DOI: 10.22122/jims.v38i580.12405 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۸۰/هفته‌ی چهارم مرداد ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۲۹ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۵/۲۸

تأثیر پردنیزولون و مومتازون بر بهبود زخم ایجاد شده توسط لیشمانیا ماژور در موش BALB/c

غزاله مهابادی[۱]، صدیقه صابری[۲]، سید حسین حجازی دهاقانی[۳]، زهرا غیور نجف‌آبادی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه، واکسن مؤثری علیه لیشمانیوز در دسترس نیست و شیمی درمانی، تنها روش مؤثر برای درمان انواع اشکال بیماری است. با این حال، درمان‌های معمول، گاهی سمی و گران هستند و مقاومت به درمان نیز به عنوان یک مشکل جدی مطرح است که باعث شده است جستجو برای رژیم دارویی جدید ضد لیشمانیوز ادامه داشته باشد. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر پردنیزولون و مومتازون بر بهبودی لیشمانیوز جلدی در موش‌های BALB/c بود.

روش‌ها: این مطالعه‌ی تجربی، با به کارگیری داروهای پردنیزولون و مومتازون و ۶۰ سر موش BALB/c ماده انجام شد. فرم پروماستیگوت متاسیکلیک لیشمانیای به دست آمده از محیط کشت در قاعده‌ی دم موش‌ها تزریق شد. پس از ایجاد زخم، موش‌ها به ۶ گروه درمانی پردنیزولون، پردنیزولون و آمفوتریسین B، مومتازون، مومتازون و آمفوتریسین B، شاهد مثبت (آمفوتریسین B) و شاهد منفی (Phosphate buffered saline یا PBS) تقسیم شدند. طول دوره‌ی درمان ۲۸ روز بود و در پایان هر هفته‌ی درمانی، قطر زخم اندازه‌گیری می‌شد.

یافته‌ها: پس از پایان دوره‌ی درمانی در دو گروه تحت درمان با پردنیزولون و پردنیزولون هم‌زمان با آمفوتریسین B، کاهش معنی‌داری در اندازه‌ی زخم و کاهش بار انگل در طحال مشاهده شد ($P < ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر به نظر می‌رسد که گلوکوکورتیکوئیدها با تنظیم مسیرهای ایمنی از مزمن شدن و وخامت زخم جلوگیری و بهبودی را تسریع می‌کنند.

واژگان کلیدی: مومتازون؛ پردنیزولون؛ لیشمانیوز جلدی

ارجاع: مهابادی غزاله، صابری صدیقه، حجازی دهاقانی سید حسین، غیور نجف‌آبادی زهرا. **تأثیر پردنیزولون و مومتازون بر بهبود زخم ایجاد شده توسط لیشمانیا ماژور در موش BALB/c.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۸۰): ۴۲۱-۴۱۵.

مقدمه

لیشمانیوز، شامل یک گروه ناهمگن از بیماری‌ها می‌باشد که در بسیاری از نقاط دنیا، همچنان به عنوان یک مشکل سیستم‌های بهداشتی مطرح است. لیشمانیوز از جمله بیماری‌های عفونی مهم در دنیا محسوب می‌شود که توسط تک‌یاخته‌ی خونی نسجی داخل سلولی اجباری از جنس لیشمانیا در ماکروفاژهای اعضای مختلف به ویژه پوست، کبد، طحال و مغز استخوان ایجاد می‌شود (۱) و بسته به گونه‌ی انگل، به ۴ فرم اصلی جلدی، جلدی مخاطی، جلدی منتشر و احشایی مشاهده می‌گردد. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، ایران یکی از ۷ کانون مهم نوع جلدی این گروه از بیماری‌ها به شمار می‌آید (۲).

درمان لیشمانیوز جلدی یا سالک از دیرباز مورد توجه بوده است. روش‌های درمانی بسیاری برای درمان لیشمانیوز جلدی با سه خط مشی درمانی شامل درمان موضعی، درمان فیزیکی و درمان سیستمیک مطرح می‌باشد. یکی از موارد بسیار مهم در درمان لیشمانیوز، عوارض ناشی از داروها می‌باشد که به صورت درد مفاصل، تغییر در نوار الکتروکاردیوگرافی، لکوپنی، به ندرت آنمی، افزایش آنزیم‌های کبدی و تغییر عملکرد کلیه دیده می‌شود (۳).

انگل لیشمانیا، چرخه‌ی زندگی خود را در میزبان انسانی و ناقل کامل می‌کند. این انگل، دارای دو مرحله‌ی اصلی در چرخه‌ی زندگی است که مرحله‌ی آلوده کننده‌ی آن، مرحله‌ی پروماستیگوت

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زهرا غیور نجف‌آبادی؛ استادیار، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: ghayour@med.mui.ac.ir

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

متاسیکلیک گفته می‌شود که در ناقل شکل می‌گیرد و پس از ورود به بدن میزبان انسانی، وارد ماکروفاژها می‌شود و در ماکروفاژها به فرم آماستیگوت تبدیل می‌گردد (۴). شدت و حدت بیماری لیشمانیا به وسیله‌ی ویژگی‌های انگل و پاسخ ایمنی میزبان مشخص می‌شود. در مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند که بهبود بیماری با حضور IL2، IL12 و عدم حضور IL10 و IL4 ارتباط دارد (۵). IL12، نقش مهمی در اپسونیزاسیون و فاگوسیتوز مؤثر پاتوژن‌ها دارد و همچنین، باعث افزایش تولید Interferon Gamma (IFNγ) می‌شود و منجر به فعال‌سازی ماکروفاژها و تولید واکنشگرهای اکسیژن می‌گردد و در نتیجه، دفاع مؤثرتری در برابر لیشمانیا را موجب می‌شود. IL4، باعث تمایز سلول‌های Thelper0 (Th_0) به سلول‌های Th_2 می‌شود که این تمایز، موجب مزمن شدن عفونت لیشمانیا می‌گردد و ماکروفاژها را از دفاع مؤثر علیه لیشمانیا باز می‌دارد (۷-۶).

در لنفوسیت‌های موشی، گلوکوکورتیکوئیدها باعث بیان GILZ (Glococorticoid – Induced Leucine Zipper) می‌شوند که عاملی برای متوقف کردن عامل رونویسی Nuclear factor-κB (NF-kβ) است. NF-kβ، یک عامل رونویسی ضروری است که بیان بسیاری از ژن‌ها را کنترل می‌کند. فعال‌سازی مسیر NF-kβ یک راهبرد برای محافظت سلول میزبان از آپوپتوز است که به پاتوژن‌ها اجازه‌ی زنده ماندن و فعالیت در سلول‌های میزبان را می‌دهد (۸). عفونت لیشمانیا، با تنظیم مثبت مسیر NF-kβ، باعث افزایش کموکاین‌های پروتئین التهابی ماکروفاژ (Macrophage Inflammatory Proteins1α یا MIP1α) و پروتئین جاذب کموتاکتیک ماکروفاژها (Monocyte chemoattractant protein-1 یا MCP1) می‌شود و از آپوپتوز ماکروفاژ جلوگیری می‌کند و تعداد بیشتری از آن‌ها را به سمت محل عفونت فرا می‌خواند؛ به این ترتیب، باعث آلودگی بیشتر ماکروفاژها و افزایش حجم انگل در بدن می‌شود. به نظر می‌رسد که گلوکوکورتیکوئیدها با جلوگیری از مسیر فعال‌سازی NF-kβ بر خلاف میل انگل لیشمانیا عمل می‌کنند، از جذب کموتاکتیک ماکروفاژها جلوگیری می‌نمایند و ماکروفاژها را به سمت آپوپتوز سوق می‌دهند (۹). بنابراین، ممکن است توسعه‌ی راهبردهای تعدیل کننده و هدف قرار دادن این عامل رونویسی، یک ابزار درمانی جدید برای لیشمانیازیس فراهم کند.

این مطالعه، به منظور بررسی تأثیر گلوکوکورتیکوئیدها در شرایط In vivo با دو داروی پردنیزولون و مومتازون بر کنترل عفونت لیشمانیوز جلدی و تسریع در بهبود بیماری طراحی و اجرا گردید.

روش‌ها

جهت انجام این مطالعه‌ی تجربی با کد اخلاق IR.MUI.REC.1398.347، ۶۰ سر موش نژاد BALB/c جنس ماده و با سن ۶-۴ هفته و وزن حدود ۳۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری گردید. گونه‌ی استاندارد (MRHO/IR/75/ER) L major (لیشمانیا ماژور) موجود در گروه انگل‌شناسی ابتدا در محیط Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) که یک محیط کشت دو قسمتی جامد- مایع و دارای آگار و خون دفیبرینه‌ی خرگوش است، در انکوباتور با حرارت ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شد. پس از رشد انگل‌ها و رسیدن به مرحله‌ی لگاریتمی که مشخصه‌ی آن تشکیل روزت می‌باشد، انگل جهت رشد انبوه و رسیدن به مرحله‌ی آلوده کننده یا متاسیکلیک به محیط تک قسمتی مایع Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) غنی شده با Fetal bovine serum (FBS) ۱۰ درصد) و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد بین‌المللی/میلی‌لیتر) و استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) منتقل و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. هنگامی که انگل در محیط کشت به حجم انبوه رسید، به مدت ۷-۵ روز، محیط جدید اضافه نشد و روزانه از نظر نداشتن روزت و رسیدن به مرحله‌ی متاسیکلیک بررسی گردید. در این حالت، پروماستیگوت‌ها کشیده‌تر شده بودند و رزوت در محیط به چشم نمی‌خورد و رنگ صورتی محیط به زردی گراییده بود.

پس از این که انگل‌های کشت داده شده به مرحله‌ی متاسیکلیک رسیدند، توسط لام نئوبار شمارش و به میزان ۲×۱۰^۶ در هر ۰/۱ میلی‌لیتر از محیط کشت به صورت داخل جلدی به قاعده‌ی دم موش‌ها تزریق گردید. بعد از گذشت ۲۱ روز، موش‌ها از نظر داشتن ندول و یا زخم، بررسی شدند و از زخم قاعده‌ی دم موش‌ها گسترش تهیه و پس از رنگ‌آمیزی باگیمسا، در زیر میکروسکوپ وجود فرم آماستیگوت انگل تأیید گردید. سپس، موش‌ها در ۶ گروه درمانی ۱۰ تایی شامل گروه‌های پردنیزولون، مومتازون، پردنیزولون همراه با آمفوتریسین B، مومتازون همراه با آمفوتریسین B، آمفوتریسین B به تنهایی به عنوان شاهد مثبت و Phosphate buffered saline (PBS) به عنوان شاهد منفی تقسیم‌بندی شدند.

میزان داروی مصرفی روزانه، آمفوتریسین B (AMBISOME/Cipla) ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم (۱۰)، پردنیزولون (SIGMA P6004) ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم و پماد مومتازون فوروات (megacort KMP، کیش مدیفارم) به حدی که کل سطح زخم را پوشش دهد، استفاده شد. قبل از هر گونه درمان، اندازه‌ی دو قطر افقی و عمودی زخم تمام موش‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری و به صورت ضرب دو قطر تقسیم بر دو ثبت شد.

با استناد به مطالعه‌ی Reimao و همکاران (۱۰) روش درمانی اتخاذ گردید؛ به طوری که درمان در ابتدای هفته آغاز شد و به مدت

۵ روز رأس ساعت مشخص ادامه یافت. پس از آن، ۲ روز استراحت به موش‌ها داده شد. این چرخه به مدت ۴ هفته تکرار و در شروع هر هفته‌ی درمانی اندازه‌ی زخم موش‌ها اندازه‌گیری شد.

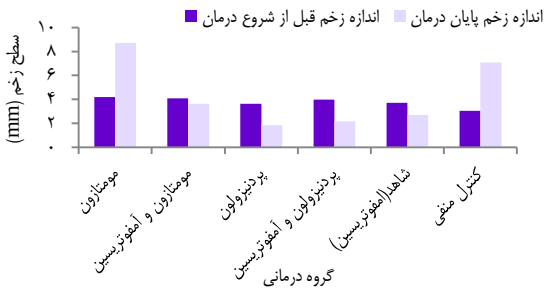
پس از پایان دوره‌ی درمانی، موش‌ها در شرایط استریل کامل تشریح شدند و طحال آن‌ها برای مراحل بعدی خارج شد. بافت طحال، با استفاده از سرم فیزیولوژی هموژنایز شد و تحت شرایط استریل در پلیت ۹۶ خانه‌ای بین ۱-10^{-10} رقت‌بندی شدند. پس از هفت روز انکوبه در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، با میکروسکوپ اینورت (بزرگ‌نمایی ۴۰) حضور یا فقدان پروماستیگوت متحرک در هر چاهک ثبت شد. تیتر انتهایی آخرین رقتی بود که حداقل یک انگل زنده در آن مشاهده می‌شد. در پایان، تعداد انگل در هر میلی‌گرم از بافت طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Parasite burden} = -\log_{10}(\text{parasite dilution} / \text{tissue weight})$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون ANOVA در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ انجام شد.

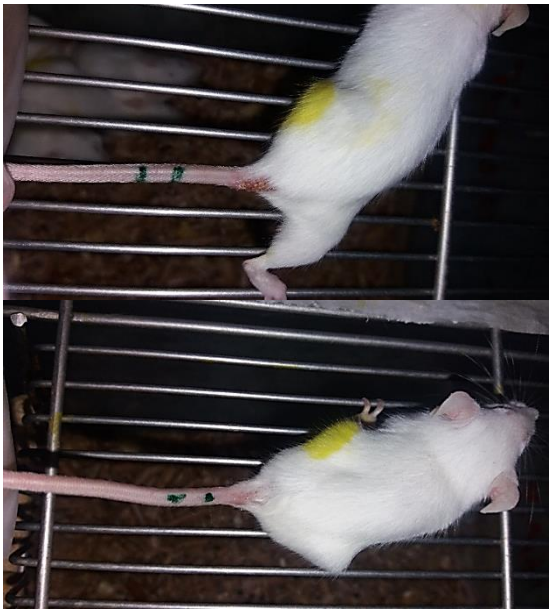
یافته‌ها

۲۱ روز پس از تزریق فرم پروماستیگوت به موش‌ها، زخم در قاعده‌ی دم موش مشاهده شد. با تهیه‌ی لام مستقیم از زخم و وجود ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیا ماژور، ابتلای موش‌ها تأیید و درمان شروع شد. لازم به ذکر است نتایج آزمون ANOVA نشان داد که میانگین اندازه‌ی زخم‌ها قبل از مداخله در ۵ گروه درمانی با شاهد منفی اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$). در پایان هفته‌ی اول در تمامی گروه‌های درمانی، افزایش اندازه‌ی زخم مشاهده گردید، اما پس از پایان هفته‌ی دوم در گروه‌های تحت درمان با پردنیزولون، اندازه‌ی زخم رو به کاهش گذاشت. مقایسه ی میانگین زخم‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آماری ANOVA، نشان دهنده ی اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) بین گروه‌های مختلف می‌باشد. در گروه‌های تحت درمان با پردنیزولون و پردنیزولون همزمان با آمفوتریسین B، اندازه‌ی زخم کاهش یافت (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین تغییرات زخم قبل و بعد از درمان در گروه‌های مختلف درمانی

در واقع، می‌توان گفت نیمی از موش‌های گروه پردنیزولون همزمان با آمفوتریسین B، در پایان دوره‌ی درمان، فاقد زخم بودند (شکل ۲).

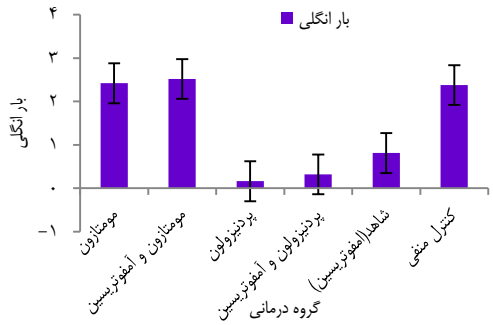


شکل ۲. مقایسه‌ی وضعیت زخم در موش درمان شده با پردنیزولون و آمفوتریسین B به صورت همزمان. عکس بالا: در هفته‌ی اول درمان و عکس پایین: پس از پایان درمان

همچنین، در نیمی از موش‌های گروه تحت درمان با پردنیزولون در پایان درمان زخمی مشاهده نشد (شکل ۳).

شکل ۳. مقایسه‌ی وضعیت زخم در موش درمان شده با پردنیزولون در هفته‌ی اول درمان (عکس بالا) و هفته‌ی چهارم درمان (عکس پایین)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری بار انگلی، نمایانگر کاهش انگل در دو گروه تحت درمان با پردنیزولون و پردنیزولون هم‌زمان با آمفوتریسین B می‌باشد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه‌ی بار انگلی در گروه‌های مختلف درمانی

بحث

انگل لیشمانیا برای فرار از سیستم ایمنی و ادامه ی حیات در بدن میزبان راهکارهای متعددی دارد. از آن جمله می‌توان نحوه ی اتصال و ورودش به سلول میزبان را مد نظر قرار داد؛ بدین صورت که با استفاده از گیرنده ی سطحی GP63 ورود خود را به نحوی طراحی می‌کند که سلول میزبان آن را به عنوان یک سلول خودی تلقی می کند و مسیرهای دفاعی فعال نمی‌شوند. مطالعات اخیر در راستای درمان لیشمانیوز به همین نکته معطوف گشته است تا بتوان از طریق جهت‌دهی سیستم ایمنی، از مزمن شدن عفونت جلوگیری کرد و بهبود بیماری را تسریع بخشید (۳).

ماکروفاژها به عنوان میزبان اصلی لیشمانیا شناخته می‌شوند. نقش این سلول‌ها در روند بیماری لیشمانیوز هنوز به درستی شناخته نشده است. تحقیقات نشان داده‌اندکه لیشمانیا پس از ورود به ماکروفاژ با استفاده از امکانات خود سلول، مسیر رونویسی ژن‌های مربوط به آپوپتوز را به سمت دلخواه خود سوق می‌دهد و با متوقف کردن آپوپتوز، سلول آلوده را به محل رشد و تکثیر خود تبدیل می‌کند (۱۳، ۱۱). همچنین، در مطالعات تجربی قبلی نشان داده شده است که جهت تمایز سلول‌های Th_0 به سمت Th_1 یا Th_2 در شدت و حدت بیماری نقش به‌سزایی دارد و سیتوکین‌های تولید شده، جهت درمان یا وخامت بیماری را تعیین می‌کنند (۱۶-۱۴). بنابراین، انگل سیستم ایمنی میزبان خود را با استفاده از سیستم ارایه‌ی آنتی‌ژنی به نفع خود تنظیم و با تمایز سلول‌های Th_0 به سمت Th_2، باعث افزایش عواملی می‌شود که سبب پیشرفت بیماری می‌گردند. درمان شیمیایی لیشمانیوز تا حد زیادی وابسته به فعال شدن ماکروفاژها در راستای کشتن آماستیگوت‌ها می‌باشد. برای متوقف کردن روند بیماری، باید بتوان جهت تمایز سلول‌های T را به سمت Th_1 سوق داد (۱۸-۱۷). با افزایش تمایز Th_1، میزان تولید IL12 افزایش می‌یابد و فعال‌سازی ماکروفاژها در مسیر کشتن مؤثر انگل لیشمانیا شدت می‌گیرد (۱۹). گلوکانتیم، داروی اصلی و استاندارد مورد استفاده در ایران جهت درمان این بیماری، نیز از طریق تعامل با سیستم ایمنی تأثیر خود را اعمال می‌کند، اما عوارض جانبی آن منجر به محدودیت مصرف این دارو شده است. همچنین، در مواردی مقاومت به این دارو مشاهده شده است که این امر نیاز به تحقیقات بیشتر جهت یافتن داروی مناسب را اهمیت می‌بخشد؛ داروهای جدید که امن‌تر و کارامدتر باشند. گلوکوکورتیکوئیدها با فعال‌سازی مسیر آپوپتوز ماکروفاژهای آلوده، باعث کنترل و حذف عفونت می‌شوند و بهبودی را تسریع می‌بخشند (۸).

در این مطالعه، با هدف تعیین اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر عفونت ناشی از لیشمانیا ماژور در موش BALB/c، از دو داروی پردنیزولون و مومتازون استفاده شد. نتایج نشان داد که استفاده از پردنیزولون به صورت تزریقی چه به صورت تنها و یا هم‌زمان با آمفوتریسین B باعث کاهش چشم‌گیر اندازه‌ی زخم و حتی بهبودی کامل آن می‌شود. Osero و همکاران (۲۰) و نیز Nyamao و همکاران (۲۱) در دو مطالعه‌ی جداگانه دو داروی گلوکوکورتیکوئیدی هیدروکورتیزون و دگزامتازون را در شرایط In vitro و In vivo بر روی انگل لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که گلوکوکورتیکوئیدها با تغییر مسیر تمایز Th_0 به Th_1 و افزایش سیتوکین‌های آن، باعث کاهش میزان آماستیگوت‌های موجود در محیط کشت (۲۰) و کاهش معنی‌دار در بهبودی لیشمانیوز جلدی در موش‌های BALB/c شد. حسینی رنانی و همکاران، تأثیر پردنیزولون و مومتازون را در شرایط In vitro بر روی انگل لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه‌ی آنان، نمایانگر کاهش معنی‌دار آماستیگوت‌ها در محیط کشت در مقایسه با گروه شاهد بود (۲۲). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نیز نشان دادکه استفاده از پردنیزولون، باعث افزایش اثر آمفوتریسین B شده و تأثیر به‌سزایی در کاهش اندازه‌ی زخم و روند بهبودی لیشمانیوز جلدی داشته است. در این مطالعه، چون شیوه‌نامه‌ی درمانی دو داروی مورد استفاده در موش‌های آلوده متفاوت بود، بنابراین احتمال دارد عدم تأثیر مومتازون بر روی بهبودی زخم لیشمانیوز در موش‌های آلوده، ناشی از روش استفاده از این دارو در درمان باشد. در مورد داروی مومتازون، از پماد استفاده شد که به صورت موضعی دارو بر روی سطح زخم مالیده شد. از آن جایی که روی زخم پوشش نداشت، احتمال دارد که داروی مومتازون از روی زخم موش‌ها پاک شده باشد و به همین دلیل در روند بهبودی تأثیر نداشته است.

برای سنجش میزان بهبودی زخم، اندازه‌ی زخم قبل و بعد از درمان و همچنین، طی هفته‌های درمانی با استفاده از کولیس

اندازه‌گیری شد. نتایج سنجش اندازه‌ی زخم نشان داد که در هفته‌ی اول بعد از درمان در تمام گروه‌ها، افزایش نسبی در اندازه‌ی زخم اتفاق افتاده است، اما از هفته‌ی دوم به بعد، کاهش اندازه‌ی زخم در گروه‌های تحت درمان با پردنیزولون و پردنیزولون هم‌زمان با آمفوتریسین B، کاهش بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشت و حتی در گروه‌های تیمار شده با پردنیزولون، بهبودی کامل حدود ۵۰ درصد موش‌ها مشاهده شد. پردنیزولون به دلیل تأثیرات ضد التهابی و هدایت پاسخ‌های ایمنی به سمت تمایز سلول‌های Th_1، ممکن است عملکرد بهتری داشته باشد. همچنین، در پایان درمان، بار انگلی طحال موش‌های تحت درمان تعیین گردیدکه کاهش بار انگل در دوگروه تحت درمان با پردنیزولون و پردنیزولون هم‌زمان با آمفوتریسین B مشاهده شد. در تعدادی از موش‌ها که بهبودی کامل زخم را نشان دادند، انگل در طحال نداشتند که نشان دهنده‌ی این است که به احتمال زیاد درمان، متاستاز را از ضایعه‌ی اولیه مهار کرده است.

نتیجه‌گیری

اگر چه گلوکوکورتیکوئیدها در این مطالعه و مطالعات قبلی باعث حذف انگل به طور کامل نشده است، اما در شرایط In vitro، باعث کاهش انگل و افزایش سیتوکین‌های Th_1 شده و در شرایط In vivo، علایم ناشی از بیماری و اندازه‌ی زخم و طول مدت بیماری را کاهش داده‌اند. بنابراین، استفاده از آن‌ها همراه با داروهای ضد انگل دارای چند حسن می‌باشد. اول این که گلوکوکورتیکوئیدها داروهای در دسترس و کم هزینه‌تری می‌باشند. دوم، استفاده از آن‌ها در بسیاری از بیماری‌های التهابی ثابت شده است که علایم ناشی از التهاب را کاهش داده‌اند. سوم مکانیسم عمل آن‌ها مهار عامل رونویسی NF-kβ می‌باشد که سبب افزایش سیتوکین‌های Th_1 می‌شود که در بهبود زخم لیشمانیایی مؤثر هستند. پس ممکن است بتوانند همراه با داروهای ضد لیشمانیایی استفاده گردند تا با کاهش بار انگلی و پیشبرد ایمنی به طرف Th_1 درمان سریع‌تر و با عوارض کمتر صورت گیرد. البته مطالعات بیشتری برای اثبات نقش این داروها در روند بهبود زخم‌های لیشمانیوز جلدی لازم است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، قسمتی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی به شماره‌ی ۳۹۷۲۵۵ است که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است. از همکاری معاونت پژوهشی و گروه انگل و قارچ‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Akhoundi M, Downing T, Votypka J, Kuhls K, Lukes J, Cannet A, et al. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. Mol Aspects Med 2017; 57: 1-29.
2. Talari SA, Sadr F. Treatment of Cutaneous leishmaniasis: Effectiveness, and adverse effects of the drugs. Feyz 2005; 9(1): 85-94. [In Persian].
3. Tabatabaee F, Ghaffarifar F, Dalimi A, Ebrahimian H. Effects of new herbal formulation of Euphorbia mysinites, Alkanna tinctoria and Peganum harmala combination against experimental leishmaniasis in Balb/C mice. Daneshvar Med 2005; 12(57): 37-46. [In Persian].
4. Sachdeva H. Life cycle of Leishmania donovani; causative agent of visceral leishmaniasis: A review. International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology 2016; 2(1): 84-5.
5. Chapman LAC, Morgan ALK, Adams ER, Bern C, Medley GF, Hollingsworth TD. Age trends in asymptomatic and symptomatic Leishmania donovani infection in the Indian subcontinent: A review and analysis of data from diagnostic and epidemiological studies. PLoS Negl Trop Dis 2018; 12(12): e0006803.
6. Scott P, Novais FO. Cutaneous leishmaniasis: Immune responses in protection and pathogenesis. Nat Rev Immunol 2016; 16(9): 581-92.
7. Khayeka-Wandabwa C, Zhou G, Magak NG, Choge JK, Kemei WK, Makwali JA, et al. Combined chemotherapy manifest less severe immunopathology effects in helminth-protozoa comorbidity. Exp Parasitol 2019; 204: 107728.
8. Berrebi D, Bruscoli S, Cohen N, Foussat A, Migliorati G, Bouchet-Delbos L, et al. Synthesis of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) by macrophages: an anti-inflammatory and immunosuppressive mechanism shared by glucocorticoids and IL-10. Blood 2003; 101(2): 729-38.
9. Boussoffara T, Boubaker MS, Ben AM, Mokni M, Guizani I, Ben SA, et al. Histological and immunological differences between zoonotic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania major and sporadic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania infantum. Parasite 2019; 26: 9.
10. Reimao JQ, Trinconi CT, Yokoyama-Yasunaka JK, Miguel DC, Kalil SP, Uliana SR. Parasite burden in Leishmania (Leishmania) amazonensis-infected mice: Validation of luciferase as a quantitative tool. J Microbiol Methods 2013; 93(2): 95-101.
11. Yorek MS, Poudel B, Mazgaeen L, Pope RM, Wilson ME, Gurung P. Leishmania major degrades murine CX. PLoS Negl Trop Dis 2019; 13(7): e0007533.
12. Mukherjee S, Xu W, Hsu FF, Patel J, Huang J, Zhang K. Sterol methyltransferase is required for optimal mitochondrial function and virulence in Leishmania

major. Mol Microbiol 2019; 111(1): 65-81.
13. Diefenbach A, Schindler H, Rollinghoff M, Yokoyama WM, Bogdan C. Requirement for type 2 NO synthase for IL-12 signaling in innate immunity. Science 1999; 284(5416): 951-5.
14. Holaday BJ, Sadick MD, Wang ZE, Reiner SL, Heinzel FP, Parslow TG, et al. Reconstitution of Leishmania immunity in severe combined immunodeficient mice using Th1- and Th2-like cell lines. J Immunol 1991; 147(5): 1653-8.
15. Scott P, Natovitz P, Coffman RL, Pearce E, Sher A. Immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. T cell lines that transfer protective immunity or exacerbation belong to different T helper subsets and respond to distinct parasite antigens. J Exp Med 1988; 168(5): 1675-84.
16. Moll H, Scollay R, Mitchell GF. Resistance to cutaneous leishmaniasis in nude mice injected with L3T4+ T cells but not with Ly-2+ T cells. Immunol Cell Biol 1988; 66 (Pt 1): 57-63.
17. Kumari S. Relevance of natural killer T cell NKT in visceral leishmaniasis. [Thesis]. Calcutta, India: University of Calcutta; 2017.
18. Mougneau E, Bihl F, Glaichenhaus N. Cell biology and immunology of Leishmania. Immunol Rev 2011; 240(1): 286-96.
19. Sacks D, Noben-Trauth N. The immunology of susceptibility and resistance to Leishmania major in mice. Nat Rev Immunol 2002; 2(11): 845-58.
20. Osero BO, Mosigisi A, Ogeto TK, Mugambi R, Ingonga J, Karanja RM, Gicheru M, Anjili C. Effects of glucocorticoids in Leishmania major infection. International Journal of Fauna and Biological Studies 2015; 2(3): 16-22.
21. Nyamao R, Osiemo Lagat Z, Christopher K, Jumba B, Waihenya R. Efficacy of glucocorticoids in controlling leishmania major infecting Balb/c mice. J Infect Dis Immun 2014; 6(2): 10-8.
22. Hosseini Renani E, Soleimanifard S, Hejazi SH, Ghayour Najafabadi Z. An investigation of the effects of the glucocorticoid on Leishmania major Amastigotes. Avicenna J Clin Microbiol Infect 2019; 6(4): 127-32.

DOI: *10.22122/jims.v38i580.12405* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 580, 4th Week, August 2020**

Received: 24.10.2019 Accepted: 19.07.2020 Published: 26.08.2020

The Effects of Prednisolone and Mometasone on Wound Healing Caused by Leishmania Major in Balb/c Mice

Ghazaleh Mahabadi[1], Sedigheh Saberi[2], Seyyed Hossein Hejazi-Dehaghani[3], Zahra Ghayour-Najafabadi[2]

Original Article

Abstract

Background: An effective vaccine against leishmaniasis is not available, and chemotherapy is the only effective way to treat all forms of the disease. However, current therapy is toxic and expensive, and the resistance has emerged as a serious problem, which has compelled the search for new antileishmanial agents such as glucocorticoids. The aim of this study was to investigate the effects of prednisolone and mometasone on the improvement of cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice.

Methods: In this experimental study, 60 female Balb/c mice were used. The promastigote form obtained from the culture medium was injected into the mice's tail base. After the creation of wound, the mice were divided into 6 treatment groups of prednisolone, prednisolone and amphotericin B, mometasone, mometasone and amphotericin B, positive control (amphotericin B), and negative control (phosphate buffered saline or PBS). The duration of treatment was 28 days. The lesion diameter was measured at the end of each week.

Findings: After the end of the treatment period, significant reduction was observed in wound size and parasite load in the spleen in the two groups treated with prednisolone and prednisolone combined with amphotericin B ($P < 0.050$).

Conclusion: According to the findings of the study, it seems that glucocorticoids likely prevent chronic disease, and accelerate wound healing by regulating immune pathways.

Keywords: Prednisolone; Mometasone; Leishmaniasis, Cutaneous

Citation: Mahabadi G, Saberi S, Hejazi-Dehaghani SH, Ghayour-Najafabadi Z. **The Effects of Prednisolone and Mometasone on Wound Healing Caused by Leishmania Major in Balb/c Mice.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(580): 415-21.

1- MSc Student, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center AND Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Zahra Ghayour-Najafabadi, Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: ghayour@med.mui.ac.ir