بررسی رشد دینامیکی آماستیگوت های لیشمانیاماژور و لیشمانیاتروپیکا در درون ماکروفاژهای انسان

فرناز خیراندیش قدیمی خیراله نژاد[۱]، دکتر مهدی محبعلی[۲]، دکتر زهره اسلامی[۳]، دکتر عباس رحیمی[۴]

Title: *Dynamic growth of amastigotes of Leishmania major and Leishmania tropica in human macrophages.*

Authors: *kheirandish F,(MSc);Mohebali M,(PhD); Eslami Z,(PhD); Rahimi A,(PhD).*

Abstract: *This study has been carried out on mononuclear cells of peripheral blood to identify that L.major and L.tropica parasites have life cycle inside macrophage similar to the host. The in-vitro dynamic proliferation of the obligate intracellular protozoan parasites of L.tropica and L.major on peripheral mononuclear cells of five groups was investigated as follws: 1- control group(ten individuals) 2- Infected with L.tropica and sensitive to the treatment(five individuals) 3- Infected with L.major and sensitive to the treatment(five individuals) 4- Infected with L.tropica and resistant to the treatment (five individuals) 5- Infected with L.major and resistant to treatment(five individuals).*

Separated mononuclear cells of peripheral blood were infected with L.major and L.tropica and they were cultivated for 14 days. In the days 1,3,5,7,10,14 after infection, the number of infected macrophages and the number of amastigots/macrophage have been counted.

Using statistical trials t.test and paired t.test, no significant differences observed between two healty groups. On the other hand, significant differences observed between resistant and control groups as well as sensitive and resistant groups($P<0.05$). Severe infection with L.major and L.tropica in both resistant groups has been shown in this study.

The identification of the dynamic of proliferative cycle of L.tropica and L.major in human macrophages can help us for successful treatment of cutaneous leismaniasis.

Keywords: *Amastigote, Leishmania, Human, Macrophage.*

۱ – مربی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۲ – استاد، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه پزشکی تهران
۳ – استادیار، مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴ – استادیار دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

www.SID.ir

چکیده:

مطالعه در محیط آزمایشگاه (In vitro) و بر روی مونوسیت های خون محیطی افراد انجام شده است تا نشان دهد که انگلهای لیشمانیاماژور و لیشمانیاتروپیکا علاوه بر چرخه زندگی در بدن میزبان در داخل ماکروفاژها هم در محیط (In vitro) دارای چنین چرخه ای می باشند.

در این بررسی رشد دینامیکی انگل های اجباری داخل سلولی لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور در درون مونوسیت های خون در پنج گروه از افراد به این شرح انجام گردید: ۱- افراد کنترل(۱۰نفر) ۲- افراد مبتلا به لیشمانیاتروپیکا و حساس به درمان(۵ نفر) ۳- افراد مبتلا به لیشمانیاماژور و حساس به درمان (۵نفر). ٤- افراد مبتلا به لیشمانیاتروپیکا و مقاوم به درمان (۵نفر) ۵-افراد مبتلا به لیشمانیاماژور و مقاوم به درمان(۵نفر). ابتدا مونوسیت‌های‌خون محیطی افرادتوسط فایکول جدا شدند و با انگل‌های لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور مجاور گردیدند و برای مدت ١٤ روز کشت داده شده و درطی روزهای ١٤،١٠،٧،٥،٣،١ پس از آلودگی تعداد ماکروفاژهای آلوده و تعداد آماستیگوت های درون هر ماکروفاژ شمارش گردیدند و با استفاده از آزمون آماری t.test و Paired t.test تفاوت بین روزهای مطالعه در یک گروه و بین گروههای مختلف مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون های آماری فوق نشان دادند از نظر فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده و تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ بین گروههای مقاوم و حساس به درمان تفاوت معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵) به این ترتیب که در ماکروفاژهای گروه مقاوم به درمان تعداد آماستیگوت ها بیشتر دیده شد.

در نتیجه از آنجایی که با انجام این بررسی چرخه زندگی انگل ها مشخص شده است می‌تواند کمک مؤثری در انتخاب نحوه درمان، واقع شود.

گل واژگان: *آماستیگوت، لیشمانیا، انسان، ماکروفاژ.*

مقدمه:

لیشمانیوز جلدی (سالک) یکی از بیماریهای انگلی بومی ایران و اکثر کشورهای جهان بشمار می رود(۱). از لحاظ تظاهرات بالینی و خصوصیات اپیدمیولوژیک، لیشمانیوز جلدی به دوشکل خشک(شهری) ومرطوب (روستایی) تقسیم می شود. درنوع شهری عامل بیماری لیشمانیاتروپیکا[1] بوده و ضایعات غالباً روی صورت دیده می‌شوند و در نوع روستایی عامل بیماری لیشمانیاماژور[2] و ضایعات اکثراً روی دستها و پاها ظاهر می شوند. در ایران دلایلی چند از قبیل: افزایش جمعیت، گسترش سریع شهرها، مشکلات ناشی ازجنگ تحمیلی عراق علیه‌ایران و درنتیجه جابجایی جمعیت بین مناطق آلوده و پاک و ورود افاغنه به کشورسبب شده است که لیشمانیوزهاخصوصاً لیشمانیوز جلدی بصورت یک مشکل‌بهداشتی مطرح شود. ازطرف دیگر موفق نبودن اکثر روشهای کنترل و پیشگیری لیشمانیوز و دردسترس نبودن آنتی‌موآن و سایر داروهای ضد لیشمانیا در عده‌ای از بیماران دلایل قاطعی جهت لزوم این مطالعه بوده است زیرا تعیین مراحل رشد آماستیگوتهای لیشمانیا در داخل ماکروفاژهای انسان میتواند به درمان به موقع و مؤثر لیشمانیوزها کمک نماید.

روش کار:

جهت انجام تحقیق از پنج گروه به شرح زیر خونگیری بعمل آمد: گروه اول ده نمونه ازافرادی که سابقه عفونت با لیشمانیاماژور و لیشمانیاتروپیکا را نداشته اند(کنترل)- گروههای دوم و سوم افرادی که حداکثر دو ماه از آلودگی آنها می‌گذشت و با یک بار درمان با ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موآن بهبود یافته بودند (افراد حساس به درمان) که‌شامل دو زیرگروه افراد آلوده با لیشمانیاماژور وافراد آلوده با لیشمانیاتروپیکا بودند(ازهرگروه پنج نفر)- گروههای چهارم و پنجم افرادی که حداقل دو سال از آلودگی آنها گذشته و با یک دوره درمان کامل باترکیبات پنج ظرفیتی آنتی‌موآن بهبودی نیافته بودند(افراد مقاوم به درمان) که شامل دوزیر گروه افراد آلوده

1- L.tropica
2- L.major

Archive of SID
www.SID.ir

با لیشمانیاتروپیکا و افراد آلوده با لیشمانیاماژور بودند (از هر گروه پنج نفر)- مبانی تفکیک و تشخیص لیشمانیوز جلدی نوع شهری و روستایی شواهد اپیدمیولوژیک و علائم بالینی بوده است. ابتدا از هریک از افراد فوق ۲۰ میلی‌لیتر خون هپارینه تهیه گردید که پس ازجداسازی سلول ها دو مرتبه با محلولRPMI شستشو گردیدند. تعداد مونوسیت‌های جدا شده حدود$۱۰^۷$ عدد بود(۲). (تعدا سلول‌ها توسط لام نئوبار شمارش شدند). آنگاه برای هرفرد هشت پلیت‌سه قسمتی(۶ پلیت که با انگل تماس داده شدند و دو پلیت که به آنها انگل اضافه نشد) درنظر گرفته شد درهر قسمت پلیت یک‌لامل قرار داده و بر روی آن ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط سلول های فوق اضافه گردید. پلیت ها درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد که حاوی ۵ درصد گاز CO2 بود به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس پلیت ها را از انکوباتور خارج کرده و محلول اضافی روی لامل‌ها رابرداشته وآنگاه به ازای هریک ماکروفاژ دەپروماستیگوت اضافه گردید. لازم به یادآوری است اگرچنانچه نمونه خون مربوط به فرد آلوده با لیشمانیاماژور بود انگل لیشمانیاماژور به محیط کشت اضافه می شد و اگر مربوط به فرد آلوده با لیشمانیاتروپیکا به محیط کشت اضافه می شد. در مورد ۱۰ نفر گروه کنترل نیز به محیط کشت ۵ نفر انگل لیشمانیاتروپیکا و به محیط کشت ۵ نفر دیگر انگل لیشمانیاماژور اضافه می شد.

آنگاه پس از قراردادن پلیت ها به مدت ۲ ساعت درون انکوباتور به روش فوق، به وسیله محلول RPMI شستشو داده شده و به هر خانه مقداری محلول RPMI که حاوی یک درصد پنی سیلین و استرپتومایسین و ده درصدسرم جنین‌گوساله[1] بوداضافه می‌شدند. پلیت‌ها مجدداً درون انکوباتور قرار داده می‌شدند(۳). در طی روزهای ۱،۳،۵،۷،۱۰،۱۴ پس از کشت ماکروفاژها یک پلیت از نمونه‌های مربوط به هر فرد و یک پلیت آلوده نشده (پلیتی که انگل به آن اضافه نشده بود) ازانکوباتور خارج می‌شدند تا اطمینان حاصل شود که ماکروفاژها هنوز زنده هستند.

پس از رنگ آمیزی لامل های درون پلیت های مذکور با گیمسای ۱۰درصد به مدت۲۰دقیقه وشستشوی آنها نسبت به شمارش ماکروفاژهای آلوده و تعداد آماستیگوت های درون هر ماکروفاژ اقدام می گردید مبنای شمارش تا ۲۰۰ ماکروفاژ بوده است.

یافته ها:

در مقایسه میانگین فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور در افراد گروه کنترل در تمامی روزهای مطالعه به جز روزهای اول و پنجم تفاوت معنی‌دار دیده شد(P<۰/۰۵) ودر روزچهاردهم این تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوری که مقدار میانگین از ۸۰/۷۹ به ۸۹/۴۹ رسید. درضمن با افزایش روزهای مطالعه تا روزهفتم در هردو گروه افزایش میانگین و در روزهای دهم وچهاردهم یک کاهش جزئی در مقدار میانگین مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیاتروپیکا . لیشمانیاماژور در افراد گروه کنترل

گروه / روز	لیشمانیاماژور		لیشمانیاتروپیکا		نتیجه آزمون t.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
سوم	۲/٦٦	٥٤/۳٥	۳/۸۲	٦۰/۲۳	t=۲/۸۲ d.f=۸ p=۰/۰۲۲۳
هفتم	۳/۳٤	۸۷/۲۹	۳/۸٥	۹۲/٥٥	t=۲/۳۰۸ d.f=۸ p= ۰/۰۳۹
دهم	۲/۸۷	۸۳/٦	۲/٤٤	۹۰/۹٤	t=٤/۰۹ d.f=۸ p=۰/۰۰۱٤
چهاردهم	۲/۸۳	۸۰/۷۹	۱/۷٦	۸۹/٤۹	t=٥/۸٤ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱

در مقایسه تعداد آماستیگوت‌ها به ازای هر ماکروفاژ در ماکروفاژهای افراد کنترل که درمحیط *in vitro* با لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور عفونت یافته بودند در تمامی روزهای مطالعه به استثناء روز اول و سوم تفاوت معنی دار دیده شد(P<۰/۰۵) و در روزهای چهاردهم این تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوری که مقدار میانگین از ۸/۸۱ به ۹/۳۱ رسید(جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ در ماکروفاژهای افراد کنترل که در محیط *in vitro* با لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور عفونت یافته بودند

گروه / روز	لیشمانیاماژور		لیشمانیاتروپیکا		نتیجه آزمون t.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
پنجم	۰/۰٦	٥/٥۷	۰/۰٥	٥/۹۸	t=۱۱/۷۳۸ d.f=۸ p=۰/۰۰۰۱
هفتم	۰/۰٦	۸/۹۸	۰/۲٤	۹/٤٤	t=٤/۱٥۸* d.f=۴ p= ۰/۰۱٤۲
دهم	۰/۰٤	۸/۸٦	۰/۰۷	۹/۳٥	t=۱۳/٥۹ d.f=۸ p=۰/۰۰۰۱
چهاردهم	۰/۰۷	۸/۸۱	۰/۰٤	۹/۳۱	t=۱۳/۸٦ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱

1- Fetal calf serum(F.C.S)

Archive of SID
www.SID.ir

* بدلیل آنکه واریانس‌ها در دوگروه یکسان‌نیستندمقدارd.fتعدیل گردیده است.

در مقایسه میانگین فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیاماژور درافراد حساس به درمان و مقاوم به درمان در تمامی روزهای مطالعه تفاوت معنی دارمشاهده‌شد(P<۰/۰۵) و درروز دهم این تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوری که میانگین از ۹۳/۰۳ به ۹۹/۳۶ رسید(جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیاماژور در افراد حساس و مقاوم به درمان

گروه / روز	افرادحساس به درمان		افراد مقاوم به درمان		نتیجه آزمون t.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
اول	۱/۳۶	۳۹/۴۹	۲/۳۰	۴۵/۴۶	t=۴/۹۹ d.f=۸ p=۰/۰۰۰۳
سوم	۱/۹۸	۶۳/۰۹	۲/۷۶	۶۸/۴۶	t=۳/۵۳ d.f=۸ p=۰/۰۰۴۰
پنجم	۲/۰۲	۷۸/۶۵	۲/۹۹	۸۳/۱۶	t=۲/۷۹ d.f=۸ p=۰/۰۱۶۱
هفتم	۳/۲۸	۹۳/۳۳	۰/۷۹	۹۹/۲۹	t=۳/۹۵۰* d.f=۴ p=۰/۰۱۶۸
دهم	۲/۵۲	۹۳/۰۳	۰/۵۳	۹۹/۳۶	t=۵/۴۹۷* d.f=۴ p=۰/۰۰۵۳
چهاردهم	۲/۱۰	۹۰/۱۱	۱/۷۶	۹۴/۷۲	t=۳/۷۶۲ d.f=۸ p=۰/۰۰۲۷

*بدلیل آنکه واریانسها دردوگروه یکسان نیستندمقدار d.fتعدیل گردیده است.

در مقایسه تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ در افراد مقاوم به درمان و حساس به درمان عفونت یافته با انگل لیشمانیاماژور در تمامی‌روزهای‌مطالعه‌تفاوت معنی دارمشاهده شد(P<۰/۰۵) و درروز سوم تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوری که میانگین از ۲/۷۵ به ۳/۲ رسید(جدول ۴).

جدول۴- مقایسه تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ درافراد مقاوم وحساس به درمان عفونت یافته باانگل لیشمانیاماژور

گروه / روز	افرادحساس به درمان		افراد مقاوم به درمان		نتیجه آزمون t.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
اول	۰/۰۲	۱/۰	۰/۰۲	۱/۱۸	t=۱۴/۲۳۰ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
سوم	۰/۰۳	۲/۷۵	۰/۰۲	۳/۲	t=۲۷/۹۰ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
پنجم	۰/۰۳	۶/۰۰	۰/۰۴	۶/۴۵	t=۲۰/۱۲ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
هفتم	۰/۰۲	۹/۴۴	۰/۰۳	۹/۶۸	t=۱۴/۸۸ d.f=۸
					p<۰/۰۰۰۱
دهم	۰/۰۳	۹/۴۳	۰/۰۲	۹/۶۸	t=۱۵/۵۰۴ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
چهاردهم	۰/۰۲	۹/۳۹	۰/۰۳	۹/۵۴	t=۹/۳۰۳ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱

درمقایسه‌میانگین‌فراوانی‌نسبی‌ماکروفاژهای‌آلوده به لیشمانیاتروپیکا درافراد مقاوم به درمان وحساس به درمان در تمامی روزها بجزروز چهاردهم تفاوت معنی‌دار دیده شد(P<۰/۰۵) و در روز سوم این تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوریکه میانگین از ۶۲/۷۹ به ۷۲/۰۹ رسید (جدول شماره ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین فراوانی نسبی ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیاتروپیکا در افراد مقاوم و حساس به درمان

گروه / روز	افرادحساس به درمان		افراد مقاوم به درمان		نتیجه آزمون t.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
اول	۲/۵۳	۳۹/۷۳	۲/۴	۴۵/۳۳	t=۳/۵۹ d.f=۸ p=۰/۰۰۳۷
سوم	۲/۵۲	۶۲/۷۹	۲/۱۹	۷۲/۰۹	t=۶/۲۳ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
پنجم	۲/۷۶	۷۸/۷۹	۲/۷۴	۸۵/۹۹	t=۴/۱۴۰ d.f=۸ p=۰/۰۰۱۳
هفتم	۲/۶۳	۹۳/۷۶	۰/۸۹	۹۸/۹۶	t=۴/۱۸۸ * d.f=۴ p=۰/۰۱۳۸
دهم	۳/۴۲	۹۲/۸۳	۰/۷۱	۹۸/۷۹	t=۳/۸۱۵ * d.f=۴ p=۰/۰۱۸۹

*بدلیل آنکه واریانسها دردوگروه یکسان نیستندمقدار d.fتعدیل گردیده است.

درمقایسه تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ در افراد حساس به درمان و مقاوم به درمان عفونت یافته با لیشمانیاتروپیکا در تمامی روزهای مطالعه تفاوت معنی دار مشاهده شد(P<۰/۰۵) و درروز دهم این تفاوت بیشترین مقدار را داشت بطوریکه میانگین ۸/۷۱ به ۹/۴۱ رسید(جدول شماره ۶).

جدول ۶- مقایسه تعدادآماستیگوت ها به ازای هرماکروفاژ در افراد حساس و مقاوم به درمان عفونت با لیشمانیاتروپیکا

گروه / روز	افرادحساس به درمان		افراد مقاوم به درمان		نتیجه آزمون T.test
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
اول	۰/۰۳	۱/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۶	t=۲/۶۳ d.f=۸ p=۰/۰۲۱۷
سوم	۰/۰۵	۲/۷۸	۰/۰۲	۳/۱۶	t=۱۵/۷۷ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱

Archive of SID
www.SID.ir

پنجم	۰/۰۳	٦/۰۰	۰/۰۲	٦/٤۰	t=۲٦/۹٦ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
هفتم	۰/۰۲	۹/٤۳	۰/۰٤	۹/۷۱	t=۱٤/۰ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱
دهم	۰/۰۳	۹/٤۱	۰/۰۳	۸/۷۱	t=۳٦/۸۹ d.f=۸ p=۰/۰۰۰۱
چهاردهم	۰/۰٤	۹/۳٦	۰/۰۳	۹/۷۰	t=۱۵/۲۰ d.f=۸ p<۰/۰۰۰۱

در تمامی گروههای مورد مطالعه فوق الذکر همانند مورد ذکر شده در جدول شماره یک در طی افزایش روزهای مطالعه تا روز هفتم اکثراً افزایش مقدار میانگین و در روزهای دهم و چهارم یک کاهش جزئی مشاهده شد.

بحث:

مطالعات ما درمحیط آزمایشگاه*(in vitro)* بر روی ماکروفاژهای خون محیطی گروههای مورد مطالعه نشان داده است که انگل علاوه بر چرخه زندگی دربدن میزبان در داخل ماکروفاژهای آلوده انسان نیز دارای چرخه زندگی است.

آلوده شدن ماکروفاژها توسط لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور نیاز به اتصال انگل به سطح سلول دارد(۶-۴) که طبیعت این گیرنده‌ها بطوری است که فقط ۶۵-۵۵٪ ماکروفاژهای خون محیطی به وسیله انگلهای لیشمانیا آلوده می شود(۷و۳) این گیرنده‌ها شاید در تمامی ماکروفاژها در محل مخصوص ظاهر می شوند. این مطالعه و نیز بررسیهای مشابه در مورد لیشمانیادونووانی انجام شده تأکید کننده این موضوع می باشد(۸) این گیرنده ها برای انگل فقط به تعدادمحدودی درحدود۶-۳ عدداست در ابتدا تعدادی از ماکروفاژها مورد تهاجم قرار نگرفتند. احتمالاً در این مرحله ماده ای به نام ساپرسورفاکتور(عامل مهار کننده) در سلول های مبتلایان ترشح می‌شودکه بصورت محلول بوده وباعث حساس شدن‌دیگر سلول‌ها به عفونت می‌شود. اثر این محلول هم در محیط آزمایشگاهی *(in vitro)* (۹) و هم در محیط غیرآزمایشگاهی *(in vivo)* (۱۰) نشان داده شده است.

آماستیگوت های انگل لیشمانیا به دنبال ورود به داخل ماکروفاژ فاز تکثیر خود را آغاز می کنند و به حداکثر ۹ تا ۱۰ آماستیگوت به ازای هر ماکروفاژ در روز هفتم می رسند که بعد از این تعداد انگل در بعضی از گروههای مطالعه کاهش می یابد. در تحقیقات مختلف نشان داده شده است که اثر درمان سلول های طحال موش تحریک شده با IL-2، بیشتر زمانی خواهد بود که این درمان در فاز غیر تکثیری انگل داخل ماکروفاژ استفاده شود. در حالیکه درمان توسط پنتوستام زمانی مؤثر است که این درمان در فاز تکثیری انگل انجام گیرد(۱۱) از آنجایی که با انجام این بررسی چرخه زندگی انگل‌ها مشخص شده است می تواند درانتخاب نحوه درمان مؤثرواقع شود. همانطور که در جداول ۶-۳ مشاهده می‌شود میزان عفونت در ماکروفاژهای افراد گروه حساس به درمان(healing) کمتر و درافراد گروه مقاوم به درمان (non-healing) بیشتر است (P<۰/۰۵) . این نتیجه با نتایج بدست آمده در مطالعات سابق مبنی بر آنکه افراد حساس به درمان به عفونت مقاوم و افراد مقاوم به درمان به عفونت حساس می باشند، همخوانی دارد(۱۲). در افراد مختلف وجود دو گروه ماکروفاژ حساس و مقاوم به عفونت ثابت شده است و امکان دارد در افراد مقاوم به درمان تعداد ماکروفاژهای حساس به عفونت بیشتر باشد و این مسئله باعث شدت عفونت در ماکروفاژهای این گروه خواهد شد(۱۲).

در ایمونولوژی لیشمانیوز سلول کمک کننده یا T-helper نقش اصلی را بعهده دارند که گروهی از آنها (Th_1) در ایجاد ایمنی محافظت کننده بر علیه انگل داخل سلولی نقش دارند گروهی هم (Th_2) باعث انتشاروشدت بیماری می شوند. سلول های Th_1 ترشح سایتوکاین هایی مانند گاما اینتروفرون IL-2,IL-12 و غیره را بعهده دارند و این سایتوکاین ها در تحریک سیستم ایمنی سلولی و از بین بردن انگلهای داخل سلولی نقش بسزایی دارند. درحالیکه سلولهای Th_2 با ترشح IL-10, IL-5, IL-4 و غیره باعث تضعیف ایمنی سلولی و پیشرفت و شدت بیماری می شوند(۱۳). ممکن است در افراد مقاوم به درمان میزان ترشح IL-4 افزایش و میزان ترشح IL-2 کاهش یافته باشد و در افراد حساس به درمان عکس این حالت باشد که این مسئله باید مورد مطالعه بیشتری قرار بگیرد.

با بررسی جداول ۱و۲ متوجه تفاوت معنی دار میانگین فراوانی نسبی و همچنین تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ در اکثر روزهای مطالعه در دو گروه کنترل می شویم بدین ترتیب که در گروه کنترل آلوده با لیشمانیاتروپیکا آلودگی بیشتر است.

همچنین با بررسی جداول ۶-۳ متوجه تفاوت معنی دار در تمامی روزهای مطالعه در میانگین فراوانی نسبی و همچنین در تعداد آماستیگوت ها به ازای هر ماکروفاژ در گروههای سنی حساس به درمان و مقاوم به درمان می شویم بدین ترتیب که در گروه مقاوم به درمان آلودگی بیشتر بوده است.

Archive of SID
www.SID.ir

این نتایج می تواند مربوط به نحوه عملکرد Th_2 و Th_1 و تولید سایتوکاین ها و .حساسیت ماکروفاژها و یا سوش انگل باشد که نقش هر یک در بالا توضیح داده شده است و برای روشن تر شدن مطلب نیاز به مطالعات تکمیلی در آینده وجود دارد. باید در نظر داشت که این مطالعه در محیط آزمایشگاه *(in vitro)* و جدا از سیستم ایمنی اختصاصی بدن و شرایط تکثیر انگل ها در محیط بدون *(in vivo)* انجام شده است.

در نهایت نتایج این مطالعه رشد دینامیکی لیشمانیاتروپیکا و لیشمانیاماژور در درون ماکروفاژهای انسان را ثابت می کند و به تعیین زمان مناسب جهت شروع درمان مبتلایان به لیشمانیوز جلدی کمک خواهد نمود.

تشکر و قدردانی:

درپایان نویسندگان این مقاله از آقایان دکتر غلام حسین ادریسیان، دکتر یحیی دولتی، دکتر خامسی پور، مهندس حجت زراعتی، دکتر حسین حکیمی و خانمها اکرم محمدی و هما حجاران و بهناز آخوندی تشکر و قدردانی می نماید.

این مطالعه با همکاری دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران در مرکز آموزش و پژوهش پوست وجذام انجام گردید.

References: منابع

۱- محبعلی، م. بیماری تک یاخته ای مشترک بین انسان و حیوانات و چاپ اول، نشر نادی. ۱۳۷۵.

2- Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J clin lab Invest 1968. Suppl **21**: 77-89.

3-Eslami Z, Tanner CE. Time coures and intensity of infection *in vitro* in the resident peritoneal macrophages of the resistant and susceptible mice exposed to different doses of *Leishamania donovani*. Int J Parasitol 1994; **24**: 743-7.

4- Blackwell, JM, Ezekowitz RAB, Roberts MB, et al. Macrophage complement and lectin-like receptors bind *Leishmaia* in the absence of serum. J Exp Med 1985; **162**: 324-31.

5- Handman E, Godig YW. The *Leishmania* receptor for macrophages is a lipid-containing glycoconjungate. EMBO J 1982; **4**: 329-39.

6- Russel DG, Wilhelm H. The involvement of the major surface glycoprotein (gp63) of *Leishmania* promastigotes in attachment to macrophages. J Immunol 1986; **136**: 2613-20.

7-.Crocker PR, Davis EV, Blackwell JM. Variable expression of the murine natural resistance gene Ish in different macrophage populations infected *in vitro* with *Leishmania donovani*. Parasite Immunol 1987; **9**: 705-19.

8- Haidaris CG, Bonventre PF. Elimination of *Leishmania donovani* amastigotes by activated macrophages. Infect Immun 1981; **33**: 918-56.

9- Moor KJ. Turco SJ, Matladhewski G. *Leishmania donovani* infection enhances macrophage viability in the absence of exogenous growth factors. J Leukocyte Biol 1994; **55**: 91-8.

10- Evans TG, Smith D, Person RD. Humoral factors and nonspecific immune suppression in Syrian hamsters infected with *Leishmania donovani*. Int J Parasitol 1990; **76**: 212-7.

11- Eslami Z, Oliver M, Tanner CE. Inmmunotherapy with IL-2 stimulated splenocytes reduces *in vitro* in the resident peritoneal macrophages of resistance and susceptible mice exposed to different doses of Leishmania donovani promastigotes. Int J Parasitol 1995; **24**: 743-7.

12- Oliver M, Tanner CE. The effect of cyclosporin A in murine Leishmaniasis. J Trop Med Parasitol 1989; **40**: 32-8.

13- Carrera L, Gazzini RT, Badolato R, et al. *Leishmania* promastigotes selectively inhibit interlukin 12 in bone marrow-derived macrophages from susceptible and resistant mice. Journal of Exp Med 1996; **183**: 215-56.

Archive of SID

www.SID.ir