماریزایی (پروماستیگوت) آن توسط نیش پشه خاکی فلبوتوموس (Phelobotomus) ماده منتقل می‌شوند.

مولف مسئول: مهدی فخار– ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail:mahdif53@yahoo.com
۱. استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکزتحقیقات بیولوژی سلولی ومولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیار گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشیار گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۹/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۹/۲۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۱۱/۲۴

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

جوندگان و سگ سانان، میزبان‌های مخزن و انسان میزبان اتفاقی است(۱). این بیماری بیش‌تر به سه شکل لیشمانیوز احشایی (کالا آزار)، پوستی (سالک)، لیشمانیوز پوستی- مخاطی (اسپوندیا) مشاهده می‌شود. در انسان لیشمانیوز احشایی(VL)، پوستی(CL) و پوستی- مخاطی (MCL) به ترتیب در اثر عفونت ماکروفاژها در سراسر سیستم مونوسیت- ماکروفاژ، پوست و مخاط حلق و بینی به‌وجود می‌آید(۲). براساس آمار سازمان جهانی بهداشت، موارد لیشمانیوز موجود در دنیا ۱۲ میلیون نفر و تعداد افراد در معرض خطر ۳۵۰ میلیون نفر تخمین زده می‌شود(۳). سالک از انواع دیگر بیماری (احشایی و پوستی- مخاطی) شایع‌تر است، به طوری که هر ساله نزدیک به ۷۰ درصد کل موارد جدید گزارش شده (حدود ۱/۵-۱ میلیون نفر) مربوط به این شکل بیماری می‌باشد و ۹۰ درصد موارد سالک جهان، از کشورهای ایران، اتیوپی، الجزیره، افغانستان، سودان شمالی، سوریه، برزیل، پرو، کلمبیا و کاستاریکا گزارش شده است(۴).

ضرورت تهیه واکسن برای بیماری لیشمانیوز

درمان لیشمانیوز به کمک ترکیبات *آنتیموآن* (Antimuan) صورت می‌گیرد که از لحاظ اقتصادی به صرفه نبوده و همراه با عوارض جانبی است و متأسفانه همیشه مؤثر نیست. هم‌چنین مقاومت دارویی به خصوص در انواع آنتروپونوتیک گزارش شده است. مبارزه با مخازن و ناقلین نیاز به بودجه کلان دارد و خصوصاً در مواردی که مخزن بیماری انسان نیست، تقریباً موفق آمیز نبوده است. به نظر می‌رسد که تنها راه مبارزه با این بیماری، یافتن واکسنی موثر می‌باشد و بنا به دلایل متعدد از جمله مصونیت دراز مدت بعد از بهبودی از این بیماری و غیره، پژوهشگران بر این باورند که یافتن چنین واکسنی امکان پذیر است و یافتن واکسنی موثر، گامی بلند در رفع این مشکل خواهد بود(۵). از نظر تاریخی، موثرترین روش پیشگیری، لیشمانیزاسیون است، این روش از قرن‌ها پیش به عنوان روش پیشگیری در ایران باستان مرسوم بوده است، اما به دلیل مشکلاتی از جمله فقدان روش مناسب استاندارد کردن *لیشمانیا ماژور (ل. ماژور)*، که باعث عدم کنترل میزان بروز زخم و پیشرفت ضایعه می‌گردد، امروزه لیشمانیزاسیون کم تر مورد توجه قرار گرفته است. روش پیشگیری ایده آل می‌بایست عوارض جانبی قابل قبول و اثربخشی لازم را داشته باشد که تاکنون در مورد لیشمانیزاسیون امکان دسترسی به آن نبوده است و اگر عوارض ناشی از تلقیح انگل زنده را بتوان به نحوی کاهش داد، شاید بتوان از لیشمانیزاسیون به عنوان روش پیشگیری و ارزیابی واکسن‌ها استفاده کرد. درمان مورد نیاز بر اساس محل ابتلاء به بیماری، گونه‌های *لیشمانیا* و نوع عفونت تعیین می‌شود(۶). برخی از داروهای ممکن برای درمان نوع احشایی بیماری شامل این موارد هستند:

آمفوتریسین B، ترکیبات آنتی موان پنج ظرفیتی (گلوکانتیم و پنتوستام)، پارومایسین(۷) و میلتفوسین(۸). البته برای درمان نوع پوستی بیماری، داروهای پارومایسین، فلوکونازول یا پنتامیدین می‌توانند مؤثر باشند(۹). بسیاری از این داروهای آلی که برای درمان لیشمانیوز استفاده می‌شده‌اند، امروزه به خاطر مقاومت دارویی بی‌اثر شده‌اند. انگل *لیشمانیا دونووانی (ل. دونووانی)* در صورت عدم درمان می‌تواند کشنده باشد و داروهای معمول آلی آن به علت مقاومت دارویی تقریباً بی‌اثر شده‌اند(۱۰). گزارشات متعدد بالینی به خصوص در مناطقی که بیماری به صورت اپیدمیک یافت می‌شود، حاکی از افزایش بیماران مقاوم نسبت به ترکیبات آنتی موان است(۱۱).

مطالعات اخیر در مورد چگونگی مقاومت انگل‌های *لیشمانیا* نسبت به ترکیبات آنتی‌موان در محیط برون‌تنی نشان می‌دهد که عدم پاسخ‌گویی بیمار به درمان با این ترکیبات، به علت پیدایش سوش‌های انگل مقاوم به درمان و میزان اثربخشی متغیر و سمیت آن‌ها است(۱۶-۱۲). مطالعات دیگر مؤید این نظر است که

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

بروز مقاومت به داروهایی از جمله ترکیبات آنتی‌موان، نتیجه درمان ناقص یا ناکافی بیماران بوده که در بعضی از آن‌ها باعث عود بیماری شده است(۱۷). هم‌چنین مطالعه دیگری نشان داد که سوش مقاوم انگل، قدرت بیماری‌زایی و تکثیر بیش‌تری نسبت به سوش حساس ندارد(۱۸). مقاومت *لیشمانیا دنووانی* به داروی سدیم اسیبوگلوکونات (با نام تجاری پنتوستام)، داروی معمول برای درمان بیماری، بسیار گسترده است. محققان دریافتند که در سلول انگل‌های مقاوم، غلظت تیول‌ها (ترکیبات حاوی گوگرد) افزایش می‌یابد. آن‌ها هم‌چنین آنزیم تریپانوتیون ردوکتاز و نیز ژن MRPA (multiple resistance and pH adaptation) را در انگل‌های مقاوم شناسایی کردند. این سه فاکتور موجب افزایش برداشت و حذف دارو از داخل سلول انگل و در نتیجه، مقاومت دارویی می‌گردد. آمفوتریسین B در سال ۱۹۸۰ معرفی شد. این دارو به خاطر فرمولاسیون چربی آن تا حد زیادی باعث کاهش سمیت آن شده است، اما هزینه بالا و سمیت، آن را از دسترس بیماران دور می‌کند(۱۹، ۲۰). میلتفوسین داروی انتخابی دیگری است که تنها داروی خوراکی برای درمان لیشمانیوز احشایی است، با این حال کاهش اثر بخشی میلتفوسین در تعدادی از مطالعات بالینی گزارش شده است(۲۲،۲۱). درمان ترکیبی یک روش برای غلبه بر مشکل مقاومت و سمیت داروهای موجود است. با این حال، هنوز هم خطر افزایش سمیت داروها در بیماران مقاوم به دارو که دچار بیماری ایدز می‌باشند، وجود دارد؛ این بدان معنی است که حتی با درمان ترکیبی، عفونت به سختی به درمان جواب می‌دهد(۲۳). در لیشمانیوز احشایی، در مقایسه با هزینه‌های درمان‌های رایجی که صورت می‌گیرد، یک واکسن تنها پنج سال می‌تواند اثرحفاظتی ۵۰ درصدی در برابر بیماری داشته باشد که هنوز هم می‌تواند موثر باشد(۲۵،۲۴). بنابراین نیاز ضروری برای تهیه واکسن مناسب برای CL و VL در طیف گسترده‌ای از حالات بیماری، از جمله سطوح مختلف انتقال انگل و اکوسیستم انگل وجود دارد. در حال حاضر هیچ واکسنی برای انسان در برابر لیشمانیوز وجود ندارد، اگرچه چندین واکسن در مرحله آزمایشات بالینی می باشد، اما هنوز بیش تر تحقیقات به صورت اولیه و در حال توسعه هستند. در حالت ایده‌آل برای محدود کردن استفاده از داروهای شیمیایی یک واکسن موثر علیه لیشمانیوز نیاز به ایمن سازی طولانی مدت است، که شامل یک پاسخ ایمنی متعادل و قوی از TH1 و TH2 در واکسیناسیون می‌باشد. با توجه به این‌که مطالعات وسیعی در خصوص واکسن‌های ضد لیشمانیا به ویژه انواع نانو واکسن‌ها در دنیا انجام شده است، لذا هدف از مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل انواع مطالعات انجام شده در خصوص این نوع واکسن های جدید، انواع حاملین و ادجوانت ها و معرفی کشورهای پیشتاز در این حوزه می باشد.

مواد و روش ها

مطاله از نوع مروری غیر نظام مند می‌باشد که به تازه ترین مطالب در سال‌های اخیر در زمینه نانو واکسن ها و واکسیناسون علیه بیماری لیشمانیوز و هم‌چنین میزان مشارکت کشورهای مختلف در حوزه واکسن‌های لیشمانیا با استفاده از تکنیک های علم سنجی و بر اساس نمایه نامه های استنادی تامسون پرداخته است.

جستجو طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۶ در پنج پایگاه انگلیسی زبان (Science Direct, Scopus ,Ebsco, PubMed and Google Scholar) و چهار پایگاه فارسی زبان (Elm Net, Barakat Knowledge Network System, Magiran, and the Scientific Information Database (SID)) انجام شد. تمام مقالات مربوط به لیشمانیوز، واکسیناسیون و نانو واکسن‌ها انتخاب شدند. واژه‌های مورد جستجو: "Leishmaniasis"،"*Leishmania*"، "Vaccine"، "Nanovaccine and delivery"، "Antileishmania" در نظر گرفته شدند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

روند توسعه واکسن های لیشمانیا

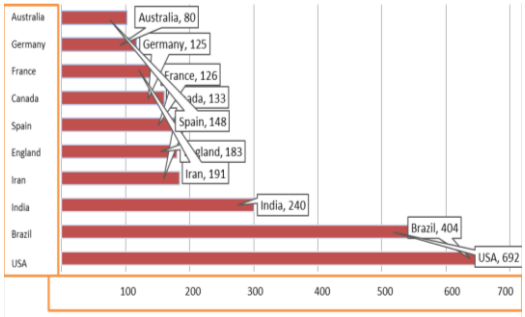
شواهد آزمایشگاهی و بالینی فراوانی، حاکی از قابل کنترل بودن *لیشمانیا* به وسیله واکسیناسیون می‌باشند. دو شاهد که امکان تهیه و تولید واکسن موثر علیه لیشمانیوزها را قوت می‌بخشند، شامل تست پوستی (مونته نگرو) مثبت در افرادی که قبلاً به بیماری مبتلا شده و بهبود یافته اند (فعال بودن سیستم ایمنی سلولی) و دیگری لیشمانیزاسیون با استفاده از پروماستیگوت‌های زنده *ل. ماژور* می‌باشد که باعث محافظت شخص در برابر عفونت‌های بعدی لیشمانیوز پوستی می گردد(۲۶). اما این روش به دلیل ایجاد ضایعات غیر قابل پذیرش از سوی بیماران از جمله موارد بهبود نیافته و ایجاد زخم‌های بد شکل در ایران و سایر کشورها ادامه نیافت. از آن جایی که لیشمانیوز احشایی سالیانه باعث مرگ و میر فراوان در سطح دنیا شده و از نظر اقتصادی هزینه‌های زیادی بر دولت‌ها و افراد جامعه وارد می کند و از طرفی کنترل ناقلین و مخازن حیوانی بسیار مشکل و پرهزینه و دارو درمانی نیز کارایی چندانی ندارد، لذا دسترسی به یک واکسن موثر و کم هزینه به خصوص در مناطق اندمیک بسیار ضروری بوده و کم هزینه ترین استراتژی جهت کنترل بیماری است(۲۸،۲۷). اولین واکسنی که برای لیشمانیوز احشایی انسان استفاده شد، واکسن اتوکلاو شده انگل *ل. ماژور* بود که در شرق سودان مورد ارزیابی قرار گرفت. در حال حاضر، تلاش محققین بر روی آنتی‌ژن‌ها و ادجوانت‌های جدید، واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته، پروتئین‌های زیر واحدی (Sub-unite) و نوترکیب (Recombinant)، DNA برهنه (Naked-DNA) و سلول‌های دندریتیک به عنوان هدف می‌باشند. یک واکسن ایده‌آل علیه لیشمانیوز بایستی دارای چندین خصوصیت باشد، از جمله: ایمن بودن، کم‌ترین تعداد ایمن‌سازی توأم با محافظت طولانی مدت علیه اکثر گونه های ایجاد کننده بیماری، عاری بودن از محصولات حیوانی، مقرون به صرفه بودن و نهایتاً قابلیت مصرف واکسن هم برای درمان و هم به‌منظور پیشگیری. البته سایر خصوصیات مانند تک دوز بودن و استفاده از واکسن بدون سر سوزن را نیز می‌توان در نظر گرفت. لازم به ذکر است علی‌رغم تلاش‌های فراوانی که در زمینه واکسن‌های لیشمانیوز پوستی و احشایی در سطح ایران و جهان انجام گرفته است، تاکنون واکسن ایده‌آلی برای این دو بیماری وارد بازار نشده است. امروزه واکسنی را که حاوی چندین آنتی ژن بوده و ترجیحاً شامل آنتی‌ژن‌هایی باشد که در میان گونه‌های مختلف انگل، ثابت (Conserved) باشد و در سطح آماستیگوت ها به فراوانی بیان شود، به عنوان واکسن ایده‌آلی معرفی نموده اند. البته شناسایی آنتی‌ژن‌های مناسب به تنهایی برای تهیه واکسن ایده‌آل مناسب نیستند، بلکه استفاده از ادجوانت هایی که بتواند به طور قوی پاسخ‌های Th1 را تحریک کند نیز بسیار ضروری است. به طور مثال ادجوانت‌هایی که تاکنون به کار گرفته شده، آلوم و اسکوآلن می باشند که القاکننده‌های ضعیفی برای Th1 هستند. اما آخرین ادجوانتی که با موفقیت به کار رفته، IL-12 می‌باشد. جدیدترین واکسن تهیه شده علیه لیشمانیوزها، واکسن نوترکیب و مرکب از سه آنتی ژن LeIF, TSA, LmST11 می‌باشد که به نام Leish-111f نامگذاری شده است و ادجوانت آن IL-12 می‌باشد. آنتی‌ژن‌هایی که در این واکسن به کار رفته است هم در پروماستیگوت و هم در آماستیگوت انگل وجود دارد و در میان بیش‌تر گونه‌های *لیشمانیا* از جمله *ل. اینفانتوم* و *ل. ماژور* موجود است(۵). بنابراین با استفاده از این واکسن، مصونیت علیه چندگونه از انگل ایجاد می‌شود. از مزایای دیگر این واکسن می‌توان به کاربرد همزمان برای پیشگیری و درمان بیماران (موارد مقاوم به درمان) اشاره نمود. مرحله اول کارآزمایی‌بالینی واکسن در آمریکا با موفقیت به پایان رسیده است و واکسن وارد مرحله دوم کارآزمایی شده است و این تنها واکسن لیشمانیوز است که وارد مرحله دوم کارآزمایی بالینی شده است. تاکنون تنها واکسن ضد *لیشمانیا* موجود به صورت تجاری، واکسنی با

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

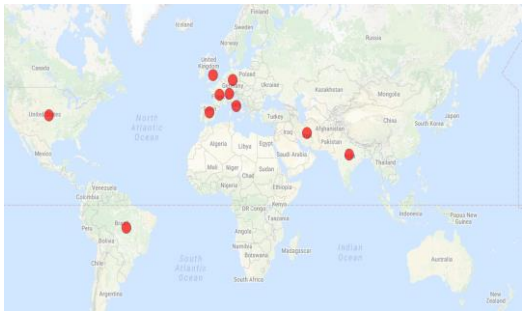
نـام تجـاری Leishmun بـرای سـگ بـوده کـه حـاوی Native fucose mannose-ligand antigen compelx می‌باشد. دلایـل متعـددی محققـین را بـرای پـژوهش در زمینه تولید واکسن ترغیب می‌کند، از جمله ایجاد مصونیت دائمـی بعـد از بهبـودی از زخـم سـالک، امکـان مطالعـه واکسن در مدل‌های حیوانی، امکان کشـت پروماسـتیگوت گونه‌های *لیشمانیا* به صورت خالص و نیز این که معمولاً افـراد بـومی کـه در منـاطق آنـدمیک بیمـاری زنـدگی می‌کنند، بیش از یک بار به لیشمانیوز مبتلا نمـی‌شـوند و بیماری در این افراد خفیف‌تر است. بنا به دلایل مـذکور و تلاش‌های نسبی جهان و این که تولید و ارزیـابی واکسـن لیشمانیوز جزو اولویت‌های سازمان بهداشـت جهـانی در دهه اخیر بوده است(۲۹)، واکسیناسیون مناسب‌ترین فرصت برای پیشـگیری و درمـان بـی‌خطـر همـه اشـکال بیمـاری لیشمانیوز می‌باشـد؛ بنـابراین توسـعه یـک واکسـن ضـد لیشـمانیای ایمـن، مـوثر و مقـرون بـه صـرفه یکـی از اولویت‌های اصلی بهداشت عمومی جهانی است، کـه ایـن رویکرد امیدوارکننده‌ترین باقی مانده است. این مقاله بـه آخرین اطلاعات در مورد واکسن‌هـای نسـل اول، نسـل دوم، نسـل سـوم و واکسـن‌هـای زنـده و بـه خصـوص نانوواکسن‌های *ضدلیشمانیا* اشاره دارد.

کشورهای پیشتاز در حوزهٔ پژوهش های واکسن لیشمانیا

بررسی میزان مشارکت هر یک از کشورهای جهان در پژوهش‌های بین المللی در ارتباط با واکسن لیشـمانیا از موارد دیگری است که در این پژوهش بـا اسـتفاده از تکنیک‌های علم سنجی مورد بررسی قرار گرفت. نتـایج نشان می‌دهد کـه ایـالات متحـده آمریکـا بـا انجـام ۶۹۲ پژوهشِ لیشمانیا در مقایسه با سایر کشـورهای جهـان در رتبهٔ نخست قرار دارد. در بـازهٔ زمـانی ۳۶ سـال (۱۹۸۰-۲۰۱۵)، پژوهشگران این کشور در بالغ بـر ۳۰ درصـد از پژوهش‌های لیشمانیا در جهان سهیم بوده‌انـد. کشـور ایـران نیز با ۱۹۱ مقاله در این حوزه در رتبه چهارم جهـان قـرار دارد. ده کشور پر تولید در حوزهٔ پژوهش‌هـای لیشـمانیا در تصـویر شـماره ۱ و ۲ آمـده اسـت. از نکـات جالـب تصویر شماره ۱، حضور ایران در زمرهٔ کشورهای پیشتاز (رتبهٔ چهارم)، پس از هندوستان می‌باشد و این‌کـه علـی خامسی پور از ایران بیش‌ترین مطالعات و پژوهش را در زمینه واکسن لیشمانیا در دنیا به انجام رسانده است. یکی از مـواردی کـه باعـث تأثیرگـذاری یـک پژوهشـگر در حوزه تخصصـی‌اش مـی‌شـود، نحـوه تعامـل او بـا سـایر پژوهشگران است. توانایی تأثیرگذاری بر دیگران از این طریق باعث می‌گردد تا آن پژوهشگر از نفـوذ اجتمـاعی بالاتری برخوردار شود(۳۰). به عبـارت دیگـر پژوهشـگر دارای نفوذ اجتماعی بالاتر است که قادر باشـد از طریـق تعاملات اجتمـاعی بـا سـایر پژوهشـگران بتوانـد افکـار را تغییر دهد.



تصویر شماره ۱: ده کشور پیشتاز در حوزهٔ پژوهش های واکسن لیشمانیا



تصویر شماره ۲: پراکندگی ۱۰ کشور پیشتاز در پژوهش های واکسن لیشمانیا

همین‌طور که در تصویر شماره ۲ مشخص است، از نظر توزیع جغرافیایی، کشورهای اروپایی با داشتن چهار نماینده در بین ده کشور فعال جهان، فعالیـت بـیش‌تـری

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

پیرامون پژوهش‌های واکسن *لیشمانیا* دارند و قاره آسیا با دو کشورِ هند و ایران در این میان وضعیت نسبتاً خوبی دارد؛ هر یک از قاره‌های آمریکای شمالی دو نماینده و آمریکای جنوبی و اقیانوسیه نیز یک نماینده در این بین دارند. این در حالی است که قارهٔ آفریقا نماینده‌ای در بین کشورهای فعال ندارد.

واکسن های نسل اول

تحقیقات در مورد تولید و ارزیابی واکسن‌های نسل اول که منحصر به استفاده از انگل لیشمانیای کشته شده به تنهایی یا همراه با BCG بود، در دنیای جدید و در دنیای قدیم تحت شرایط GMP تولید و در انسان و سگ مورد ارزیابی قرار گرفت. در دنیای قدیم، واکسن از انگل *ل. ماژور* توسط موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی به تولید انبوه رسید. ابتدا واکسن تجربی شامل لیشمانیای کشته به وسیله حرارت (ALM) مخلوط با مقدار کمی (۰/۱ دوز معمولی) از واکسن سل (BCG) در ایران و پاکستان و سودان مورد ارزیابی بالینی قرار گرفت. نتایج ارزیابی این واکسن نشان داد که اگر چه واکسن بی‌خطر است، اما در برابر ابتلاء به لیشمانیوز (سالک) مصونیت کافی ایجاد نمی‌نماید(۳۱). در ادامه انواع واکسن‌های نسل اول به طور مختصر شرح داده می‌شود:

واکسن حاوی سویه های تضعیف شده

تاکنون چند سویه ضعیف به صورت واکسن پروماستیگوت مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. از جمله سویه ضعیف شده *لیشمانیا برزیلینسیس* که بر روی ۲۰۴ نفر داوطلب بررسی و هیچ حفاظتی در افراد تحت تزریق قرار گرفته مشاهده نشد، ولی ۵۸ درصد افراد واکسینه از نظر واکنش پوستی لیشمانین مثبت شدند(۳۲).

همچنین در مطالعه ای از یک سویه *ل. دونووانی* که به‌طور طبیعی ضعیف بود، برای ایمن‌سازی علیه لیشمانیوز احشایی استفاده کرد. در این مطالعه حدود ۳۰۰۰ نفر تحت بررسی قرار گرفتند که به دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم شدند. نتایج مشخص کرد که هیچ اختلافی در میزان بروز ضایعه لیشمانیوز پوستی بین دو گروه وجود ندارد(۲۶). این نتایج مایوس‌کننده با نتایج ایمن‌سازی علیه لیشمانیوز پوستی با استفاده از سویه بیماری زا مطابقت داشت. چرا که در لیشمانیوز پوستی فقط در صورت ظهور زخم ایمنی ایجاد می‌شود(۳۲).

واکسن کشته شده

درعصر قدیم، تلاش‌های محققین ازجمله Berberian در سال ۱۹۴۴ برای ایجاد یک واکسن با استفاده از پروماستیگوت‌های کشته شده مأیوس‌کننده بوده است(۳۳). در قاره آمریکا پیشگام این مطالعات، Salles Gomes بوده است که به افراد دارای ضایعات پوستی لیشمانیایی، عصاره پروماستیگوت‌های کشته شده را تزریق کرد و پاسخ‌های متفاوتی بر اساس این که تزریق چگونه انجام شده بود، مشاهده کرد. وی براساس این مشاهدات، نتیجه گیری کرد که با این روش می توان به واکسنی علیه *لیشمانیا* دست یافت(۳۴). یک سال بعد، ایده او توسط Pessoa در برزیل به کار گرفته شد و واکسنی که از سویه‌های مختلف *لیشمانیا* ساخته شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت(۳۴). ۳۵ سال بعد یعنی در سال ۱۹۸۷، Mayrink و همکاران این مطالعات را با استفاده از تلقیح یک واکسن کشته شده پروماستیگوت که حاوی ۵ سویه متفاوت *لیشمانیا* از نواحی مختلف برزیل بود، تجدید کردند(۳۵). از دو تجربه دیگر که در ناحیه آمازون صورت گرفت، نتیجه‌گیری شد که این واکسن قادر است میزان بروز سالیانه لیشمانیوز پوستی را در میان افراد واکسینه شده که پس از دریافت واکسن دارای یک آزمایش جلدی مثبت بوده‌اند، تا ۷۰ درصد کاهش دهد. در ایران سویه‌ای از *ل. ماژور* که برای لیشمانیزاسیون استفاده می‌شد، در تولید یک واکسن با شرایط GMP توسط انستیتو رازی حصارک مورد استفاده قرار گرفت. فاز ۱ و ۲ مطالعات از سال ۱۹۹۱ آغاز شد و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

دوزهایی از آنتی‌ژن‌های کشته شده *لیشمانیا* به داوطلبان داده می‌شد و درخلال آن برخی از آزمون‌های آزمایشگاهی و پارامترهای ایمنی‌شناسی مثل تغییر وضعیت آزمون جلدی سنجش می‌شد.

در روند این مطالعات مشخص شد که فرآورده آنتی ژن *لیشمانیا* بسیار ناپایدار است و نگهداری واکسن حتی در ۷۰- درجه سانتی‌گراد، مانع فعالیت پروتئولیتیک آنزیمی نمی‌شود(۳۳). این امر منجر به جستجوی روشی برای ثابت نگهداشتن واکسن شد. مطالعات مدل حیوانی واکسن‌های کشته شده با استفاده از چند جنس مختلف صورت گرفته است.

در نخستین ایمن‌سازی موفقیت آمیز در مدل موش، با استفاده از ارگانیسم‌های کشته شده، Howard و همکاران در سال ۱۹۸۲ نشان دادند تزریق داخل صفاقی یا درون وریدی که *ل. ماژور* در معرض اشعه گاما قرار گرفته بود، به گروه‌های مختلف حیوان، آن‌ها را در مقابل چالش عفونت زا مقاوم می‌کند. با این وجود، موش‌ها در زمان چالش، DTH منفی بوده‌اند(۳۶).

در این مطالعه و بررسی‌های دیگر، راه‌های مختلف ایمن‌سازی از قبیل زیر پوستی یا داخل عضلانی نه فقط مصونیت ایجاد نکرده است بلکه موجب وخیم تر شدن بیماری شده است(۳۷).

در مدل میمون‌های Vervet، تزریق داخل پوستی پروماستیگوت‌های کشته شده *ل. ماژور* همراه با BCG یا بدون آن موجب برانگیختن پاسخ قوی DTH شده است، ولی تولید اینترفرون گاما کم بوده یا اصلاً وجود نداشته است. پس از چالش حیوانات ایمن شده با پروماستیگوت‌های ویرولان *ل. ماژور*، حفاظت قاطعی مشاهده نشده است(۳۸).

واکسن های نسل دوم

واکسن های نسل دوم یا واکسن‌های نوترکیب در واقع قطعات نوترکیب از پروتئین‌های ایمونوژنیک انگل *لیشمانیا* می‌باشند. هدف از مطالعات واکسن نسل دوم، واکسن‌های ساب یونیت متشکل از پروتئین‌های نوترکیب یا پلی‌پروتئین تولید شده توسط کلونینگ DNA می‌باشد. نسل دوم واکسن‌های خالص شده، مثل پروتئین های نوترکیب همراه با ادجوانت‌ها و یا بیان شده در دیگر وکتورهای میکروبی است، که نشان دادند برای واکسیناسیون همگانی، بیش‌تر کاربرد دارند(۳۱،۲۹). بنابراین، پاسخ به دست آمده از واکسن نسل دوم می‌تواند با ادجوانت‌های مربوطه بیش‌تر تقویت شود(۳۱). با این حال، واکسن نسل دوم با ادجوانت‌های مختلف و قدرت بیش‌تری همراه است. چون آنتی‌ژن‌های خام حاوی بسیاری از ایمونوژن‌های ناشناخته است، به منظور محدود نمودن تاثیرات سوء واکسن بهتر است واکسن‌ها حاوی آنتی‌ژن‌های خالص یا مشتقاتی از آن‌ها باشند که ویژگی‌های ایمنی شناسی آن‌ها به دقت تعیین شده باشد. مطالعات نشان داده است که نه فقط آنتی‌ژن‌های غشایی انگل *لیشمانیا* قادر به ایجاد حفاظت هستند(۳۹)، بلکه آنتی‌ژن‌های غیر غشایی نیز همین حفاظت را ایجاد می‌کند(۴۰).

محققین در سال‌های گذشته ثابت کرده‌اند که اجزاء آنتی‌ژن ممکن است موجب حفاظت و یا وخیم‌تر شدن بیماری شود. راهی که آنتی ژن به سیستم دفاعی میزبان عرضه می‌شود، اغلب سرنوشت بیماری را متعاقب عفونی شدن تعیین می‌کند(۴۰). در این زمینه، سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن دارای نقشی حساس هستند. بسیاری از اجزاء ایمونوژن مربوط به غشاء یا سیتوپلاسم *لیشمانیا* در مطالعات سال‌های اخیر واکسن مورد مطالعه قرار گرفته‌اند(۴۱). آخرین گزینه‌هایی که برای واکسن‌های نسل دوم به عنوان کاندید مطرح می‌باشند شامل gp63, HASPB1,LCR1, P/36 KACK, SP15 PSA-2, LeIF, H1, LmST11 ، آنتی ژن‌های LD1، سیستئین پروتئیناز A و B، TSA و gp46 (M-2) می‌باشند که در ادامه به آن‌ها اشاره می‌شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

لیپوفسفوگلیکان (LPG)[1]

LPG در همه گونه‌های *لیشمانیا* یافت می شود و فراوان ترین ترکیب سطحی انگل است(۴۳). LPG با اشکال متفاوتی در سطح آماستیگوت و پروماستیگوت ظاهر می‌شود و حاوی ساکاریدهای فسفریله شده است که توسط یک هسته هیدرات کربن به یک قلاب لیپیدی متصل است. این ماده فوق‌العاده ایمونوژن است و ایمن‌سازی موش‌های حساس با LPG خالص شده *ل. ماژور*(۴۰) و یا ایمن‌سازی موش‌های حساس با LPG خالص شده *لیشمانیا* مکزیکانا منجر به حفاظت کامل یا نسبی شده است. به نظر می‌رسد حضور جزء لیپیدی این مولکول برای حفاظت ضروری است زیرا تزریق جزء فاقد لیپید تنها باعث تشدید بیماری پس از عفونت می‌شود(۴۲). جدا سازی LPG با روش‌های مذکور همراه با اتصال این ماده با مواد پپتیدی بوده است و بنابراین روشن نیست که LPG خود حاوی اپی‌توپ‌های سلول T باشد. گروهی پیشنهاد می‌دهند که پاسخ سلول‌های انسان به LPG در حقیقت پاسخ به این مانده‌های پروتئینی متصل به LPG است زیرا که در معرض پروتئیناز قرار گرفته است و قادر به تحریک پاسخ سلول T نیست. بنابراین مکانیسم حفاظت و استفاده احتمالی از واکسنی بر اساس LPG نیاز به مطالعات بیش‌تری دارد(۳۱).

گلیکوپروتئین ۶۳ (gp63)

گونه‌های مختلف *لیشمانیا* دارای یک گلیکوپروتئین بر روی سطح‌شان هستند که گلیکوپروتئین سطحی اصلی *لیشمانیا* می‌باشد و gp63 نامیده می‌شود. این گلیکوپروتئین یک متالوپروتئیناز سطحی می‌باشد و ۶۳ کیلو دالتون وزن مولکولی آن است(۴۳). این پروتئین نقش مهمی در ورود انگل به ماکروفاژها و متعاقباً زنده ماندن درون فاگوزوم‌ها دارد. gp63 به عنوان یک لیگاند برای اتصال انگل به گیرنده ماکروفاژ عمل می کند(۴۴). gp63 هم در فرم پروماستیگوت و هم در فرم آماستیگوت انگل *L.* major بیان می‌شود. این گلیکوپروتئین هم‌چنین یک واکسن کاندید برای مقابله با لیشمانیوز می‌باشد(۴۵).

در پروماستیگوت، gp63 به میزان زیادی روی سطح انگل عرضه می‌شود و بیش از ۳۶ ساعت داخل ماکروفاژ روی سطح انگل زنده می‌ماند. به همین دلیل پیشنهاد می شود که gp63 می‌تواند به عنوان یک فاکتور بیماری‌زا در فاز اولیه عفونت وارد عمل شود(۴۶). برای مقابله با لیشمانیوز و ابداع واکسن، نوع نوترکیب gp63 یعنی (rgp63)[2] نیز تهیه شده است(۴۷). rgp63 در مقایسه با gp63 طبیعی فاقد مولکول‌های متصل قندی بوده و وزن مولکولی آن ۵۴ تا ۵۸ کیلو دالتون می‌باشد. نشان داده شده است که rgp63 به صورت ایمونولوژیک به وسیله مونوکلونال آنتی‌بادی‌های موشی (mAbs) تهیه شده علیه gp63 *ل. ماژور* و هم‌چنین سلول‌های T انسانی شناخته می‌شود. سلول‌های T پرایم شده به gp63 قادر به شناسایی rgp63 دناتوره شده نیز می‌باشند. در یک مطالعه نشان داده شده است rgp63 باعث DTH مثبت در میمون‌های Vervet که زخم‌های سالکی مشابه انسان ایجاد می کنند، می‌شود، ولی به تنهایی یا به همراه BCG به عنوان ایمونوادجوانت برای القاء ایمنی سلولی فقط به مقدار نسبی (۵۰ درصد) از میمون‌ها در مقابل چالش با انگل زنده محافظت می کند(۴۸). در مطالعات دیگر، فرم های لیپوزومی rgp63 قادر به ایجاد مصونیت تا ۷۵ درصد در مقایسه با گروه‌های کنترل شده می‌باشد(۳۱). در یک بررسی توانایی rgp63 محصور در لیپوزوم برای القاء پاسخ ایمنی و محافظت در برابر عفونت *ل. ماژور* در موش‌های حساس بالب/ سی (BALB/c) مورد مطالعه قرار گرفته است. در این بررسی لیپوزوم‌های حاوی rgp63 از لسیتین تخم مرغ و کلسترول با استفاده از روش حلالیت دترجنت تهیه شده‌اند. در مصون‌سازی

1. lipophosphoglycan

2. recombinant GP63

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

موش‌های بالب/ سی (BALB/c)، rgp63 تنها، محافظت نسبی‌ای را نشان داده است در حالی که rgp63 محصور در لیپوزوم نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظهٔ محافظت در برابر عفونت بوده است. مشاهده تعداد انگل در طحال موش‌های چالش شده با انگل *ل. ماژور* در گروه‌های مصون شده با rgp63 تنها و rgp63 محصور در لیپوزوم به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه‌های کنترل بوده، هرچند کم‌ترین تعداد انگل در گروه rgp63 محصور در لیپوزوم مشاهده شده است. rgp63 تنها و rgp63 محصور در لیپوزوم هر دو پاسخ DTH قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل ایجاد کرده‌اند که این پاسخ نیز در گروه rgp63 تنها کم‌تر از rgp63 محصور در لیپوزوم بوده است. هم‌چنین تیتر ایزوتایپ‌های IgG ضد *لیشمانیا* (IgG2a/IgG1) غالب بودن پاسخ ایمنی نوع Th1 (ایمنی سلولی) را تنها در گروه rgp63 محصور در لیپوزوم نشان داده است. در نتیجه می‌توان گفت لیپوزوم می‌تواند ایمونوادجوانت مناسبی در توسعه واکسن *لیشمانیا* باشد(۴۹). بنابراین rgp63 نیز می‌تواند به عنوان واکسن کاندید علیه *لیشمانیا* باشد ولی از نظر ایمن‌زایی ضعیف بوده و نیاز به تقویت اثر با استفاده از ایمونوادجوانت‌های دیگر دارد.

نوکلئاز LmaCIN (Leishmania major class I nucleases)

LmaCIN یک نوکلئاز با وزن مولکولی ۳۵/۵ کیلو دالتون می‌باشد که دارای ۳۱۶ آمینواسید است. انگل‌های *لیشمانیا* قادر به سنتز اسیدهای نوکلئیک پورینی نیستند. بنابراین برای تهیه این نوع از اسیدهای نوکلئیک متکی به استفاده مجدد از نوکلئوتیدها می‌باشند. LmaCIN یک آنزیم نوکلئوتیداز می‌باشد که با هیدرولیز کردن اسیدهای نوکلئیک در ناحیه ۳-نوکلئوتید، باعث فراهم آمدن پورین‌ها می‌شود. این آنزیم فقط در فرم آماستیگوت داخل سلولی بیان می‌شود و نشان داده شده است که این پروتئین قادر به القاء ایمنی سلولی Th1 می‌باشد و می‌تواند واکسن کاندید مناسب برای مقابله با لیشمانیوز پوستی باشد(۴۷).

Leishmania-derived recombinant poly-protein (Leish-111f) or LEISH-F1

Leish-111F یک پلی آنتی ژنی که متشکل از سه آنتی‌ژن SA، LEIF، LMST11 است. آنتی‌ژن‌هایی که در این واکسن به کار رفته است هم در پروماستیگوت و هم در آماستیگوت انگل وجود دارد و در میان بیش‌تر گونه‌های *لیشمانیا* از جمله *ل. اینفانتوم* و *ل. ماژور* موجود است. بنابراین با استفاده از این واکسن مصونیت علیه چند گونه از انگل ایجاد می‌شود. از مزایای دیگر این واکسن می توان به کاربرد هم زمان برای پیشگیری و درمان بیماران (موارد مقاوم به درمان) اشاره نمود. مرحله اول کارآزمایی بالینی واکسن در آمریکا با موفقیت به پایان رسیده است و واکسن وارد مرحله دوم کارآزمایی شده است و این تنها واکسن لیشمانیوز است که وارد مرحله دوم کارآزمایی بالینی شده است. هنگامی که با monophosphoryl lipid A-stable emulsio (MPL-SE) ترکیب می‌شود، باعث پاسخ ایمنی قوی از نوع Th1 می‌شود. در مطالعه Coler و همکارانش بر روی این ژن، افزایش پاسخ ایمنی هومورال و سلول T قوی برای آنتی ژن واکسن را در موش بالب/سی (BALB/c) نشان داد. تجزیه و تحلیل پاسخ‌های ایمنی سلولی واکسینه موش سالم نشان داد که تزریق واکسن، افزایش قابل توجهی در CD4 (+) سلول‌های T، تولید اینترفرون گاما، اینترلوکین ۲ و سیتوکین فاکتور نکروز تومور و یک پاسخ ایمنی Th1 نشان می‌دهد. عفونت تجربی موش‌های واکسینه و هامستر نشان داد که Leish-111f + MPL-SE باعث حفاظت قابل توجهی در برابر عفونت *ل. اینفانتوم* می‌شود(۵۰).

Hydrophilic Acylated Surface Proteins (HASP)

آنتی‌ژن HASP از خانواده Hydrophilic Acylated Surface Proteins است، که حاوی انواع گسترده و متنوع اسید آمینه‌های تکراری در ساختمانش است که در غشای پلاسمایی در عفونت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

خارج سلولی (metacyclic) و داخل سلولی (amastigote) در گونه‌های لیشمانیای دنیای قدیم بیان می‌شود. در حالی که HASPs در میزبان آنتی‌ژنیک هستند و می‌توانند پاسخ‌های ایمنی حفاظتی بدن را القاء کنند، اما عملکردهای بیولوژیک از این پروتئین‌های اختصاصی *لیشمانیا* حل نشده باقی مانده است. تجزیه و تحلیل ژنوم قبلی نشان داده است که انگل از زیر جنس *لیشمانیا* (Viannia) ژن HASP از ژنوم خود را از دست داده‌اند(۵۱).

واکسن های نسل سوم

امیدوارکننده‌ترین و هیجان انگیزترین زمینه تحقیقاتی در واکسن‌ها به دنبال این مشاهده آغاز شد که تزریق پلاسمید DNA برهنه کدکننده آنتی‌ژن‌های کلون شده در عضله، منجر به بیان آنتی ژن بر روی سطح سلول‌های عضلانی و تولید پاسخ ایمنی شد. واضح است که DNA جذب شده و سپس به RNA تبدیل شده و سپس به صورت یک پروتئین بر روی سطح سلول بیان شده است و در آن جا سبب تحریک سیستم ایمنی شده است.

DNA واکسن‌ها جزء نسل سوم واکسن‌ها قرار می‌گیرند. آن‌ها به دلیل تولید راحت و ارزان مورد توجه می‌باشند(۳۶)، اما به دلایلی از قبیل بار منفی و اندازه بزرگ DNA و هم‌چنین عواقب نامعلوم ورود آن به ژنوم، استفاده محدودی دارند. هم‌چنین انتخاب وکتوری مناسب و کارآمد به منظور تهیه واکسن های نوترکیب از موانع موجود در تهیه واکسن های نسل سوم می‌باشد(۴۸).

Leishmania homologue for receptors of activated C kinase (LACK)

ژن LACK یک پروتئین متصل شونده پلاسمینوژنی از *ل. ماژور* است. این ژن یک آنالوگ از پروتئین‌های RACK (receptor for activated C-kinase) است که در یوکاریوت‌ها عرضه می‌شود که از خانواده پروتئین‌های WD40 می‌باشد. RACKs ها به خاطر نقش تثبیت کنندگی فرم فعال پروتئین کیناز C شناخته می‌شود و علاوه بر این به عنوان پروتئین‌های واسطه فعل و انفعالات پروتئین- پروتئین و هم‌چنین به عنوان آداپتورهایی برای پروتئین‌های multicomplex درگیر در مسیرهای سیگنالی نقش دارند. عملکرد مولکولی ژن LACK به خوبی مشخص نشده است، اما عملکرد ایمونولوژیک آن به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. LACK به عنوان واکسن‌های مدل موشی بیش‌تر استفاده می شود و ثابت شده که این آنتی ژن برای زنده ماندن انگل و برای پایداری انگل در بدن میزبان ضروری است(۵۳،۵۲). هم‌چنین محصول ژن LACK پاسخ ایمنی سریعی علیه انگل ایجاد می‌کند. اگر در ایمنی‌زایی علیه لیشمانیوز، همراه با LACK DNA همراه با لیپوزوم استفاده شود، باعث انتقال و تولید ایمنی هومورال و سلولار و ایجاد اثرات حفاظتی خوبی علیه لیشمانیوز می‌شود(۵۲).

سایر واکسن‌ها

واکسن های علیه غدد بزاقی پشه خاکی

دسته دیگری از واکسن‌ها، واکسن‌های فاقد انگل *لیشمانیا* هستند که علیه بزاق پشه عمل می‌کنند. مشاهده افزایش بیماری‌زایی و تشدید عفونت *لیشمانیا* توسط عصاره غدد بزاقی پشه منجر شد که این واکسن‌ها در چند دهه اخیر مورد توجه قرار گیرند(۴۵). در نظر گرفتن این فرضیه که حضور اجزایی در بزاق پشه ناقل می‌تواند در ایجاد بیماری ضروری باشد، این راهکار را ارائه می‌دهد که ایجاد ایمنی در برابر آنتی‌ژن‌های مربوط به حامل به عنوان روشی غیر مستقیم جهت ایمن‌سازی علیه بیماری به کار رود(۵۴).

در بررسی غدد بزاقی پشه *فلبوتوموس پاپاتاسی (Phlebotomus papatasi)*، تعداد نه پروتئین شناسایی شد که در میان آن‌ها، یک مولکول با وزن ۱۵ کیلو دالتون (SP15) بیش‌ترین توانایی را در ایجاد ایمنی در مقابل پیشرفت بیماری در موش نشان داد. واکسینه کردن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

موش با پلاسمیدی که مولکول SP15 را کد می‌کرد، با افزایش تولید آنتی‌بادی anti-SP15 و پاسخ افزایش حساسیت تأخیری در محل تزریق انگل، ایمنی بالایی را در موش القاء کرد. این مشاهدات دلایل محکمی بر مفید بودن ساخت یک واکسن با استفاده از بزاق پشه ناقل ارائه می‌دهد. از آن‌جایی که بزاق اکثر پشه‌های ناقل این بیماری، بیماری ایجاد شده توسط همه گونه‌های *لیشمانیا* را تشدید می‌کند، ایمن‌سازی میزبان علیه پروتئین‌های غدد بزاقی پشه می‌تواند او را در مقابل هر گونه‌ای از *لیشمانیا* و توسط هر پشه‌ای که منتقل شود، ایمن سازد(۵۴).

انواع حاملین نانوذره‌ای

نانوتکنولوژی در تمامی جنبه‌های زندگی بشر وارد شده است و در پزشکی در زمینه دارورسانی، ژن‌رسانی و رهایش واکسن‌ها هم کاربردهای زیادی پیدا کرده است. بدون شک کاربرد نانوذرات به عنوان سیستم‌های کپسوله‌کننده اجزای فعال بیولوژیک کسر عظیمی از تحقیقات در این فناوری را شامل می‌شود. به طور کلی می‌توان گفت که این سیستم‌های رهش نانوذره‌ای از یک طرف واکسن‌ها را پایدار کرده و سبب می‌شوند که آنتی‌ژن‌ها شکل طبیعی خود را حفظ کنند و از طرف دیگر نقش ادجوانتی دارند. به علاوه بعضی از این نانوذرات قادرند که از مسیرهای مختلفی وارد سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن شوند و بدین وسیله پاسخ ایمنی به آن آنتی‌ژن را تنظیم کنند. ویژگی‌های نانوذرات آن‌ها را برای استفاده در سطوح موکوسی و تجویز داخل پوستی مناسب می‌سازد. نانو حامل‌ها در دسته‌های مختلفی همچون نانو ذرات ساخته شده از فلز، پلیمر، هیدروژل، سرامیک، نانو لوله‌های کربنی، کیتوزان، نانوذرات پروتئینی حامل های مبتنی بر لیپید مانند لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، نانوذرات لیپیدی جامد (SLN)، ویروزوم‌ها و نیوزوم‌ها طبقه‌بندی می‌شود(۵۵). در ادامه به انواع مطالعات در زمینه نانو واکسن‌های *لیشمانیا* در جهان اشاره می‌شوند.

لیپوزوم ها (Liposome)

لیپوزوم‌ها، وزیکول‌های میکروسکوپی هستند که از دو لایه فسفولیپیدی تشکیل می شوند و حاوی فازهای آبی هستند. ترکیبات مختلف درمانی (هم محلول در آب و هم محلول در چربی) را می‌توان وارد لیپوزوم کرده و کارآیی و اختصاصیت آن را افزایش داد(۵۶). علاوه بر این لیپوزوم‌ها ایمونوادجوانت‌های مؤثر برای آنتی‌ژن‌های پروتئینی هستند(۵۸،۵۷). این وزیکول‌ها برای طیف‌های مختلفی از آنتی‌ژن‌ها قادر به تحریک هر دو پاسخ ایمنی هومورال و سلولی هستند(۵۹،۶۰). یکی از مهم‌ترین ویژگی های لیپوزوم‌ها به عنوان ایمونو ادجوانت، توانایی آن‌ها در تحریک سیستم ایمنی سلولی به صورت اختصاصی است(۵۸). این هدف به وسیله روش‌های مختلف مانند انتخاب فسفولیپید مناسب(۶۳-۶۱)، انتخاب بار الکتریکی مناسب روی سطح لیپوزوم‌ها(۶۴)، پوشش دادن لیپوزوم ها با ترکیب‌های قندی حاوی اولیگومانوز نظیر مانان(۶۵) و تهیه لیپوزوم‌ها به طوری که آنتی‌ژن در سطح لیپوزوم‌ها یا در قسمت دو لایه لیپوزوم ها قرار گیرد (به جای این که در فاز آبی داخلی لیپوزوم ها قرار گیرد) قابل دست یابی است(۶۶). Alving اولین فردی بود که از لیپوزوم به عنوان حامل برای درمان تجربی *لیشمانیا* استفاده کرد و نشان داد که لیپوزوم مورد استفاده برای به دام افتادن داروهای antimonials اثر بخشی آن ۷۰۰ برابر در مقایسه با داروی غیر محبوس (بدون لیپوزوم) افزایش یافته است(۶۸،۶۷). بیش‌ترین مطالعات در زمینه واکسن های لیپوزومال *لیشمانیا* به ترتیب در کشورهای هند، ایالات متحده آمریکا، برزیل، ایران و انگلستان انجام گرفته است. موثرترین عملکرد لیپوزوم ها در کاربردهای مربوط به واکسن شامل حفاظت آنتی‌ژن‌ها در مقابل حذف از بدن و رهایش آن‌ها به سلول‌های تخصصی عرضه‌کننده آنتی ژن (APC) است. لیپوزوم‌ها قادرند فرایند مهاجرت آنتی‌ژن‌ها و رهایش آن‌ها را به APC ها تسهیل کرده و پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولار را تحت مسیرهای عرضه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

آنتی‌ژن به وسیله MHC کلاس یک و دو القا کنند. لیپوزوم‌ها هم‌چنین می‌توانند بیان ژن های کموکاین‌های متنوعی هم‌چون CCL2، CCL3 و CCL4 را به‌وسیله سلول‌های دندریتیک افزایش دهند. به علاوه این ساختارها، آنتی‌ژن‌ها را از تجزیه سریع داخل APCها محافظت کرده و از این رو فعال‌سازی اولیه سلول‌های T را در شرایط درون تنی طولانی می‌کنند. ثابت شده تعادل بین پاسخ‌های Th1 و Th2 با تغییر اندازه وزیکول قابل دستیابی است. مورد دیگر، بار سطحی وزیکول‌هاست که بر خاصیت ادجوانتی لیپوزوم‌ها تاثیرگذار است. بار سطحی خالص لیپوزوم‌ها را می‌توان به‌صورت مثبت یا منفی در آورد و این کار به راحتی با تغییر ترکیب فسفولیپیدی آن‌ها امکان‌پذیر است. نشان داده شده که ماهیت بار به حفاظت در مقابل لیشمانیوزیس و پاسخ‌های آنتی بادی موثر است(۶۹). در زمینه لیپوزوم‌ها و نقش آن‌ها در رهایش داروهای سایتوتوکسیک، واکسن‌ها و ژن‌ها مطالعات بسیاری صورت گرفته است(۷۱،۷۰). در سال ۲۰۰۸ طی مطالعه‌ای توسط بدیعی با استفاده از لیپوزوم CpGODN در برابر لیشمانیوز در موش BALB/c، نشان داد که مهار معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) از عفونت در موش‌های واکسینه با لیپوزوم rLmSTI1-CpG ODN نسبت به گروه‌های دیگر دیده می‌شود و هیچ انگلی از *ل. ماژور* در طحال این گروه پس از ۱۴ هفته دیده نشد(۷۲).

علوی‌زاده و همکاران با مطالعه روی نقش نانوذرات لیپوزوم Protamin-DNA حاوی CpG در عفونت ناشی از *ل. ماژور* در موش‌های BALB/c نشان دادند که در گروه دریافت‌کننده نانوذرات لیپوزومی، ضایعات به‌طور قابل توجهی کوچک‌تر بوده و در این گروه، کاهش تعداد انگل *ل. ماژور* در طحال و غدد لنفاوی دیده می شود. به علاوه استفاده از لیپوزوم حاوی CPG پاسخ ایمنی از نوع Th1 با غلبه تیتر ایزوتیپ IgG2a ایجاد می کند(۷۳).

هروی شرق و همکاران در طی مطالعه‌ای، اثر لیپوزوم SA (استئاریل آمین) همراه با PO CpG ODNs یا PS CpG ODNs بر روی انگل لیشمانیا، نشان دادند که درصد بالاتری از حفاظت فرمولاسیون لیپوزومال نسبت به گروه کنترل در موش ها دیده می شود. علاوه بر این، تفاوت معنی‌داری در تولید پاسخ ایمنی وجود ندارد(۷۴). تحقیقات بر روی WLL کامل نشده و کیفیت و میزان القاء پاسخ ایمنی توسط آن هنوز به درستی مشخص نیست. اما WLL دارای مزایایی نسبت به SLA(Soluble Leishmania Antigen) است. اولاً روش تولید آن ساده‌تر است و ثانیاً محتوای آنتی ژنی کامل‌تری نسبت به SLA دارد چرا که SLA تنها شامل پروتئین‌های محلول در آب انگل است ولی WLL شامل تمامی پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و محتوای ژنتیکی انگل *لیشمانیا* می باشد.

نیوزوم (Niosome)

نیوزوم‌ها، وزیکول‌های تشکیل شده از سورفکتانت‌های غیر یونی هیدراته به اضافه کلسترول و یا مشتقات آن است. غشاء حبابچه ای نیوزوم‌ها متشکل از ترکیبات روغنی یا الکل است. این وزیکول ها می‌توانند به عنوان سیستم‌های رهایش آنتی‌ژن‌های *لیشمانیا* عمل کنند. این ساختارها قادرند که پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولار را در مقابل شماری از آنتی‌ژن‌ها همانند آلبومین سرم گاوی و هپاتیت B ایجاد کنند. در یک مطالعه نشان دادند که تجویز زیر پوستی gp63 خالص به صورت انکپسوله در نیوزوم می تواند پاسخ های ایمنی مناسبی در موش‌های C57BL/10 در مقابل لیشمانیوز پوستی فراهم کند(۷۵).

در مطالعه‌ای دیگر، پرداختی و همکاران گزارش کردند که نیوزوم‌های حاوی *ل. ماژور* اتوکلاو شده در مقایسه با آنتی‌ژن‌های تنها (انگل‌های کشته شده به تنهایی) قادر به حفاظت بالاتری در موش‌های BALB/c است(۷۶).

در مقایسه با لیپوزوم‌ها، نیوزوم ها چندین مزیت دارند که آن‌ها را کاندیدهای مناسبی برای رهایش دارو

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

یا آنتی‌ژن‌ها می‌سازد. به عنوان مثال تولید با قیمت مناسب، پایداری و خلوص بالا، ذخیره‌سازی آسان و امکان ساخت آن‌ها با اندازه‌های دلخواه توسط اکسترودر. نیوزم‌ها قادرند انواع مختلفی از داروها، پروتئین‌ها و واکسن‌ها را در خود به دام بیندازند(۷۷). از لحاظ ساختمانی شبیه به لیپوزوم‌ها و مانند آن‌ها کروی شکل‌اند. نیوزوم‌ها با غلبه بر برخی از معایب مرتبط با لیپوزوم، انطباق‌پذیری و تاثیرگذاری بیش‌تری را نسبت به آن ها فراهم می‌کند. با این حال، مطالعات محدودی در رهایش نیوزومی داروهای ضد *لیشمانیا* انجام شده است.

ویروزوم

ویروزوم‌ها فرمولاسیون های لیپوزومی هستند که دو لایه فسفولیپیدی آن‌ها حاوی پروتئین‌های سطحی ویروس آنفولانزا می‌باشد. گنجاندن پروتئین‌های سطحی ویروس‌های پوشش‌دار (enveloped virus) در داخل غشاء دو لایه لیپوزومی اولین بار توسط Almeid و همکارانش در ۱۹۷۵ تشریح شد(۷۸). علت این گرایش، پدیده تغییر شکل ساختار پروتئینی پوشش‌های ویروسی در مواجهه با شرایط بیولوژیکی متفاوت است که به ورود موفق ویروس به داخل سیتوزول سلول هدف منجر می‌شود و در چند ویروس پوشش دار شامل ویروس آنفولانزا (*Influenza virus*)، ویروس عامل بیماری التهاب وزیکولی مخاط دهان (*vesicular stomatitis virus*)، ویروس عامل بیماری نیوکاسل (*Newcastle disease virus*) و ویروس سندایی (*Sendai virus*) مشاهده می‌گردد. یکی از سیستم‌های پیشرفته ویروزومال جهت دارو/آنتی ژن رسانی هدفمند (target delivery) با آزادسازی کنترل شده (controlled release) دارو/آنتی ژن، سیستم IRIVs (Immonopotentiating reconstituted influenza virosome) است که اساس آن‌ها حضور پروتئین پوشش ویروس آنفولانزا در دولایه فسفولیپیدی می‌باشد. هماگلوتینین (Hemagglutinin-HA) پروتئین اصلی آنفولانزا است که مسؤول فیوژن ویروس با غشاء اندوزوم است. از طرفی ورود ویروس آنفولانزا به داخل سلول‌ها، از طریق اندوسیتوز (و تشکیل اندوزوم) با واسطه‌گری گیرنده‌های سیالیک اسید اتفاق می‌افتد. ویروزوم در مقایسه با لیپوزوم خواص ادجوانتی مناسب‌تری دارد، از جمله، توانایی ویژه آن در ورود به داخل سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (Antigen presenting cells)، ارائه مناسب محتوای آنتی ژنی خود به سلول‌های ایمنی، توانایی تحریک بیش‌تر سیستم ایمنی سلولی و هومورال. لازم به ذکر است که تاکنون دو محصول ویروزومال، یکی اینفلکسال (Inflexal®) (واکسن علیه ویروس آنفولانزا) و دیگری اپیکسال (Epaxal®) (واکسن علیه ویروس هپاتیت B) به صورت تجاری تولید شده‌اند که توان صنعتی شدن فرمولاسیون های تهیه شده علیه *لیشمانیا* را در صورت ایجاد مصونیت علیه لیشمانیوز نشان می‌دهد.

مطالعات ایمونولوژی خصوصاً در مدل موشی نشان می‌دهد که مصونیت در لیشمانیوز، نیازمند بروز پاسخ ایمنی سلولی (پاسخ Th1، عمدتاً تولید IFN-γ) و عدم بروز پاسخ ایمنی هومورال (پاسخ Th2، عمدتاً تولید IL-4) است. مدل ویروزومال این امکان را برای ما فراهم می‌کند تا با تغییر محل قرارگیری آنتی‌ژن (داخل ویروزوم، داخل دولایه فسفولیپیدی یا اتصال به سطح) و هم‌چنین تغییر در نوع فسفولیپید به کار رفته در ساختار دولایه لیپیدی که دمای تغییر فاز متفاوتی دارد، پاسخ ایمنی را به سمت دلخواه سوق داد. یعنی با به کار بستن استراتژی‌هایی مانند انکپسوله کردن آنتی ژن در داخل ویروزوم و هم‌چنین استفاده از فسفولیپیدهایی با دمای تغییر فاز بالا مانند HSPC (hydrogenated soy phosphatidylcholine)، می‌توان انتظار داشت که پاسخ ایمنی سلولی بر ایمنی هومورال برتری یابد(۷۹).

پلیمر پلی لاکتیک-گلیکولیک اسید

پلیمر پلی لاکتیک-گلیکولیک اسید (PLGA)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

یک ترکیب ایمن و زیست تخریب پذیر است که علاوه بر کاربرد در دارورسانی، به عنوان یک سامانه رهایش کنترل شده واکسن نیز استفاده شده است. عوامل آنتی‌ژنیک را می‌توان داخل این ساختار کپسوله کرد یا بر سطح آن قرار داد و با رهایش تدریجی آنتی‌ژن‌های لود شده در این ساختار، القای مناسب پاسخ‌های ایمنی صورت می‌گیرد. آنتی‌ژن‌های بیماری‌های مختلفی همانند هپاتیت B و توبرکلوزیس و لیشمانیا در این نانوساختارها قرار داده شده است(۸۰).

به‌طور مثال در یک مطالعه، Santos و همکاران پروتئین غشایی کینتوپلاستید (KMP11) را در این ساختار قرار دادند. نتایج این مطالعه حاکی از کاهش قابل ملاحظه بار انگل بود. هم‌چنین در مطالعات برون تنی، فراخوانی نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها در پاسخ به افزایش CCL2/MCP-1 و CXCL1/KC دیده شد. انکوباسیون ماکروفاژها با نانوذرات PLGA سبب فعال سازی کاسپاز ۱ و ترشح IL-1B و IL-18 شد(۸۱). در مطالعه دیگری، تفقدی و همکاران از لیشمانیا ماژور اتوکلاو شده (ALM) در نانوسفرهای PLGA استفاده کردند. آن‌ها از Quillaja saponins به عنوان ادجوانت استفاده کردند. با استفاده از تکنیک امولسیون دوگانه نانوسفرها ساخته شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات در ادامه بررسی گردید. میانگین سایز نانوذرات ۲۹۴±۱۰۶ nm به دست آمد و سپس فرمولاسیون‌ها در مدل موشی بررسی شدند. نتایج تست چالش عفونت نشان داد که ALM کپسوله شده در PLGA به همراه QS بالاترین سطح ایمین را ایجاد می‌کند(۸۲).

نانوذرات لیپیدی جامد

نانوذرات لیپیدی جامد در سال ۱۹۹۱ معرفی شد که نشان‌دهنده یک روش جایگزین برای سیستم حامل دارورسانی سنتی می‌باشد. این نانوذرات کروی شکل و دارای قطر متوسط ۱۰۰-۱۰۰۰ نانومتر هستند. نانوذرات لیپیدی جامد به علت هسته سفت و سخت خود که متشکل از چربی آبگریز با ثبات تر از لیپوزوم ها هستند، در دمای اتاق و درجه حرارت بدن جامد هستند. آن‌ها تنها توسط یک لایه فسفولیپیدها احاطه شده‌اند. این نانوذرات شامل یک هسته جامد چربی است که از تری‌گلیسرید و اسیدهای چرب ساخته شده است و به خوبی در بدن تحمل می‌شود و در ترکیبات چربی دوست، محلول هستند. نتایج دلگرم‌کننده‌ای از نانوذرات لیپیدی ساخته شده از tristearin و فسفاتیدیل کولین برای تحویل آمفوتریسین B به ماکروفاژهای آلوده به گونه *(ل. دونوانی)* در شرایط برون تنی و درون تنی به دست آمده است(۸۳). تحویل آمفوتریسین B با استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد نیز در آزمایشی در *لیشمانیا* آزمایش شده و مشخص شده است که فراهم زیستی نسبی و اثر بخشی آمفوتریسین B محصور، بسیار بالاتر از فرم آزاد این دارو بوده است(۸۴).

نانو ذرات لیپیدی جامد دارای بار مثبت نانوحامل‌های قابل قبولی در زمینه‌های مختلف رهایش دارو و واکسن هستند. خصوصیات اصلی آن‌ها پایداری و مقاومت نسبت به اکسیداسیون است. در مقایسه با لیپوزوم‌ها، SLN ها پایداری شیمیایی بالایی داشته و در طراحی آن‌ها از لیپیدها و سورفکتانت‌های مختلف استفاده می‌شود. این نانو ذرات از طریق دو مکانیسم کپسوله کردن آنتی ژن در ماتریکس لیپیدی آن و جذب سطحی توسط برهمکنش‌های الکتریکی با نانوذرات کاتیونی در رهایش آنتی‌ژن عمل می‌کنند. البته به جز خصوصیات شیمیایی پارامترهای فیزیکی هم‌چون اندازه، پتانسیل زتا و پایداری عواملی هستند که بر پروفایل رهایش کنترل شده آنتی‌ژن‌های هدف اثر می‌گذارند.

آلژینات

آلژینات یک پلی ساکارید خطی و طبیعی محلول در آب می‌باشد که از واحدهای یک در میان آلفا- ال- گلوکورونیک اسید و بتا- دی- مانورونیک اسید تشکیل شده است. به خاطر ایمنی زیست تخریب پذیری

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

و ارزان بودن این پلیمر به نظر می‌رسد که یک انتخاب مناسب در کاربردهای رهایش واکسن باشد. مطالعات اخیر پتانسیل این ماده را جهت کاربرد به عنوان ایمونو ادجوانت و سیستم رهایش واکسن نشان می‌دهد(۸۵). استفاده از میکروسفرهای آلژینات که حاوی پروتئین‌های آنتی‌ژنیک باشد، در ایمن سازی حیوانات سبب القای پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی می‌شود.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مکانیسم القای ایمنی علیه لیشمانیا با استفاده از آنتی‌ژن‌های مختلف و یا DNA و در کل واکسن‌های نسل اول و دوم و سوم که کاملاً مشخص است و بسته به نوع آنتی‌ژن و ادجوانت تا حدودی متفاوت است. حاملین نانوذره‌ای بر موانعی که واکسن‌ها در رسیدن به سیستم ایمنی با آن مواجهند غلبه می‌کنند و سبب افزایش کارایی و کاهش دوز موثر واکسن به کار رفته می‌شوند. از طرف دیگر با توجه به شباهت با پاتوژن‌ها تا حدودی می‌توانند سبب القای موثرتر پاسخ‌های ایمنی شوند. با شناخت دقیق پاتوژن‌های مختلف و نوع برهمکنش بدن در حذف و ایجاد ایمنی علیه آن‌ها می‌توان نانوذرات مشابهی طراحی کرد که با تقلید از این سیستم‌ها، پاسخ ایمنی مورد انتظار را برای ما ایجادکنند. نانوذراتی که تاکنون در واکسن‌های لیشمانیا استفاده شده‌اند، همان پاسخ‌های ایمنی طبیعی علیه آنتی‌ژن‌های سنتی را ایجاد می‌کنند، فقط چون ذره‌ای هستند و نقش ادجوانتی هم دارند و ترکیبات داخل خود را حفاظت می‌کنند و سلول‌های ایمنی این ذرات را بهتر می‌شناسند و سبب نفوذ بهتر به بافت، موکوس، رسیدن به اندام هدف یا سلول مورد نظر می‌شوند، کارایی را تغییر می دهند. نوع پاسخ ایمنی و شدت آن را هم می‌توان بسته به نوع نانوذره و شکل و خصوصیات سطحی و غیره تغییر داد که تاکنون مطالعات پراکنده‌ای در این زمینه انجام شده و هیچ پایگاه داده ای مشخصی که بتواند برای ما امکان پیش‌بینی را فراهم کند، هنوز وجود ندارد و تنها می‌توان با مرور مطالعات پراکنده قبلی در مورد یک نانوذره خاص به یک جمع‌بندی نسبی رسید و در هر کار آزمون کرد. پیچیدگی سیستم ایمنی و واکنش‌های متقاطع مختلفی که این‌ها با همدیگر دارند، نیاز به مطالعات اساسی و طولانی مدت را برای شناخت این مسیرها و پیش‌بینی پاسخ های ایمنی فراهم می‌کند.

سیستم‌های رهایش نانوذره‌ای به طور اختصاصی‌تری واکسن‌ها را به جایگاه عمل آن‌ها در بدن میزبان رسانده و پاسخ‌های ایمنی را افزایش می‌دهند. این حاملین نانوذره‌ای سبب افزایش و یا تسهیل جذب (Absorbtion) آنتی‌ژن‌ها توسط سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن می شوند. آن‌ها سبب پایداری شمار وسیعی از عوامل درمانی مانند پپتیدها، پروتئین‌ها و یا الیگونوکلئوتیدها شده و دوز واکسن‌ها را کاهش می‌دهند. هم‌چنین به عنوان مخزنی برای رهایش کنترل شده آنتی‌ژن‌ها عمل می‌کنند. نوع پاسخ ایمنی القاء شده را تنظیم می‌کنند و از ساختار و ماهیت آنتی‌ژن در مقابل تجزیه شدن محافظت می‌کنند. نانوذرات با افزایش حلالیت ترکیبات هیدروفوب در محیط‌های آبی، آن‌ها را برای تجویز تزریقی مناسب می‌سازند(۸۶).

در ایمنی‌زایی موکوسی، نانوذرات می‌توانند کابردهای دیگری هم داشته باشند، مثلاً حفاظت از آنتی‌ژن‌ها در مقابل محیط‌های گوارشی (شامل آنزیم‌ها و اسیدها)، افزایش انتقال آنتی‌ژن‌ها به بافت لنفاوی همراه موکوس و سهولت رهایش از مسیرهای خوراکی و یا داخل بینی(۸۷). از نظر بیولوژی می‌توان گفت که سیستم‌های ذره‌ای از نظر اندازه مشابه پاتوژن‌هایی هستند که سیستم ایمنی برای مقابله با آن‌ها تکامل یافته است. رهایش آنتی‌ژن‌ها و ادجوانت‌ها به طور هم زمان ما را مطمئن می‌سازد که هر دو عامل به یک جمعیت یکسان از سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن رسیده و فعال‌سازی آن‌ها را افزایش می‌دهند. به علاوه تهیه نمودن یک ادجوانت تحریک‌کننده سیستم ایمنی در یک سیستم رهایش سبب کم شدن واکنش‌های ناخواسته از طریق محدود کردن گردش سیستمیک

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

ادجوانت می‌شود. سیستم‌های ذره‌ای با دو مکانیسم عمومی محتویات خود را به سلول‌ها می‌رسانند: هدفمندسازی فعال و غیرفعال. خصوصیات فیزیکوشیمیایی سیستم‌های ذره‌ای هم‌چون اندازه و بار سطحی نقش کلیدی را در هدفمندسازی غیرفعال سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن بازی می‌کنند. هدفمندسازی فعال قصد دارد تا رهایش آنتی‌ژن‌ها را به جایگاه هدف از طریق استفاده از برهم کنش‌های اختصاصی در جایگاه هدف هم‌چون آنتی‌ژن-آنتی بادی یا لیگاند-گیرنده افزایش دهد(۸۸). واکسیناسیون مناسب‌ترین فرصت برای پیشگیری و درمان بی خطر همه اشکال بیماری لیشمانیوز می باشد. بنابراین توسعه یک واکسن ضد *لیشمانیایی* ایمن، موثر و مقرون به صرفه یکی از اولویت‌های اصلی بهداشت عمومی جهانی است. مطالعات صورت گرفته در زمینه واکسن *لیشمانیا* ثابت کرده است که کار دشوار و چالش برانگیزی در پیش‌رو داریم، که موانع آن عمدتاً می‌تواند دانش ناکافی از پاتوژنز انگل و پیچیدگی پاسخ‌های ایمنی مورد نیاز برای حفاظت افراد باشد. بنابراین تقریباً غیر ممکن است که براحتی یک واکسن ضد *لیشمانیا* تنها با یک آنتی ژن موفقیت‌آمیز باشد. نانو واکسن‌های ترکیبی متشکل از آنتی‌ژن‌های متعدد و به خوبی توسعه یافته همراه با ادجوانت مانند Leish-111f و MPL-SE، بهترین شانس برای موفقیت در این زمینه است. با توجه به اثر حفاظتی ضعیف واکسن‌های کشته شده و مشکلات در تدوین یک واکسن ساب یونیت، استفاده از نانوواکسن‌های DNA می‌توانند جایگزین امیدوارکننده‌ای باشند. در حال حاضر، چالش عمده پیشرو، نتیجه قابل اطمینان از ایمنی‌زایی است که به منظور ارزیابی واکسن‌ها، و توسعه سیستم‌های رهایش کارآمد و ادجوانت های بهبود یافته نیاز هستند. با توجه به پیشرفت سریع در زمینه ایمونولوژی انگل و مهندسی ژنتیک، واکسن *ضد لیشمانیا* موفق باید سریع تر از پیش دست یافتنی باشد.

References

1. Grander PJ. Taxonomy of the genus leishmani: a review of nomenclature and classification. Trop Dis Bull 1977; 741(2): 1069-1088.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences 2014; P. 544.
3. Postigo JA. Leishmaniasis in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region. Int J Antimicrob Agents 2010; 36(1): 62–65.
4. World Health Organization (WHO). Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean Region. Eastern Mediterranean Series. WHO Regional Publications; 2013.
5. Fakhar M, Mohebali M, Ahmadpoor E. Visceral Leishmaniosis (kala-azar). First ed. Gorgan, Iran, Nouroozi Pub; 2014.
6. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis Fact sheet N°375". World Health Organization. January 2014. Retrieved 17 February 2014.
7. Sundar S, Chakravarty J. Leishmaniasis: an update of current pharmacotherapy. Expert Opin Pharmacother 2013; 14(1): 53-63.
8. Dorlo TP, Balasegaram M, Beijnen JH, Vries PJ. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. J Antimicrob Chemother 2012; 67(11): 2576-2597.
9. Minodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. Travel Med Infect Dis 2007; 5(3): 150-158.
10. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. Clin Microbiol

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

Rev 2006; 19(1): 111-126.

11. Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, Peeling RW, et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? Nat Rev Microbial 2007; 5(11): 873-882.
12. Arevalo I, Ward B, Miller R, Meng TC, Najar E, Alvarez E, et al. Successful treatment of drug-resistant cutaneous leishmaniasis in humans by use of imiquimod, an immunomodulator. Clin Infect Dis 2001; 33(11): 1847-1851.
13. Sah AK, Jha RK, Sah P. The accuracy of drug promotional advertisements in nepal. J Nepal Med Assoc 2013; 52(191): 645-648.
14. Brustoloni YM, CunhaL RV, Consoloa Z, Oliveira LL, Dorval ME, Oshiro ET. Treatment of visceral leishmaniasis in children in the Central-West Region of Brazil. Infection 2010; 38(4): 261-267.
15. Collin S, Davidson R, Ritmeijer K, Keus K, Melaku Y, Kipngetich S, et al. Conflict and Kala-Azar: Determinants of Adverse Outcomes of Kala-Azar among Patients in Southern Sudan. Clin Infect Dis 2004; 38(5): 612-619.
16. Thakur CP, Narayan S. A comparative evaluation of amphotericin B and sodium antimony gluconate, as first-line drugs in the treatment of Indian visceral leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol 2004; 98(2): 129-138.
17. Gazanion E, Vergnes B, Seveno M, Garcia D, Oury B, Ait-Oudhia K, et al. In vitro activity of nicotinamide/antileishmanial drug combinations. Parasitol Int 2011; 60(1): 19-24.
18. Ibrahim ME, Khalil EA, Sharief AA. Leishmania Donovani: An In Vitro Study of Antimony-Resistant Amphotericin B-Sensitive Isolates. Exp Parasitol 2006; 114(4): 247-252.
19. Monge-Maillo B, Lopez-Velez R. Therapeutic Options for Old World Cutaneous Leishmaniasis and New World Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. Drugs 2013; 73(17): 1889-1920.
20. Sundar S, Mehta H, Suresh AV, Singh SP, Rai M, Murray HW. Amphotericin B Treatment for Indian Visceral Leishmaniasis: Conventional versus Lipid Formulations. Clin Infect Dis 2004; 38(3): 377-383.
21. Islam S, Kenah E, Bhuiyan MAA, Mizanur Rahman K, Goodhew B. Clinical and immunological aspects of post–kala-azar dermal leishmaniasis in Bangladesh. Am J Trop Med Hyg 2013; 89(2): 345-353.
22. Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Engel J, Sindermann H, Fischer C, et al. Oral Miltefosine for Indian Visceral Leishmaniasis. N Engl J Med 2002; 347(22): 1739-1746.
23. Griensven J, Balasegaram M, Meheus F, Alvar J, Lynen L, Boelaert M. Combination therapy for visceral leishmaniasis. Lancet Infect Dis 2010;10(3): 184-194.
24. Bacon KM, Hotez PJ, Kruchten SD, Kamhawi S, Bottazzi ME, Valenzuela JG, et al. The potential economic value of a cutaneous leishmaniasis vaccine in seven endemic countries in the Americas. Vaccine 2013; 31(3): 480-486.
25. Lee BY, Bacon KM, Shah M, Kitchen SB, Connor DL, Slayton RB. The economic value of a visceral leishmaniasis vaccine in Bihar state, India. Am J Trop Med Hyg 2012; 86(3): 417-425.
26. Bernasconi V, Norling K, Bally M, Höök F, Lycke NY. Mucosal Vaccine Development Based on Liposome Technology. Journal of Immunology Research 2016; 2016: 5482087.
27. Alving CR, Peachman KK, Rao M, Reed SG.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

New Adjuvants for human vaccines. Curr Opin Immunol 2012; 24(3): 310-315.

28. Modabber F. Leishmaniasis vaccines: past, present and future. Int J Antimicrob Agents. 2010;36(Suppl 1):S 58-61.
29. Alvar J, Croft SL, Kaye P, Khamesipour A, Sundar S, Reed SG. Case study for a vaccine against leishmaniasis. Vaccine 2013; 31(suppl 2): B244-249.
30. Khasseh A A, Soosaraei M, Fakhar M. Cluster Analysis and Mapping of Iranian Researchers in the Field of Parasitology: With an Emphasis on the Co-authoreship Indicators and H Index. Iran J Med Microb (IJMM) 2016; 10(2): 63-74.
31. Noazin S. Evaluation of first generation vaccines against human leishmaniasis and the implication of leishmanin skin test (LST) response in disease prevalence. PhD Thesis. University of Basel: Switzerland; 2008.
32. Kumar A. Vaccines Against Leishmaniasis. Parasite Immunol 2016; 38(5): 273-281.
33. Khamesipour A, Dowlati Y, Asilian A, Hashemi-Fesharki R, Javadi A, Noazin S, et al. Leishmanization: Use of an old method for evaluation of candidate vaccines against leishmaniasis. Vaccine 2005; 23(28): 3642-3648.
34. Noazin S, Khamesipour A, Moulton LH, Tanner M, Nasseri K, Modabber F, et al. Efficacy of killed whole-parasite vaccines in the prevention of leishmaniasis: a meta-analysis. Vaccine 2009; 27(35): 4747-4753.
35. Mayrink W, Mendonça-Mendes A, de Paula JC, Siqueira LM, de Resende Marrocos S, Dias ES, et al. Cluster randomised trial to evaluate the effectiveness of a vaccine against cutaneous leishmaniasis in the Caratinga microregion, south-east Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg 2013; 107(4): 212-219.
36. Mauel J. Vaccination Against Leishmania Infections. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2002; 2(3): 201-226.
37. Howard JG, Nicklin S, Hale C, Liew FY. Prophylactic immunization against experimental leishmaniasis: I. Protection induced in mice genetically vulnerable to fatal Leishmania tropica infection. J Immunol 1982; 129(5): 2206-2212.
38. Dumonteil E, Jesus RS, Javier EO, del Rosario GM. DNA vaccines induce partial protection against Leishmania mexicana. Vaccine 2003; 21(17): 2161-2168.
39. Felnerova D, Viret JF, Glück R, Moser C. Liposomes and virosomes as delivery systems for antigens, nucleic acids and drugs. Curr Opin Biotechnol 2004; 15(6): 518-529.
40. Uzonna JE, Späth GF, Beverley SM, Scott P. Vaccination with phosphoglycan-deficient Leishmania major protects highly susceptible mice from virulent challenge without inducing a strong Th1 response. J Immunol 2004; 172(6): 3793-3797.
41. Rezvan H, Moafi M. An overview on Leishmania vaccines: A narrative review article. Vet Res Forum 2015; 6(1): 1-7.
42. Handman E, Kedzierski L, Uboldi AD, Goding JW. Fishing for anti-leishmania drugs: principles and problems. Adv Exp Med Biol 2008; 625: 48-60.
43. McGwire BS, Chang KP, Engman DM. Migration through the extracellular matrix by the parasitic protozoan Leishmania is enhanced by surface metalloprotease gp63. Infect Immun 2003;71(2):1008-1010.
44. Mauel J. Vaccination Against Leishmania Infections. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2002; 2(3): 201-226.
45. Handman E. Leishmaniasis: current status of vaccine development. Clin Microbiol Rev

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

2001; 14(2): 229-243.

46. Saxena A, Lahav T, Holland N, Aggarwal G, Anupama A, Huang Y, et al. Analysis of the Leishmania donovani transcriptome reveals an ordered progression of transient and permanent changes in gene expression during differentiation. Mol Biochem Parasitol 2007; 152(1): 53-65.
47. Handman E, Elso C, Foote S. Genes and susceptibility to leishmaniasis. Adv Parasitol 2005; 59: 1-75.
48. Javadian E, Nadim A, Tahvildare-Bidruni G, Assefi V. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Iran: B. Khorassan Part V: Report on a focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Esferayen. Bull Soc Pathol Exot Filiales 1976; 69(2): 140-143.
49. Bhowmick S, Ravindran R, Ali N. gp63 in stable cationic liposomes confers sustained vaccine immunity to susceptible BALB/c mice infected with Leishmania donovani. Infect Immun 2008; 76(3): 1003-1015.
50. Coler RN, Goto Y, Bogatzki L, Raman V, Reed SG. Leish-111f, a recombinant polyprotein vaccine that protects against visceral Leishmaniasis by elicitation of CD4+ T cells. Infect Immun 2007; 75(9): 4648-4654.
51. Stager S, Smith DF, Kaye PM. Immunization with a recombinant stageregulated surface protein from Leishmania donovani induces protection against visceral leishmaniasis. J Immunol 2000; 165(12): 7064-7071.
52. Gomez-Arreaza A, Acosta H, Barros-Alvarez X, Concepción JL, Albericio F, Avilan L. Leishmania mexicana: LACK (Leishmania homolog of receptors for activated C-kinase) is a plasminogen binding protein. Exp Parasitol 2011; 127(4): 752-761.
53. Kelly BL, Locksley RM. The Leishmania major LACK antigen with an immunodominant epitope at amino acids 156 to 173 is not required for early Th2 development in BALB/c mice. Infect Immun 2004; 72(12): 6924-6931.
54. Valenzuela JG, Belkaid Y, Garfield MK, Mendez S, Kamhawi S, Rowton ED, et al. Toward a defined anti-Leishmania vaccine targeting vector antigens: characterization of a protective salivary protein. J Exp Med 2001; 194(3): 331-342.
55. Gholami E, Zahedifard F, Rafati S. Delivery systems for Leishmania vaccine development. Expert Rev Vaccines 2016; 15(7): 879-895.
56. Alavizadeh SH, Akhtari J, Badiee A, Golmohammadzadeh S, Jaafari MR. Improved therapeutic activity of HER2 Affibody-targeted cisplatin liposomes in HER2-expressing breast tumor models. Expert Opin Drug Deliv 2016; 13(3): 325-336.
57. Alving CR, Beck Z, Matyas GR, Rao M. Liposomal adjuvants for human vaccines. Expert Opin Drug Deliv 2016; 13(6): 807-816.
58. Gregoriadis G. Liposomes in Drug Delivery: How It All Happened Pharmaceutics 2016; 8(2): pii: E19.
59. Jaafari MR, Ghafarian A, Farrokh-Gisour A, Samiei A, Kheiri MT, Mahboudi F, et al. Immune response and protection assay of recombinant major surface glycoprotein of Leishmania (rgp63) reconstituted with liposomes in BALB/c mice. Vaccine 2006; 24(29): 5708-5717.
60. Reddy JA, Abburi C, Hofland H, Howard SJ, Vlahov I, Wils P, et al. Folate-targeted, cationic liposome-mediated gene transfer into disseminated peritoneal tumors. Gene Ther 2002; 9(22): 1542-1550.
61. Afrin F, Rajesh R, Anam K, Gopinath M, Pal S, Ali N. Characterization of Leishmania donovani antigens encapsulated in liposomes

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

that induce protective immunity in BALB/c mice. Infect Immun 2002; 70(12): 6697-6706.

62. Colletier JP, Chaize B, Winterhalter M, Fournier D. Protein encapsulation in liposomes: efficiency depends on interactions between protein and phospholipid bilayer. BMC Biotechnol 2002; 2(1): 9.
63. Sohrabi Y, Jafari MR, Badiee A, Hejazi SH, Eskandari E, Mir Amin Mohammadi A, et al. Evaluation of immunogenicity and immune response to Leishmania major autoclaved Encapsulated in liposomes has a positive charge in a mouse model. Iranian J Derm 2007; 10(1): 53-57.
64. Nakanishi T, Hayashi A, Kunisawa J, Tsutsumi Y, Tanaka K, Yashiro-Ohtani Y, Nakanishi M, Fujiwara H, Hamaoka T, Mayumi T. Fusogenic liposomes efficiently deliver exogenous antigen through the cytoplasm into the MHC class I processing pathway. European J Immunol 2000; 30(6): 1740-1747.
65. Yanasarn N, Sloat BR, Cui Z. Negatively charged liposomes show potent adjuvant activity when simply admixed with protein antigens. Mol Pharm 2011; 8(4): 1174-1185.
66. Fortin A, Hendrickx S, Yardley V, Cos P, Jansen H, Maes L. Efficacy and tolerability of oleylphosphocholine (OlPC) in a laboratory model of visceral leishmaniasis. Journal of antimicrobial chemotherapy. J Antimicrob Chemother 2012; 67(11): 2707-2712.
67. Alving CR. Delivery of liposome-encapsulated drugs to macrophages. Pharmacol Ther 1983; 22(3): 407-424.
68. Chapman WL, Hanson WL, Alving CR, Hendricks LD. Liposomes in leishmaniasis: effects of parasite virulence on treatment of experimental leishmaniasis in hamsters. Ann Trop Med Parasitol 1984; 78(3): 279-86.
69. Afrin F, Anam K, Ali N. Induction of partial protection against Leishmania donovani by promastigote antigens in negatively charged liposomes. J Parasitol 2000; 86(4): 730-735.
70. Akhtari J, Rezayat SM, Teymouri M, Alavizadeh SH, Gheybi F, Badiee A, et al. Targeting, bio distributive and tumor growth inhibiting characterization of anti-HER2 affibody coupling to liposomal doxorubicin using BALB/c mice bearing TUBO tumors. Int J Pharm 2016; 505(1): 89-95.
71. Shokri A, Akhtari J, Keighobadi M, Fakhar M, Saeed Hosseini Teshnizi S, Emami S, et al. Promising antileishmanial effectiveness of Doxorubicin and Doxil against Leishmania major: an in vitro assay. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2016; 9(9): 2-9.
72. Badiee A, Jaafari MR, Samiei A, Soroush D, Khamesipour A. Coencapsulation of CpG Oligodeoxynucleotides with Recombinant Leishmania major Stress-Inducible Protein 1 in Liposome Enhances Immune Response and Protection against Leishmaniasis in Immunized BALB/c Mice. Clin Vaccine Immunol 2008; 15(4): 668-674.
73. Alavizadeh SH, Badiee A, Khamesipour A, Jalali SA, Firouzmand H, Abbasi A, et al. The role of liposome–protamine–DNA nanoparticles containing CpG oligodeoxynucleotides in the course of infection induced by Leishmania major in BALB/c mice. Exp Parasitol 2012; 132(3): 313-319.
74. Heravi Shargh V, Jaafari MR, Khamesipour A, Jaafari I, Jalali SA, Abbasi A, et al. Liposomal SLA co-incorporated with PO CpG ODNs or PS CpG ODNs induce the same protection against the murine model of leishmaniasis. Vaccine 2012; 30(26): 3957-3964.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]

75. Gholami E, Zahedifard F, Rafai S. Delivery systems for Leishmania vaccine development. Expert Rev Vaccin 2016; 15(7): 879-895.
76. Pardakhty A, Varshosaz J, Rouholamini A. In vitro studyof polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery ofinsulin. Int J Pharm 2007; 328(2): 130-141.
77. Ruckmani K, Jayakar B, Ghosal SK. Nonionic surfactant vesicles (niosomes) of cytarabine hydrochloride for effective treatment of leukemias: encapsulation, storage, and in vitro release. Drug Dev Ind Pharm 2000; 26(2): 217-222.
78. Almeida JD, Edwards DC, Brand CM, Heath TD. Formation of virosomes from influenza subunits and liposomes. Lancet 1975; 2(7941): 899-901.
79. Bhattacharya S, Mazumder B. Virosomes: A novel strategy for drug delivery and targeting. BioPharm International Supplements 2011; 2(24): 9-14.
80. Allahyari M, Mohit E. Peptide/protein vaccine delivery system based on PLGA particles. Hum Vaccin Immunother 2016; 12(3): 806-828.
81. Santos DM, Carneiro MW, de Moura TR, Soto M, Luz NF, Prates DB, et al. PLGA nanoparticles loaded with KMP-11 stimulate innate immunity and induce the killing of Leishmania. Nanomedicine 2013; 9(7): 985-995.
82. Tafaghodi M, Eskandari M, Kharazizadeh M, Khamesipour A, Jaafari MR. Immunization against leishmaniasis by PLGA nanospheres loaded with an experimental autoclaved Leishmania major (ALM) and Quillaja saponins. Trop Biomed 2010; 27(3): 639-650.
83. Gupta S, Dube A, Vyas SP. Development and Characterization of mphotericin B Loaded Solid Lipid Nanoparticles Against Experimental Visceral Leishmaniasis. Pharmaceu Nanotech 2013; 1(1): 54-67.
84. Jain V, Gupta A, Pawar VK, Asthana S, Jaiswal AK, Dube A, et al. Chitosan-assisted immunotherapy for intervention of experimental leishmaniasis via amphotericin B-loaded solid lipid nanoparticles. Appl Biochem Biotechnol 2014; 174(4): 1309-1330.
85. Jebali A, Hekmatimoghaddam S, Kazemi B, Allaveisie A, Masoudi A, Daliri K, et al. Lectin coated MgO nanoparticle: its toxicity, antileishmanial activity, and macrophage activation. Drug Chem Toxicol 2014; 37(4): 400-409.
86. Badiee A, Shargh VH, Khamesipour A, Jaafari MR. Micro/nanoparticle adjuvants for antileishmanial vaccines: present and future trends. Vaccine 2013; 31(5): 735-749.
87. Heegaard PM, Dedieu L, Johnson N, Le Potier MF, Mockey M, Mutinelli F, et al. Adjuvants and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments. Arch Virol 2010; 156(2): 183-202.
88. Akhtari J, Abastabar M, Abediankenari S. Application of Nanocarriers in Immunogenicity against Diseases. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 24(121) :431-445.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-01-29]