مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۱۷۷/هفته سوم فروردین ماه ۱۳۹۱

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۰

مقایسه‌ی میزان Monocyte Chemotactic Protein-1 و نیتریک اکساید در سرم افراد مبتلا به لیشمانیوز جلدی قبل و بعد از درمان با گلوکانتیم

فائزه محمدی[۱]، منیژه نریمانی[۲]، نفیسه اسمعیل[۳]، دکتر حسین یوسفی[۴]، دکتر عباسعلی اسکندریان[۵]، دکتر سید حسین حجازی[۶]

چکیده

مقدمه: شناخت و نقش عملکرد سیستم ایمنی و عوامل مختلف آن در التیام ضایعات ناشی از لیشمانیوز جلدی، درمان و کنترل بیماری ضروری به نظر می‌رسد. طبق مطالعات انجام شده، فاکتورهای ایمنی مثل MCP1 (Monocyte chemotactic protein-1) و نیتریک اکساید (Nitric oxide یا NO) دارای اثرات تعیین کننده‌ای در روند التیام ضایعات می‌باشند. بنابراین در این مطالعه سعی شد تداخل فاکتورهای ذکر شده با گلوکانتیم، داروی انتخابی درمان این بیماری، مورد بررسی قرار گیرد.

روش‌ها: از موارد مشکوک مراجعه کننده به مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، ۴۴ بیمار (شامل ۳۸ مرد و ۶ زن) که آزمایش مستقیم جلدی آن‌ها پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا از نظر بیماری لیشمانیوز مثبت شده بود، انتخاب شدند. قبل از تجویز هر نوع داروی درمانی، ۵ سی‌سی خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای MCP1 و NO از آن‌ها گرفته شد و پس از جداسازی سرم بیماران، تا زمان بررسی در ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. از همین بیماران ۲ تا ۴ هفته بعد از دریافت آخرین دوز دارویی جهت بررسی فاکتورهای ذکر شده، خون‌گیری مجدد انجام شد.

یافته‌ها: جهت بررسی رابطه‌ی متغیرهای NO و MCP1 قبل و بعد از درمان از آزمون Paired-t استفاده شد. در این بررسی ملاحظه شد که بین ۲ فاکتور ذکر شده و درمان دارویی با گلوکانتیم رابطه‌ی معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵$)؛ به طوری که افزایش معنی‌دار MCP1 و NO پس از درمان و التیام ضایعه‌ی جلدی گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: MCP1 القا کننده‌ی فعالیت‌های ضد لیشمانیایی در ماکروفاژها از طریق تولید NO است و در نتیجه باعث هدایت پاسخ ایمنی به سمت Th1 و کشتن انگل درون سلولی می‌شود.

واژگان کلیدی: نیتریک اکساید، لیشمانیوز جلدی، پروتئین -۱ جاذب شیمیایی مونوسیت‌ها

مقدمه

لیشمانیوز جلدی یکی از بیماری‌های مهم در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است که توسط گونه‌هایی از جنس Leishmania ایجاد می‌گردد. انگل به دو شکل تاژک‌دار (پروماستیگوت) درون بدن پشه‌ی خاکی فلبوتوموس و بدون تاژک (اماستیگوت) درون سلول‌های ماکروفاژ مهره‌داران دیده می‌شود (۲-۱). در ایران Leishmania major و Leishmania tropica عوامل لیشمانیوز جلدی می‌باشند که از نظر الگوی بیماری‌زایی، به طور کامل متفاوت می‌باشند. کلیه‌ی

[۱] کارشناس ارشد، گروه انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] کارشناس ارشد، گروه زیست سلولی و مولکولی، آزمایشگاه مرکزی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] مربی، دانشجوی دکتری، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه ایمنی شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] استاد، گروه انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۵] استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۶] دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید حسین حجازی
Email: hezazi@med.mui.ac.ir

تلاش‌ها در جهت حل این مشکل بهداشتی چه در حوزه‌ی درمان و چه در حوزه‌ی پیش‌گیری و تولید واکسن هنگامی می‌تواند موفق باشد که مکانیسم‌های مختلف سیستم ایمنی و برهم‌کنش سلول‌های این سیستم و انگل در سطح مولکولی شناسایی گردد. سلول‌های ایمنی بدن از جمله ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها، سلول‌های $TCD4^+$، $TCD8^+$ و سایتوکاین‌های مشتق شده از آن‌ها مثل IFNγ، IL12 و کموکاین‌های تولیدی مثل MCP1 و مولکول‌های Effector مثل نیتریک اکساید (Nitric oxide یا NO) از اجزای کلیدی در پاسخ ایمنی بدن به انگل درون سلولی Leishmania می‌باشد (۳-۱).

یکی از مکانیسم‌هایی که ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها علیه انگل‌ها اعمال می‌نمایند، تولید واسطه‌های نیتروژنی واکنش پذیر (Reactive nitrogen intermediates یا RNIS) می‌باشد. NO از اجزای کلیدی این مکانیسم است که قدرت تخریب‌کنندگی بسیار شدیدی بر علیه ارگانیسم‌های درگیر دارد. NO از واکنش اکسیژن با نیتروژن گوانیدین انتهای اسید آمینه‌ی ال- آرژینین، تولید می‌شود و توسط Inducible nitric oxide synthase (INOS) کاتالیز می‌گردد (۵-۴). پس از عفونت با Leishmania، کموکاین‌ها نقش اساسی در جذب لکوسیت‌ها به محل عفونت را دارند. بیان کموکاین‌ها و گیرنده‌های کموکاینی در التیام ضایعات پوستی لیشمانیوز قابل توجه است؛ چرا که کموکاین‌ها در تمایز لنفوسیت‌های Th1/Th2 نقش دارند (۶). کموکاین‌ها، پلی‌پپتیدهایی ۸ تا ۱۲ کیلودالتونی هستند و دارای دو حلقه‌ی دی سولفید داخلی می‌باشند، بر اساس تعداد موقعیت بنیان‌های سیستئین در انتهای آمینی (N ترمینال) تقسیم‌بندی می‌شوند. دو خانواده‌ی اصلی کموکاین‌ها عبارت هستند از کموکاین‌های CC، که دو بنیان سیستئین مجاور هم می‌باشند و خانواده‌ی CXC که دو بنیان سیستئینی آن‌ها توسط یک اسید آمینه از هم جدا شده است. گیرنده‌ی کموکاین‌ها، گیرنده‌های متصل به پروتئین G هستند که در سطح لکوسیت‌ها بارز می‌شوند. سلول‌های T بیشترین تعداد این گیرنده‌ها را دارند (۷). اعضای خانواده‌ی CXC کموکاین‌ها، به طور عمده PMN (Polymorphonuclear) را فعال می‌کنند؛ در حالی که اعضای خانواده‌ی CC کموکاین‌ها، منوسیت‌ها، بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و لنفوسیت‌ها را فعال می‌نمایند. شش گیرنده برای اعضای CXC کموکاین‌ها (CXCR1-CXCR6) و ده گیرنده برای اعضای CC کموکاین‌ها (CCR1-CCR10) شناسایی شده است.

MCP1 (Monocyte chemotactic protein-1) یا CCL2 که به آن فاکتور ۱- جاذب شیمیایی مونوسیت‌ها نیز می‌گویند، توسط مونوسیت‌ها، سلول‌های آندوتلیال، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های T تولید می‌شود و باعث افزایش مهاجرت مونوسیت‌ها از جریان خون به بافت و تبدیل آن‌ها به ماکروفاژ می‌گردد و با القای فاگوسیتوز باعث حذف عفونت از بدن می‌شود (۹-۸).

MCP1 برای ایجاد انفجار تنفسی که با واسطه‌ی تولید رادیکال‌های اکسیژن و NO و توسط ماکروفاژ انجام می‌شود، ضروری می‌باشد. بنابراین از نظر تئوریک این کموکاین می‌تواند پتانسیل القای فعالیت‌های ضد لیشمانیایی از طریق تولید NO را داشته باشد (۱۱-۱۰).

سطح سرمی MCP1 و NO در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی ناشی از L.tropica متعاقب درمان،

www.mui.ac.ir

افزایش یافته است (۱۲). با توجه به مطالعات انجام شده و بررسی نقش کموکاین‌ها در ایمنی ذاتی و کمک به تمایز سلول‌های ایمنی به سمت Th1 در بیماری Cutaneous leishmaniasis و نقش آن‌ها در رگ‌زایی و ترمیم زخم و نیز با توجه به این که لیشمانیوز به عنوان یک مشکل بهداشتی در بخش‌هایی از ایران به ویژه در استان اصفهان محسوب می‌باشد و تاکنون مقایسه‌ی کمی سطوح MCP1 و NO به طور هم‌زمان در سرم بیماران مبتلا به CL در اصفهان انجام نشده است، در این مطالعه میزان MCP1 و NO در سرم مبتلایان به CL قبل و بعد از درمان با گلوکانتیم مقایسه شد و نقش این فاکتورها در بهبود بیماری بررسی گردید.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی به منظور بررسی میزان MCP1 و NO طی دو مرحله‌ی قبل و بعد از درمان با گلوکانتیم بر روی ۴۴ بیمار (۳۸ بیمار مرد و ۶ بیمار زن بین سنین ۱۵ تا ۵۶ سال) مبتلا به CL مراجعه کننده به مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک حضرت صدیقه‌ی طاهره (س) انجام شد. در این مطالعه بیمارانی شرکت داشتند که فاقد تاریخچه‌ی درمان ضد لیشمانیایی و یا فاقد هر گونه بیماری نقص ایمنی، دیابت، اتوایمیون، نارسایی کبد و حاملگی بودند.

جهت آزمایش مستقیم از ضایعه‌ی بیمار، اسمیری تهیه و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد و با بزرگ‌نمایی ۱۰۰X برای مشاهده‌ی آماستیگوت‌ها بررسی گردید. در مرحله‌ی بعد، از بیمارانی که لام مستقیم آن‌ها از نظر وجود انگل مثبت شده بود، پس از اخذ رضایت‌نامه، ۵ سی‌سی خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای MCP1 و NO گرفته شد. پس از ۲ تا ۳ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، نمونه‌های خونی، سانتریفیوژ و سرم‌های جدا شده در ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. ۲ تا ۴ هفته پس از دریافت آخرین دوز درمانی دارو و التیام ضایعات، از بیماران ۵ سی‌سی خون گرفته شد و سرم آن‌ها مشابه روش فوق جداسازی گردید.

برای اندازه‌گیری میزان MCP1 از کیت ELISA (eBioscience) و روش Sandwich ELISA استفاده شد. در این روش، کف پلیت با آنتی‌بادی MCP1 پوشیده شد. طبق دستور کیت، به ترتیب سرم بیمار، آنتی‌بادی کنژوگه شده با آنزیم، سوبسترا و Stop solution ریخته شد و با استفاده از دستگاه ELISA reader، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

بررسی میزان NO با کیت Calbiochem و با روش رنگ‌سنجی انجام شد. مکانیسم سنجش NO با این روش، اندازه‌گیری میزان نیتریت تولید شده به روش رنگ‌سنجی است. به دلیل کوتاه بودن نیمه عمر NO، اندازه‌گیری مستقیم آن مشکل می‌باشد، بنابراین اندازه‌گیری آن با استفاده از متابولیت‌های پایدار آن یعنی نیتریت و نیترات صورت می‌گیرد.

داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc. , Chicago, IL) با استفاده از آزمون‌های آماری Paired-t و χ^2 در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۴۴ بیمار مبتلا به CL که وارد مطالعه شدند، ۳۸ بیمار (۸۶/۴ درصد) مرد و ۶ بیمار (۱۳/۶ درصد) زن و دارای میانگین سنی ۱۰/۱۸ ± ۲۸/۵۹ سال بودند (جدول ۱).

www.mui.ac.ir

جدول ۱. میانگین تعداد زخم در بیماران

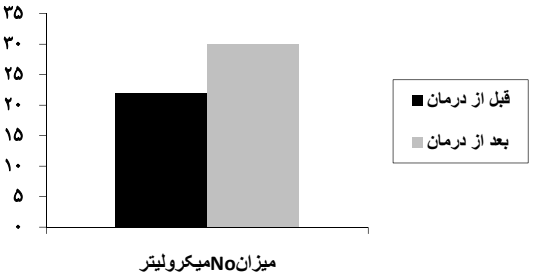
جنس	تعداد افراد	میانگین زخم‌ها انحراف معیار ± میانگین	حداقل	حداکثر	محدوده
مرد	۳۸	۴/۶ ± ۳/۳	۱	۱۵	۱۴
زن	۶	۴ ± ۲/۶	۲	۹	۷
کل	۴۴	۴/۵ ± ۳/۲	۱	۱۵	۱۴

در این مطالعه ۱۴ بیمار (۳۱/۸ درصد) دارای یک تا دو زخم بودند، در حالی که ۳۰ بیمار (۶۸/۲ درصد) دیگر بیش از دو زخم داشتند. محل زخم‌ها شامل دست، پا، صورت و نواحی دیگر بود و زخم‌ها به تعداد متفاوت در این نواحی دیده شدند. در مجموع ضایعات در دست و پا ۷۵ درصد، در صورت ۱۳/۶ درصد و در سایر قسمت‌ها ۱۱/۴ درصد مشاهده شد. بیماران مورد مطالعه ۶۳/۶ درصد ایرانی و ۳۶/۴ درصد افغانی بودند.

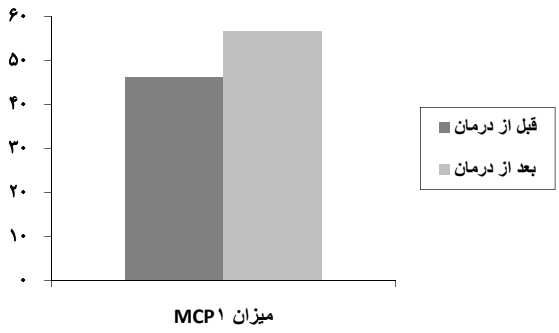
جهت تعیین ارتباط بین جنس، سن و تعداد زخم‌ها بر روی ۲ فاکتور MCP1 و NO از آنالیز χ^2 استفاده شد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید ($P > ۰/۰۵$).

جهت بررسی رابطه‌ی متغیرهای NO و MCP1 قبل و بعد از درمان از آزمون Paired-t استفاده شد. در این بررسی ملاحظه شد که بین ۲ فاکتور ذکر شده و درمان دارویی با گلوکانتیم رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). متغیر NO با طیف تغییرات ۳۸ ± ۲۱/۸۹ میکرومتر قبل از درمان و با طیف تغییرات ۱/۱۹ ± ۲۹/۸۷ میکرومتر بعد از درمان و بهبودی ضایعات، در سرم بیماران افزایش داشت ($P < ۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).

همچنین متغیر MCP1 با طیف تغییرات ۱۷/۰۵ ± ۴۶/۲۵ پیکوگرم در میلی‌لیتر قبل از درمان و با طیف تغییرات ۱۷/۱۷ ± ۵۶/۶۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر بعد از درمان و بهبودی ضایعات، در سرم بیماران افزایش داشت ($P < ۰/۰۰۱$) (نمودار ۲).



نمودار ۱. تغییرات NO قبل و از درمان با داروی گلوکانتیم در بیماران مورد مطالعه



نمودار ۲. تغییرات میزان MCP1 قبل و بعد از درمان با داروی گلوکانتیم در بیماران مورد مطالعه

بحث

Leishmania انگل درون سلولی اجباری است که با ورود به ماکروفاژها، عملکرد طبیعی آن‌ها را مختل کرده، مکانیسم‌های سلولی را به نفع خود تغییر می‌دهد. یکی از مکانیسم‌های انهدام انگل در داخل سلول‌های ماکروفاژها،

www.mui.ac.ir

تولید NO می‌باشد. دو سایتوکاین IFNγ (Interferon-γ) و TNF-α (Tumor necrosis factor-alpha) باعث افزایش القای آنزیم iNOS (Inducible NO synthase) و تولید NO می‌شوند (۱۳).

IFNγ فعال‌کننده‌ی پر قدرتی برای فاگوسیت‌های تک هسته‌ای است که موجب غلبه‌ی سلول‌های کمکی به فنوتیپ Th1 می‌گردد. بنابراین یک سایتوکاین کلیدی در پاسخ ایمنی سلولی به عفونت Leishmania می‌باشد. این سایتوکاین به طور مستقیم ساخت آنزیم‌های iNOS را که واسطه‌ی انفجار تنفسی هستند تحریک کرده، به ماکروفاژ قدرت از بین بردن انگل‌های بلعیده شده را می‌دهد (۱۴).

یکی از پاسخ‌های ایمونولوژیک پیچیده‌ی دیگر در مقابل اشکال مختلف عفونت Leishmania، کموکاین‌ها و گیرنده‌های کموکاینی می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهد که ترشح سریع و گذرای کموکاین‌ها و بیان ژن آن‌ها در ماکروفاژهای آلوده با گونه‌های مختلف Leishmania باعث کاهش بار انگلی می‌شود. بنابراین کموکاین‌ها در پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی در بیماران CL نقش بسزایی دارند (۱۶-۱۵).

یکی از کموکاین‌های مهم در التیام عفونت Leishmania، MCP1(CCL2) و گیرنده‌ی آن CCR2 می‌باشد. در مطالعه‌ی Quinones و همکاران بر روی موش‌های C57BL/6j و BALB/c نشان داده شد که غیر فعال‌سازی ژنتیکی CCR2 و CCR2/CCL2 منجر به افزایش استعداد ابتلای موش‌ها به عفونت L. major می‌شود (۹). نشان داده شده است که بزاق پشه‌ی خاکی باعث بیان CCL2(MCP1) در ماکروفازهای فعال شده می‌شود (۱۷).

در مطالعه‌ی Traynor و همکاران مشاهده شد که عفونت ریوی با Aspergillus و Cryptococcus در موش‌هایی که ژن CCR2 آن‌ها حذف شده بود با کاهش IFNγ و افزایش Th2 و IgE همراه بود. بنابراین CCR2 برای ایجاد پاسخ ایمنی مناسب علیه L. major و هر پاتوژن داخل سلولی ضروری می‌باشد (۱۹-۱۸). در مطالعه‌ی Laskay و همکاران نشان داده شد که NK Cells و کموکاین‌های دیگری مثل CXCL10/IP10 نیز در التیام ضایعات Leishmania نقش دارند؛ بدین صورت که ۲۴ ساعت پس از عفونت با Leishmania، NK Cells به محل عفونت مهاجرت می‌کنند و بیان کموکاین CXCL10 نیز افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه باعث مقاومت بیشتر در برابر عفونت می‌شوند (۲۰). بنابراین درمان موش‌های BALB/C حساس با کموکاین CXCL10 نوترکیب باعث افزایش NK Cells می‌شود. NK Cell با تولید IFNγ، پاسخ ایمنی را به سمت Th1 هدایت می‌کند و باعث بهبودی سریع‌تر موش‌های آلوده به Leishmania می‌گردد (۱۶). در بیماران مبتلا به CL که ضایعات آن‌ها التیام یافته است، میزان بالای کموکاین‌ها از جمله MCP1 باعث افزایش تعداد ماکروفاژها و سلول‌های $TCD4^+$ در محل عفونت می‌شود؛ ولی در بیماران مبتلا به CL مزمن کاهش سطح کموکاین‌ها و در نتیجه کاهش تعداد ماکروفاژها و سلول‌های $TCD4^+$ در محل ضایعات دیده شده است (۲۱-۶). در مطالعات انجام شده بر روی بیماران مبتلا به L.mexicana که ضایعات آن‌ها التیام پیدا کرده است، غلظت بالایی از MCP1 مشاهده شده است (۸). MCP1 از ماکروفاژهای فعال شده تولید می‌شود و پاسخ ایمنی را به سمت Th1 هدایت می‌نماید، بنابراین نقش مهمی در ایمنی اولیه علیه CL ایفا می‌کند

www.mui.ac.ir

(۲۳-۲۲). در مطالعات in vitro نشان داده شده است که MCP1 فعالیت ضد لیشمانیایی در ماکروفاژهارا افزایش می‌دهد و این باعث تحریک انفجار تنفسی در مونوسیت‌های انسانی می‌شود. از طرفی، MCP1 با IFNγ در فعال‌سازی ماکروفاژها دارای اثر سینرژیست است و با IL4 اثر آنتاگونیستی دارد؛ چرا که IL4 تولید MCP1 را توسط مونوسیت‌های آلوده به Leishmania کاهش می‌دهد و پاسخ ایمنی را به سمت Th2 هدایت می‌کند. مشاهده شده است که در ضایعاتی که التیام با تأخیر همراه می‌باشد، میزان IL4 از سطح MCP1 بالاتر است. IL4 و IL10 با کاهش iNOS، باعث مهار تولید NO و انفجار تنفسی در ماکروفاژها می‌شوند (۲۵-۲۴).

طی مطالعاتی که توسط Kumar و همکاران بر روی ۳۱ بیمار مبتلا به CL انجام گرفت، نشان داده شد که بالا بودن سطوح MCP1 و NO بعد از درمان نقش بسزایی در التیام هر چه سریع‌تر ضایعات بیماران داشته است (۱۱).

در مطالعه‌ی حاضر با بررسی میزان MCP1 و NO در سرم بیماران مبتلا به CL و مقایسه‌ی کمی آن‌ها، مشاهده شد که میزان MCP1 و NO پس از درمان، بالا مانده بود. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که MCP1، نقش مورد انتظاری را که در مطالعات مشابه نشان داده شده بود، در این مطالعه نیز در این گروه از بیماران داشت. بنابراین MCP1 و NO نقش مهمی در پاسخ ایمنی در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی ناشی از L. major و بهبودی آنان دارند.

نکته‌ی دیگری در این مطالعه مشاهده شد، این بود که تعداد افرادی که بیش از یک تا دو زخم داشتند، رو به افزایش است. این نکته می‌تواند مؤید تغییر عادت خون‌خواری در پشه‌های خاکی باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با ارزیابی سطوح MCP1 و NO و مقایسه‌ی کمی آن‌ها در دوره‌های قبل و بعد از درمان، نقش واضح‌تری از این مدیاتورها در بیماران لیشمانیوز، مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که رویکردهای درمانی حال حاضر می‌تواند شامل استفاده از کموکاین‌های نوترکیب برای درمان اشکال مختلف لیشمانیوز باشد، به نظر می‌رسد که نیاز به تحقیقات و مطالعات دقیق‌تری در خصوص ارتقای روش‌های درمانی با فعالیت‌های کموکاینی باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان‌نامه‌ی دانشجویی کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی و همچنین طرح تحقیقاتی با کد ۳۹۰۰۰۷ انجام شد. در پایان از مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک حضرت صدیقه‌ی طاهره (س) و نیز آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی به دلیل حمایت‌های بی‌دریغشان، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Gramiccia M, Gradoni L. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. Int J Parasitol 2005; 35(11-12): 1169-80.
2. Schwenkenbecher JM, Wirth T, Schnur LF, Jaffe CL, Schallig H, Al-Jawabreh A, et al. Microsatellite analysis reveals genetic structure of Leishmania tropica. Int J Parasitol 2006; 36(2): 237-46.
3. Von SE. Cutaneous Leishmania infection: progress in pathogenesis research and experimental therapy. Exp Dermatol 2007; 16(4): 340-6.
4. Carlos Kusano BF, Eduardo LF, Adenilda Cristina HF. Nitric oxide, health and disease.

www.mui.ac.ir

Journal of APPLIED BIOMEDICINE 2009; 7(4): 163-73.
5. Ritter U, Frischknecht F, van ZG. Are neutrophils important host cells for Leishmania parasites? Trends Parasitol 2009; 25(11): 505-10.
6. Teixeira MJ, Teixeira CR, Andrade BB, Barral-Netto M, Barral A. Chemokines in host-parasite interactions in leishmaniasis. Trends Parasitol 2006; 22(1): 32-40.
7. Rot A, von Andrian UH. Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokinese grammar for immune cells. Annu Rev Immunol 2004; 22: 891-928.
8. Ritter U, Korner H. Divergent expression of inflammatory dermal chemokines in cutaneous leishmaniasis. Parasite Immunol 2002; 24(6): 295-301.
9. Quinones MP, Estrada CA, Jimenez F, Martinez H, Willmon O, Kuziel WA, et al. CCL2-independent role of CCR2 in immune responses against Leishmania major. Parasite Immunol 2007; 29(4): 211-7.
10. Kocyigit A, Gur S, Gurel MS, Bulut V, Ulukanligil M. Antimonial therapy induces circulating proinflammatory cytokines in patients with cutaneous leishmaniasis. Infect Immun 2002; 70(12): 6589-91.
11. Kumar R, Bumb RA, Salotra P. Evaluation of localized and systemic immune responses in cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania tropica: interleukin-8, monocyte chemotactic protein-1 and nitric oxide are major regulatory factors. Immunology 2010; 130(2): 193-201.
12. Bhattacharyya S, Ghosh S, Dasgupta B, Mazumder D, Roy S, Majumdar S. Chemokine-induced leishmanicidal activity in murine macrophages via the generation of nitric oxide. J Infect Dis 2002; 185(12): 1704-8.
13. Solbach W, Laskay T. The host response to Leishmania infection. Adv Immunol 2000; 74: 275-317.
14. Bogdan C, Rollinghoff M, Diefenbach A. The role of nitric oxide in innate immunity. Immunol Rev 2000; 173: 17-26.
15. Badolato R, Sacks DL, Savoia D, Musso T. Leishmania major: infection of human monocytes induces expression of IL-8 and MCAF. Exp Parasitol 1996; 82(1): 21-6.
16. Vester B, Muller K, Solbach W, Laskay T. Early gene expression of NK cell-activating chemokines in mice resistant to Leishmania major. Infect Immun 1999; 67(6): 3155-9.
17. Zer R, Yaroslavski I, Rosen L, Warburg A. Effect of sand fly saliva on Leishmania uptake by murine macrophages. Int J Parasitol 2001; 31(8): 810-4.
18. Traynor TR, Kuziel WA, Toews GB, Huffnagle GB. CCR2 expression determines T1 versus T2 polarization during pulmonary Cryptococcus neoformans infection. J Immunol 2000; 164(4): 2021-7.
19. Blease K, Mehrad B, Standiford TJ, Lukacs NW, Gosling J, Boring L, et al. Enhanced pulmonary allergic responses to Aspergillus in CCR2-/- mice. J Immunol 2000; 165(5): 2603-11.
20. Laskay T, Diefenbach A, Rollinghoff M, Solbach W. Early parasite containment is decisive for resistance to Leishmania major infection. Eur J Immunol 1995; 25(8): 2220-7.
21. Braun MC, Lahey E, Kelsall BL. Selective suppression of IL-12 production by chemoattractants. J Immunol 2000; 164(6): 3009-17.
22. Oghumu S, Lezama-Davila CM, Isaac-Marquez AP, Satoskar AR. Role of chemokines in regulation of immunity against leishmaniasis. Exp Parasitol 2010; 126(3): 389-96.
23. Huang FP, Xu D, Esfandiari EO, Sands W, Wei XQ, Liew FY. Mice defective in Fas are highly susceptible to Leishmania major infection despite elevated IL-12 synthesis, strong Th1 responses, and enhanced nitric oxide production. J Immunol 1998; 160(9): 4143-7.
24. Moll H. The role of chemokines and accessory cells in the immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. Behring Inst Mitt 1997; (99): 73-8.
25. van ZG, Hermann N, Laufs H, Solbach W, Laskay T. Leishmania promastigotes release a granulocyte chemotactic factor and induce interleukin-8 release but inhibit gamma interferon-inducible protein 10 production by neutrophil granulocytes. Infect Immun 2002; 70(8): 4177-84.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 30, No 177, 3rd week, April 2012 Received: 9.12.2011 Accepted: 9.2.2012

Serum Monocyte Chemotactic Protein-1 and Nitric Oxide in Cutaneous Leishmaniasis Patients before and after Treatment with Glucantime

Faezeh Mohammadi MSc[1], Manizheh Narimani MSc[2], Nafise Esmaeil MSc[3], Hossein Yousefi PhD[4], Abasali Eskandarian PhD[5], Seyed Hossein Hejazi PhD[6]

Abstract

Background: It is necessary to recognize the role and function of immune system in wound healing, control, and treatment of cutaneous leishmaniasis (CL). According to the published papers, immune system factors such of monocyte chemotactic protein-1 **(**MCP1) and nitric oxide (NO) have an impact on wound healing. In this study, the role of these factors on wound healing and their interaction with glucantime in CL patients were investigated.

Methods: In a cross-sectional study, 44 (38 males and 6 females) patients who referred to Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Iran, were diagnosed as positive CL using direct microscopy. Before and after treatment with glucantime, 5 ml whole blood samples were obtained from all samples and the sera were incubated at -70°C until use. Serum levels of MCP1 and NO were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method and Grise reaction, respectively. Paired t-test was used to compare NO and MCP1 values before and after treatment.

Findings: Improvements in cutaneous lesions and significant elevations in MCP1 and NO levels ($P < 0.05$) were observed after treatment. These findings show a significant association between treatment with glucantime and levels of NO and MCP1 ($P < 0.05$).

Conclusion: The interesting results of this investigation revealed that MCP1 and NO play an important role in wound healing of patients with CL.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Monocyte chemotactic protein-1, Nitric oxide

[1] Department of Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Department of Cell and Molecular Biology, Central Laboratory, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3] Lecturer, PhD Student, Student Research Committee, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[6] Associate Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Seyed Hossein Hejazi PhD, Email: hejazi@med.mui.ac.ir