

اثر لوامیزول بر مهار لیشمانیا ماژور در موش BALB/c

ناصر توسلی (M.D.)**
زهیر محمد حسن (Ph.D.)****

سوسن اردستانی (Ph.D.)*
بهناز قره گزلو (M.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 درشت خواران تک هسته ای (ماکروفاژ) می شود که مسئولیت بلع و حذف انگل را برعهده دارند. از آنجا که این بیماری باعث سرکوب پاسخ های 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 روش ها : لوامیزول در مقادیر ۱ و ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش، به صورت درون صفاقی، ۴ ساعت قبل و دو هفته پس از چالش با انگل عفونت زا به حیوان تزریق شد. سپس رشد زخم پوستی، پاسخ حساسیت شدید تأخیری و فعالیت بلع درشت خواران مورد بررسی قرار گرفت.

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

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

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

مقدمه

منتقل می شود و جهت تکمیل چرخه زندگی، سیستم رتیکولواندوتلیال را انتخاب می کند. در داخل این سلول ها 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 می کند (۱). بر اساس

جنس لیشمانیا شامل تک یاخته هایی 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

✉ تهران : مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
*** عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران

* استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
** عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** دانشیار علوم پزشکی، گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۲/۸/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/۱۰/۲۴ تاریخ تصویب: ۸۳/۳/۱۳

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 بیماری زای درون سلولی است (۲). مطالعات نشان می دهند بعضی از سویه های موش ها 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 موش ها یعنی BALB/c نسبت به این انگل، حساس است و دچار زخم های بزرگی در محل تزریق انگل می شود که معمولاً بهبود پیدا نمی کند (۴) که از آن در مطالعات به عنوان مدلی از لیشمانیوز احشایی استفاده می شود و با توجه به این که هنوز واکسن مناسبی برای این بیماری پیدا نشده است، درصدد یافتن دارویی مفید بودیم تا به افرادی که در مناطق اندمیک زندگی می کنند، و یا به آنجا مسافرت می کنند 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 ۱۹۶۶ به عنوان داروی ضد کرم مطرح شد، استفاده شد. لوامیزول یک ترکیب ساختگی با وزن مولکولی کم و قابل حل در آب و محلول های اسیدی و حلال های قطبی پایدار می باشد. اولین خصوصیت ایمنی - درمانی آن در سال ۱۹۷۱ گزارش شد (۵). در سال ۱۹۷۸، ۱۹۸۸، ۱۹۸۹ گزارش هایی 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

می شود. پس از تجویز خوراکی به سرعت در دستگاه گوارش جذب شده و ۴-۱ ساعت بعد در پلاسما به حداکثر غلظت خود می رسد (۶). این دارو از طریق افزایش Ca^{+2} داخل سلولی باعث افزایش نوکلئوتیدهای حلقوی و در نهایت افزایش فعالیت تکثیری و ترشحی سلول ها می شود (۷). این دارو به صورت غیر مستقیم و همچنین در التهاب های غیر عفونی از طریق ممانعت از ساخته شدن پروستاگلاندین ها و اثر آنتی اکسیدانی باعث محدود شدن التهاب می شود (۹،۸). در برخورد با انگل لیشمانیا ماژور در موش BALB/c به دلیل نقض در پاسخ ایمنی سلولی، ایمنی حفاظت کننده ایجاد نمی شود و در نهایت پیشرفت بیماری و سرانجام مرگ حیوان را سبب می شود. 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 غلظت های مختلف آن بر سیستم ایمنی موش های BALB/c نسبت به انگل لیشمانیا و نقش آن در کاهش قطر زخم و افزایش پاسخ ایمنی اختصاصی سلولی با بررسی ازدیاد حساسیت تاخیری و فعالیت ماکروفاژهای صفاقی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

حیوان و نوع دارو درمانی:

موش ماده BALB/c به سن ۸-۶ هفته از انستیتو سرم سازی رازی کرج خریداری و در پنج گروه پنج تایی در قفس های شفاف با سرپوش میله ای استیل نگهداری گردید. دمای اتاق $22^{\circ}C-20^{\circ}C$ ، 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، ۵/۵ و ۵ 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.

تزریق دارو طبق الگوی فوق، ۴ 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°C کشت داده شد. برای جداسازی انگل، ۲-۳ 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 موش ها:

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

بررسی قطر زخم:

از هفته اول تا پانزدهم پس از تزریق انگل ناحیه پشت موش ها برای سفتی و زخم مورد بررسی قرار گرفت و پس از ایجاد زخم با استفاده از کولیس ورنیه، قطر زخم ها اندازه گیری شد.

پاسخ ایمنی:

جهت بررسی ایمنی سلولی، پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH) و نیز درصد و میزان آلودگی سلول های مونونوکلئر صفافی در محیط کشت in vitro مورد بررسی قرار گرفت.

ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH):

با افزودن فل ۰/۴ درصد به مدت نیم ساعت به انگل های زنده، آنتی ژن تهیه شد. سپس انگل های 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 ۱۶ هفته قبل حساس شده بودند، تزریق گردید. بعد از ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت قطر پای تزریق شده و قطر پای تزریق نشده اندازه گیری و درصد افزایش قطر پای موش ها محاسبه شد.

درصد و میزان آلودگی سلول های مونونوکلئر صفافی: ابتدا ۱۰ موش BALB/c ماده ۸-۶ هفته به دو گروه تقسیم شدند. به گروه اول ۲/۵ mg/kg لوامیزول و به گروه دوم (شاهد) سرم فیزیولوژی استریل به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۴ ساعت بعد با تزریق محیط شست و شو به محوطه صفاقی، سلول های این ناحیه خارج و بعد از شست و شو با دور ۱۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، 10^6 سلول به محیط کشت RPMI حاوی (۱۰ درصد) Fetal Calf Serum، L-گلوتامین (۲ mM) و هپس (۱۰ mM) و آنتی بیوتیک (۲ μg/ml) جنتامایسین و پنی سیلین (۱۰ u/ml) اضافه گردید و در انکوباتور 37°C با ۵ درصد CO_2 و بخار آب قرار داده شد. ۲۴ ساعت بعد از کشت، مایع رویی محیط کشت خارج شد و به میزان ۲-۳ برابر تعداد سلول های چسبیده (ماکروفاژها) انگل لیشمانیا ماژور که در فاز ایستا بودند به سلول ها اضافه گردید. پس از ۳ ساعت، مایع رویی را خارج کرده و از یک سری سلول های کشت داده شده یک ساعت بعد و یک سری دیگر ۷۲ ساعت بعد لام تهیه شد. سلول های چسبیده شده به ته پلت را با ضربه مکانیکی جدا کرده و با استفاده از سایتوسانتریفوژ لام تهیه شد. لام ها پس از ثابت شدن با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شده و تعداد ماکروفاژهای آلوده، تعداد کل ماکروفاژها و تعداد انگل داخل هر ماکروفاژ در گروه آزمون و شاهد شمارش گردید. جهت بررسی اثر

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

$$\text{مقاومت به عفونت} = \frac{\text{درصد ماکروفاژهای عفونی در آزمون} - \text{درصد ماکروفاژهای عفونی در شاهد}}{\text{درصد ماکروفاژهای عفونی در شاهد}} \times 100$$

$$\text{فعالیت ضد میکروبی} = \frac{\text{درصد ماکروفاژهای عفونی در ۷۲ ساعت} - \text{درصد ماکروفاژهای عفونی در ۲۴ ساعت}}{\text{درصد ماکروفاژهای عفونی در ۲۴ ساعت}} \times 100$$

از آنالیز رگرسیون جهت بررسی قطر زخم در گروه‌های
مورد مطالعه استفاده شد و همبستگی تابعیت اندازه قطر
زخم‌ها با زمان، در هر گروه بررسی گردید.

پس از برآورد ضرایب رگرسیون، منحنی پراکندگی
و خطوط رگرسیون هر گروه رسم شد و سپس با استفاده
از آنالیز کوواریانس شیب خطوط رگرسیون و منطبق
نبودن آنها بر همدیگر و موازی نبودنشان با هم بررسی
گردید. در بررسی اندازه گیری DTH اختصاصی بر علیه
لیشمانیا ماژور از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

بررسی تأثیر لوامیزول بر روی قطر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور
در موش BALB/c:

به سه گروه موش به ترتیب ۱ و ۲/۵ و ۵ میلی گرم
بر کیلو گرم وزن بدنشان دوبار لوامیزول تزریق شد. گروه
اول تا چهارم با تزریق 1×10^6 انگل در قاعده دمشان

حساس شدند و هر هفته ناحیه پشت موش‌ها برای سفتی

و زخم مورد بررسی قرار گرفت. تقریباً از هفته پنجم در
گروه شاهد مثبت (گروه چهارم) زخم در ناحیه تزریق
دیده شد. در گروه سوم (۵mg/kg) از هفته ششم و گروه
اول و دوم (۱ و ۲/۵ mg/kg) از هفته هفتم زخم بوجود
آمد. در نمودار شماره ۱، 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
($P \text{ value} < 0.001$) 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 به طور معنی داری
($P \text{ value} < 0.001$) کاهش داشته است. با رسم خطوط
رگرسیون قطر زخم‌ها در هر گروه با استفاده از آزموا
آنالیز کوواریانس ثابت شد که شیب خطوط رگرسیون
در گروه‌های مختلف یکسان نیست، یعنی بعد از مدتی
قطر زخم در گروه‌های مختلف با هم یکسان نمی‌شود و
قطر زخم در حیواناتی که دوزهای مختلف دارو گرفته‌اند،
متفاوت است و خطوط رگرسیون قطر زخم در گروه‌های
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

در هیچ یک 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 ۶۰ درصد از موش‌های این گروه در اثر عفونت لیشمانیایی مردند؛ در صورتی که در گروه‌های درمان شده حتی یک ماه پس از خاتمه بررسی‌ها نیز مرگ و میری مشاهده نشد (داده‌ها نشان داده نشده است).

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

هفته شانزدهم پس از حساس کردن موش‌ها به ترتیبی که ذکر شد 2×10^7 انگل کشته شده با فنل ۰/۴ درصد در کف پای چپ به صورت زیر پوستی به حیوانات تزریق شد و پاسخ DTH آن‌ها بعد از ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. در ۲۴ ساعت اول بعد از برخورد با آنتی ژن، اختلافی بین گروه‌ها مشاهده نشد، اما در ۲۴ ساعت دوم و سوم (۴۸ و ۷۲ ساعت) که التهاب ناشی از تزریق برطرف شده بود، این اختلاف‌ها خیلی بهتر مشاهده شد که نتایج در جدول ۱ آمده است.

جدول شماره ۱: میانگین قطر پا حاصل از پاسخ DTH در اثر تزریق داروی لوامیزول با مقادیر ذکر شده در فواصل زمانی معین را نشان می‌دهد.

گروه	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ۲۴ ساعت	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ۴۸ ساعت	میانگین درصد افزایش قطر پا بعد از ۷۲ ساعت
یک میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	45.0 ± 6.87	$28.37 \pm 7.8^*$	8.12 ± 3.2
۲/۵ میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	42.13 ± 3.16	27.07 ± 8.3	$27.03 \pm 12.5^{**}$
۵ میلی گرم لوامیزول بر کیلوگرم وزن	19.0 ± 19.05	16.67 ± 19.0	10 ± 14.01
کنترل منفی	18.8 ± 1.73	$8.33 \pm 7.7 \times$	0.1 ± 0
کنترل مثبت	34.07 ± 3.6	21.84 ± 0.4	12.42 ± 4.4

* اختلاف معنی دارو با P value کمتر از ۰/۰۵

** اختلاف معنی دارو با P value کمتر از ۰/۰۰۵

بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت بین گروه‌ها اختلاف معنی داری دیده می‌شود. بعد از ۴۸ ساعت اختلاف بین

گروهی که ۱ mg/kg لوامیزول گرفته و شاهد منفی با شاهد مثبت به ترتیب با P value برابر ۰/۰۴ و ۰/۰۱ معنی دار است، اما بعد از ۷۲ ساعت اختلاف بین گروهی که ۲/۵ mg/kg لوامیزول گرفته با شاهد مثبت به ترتیب با P value برابر ۰/۰۰۳. معنی دار است. ولی بین گروه‌هایی که ۱ mg/kg و ۵ mg/kg لوامیزول گرفته‌اند، با شاهد مثبت اختلافی دیده نمی‌شود. پس دوز ۲/۵ mg/kg لوامیزول، بیش‌ترین تحریک را در سیستم ایمنی سلولی موش BALB/c آلوده ایجاد کرده است؛ در صورتی که دوزهای ۱ mg/kg و ۵ mg/kg بی تأثیر بوده‌اند و همین‌طور اختلافی با P value ۰/۰۹ بین گروه شاهد مثبت و منفی نشان می‌دهد که تزریق انگل در این سوش از موش نمی‌تواند ایمنی محافظت کننده ایجاد کند، به دلیل کاهش در پاسخ ایمنی سلولی، در این موش پیشرفت بیماری و سرانجام مرگ حیوان دیده می‌شود؛ در صورتی که تزریق ۲/۵ mg/kg لوامیزول، سیستم ایمنی سلولی را تحریک کرده و در نتیجه در برخورد با یک مهار کننده سیستم ایمنی (مانند انگل لیشمانیا) موجود را حفاظت می‌کند و قدرت پاسخ دهی موجود را به آنتی ژن بالا می‌برد.

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

بعد از رنگ آمیزی نمونه‌ها با استفاده از بزرگ نمایی $100 \times$ تعداد انگل در هر ماکروفاژ، در گروه‌های مورد آزمایش و شاهد پس از یک ساعت و ۷۲ ساعت شمارش گردید که نتایج در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

همان‌طور که در جدول ۲ 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 ۷۲ ساعت درصد ماکروفاژهای آلوده آزمایش هنوز بیش از درصد ماکروفاژهای آلوده شاهد می‌باشد.

جدول شماره ۲: فعالیت فاگوسیتوزی ماکروفاژهای صفائی موش در اثر تزریق ۲/۵ mg/kg داروی لوامیزول را نشان می دهد

زمان	گروه	کل ماکروفاژ	ماکروفاژ آلوده	تعداد انگل	درصد ماکروفاژ آلوده	تعداد انگل در هر ماکروفاژ آلوده
یک ساعت	آزمون	۳۰۵	۶۴	۱۱۸	۲۰/۹۸	۱/۸۴
پس از کشت	شاهد	۱۹۰	۳۲	۵۳	۱۶/۸۴	۱/۶۵
۷۲ ساعت	آزمون	۴۵۱	۲۴۶	۶۰۰	۵۴/۵۴	۲/۴۳
پس از کشت	شاهد	۴۷۸	۲۵۰	۴۸۴	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 می شود. 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 موش های آلوده BALB/c را افزایش می دهد. مهم ترین سایتوکائینی که باعث القاء iNOS (Inducible No synthetase) و تولید گونه های فعال نیتروژن می شود، IFN- γ می باشد (۱۰). TNF- α نیز به صورت سینرژیک با IFN- γ عمل می کند (۲). در مقابل، سایتوکائین های دیگر مثل TGF- β و IL-۱۰ باعث پایین آمدن میزان بیان iNOS در ماکروفاژ می شوند (۱۱، ۱۲). همین طور نشان داده اند که موش های 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 این که موش های حساس BALB/c مقدار کمی IFN- γ تولید می کنند، بیماری در آنها پیشرفت می کند (۱۳ تا ۱۷). از آنجا که در این مطالعه از ابتدای آزمایش لنفوسیت ها از محیط خارج شده و حتی در صورت تحریک لنفوسیت ها توسط لوامیزول، کمکی از طرف آنها به ماکروفاژها نمی رسد، انگل در داخل ماکروفاژها تکثیر نموده و این امر نشان می دهد که احتمالاً حضور مداوم سایتوکائین ها برای فعالیت ماکروفاژها در جهت انهدام انگل ها 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 لنفوسیت های T، NK و پاسخ لنفوسیت های T به ConA را افزایش می دهد (۱۸). همچنین در مطالعه دیگر گزارش شده است که این دارو فعالیت سلول های Th-1 را در پاسخ های DTH افزایش می دهد (۱۹، ۲۰).

در بدن انسان و سایر جانوران، اولین و مهم ترین سلولی که انگل لیشمانیا به آن حمله می کند و از طریق گیرنده CR1 وارد آن می شود، ماکروفاژ است (۲۱، ۲۲). 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 می گردد (افزایش فاگوسیتوز)؛ در حالی که همان طور که در سطور بالا آمده است، چون در این مطالعه لنفوسیت ها قبلاً از محیط کشت خارج شده بودند و در نتیجه محیط کشت ماکروفاژ فاقد سایتوکائین های لازم برای القاء اثرات انفجار تنفسی و تولید گونه های فعال نیتروژن بوده است، تنها شاهد افزایش تعداد انگل در داخل ماکروفاژهای درمان شده با لوامیزول بودیم.

- 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 imidotiazole 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. *Prostaglandins*, 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 peritoneal macrophages.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.

- 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 susceptible to infection with leishmania major mount 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 expression 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. Immunol.* 1998; 115: 161-202.