Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Review article

Development of *Leishmania* Parasite in Interaction with Sand Fly Vectors of Leishmaniasis

Nasibeh Hosseini-Vasoukolaei[1*]
Fatemeh Jafari[2]

1- Assistant Professor, Department of Medical Entomology and Vector Control, Faculty of Health, Health Science Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2- MSc Student, Department of Medical Entomology and Vector Control, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

***Corresponding author:** Nasibeh Hosseini-Vasoukolaei, Department of Medical Entomology and Vector Control, Health Science Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Email: nasibeh.hoseini@gmail.com

Received: 23 July 2018
Accepted: 24 September 2018

ABSTRACT

Introduction and purpose: Leishmaniasis are neglected diseases that are endemic in more than half of the provinces of Iran. The causative agent of this disease is *Leishmania* protozoa and its transmission to human is through the bites of phlebotomine sand flies. This study reviews the growth and development of *Leishmania* in the body of sand flies at the molecular level.

Methods: In this study a narrative review was carried out. The corpus was collected by searching the keywords of *Leishmania*, sand fly, phlebotomus, lutzomyia in the databases of PubMed, Scopus, SID, Web of Science, Ovid Medline, and Google Scholar search engine. The studied articles were those which has been published on the interaction between the sand fly vectors and *Leishmania* parasite until 2018.

Results: The parasites grow when they encounter natural barriers in the body of the sand flies, including proteolytic enzymes, peritrophic membrane, excretion of the digestive system, and immune system in sand fly vectors. Attachment of *Leishmania* to sand fly digestive tract determines the ability of sand fly to support the development of parasite, which leads to the transmission of leishmaniasis.

Conclusion: Studies on the development and life cycle of *Leishmania* within the body of sand flies are of utmost importance due to the spread of leishmaniasis in Iran and the world, difficulty in their control, and lack of effective vaccine products against leishmaniasis. The findings of the current study aimed at identifying and enhancing the natural barriers to the development of *Leishmania* in sand fly vectors and introducing new strategies for the control of leishmaniasis.

Keywords: Immune system, Leishmania, Peritrophic membrane, Proteolytic enzymes, Sand fly

▶ **Citation:** Hosseini-Vasoukolaei N, Jafari F. Development of *Leishmania* Parasite in Interaction with Sand Fly Vectors of Leishmaniasis. Journal of Health Research in Community. Summer 2018;4(2): 68-77.

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

مقاله مروری

مروری بر رشد و نمو انگل لیشمانیا در تعامل با پشه خاکی‌های ناقل بیماری لیشمانیوز

نصیبه حسینی واسوکلایی[1*]
فاطمه جعفری[2]

۱. استادیار، گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، پژوهشکده اعتیاد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

* نویسنده مسئول: نصیبه حسینی واسوکلایی، گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، پژوهشکده اعتیاد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

Email: nasibeh.hoseini@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۰۲

چکیده

مقدمه و هدف: لیشمانیوز یکی از بیماری‌های فراموش‌شده‌ای است که در بیش از نیمی از استان‌های کشور آندمیک می‌باشد. عامل ایجادکننده بیماری، پروتوزوئرهای لیشمانیایی هستند و انتقال آلودگی به انسان توسط گزش پشه‌های خاکی فلبوتومینه می‌باشد. در این راستا، مطالعه حاضر در سطح مولکولی به بررسی رشد و نمو انگل در بدن پشه خاکی ناقل پرداخته است.

روش کار: در مطالعه حاضر که به روش مروری غیرنظام‌مند انجام شد، داده‌های منتشرشده با استفاده از کلمات کلیدی "لیشمانیا، پشه خاکی، فلبوتوموس و لوتزومیا" از پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed، Scopus، SID، Web of Science، Ovid Medline و موتور جستجوگر Google Scholar جمع‌آوری شدند. در این پژوهش تمام مطالعات منتشرشده تا سال ۲۰۱۸ که مربوط به تعاملات بین پشه خاکی و انگل لیشمانیا بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: انگل برای رشد و نمو در بدن پشه خاکی به سدها و یا موانع طبیعی برخورد می‌کند که عبارت هستند از: آنزیم‌های پروتئولیتیک، پرده اطراف غذا، دفع از دستگاه گوارش و سیستم ایمنی در ناقل. قابلیت اتصال انگل به دستگاه گوارش پشه خاکی تعیین‌کننده توانایی حمایت پشه خاکی از رشد و نمو انگل و در نتیجه انتقال عفونت می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به گسترش بیماری لیشمانیوز در ایران و جهان و کنترل دشوار بیماری و نیز اینکه تاکنون واکسن مؤثری علیه لیشمانیوز معرفی نشده است، پژوهش در ارتباط با رشد و نمو و چرخه زندگی انگل در بدن پشه خاکی حائز اهمیت می‌باشد. یافته‌های پژوهش حاضر در راستای شناسایی و تقویت موانع طبیعی رشد انگل در بدن پشه خاکی و روش‌های نوین مبارزه با لیشمانیوز می‌باشند.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های گوارشی، پرده اطراف غذا، پشه خاکی، سیستم ایمنی، لیشمانیا

◀ **استناد:** حسینی واسوکلایی، نصیبه؛ جعفری، فاطمه. مروری بر رشد و نمو انگل لیشمانیا در تعامل با پشه خاکی‌های ناقل بیماری لیشمانیوز. مجله تحقیقات سلامت در جامعه، تابستان ۱۳۹۷؛۴(۲): ۷۷-۶۸.

مقدمه

جنس لیشمانیا (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) انگل‌های پروتوزایی هستند که طیف بیماری‌هایی مانند لیشمانیوز

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

را در میزبان مهره‌دار خود از جمله انسان ایجاد می‌کنند. حدود ۱۰ گونه لیشمانیا از اهمیت ویژه‌ای در سلامت عمومی برخوردار هستند. علائم لیشمانیازیس می‌تواند از ضایعات پوستی خفیف تا موارد احشایی کشنده باشد [۱]. عدم وجود یک واکسن انسانی، افزایش مقاومت به داروهایی که در حال حاضر استفاده می‌شوند و عوارض جانبی جدی نیاز به تحقیق در مورد لیشمانیوز را نشان می‌دهند. به‌طور خاص، مطالعات نه‌تنها بر روی انگل متمرکز هستند؛ بلکه باید بررسی تعاملات آن با میزبان و ناقلین را نیز بررسی نمایند.

انگل دارای یک چرخه زندگی انسانی است که در بین میزبان پستاندار و حشرات ناقل، پشه خاکی زیرخانواده فلبوتومینه (Diptera: Psychodidae) متناوب می‌باشد. انگل‌ها حشرات کوچکی (معمولاً ۱/۵ تا ۲ میلی‌متر طول بدن) هستند که به‌طور عمده در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری یافت می‌شوند [۲]. در خارج از بدن میزبان مهره‌دار، چرخه زندگی لیشمانیا محدود به دستگاه گوارش پشه خاکی می‌باشد. محل دقیق گذارندن چرخه زندگی انگل در دستگاه گوارش پشه خاکی بین دو زیرجنس انگل لیشمانیا و ویانیا (Viannia) متفاوت است. زیرجنس ویانیا در دنیای جدید؛ به‌عنوان مثال لیشمانیا برازیلینسیس (*Leishmania braziliensis*)، قبل از مهاجرت به معده میانی پشه خاکی (Midgut) به داخل معده عقبی (Hindgut) وارد می‌شود که این انگل را پری‌پیلارین (Peripylarian) می‌نامند. با این وجود، بیشتر گونه‌های زیرجنس لیشمانیا، انگل‌های سوپرپیلارین (Suprapylarian) هستند؛ زیرا رشد آن‌ها محدود به معده میانی و قسمت‌های جلویی دستگاه گوارش پشه خاکی می‌باشد [۳].

مرحله نمو انگل لیشمانیا در ناقلین زمانی آغاز می‌شود که پشه‌های خاکی ماده از میزبانی که دارای ماکروفاژهای آلوده به آماستیگوت می‌باشند، خون‌خواری می‌کنند. تغییر در شرایط محیطی از میزبان پستانداران به معده میانی پشه خاکی (مانند کاهش درجه حرارت و افزایش pH) باعث تغییرات مورفولوژیکی و رشد انگل در ناقلین می‌شود. شایان ذکر است که فرم آماستیگوت به فرم پروماستیگوت- پروسیسیلیک تبدیل می‌شوند. این فرم‌ها اولین فرم‌های تکثیرشونده‌ای هستند که در خون خورده‌شده تکثیر می‌شوند و توسط غشای پروتروفیک نوع ۱ از دیواره اپیتلیال معده جدا می‌گردند. در سیکل زندگی خارج سلولی انگل لیشمانیا در بدن پشه خاکی فرم‌های پروسیکلیک، نکتوموناد، لپتوموناد، هاپتوموناد و متاسیکلیک مشاهده می‌شود که زمان متوسط جهت تکامل انگل‌ها به گونه آن‌ها و شرایط محیطی به‌ویژه درجه حرارت ۲-۱ هفته بستگی دارد [۴]. حدود ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد، تکثیر پارازیت‌ها کند می‌شود؛ اما تغییر شکل پیدا می‌کنند و به پروماستیگوت‌های نکتوموناد که بدنی کشیده دارند و متحرک‌هایی قوی می‌باشند، تبدیل می‌شوند [۴]. این نکتومونادها از غشای پری‌تروفیک به حفره سلولی معده میانی فرار می‌کنند. آن‌ها به سمت قدام دستگاه گوارش حرکت نموده و پس از آن به پروماستیگوت لپتوموناد تبدیل می‌شوند که بدنی کوتاه‌تر از نکتوموناد دارند [۵]. این نکتومونادها از غشای پری‌تروفیک به حفره سلولی معده میانی فرار می‌کنند. آن‌ها به سمت قدام دستگاه گوارش حرکت نموده و پس از آن به پروماستیگوت لپتوموناد تبدیل می‌شوند که بدنی کوتاه‌تر از نکتوموناد دارند. لپتومونادها نیز تکثیر می‌شوند [۶-۸]. جداشدن انگل از دیواره اپیتلیال معده، مهاجرت به سمت قسمت‌های جلویی لوله گوارش و قطعات دهانی و تجمع انگل در اطراف دریچه استمودیال (SV: Stomodeal valve) برای انتقال مؤثر ضروری می‌باشد. در نهایت، انگل لیشمانیا به فرم آلوده‌کننده متاسیکلیک عفونی تبدیل می‌شود و متاسیکلوژنز پایان می‌یابد و در طول تغذیه خون‌خواری بعدی به پوست میزبان مهره‌دار منتقل می‌شود [۹].

روش کار

در این مطالعه که به روش مروری غیرنظام‌مند (Narrative Review) انجام شد، با استفاده از کلیدواژه‌های "Sand fly"،

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Leishmania، Interaction، Phlebotomus و Lutzomyia" برای نشریات انگلیسی و کلیدواژه‌های "لیشمانیا، پشه خاکی، برهم‌کنش، فلبوتوموس و لوتزومیا" برای نشریات فارسی از طریق جستجو در پایگاه‌های علمی بین‌المللی شامل: PubMed، Web of Science، Scopus، Elsevier و Google Scholar و پایگاه‌های علمی داخلی شامل: سامانه دانش‌گستر برکت (Barakatkns)، پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID)، کتابخانه پزشکی ایرانی (Medlib)، بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) و مرجع دانش (Civilica) و جستجو در سایت سازمان جهانی بهداشت انجام شد. در نهایت تمام مقالات مجلات علمی منتشرشده تا سال ۲۰۱۸ به زبان فارسی و انگلیسی که در مورد انگل لیشمانیا، پشه‌های خاکی فلبوتوموس و لوتزومیا و تعاملات آن‌ها منتشر شده بود، جمع‌آوری گردید. شایان ذکر است که در فرایند بررسی و انتخاب مقالات، منابع و مقالات غیرمرتبط حذف شدند و نتایج مقالات مورد بررسی جمع‌بندی گردیدند.

یافته‌ها

طی چند روز اول پس از خون‌خواری آلوده، تعدادی سد یا مانع طبیعی برای رشد لیشمانیا در بدن پشه خاکی ناقل وجود دارد که این سدها شامل: آنزیم‌های پروتئولیتیک، غشای پری‌تروفیک در اطراف خون خورده‌شده و واکنش‌های ایمنی ذاتی در بدن پشه خاکی می‌باشند.

آنزیم‌های گوارشی

میزان ترشح آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئاز در معده میانی پشه‌های خاکی قبل از خون‌خواری کم می‌باشد. سطوح قابل توجهی از پروتئازها شش ساعت پس از خون‌خواری (PBM: Post Blood Meal) تشخیص داده می‌شود و سطح پیک به ۱۸ تا ۴۸ ساعت PBM می‌رسد که این زمان به گونه پشه خاکی بستگی دارد. pH مطلوب پروتئازها در محدوده قلیایی است. براساس نتایج حاصل از آزمایشات می‌توان گفت که بیشتر آنزیم‌های پروتئاز شامل آنزیم‌های ترپسین و کیموترپسین می‌باشند [۱۰]. اخیراً توالی ESTs کدکننده آنزیم‌های گوارشی در فلبوتوموس پاپاتاسی (*Phlebotomus papatasi*)، فلبوتوموس پرنیشیوس (*P. perniciosus*) و لوتزومیا لانجیپالپیس (*Lutzomyia longipalpis*) شناسایی‌شده است که بیشتر آن‌ها در واقع تریپسین و کیموتریپسین هستند [۱۵-۱۱].

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که در پشه‌های خاکی غیرناقل، در مرحله اولیه پس از خوردن خون آلوده به انگل که زمان بروز فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک است، انگل‌های خورده‌شده در مواجهه با این آنزیم‌ها تخریب شده و از بین می‌روند. علاوه‌براین، مطالعات دیگر حاکی از آن هستند که حتی در پشه‌های ناقل بالای ۵۰ درصد، انگل‌های اماستیگوت خورده‌شده در روز اول پس از خون‌خواری کشته می‌شوند [۵].

چندین مطالعه که با استفاده از روش‌های مختلف فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک را در معده پشه خاکی سرکوب نموده‌اند، آنزیم‌های گوارشی را به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سدها جهت ازبین‌برندن انگل در معده میانی شناسایی کرده‌اند؛ به‌عنوان مثال در یکی از این مطالعات افزودن مهارکننده آنزیم‌های تریپسن به وعده غذایی خون، بقای لیشمانیا دونووانی (*L. donovan*) را در فلبوتوموس پاپاتاسی افزایش داد. در شرایط عادی، غشای پریتروفیک به‌عنوان یک سد دفاعی می‌باشد که مانع قرارگرفتن انگل‌ها در معرض آنزیم‌های گوارشی در مراحل اولیه عفونت می‌شود [۳،۱۶].

اخیراً مکانیسمی که انگل‌ها به کار می‌برند تا بر فعالیت پروتئولیتیک معده تأثیر بگذارند، شناسایی شده است. در پژوهش حاضر مهارکننده‌های سرین پروتئاز (ISP: Serine Protease Inhibitors) در لیشمانیا ماژور (*L. major*) یافت شد. با وجود نبود آنزیم‌های بالقوه در ژنوم انگل، ISP دارای اثرات مهارکننده

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

بر پروتئازهای سرین ماکروفاژ مهره‌داران مانند نوتروفیل الاستاز می‌باشد که در ارتباط با یکی از آن‌ها به نام ISP2 (ISP2، GeneDB: LmjF.15.0510) نشان داده شده است که برای افزایش میزان زنده‌ماندن انگل در ماکروفاژهای موش صحرایی، این مهارکننده افزایش یافته است [۱۷،۱۸]. علاوه‌براین، ISP فعالیت تریپسین را در معده پشه خاکی مهار می‌کند [۱۹].

باید خاطرنشان ساخت که انگل لیشمانیا دارای مکانیسم‌های مقاومتی در مقابل حمله پروتئولیتیک می‌باشد که حتی ممکن است نیازی به مهار آنزیم‌های پروتئولیتیک در ناحیه میگات پشه نداشته باشند. در پژوهشی در شرایط آزمایشگاهی انگل لیشمانیا ماژور را در مواجهه با لوله گوارش لیزشده استخراج‌شده از پشه خاکی فلبوتوموس پاپاتاسی که خون‌خواری کرده بود مورد بررسی قراد دادند. انگل‌هایی که به شکل آماستیگوت و پروماستیگوت کامل بودند، در برابر آنزیم‌های گوارشی مقاومت نمودند؛ اما در فرم‌های بینابینی بین تبدیل آماستیگوت به پروماستیگوت مقاوم نبودند و لیز شدند. نتایج حاصل از این مطالعات منجر به شناسایی مولکول‌هایی شده است که ممکن است در حفاظت از انگل در مقابل آسیب‌های پروتئولیتیک نقش داشته باشند. این حفاظت به‌طور ویژه بر عهده یک خانواده از گلیکوکونژوگات‌ها به نام فسفوگلیکان‌ها (PG) متمرکز شده است که دارای یک ساختار مشترک از واحدهای تکرارشونده [Gal-Man-PO4] می‌باشند. این مولکول‌های سطحی انگل لیشمانیا از طریق گلیکوزیل فسفات فسفاتیدیل اینوزیتول لیپید انکور از جمله لیپوفسفوگلیکان (LPG) و پروتئو فسفوگلیکان (PPG) به سطح سلول انگل متصل می‌شوند. پروتئین حاوی فسفوگلیکان‌ها شامل پروتئو فسفوگلیکان ترشح‌شده (PPGs) و اسید فسفاتازها نیز از این دسته مولکول‌ها می‌باشند. مولکول سطحی PPG در لیشمانیا ماژور به‌عنوان مولکول کلیدی باعث ایجاد مقاومت در پروماستیگوت‌های پروسیکلیک می‌شود [۲۰]. با توجه به مطالب گفته‌شده، آنزیم‌های پروتئولیتیک یکی از عوامل حیاتی هستند که بر رشد لیشمانیا در ناقلین تأثیر می‌گذارند و اهداف جذابی را برای استراتژی قطع انتقال بر مبنای ناقلین (Vector Based Transmission Blocking Strategy) نشان می‌دهند.

پرده اطراف غذا

پرده اطراف غذا یا غشای پری‌تروفیک در دستگاه گوارش پشه خاکی به‌عنوان یک سد در برابر رشد و نمو انگل لیشمانیا مطرح می‌باشد. غشای پری‌تروفیک یک غشای کیتینی خارج سلولی است که در بسیاری از حشرات حفره سلولی را از اپیتلیوم میدگات جدا می‌کند. این کیتین از پروتئین و گلیکوپروتئین‌ها تشکیل شده است. در راسته دیپترا زیر راسته نماتوسرا در پشه‌های خاکی ماده، PM نوع یک توسط اپیتلیوم میدگات در پاسخ مستقیم پس از خون‌خواری تشکیل می‌شود [۲۱]. ساختار غشای پری‌تروفیک پشه خاکی پیچیده است. طی چندین ساعت PBM، یک PM نازک به‌طور عمده حاوی رشته‌های کیتینی تشکیل می‌شود که سطح خونی را پوشش می‌دهد. در مراحل بعد طی حدود ۱۲ ساعت تا ۲ روز PBM (با توجه به گونه‌های پشه خاکی) PM ضخیم‌تر و بالغ می‌شود. پس از گذشت ۳-۲ روز PBM، به نظر می‌رسد که ساختار PM چروک خورده و شروع به پاره‌شدن می‌کند [۲۲،۲۳]. در سطح مولکولی، پروتئین‌های گوناگون در شکل‌گیری PM و پاره‌شدن آن در پشه خاکی شناسایی شده است. نقش اصلی در پاره‌شدن PM از آن کیتیناز می‌باشد. شایان ذکر است که فعالیت کیتینولیتیک در پشه خاکی پس از مصرف خون در میدگات پس از ۴۸ ساعت PBM افزایش می‌یابد [۲۴].

مطالعات متعدد نقش دوگانه‌ای را برای PM پشه خاکی در مورد توسعه لیشمانیا نشان داده‌اند. PM از انگل‌ها در برابر حمله پروتئولیتیک در ابتدای هضم محافظت می‌کند و مانع فرار انگل تا زمان بالغ‌شدن آن می‌شود. پرده PM موجب ایجاد مانع در انتشار سریع آنزیم‌های گوارشی می‌گردد؛ در نتیجه مواجهه انگل با آنزیم‌های پروتئولیتیک در طول زمانی که به‌طور خاص

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

آسیب‌پذیر هستند، محدود می‌شود [۲۵].

در مراحل بعد، PM به‌عنوان مانعی برای رشد و نمو انگل عمل می‌کند. نکتوموناد طولانی باید از فضای اندوتروفیک (Endoperitrophic) داخل PM فرار کند تا مانع انتقال و یا دفع همراه با باقی‌مانده‌های غذای هضم‌شده خون شود. از سوی دیگر، افزودن آلوزامیدین به‌عنوان مهارکننده کیتیناز به غذای خون‌آلود منجر به ضخیم‌شدن PM و تجمع لیشمانیا ماژور در فضای پری‌تروفیک گردیده و مانع توسعه بیشتر انگل در ناقلین طبیعی فلبوتوموس پاپاتاسی می‌شود. نتایج نشان می‌دهند که بخشی از PM که در میدگات سینه ترشح و تشکیل می‌شود، به‌عنوان مانع مهاجرت لیشمانیا به سمت قسمت‌های جلویی دستگاه گوارش و دریچه SV در پشه خاکی عمل می‌کند [۲۳].

فرار لیشمانیا از PM با یک کیتیناز انگلی انجام می‌شود. آنزیم کیتیناز لیشمانیا با حضور هموگلوبین مهار می‌گردد. انگل لیشمانیا از انتهای خلف PM باز در پایان هضم خون خورده‌شده فرار می‌کند. باید توجه داشت که پرده PM نقش مهمی در توسعه انگل دارد و پروتئین‌هایی که در تشکیل، بلوغ و تجزیه آن‌ها دخیل هستند، یک هدف امیدوارکننده برای واکسن‌های مسدودکننده انتقال می‌باشند [۲۶].

واکنش‌های ایمنی

واکنش‌های ایمنی نقش مهمی در کنترل عفونت‌های باکتریایی و انگلی در میدگات بند پایان ناقل دارند [۲۷]. در پشه‌های خاکی فاکتورهای ایمنی به نام دفنسین (Defensin)، پپتیدهای ضد باکتریایی کاتیونی هستند که در چربی بدن و میدگات وجود دارند. در فلبوتوموس دوبوسکی (*P. duboscqi*) یک پپتید نوترکیب دفنسین (Swiss-Prot: P83404) در نتیجه هر دو دسته عفونت‌های باکتریایی و انگلی لیشمانیا القا شده و این پپتید نوترکیب با فعالیت ضد انگلی به میزان قابل توجهی در برابر لیشمانیا ماژور ایجاد می‌گردد. فاکتورهای دیگری که در ایمنی ذاتی نقش دارند عبارت هستند از: پروتئین غنی از گلیسین (Glycin-rich Protein) و سرپن‌ها. علاوه‌براین، همولوگ‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان مولکول‌های تنظیم‌کننده ایمنی اپیتلیال معده میانی و مؤثر بر عفونت‌های باکتریایی و انگلی در پشه‌ها شناسایی شده‌اند [۲۸].

اخیراً در پژوهشی نشان داده شده است که در لوتزومیا لانجیپالپیس، کاهش ترشح فاکتور ایمنی Caspar (GenBank: AM093416) یک تنظیم‌کننده منفی در کنترل سیستم ایمنی منجر به کاهش قابل توجه جمعیت لیشمانیا مکزیکانا (*L. mexicana*) و لیشمانیا اینفنتوم (*L. infantum*) می‌شود که این امر نشان می‌دهد که فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی می‌تواند رشد لیشمانیا در ناقلین را کنترل کند [۲۹]. باید عنوان نمود که تاکنون بررسی‌های اندکی در این زمینه صورت گرفته است و مطالعات گسترده در راستای شناسایی سیستم ایمنی پشه‌های خاکی و ازبین‌بردن عفونت‌های انگلی لیشمانیایی حائز اهمیت می‌باشد.

ایجاد عفونت

همان‌طور که هضم غذا ادامه دارد، انگل‌ها باید به دیواره اپیتلیال معده میانی متصل شوند تا از خروج آن‌ها با باقی‌مانده خون خورده‌شده جلوگیری شود. پس از فرار از فضای آندوتروفیک، انگل‌ها خود را به معده میانی پیوند می‌زنند و از طریق فلاژل در میکروویلی‌های اپیتلیال قرار می‌گیرند. اهمیت مسأله در این است که اتصال یا عدم اتصال، تعیین‌کننده اصلی ناقل و انگل خاص می‌باشد [۳۰،۳۱].

اخیراً در مطالعه‌ای مشخص شده است که اتصال لیشمانیا به معده پشه خاکی به شدت وابسته به مرحله است. این ویژگی در فرم‌های نکتوموناد و لپتوموناد مربوط به فاز میانی رشد انگل مشاهده می‌شود؛ اما در مراحل ابتدایی خون خورده‌شده و مراحل نهایی در فرم‌های پروسیکلیک و متاسیلیک، اتصال لیشمانیا به دیواره معده وجود ندارد [۳۲]. براساس اتصال یا عدم اتصال لیشمانیا به دیواره معده، پشه‌های خاکی به دو دسته ناقلین اختصاصی یا سخت‌گیر

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

(Restricted) و ناقلین آسان‌گیر (Permissive) دسته‌بندی می‌شوند. در ناقلین اختصاصی فقط گونه خاصی از انگل قادر به اتصال به دیواره معده می‌باشد. در مقابل، برخی از گونه‌های پشه خاکی از رشد گونه‌های مختلف لیشمانیا حمایت می‌کنند؛ به همین دلیل ناقلین آسان‌گیر نامیده می‌شوند. به نظر می‌رسد که تنوع تکاملی نزدیکی بین ناقلین اختصاصی با انگل مانند فلبوتوموس پاپاتاسی و فلبوتوموس دوبوسکی با لیشمانیا ماژور و فلبوتوموس سرژنتی (*P. sergenti*) با لیشمانیا تروپیکا (*L. tropica*) وجود دارد [۳۳،۳۴].

اتصال انگل به دیواره معده پشه خاکی

بیشترین مطالعات در ارتباط با بررسی برهم‌کنش بین پشه خاکی و انگل در مورد نحوه اتصال و استقرار لیشمانیا ماژور در ناقل اختصاصی خود فلبوتوموس پاپاتاسی انجام شده است. نقش مولکول لیپوفسفوگلایکان (LPG: lipophosphoglycan) سطح انگل توسط برخی از مطالعات نشان داده شده است. LPG یکی از فراوان‌ترین مولکول‌های سطحی انگل با ساختار گلیکولیپیدی می‌باشد که در تمام سطوح انگل و در تمام مراحل رشد و نمو آن وجود دارد [۳۵].

ساختار اصلی LPG در تمام گونه‌های انگل حفاظت‌شده می‌باشد و انگل توسط گیرنده گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول انکور مولکول سطحی LPG به غشای پلاسما می‌چسبد. مهم‌ترین مولکول‌های سطحی انگل متصل به GPI عبارت هستند از: لیپوفسفوگلیکان (LPG)، پروتئو فسفوگلیکان (PPG)، گلیکوزیل اینوزیتول فسفولیپید (GIPL)، اسید فسفاتاز (AP)، گلیکو پروتئین ۶۳ (GP63) لیشمانولیسین و سیستئین پروتئاز. مهم‌ترین و فراوان‌ترین مولکول LPG است که باعث اتصال و استقرار انگل لیشمانیا به دیواره اپیتلیال معده می‌شود. ساختار مولکولی LPG در گونه‌های مختلف و مراحل گوناگون نمو انگل اختصاصی می‌باشد. LPG شامل چهار قسمت گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول انکور (Pl Anchor)، حلقه هگزا ساکارید (Glycancore)، واحدهای تکرارشونده فسفوگلیکان (PG Repeating Unit) و کلاهک الیگوساکاریدی (Cap) است. در فرایند تبدیل فرم LPG تغییرات مولکول، پروسیکلیک انگل به فرم متاسیکلیک آلوده‌کننده، در قسمت‌های واحدهای تکرار و کلاهک می‌باشد [۳۶].

به‌منظور ایجاد عفونت قابل انتقال در پشه خاکی، انگل باید بتواند از اپیتلیوم میدگات جدا شود و متاسیکلیک آزاد شناور تشکیل دهد. در ترکیب فلبوتوموس پاپاتاسی- لیشمانیا ماژور، پیوستگی با تغییرات خاصی در ساختار LPG به‌دست می‌آید. پیوند انگل توسط مولکول LPG است که در واحدهای تکرار حاوی زنجیره‌های جانبی گالاکتوز می‌باشد. در طول متاسیکلوژنز، مولکول LPG اصلی توسط LPG متاسیکلیک جایگزین می‌شود که در متاسیکلیک، تعداد واحدهای تکرار PG افزایش و زنجیره‌های جانبی کاهش می‌یابد. به این ترتیب LPG فرم متاسیکلیک قابلیت اتصال به میدگات فلبوتوموس پاپاتاسی را ندارد [۳۷].

براساس یافته‌های مربوط به نقش باقی‌مانده‌های قندها در فرضیه اتصال، مولکول گالکتین (PpGalec) به‌عنوان گیرنده‌ای برای LPG در میدگات پشه خاکی فلبوتوموس پاپاتاسی شناسایی گردیده است [۳۸]. مولکول PpGalec یک گالاکتین ۳۵ کیلودالتونی حاوی دو دومین کربوهیدرات می‌باشد که نقش آن در اتصال لیشمانیا ماژور در سطح لومینال سلول‌های اپیتلیال میدگات ثابت شده است [۳۸]. در نهایت، لیشمانیا به مراحل متاسیکلیک آلوده‌کننده تبدیل می‌شود و تحویل آن‌ها به پوست میزبان مهره‌دار باید برای انتقال مؤثر تضمین گردد.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به مطالب بیان‌شده و گسترش بیماری لیشمانیوز در ایران و جهان، پژوهش در راستای کنترل این بیماری حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به کمپلکس‌بودن بیماری لیشمانیوز، کنترل دشوار

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

بیماری، شکست درمان و عدم وجود واکسن ضد لیشمانیوز، مطالعات شناسایی مسیر رشد و تکمیل چرخه زندگی انگل در بدن پشه خاکی ناقل لیشمانیوز حائز اهمیت است تا با شناسایی این موانع و سدهای طبیعی و به نحوی تقویت آن‌ها بتوانیم در جهت شناسایی روش‌های نوین از جمله شناسایی ترکیبات دارویی جدید و واکسن مؤثر در راستای قطع مسیر رشد انگل و کنترل بیماری لیشمانیوز گامی مؤثر برداریم. با توجه به اینکه تمام ترکیبات و مشتقات شناسایی‌شده به‌عنوان واکسن ضد لیشمانیوز در محدوده تحقیقاتی قرار دارند، تاکنون واکسن مؤثری جهت پیشگیری از این بیماری معرفی نشده است.

قدردانی

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و همچنین سرکار خانم جعفری به دلیل همکاری در راستای انجام این مطالعه ابراز می‌نماییم.

References

1. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votypka J, Marty P, Delaunay P, et al. A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies. PLoS Negl Trop Dis 2016; 10(3):e0004349.
2. Yaghoobi-Ershadi MR. Control of phlebotomine sand flies in Iran: a review article. J Arthropod Borne Dis 2016; 10(4):429-44.
3. Dostalova A, Volf P. Leishmania development in sand flies:parasite-vector interactions overview. Parasit Vectors 2012; 5:276.
4. Veysi A, Yaghoobi-Ershadi MR, Rassi Y, Hosseini-Vasoukolaei N, Jeddi-Tehrani M, Rezaee-Node A, et al. Rearing and biology of phlebotomus sergenti, the main vector of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Iran. J Arthropod Borne Dis 2017; 11(4):504-14.
5. Rogers ME, Chance ML, Bates PA. The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of Leishmania mexicana by the sandfly Lutzomyia longipalpis. Parasitology 2002; 124(5):495-507.
6. Gossage SM, Rogers ME, Bates PA. Two separate growth phases during the development of Leishmania in sand flies: implications for understanding the life cycle. Int J Parasitol 2003; 33(10):1027-34.
7. Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes? Trends Parasitol 2006; 22(9):439-45.
8. Bates PA. Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. Int J Parasitol 2007; 37(10):1097-106.
9. Hosseini-Vasoukolaei N, Jeddi-Tehrani M, Akhavan AA. Salivary transcript expression profiles of Phlebotomus papatasi: antigenic variation of phlebotomus papatasi salivary glands regarding some biological and environmental factors. Germany: Lap Lambert Academic Publishing; 2016.
10. Telleria EL, de Araújo AP, Secundino NF, d'Avila-Levy CM, Traub-Csekö YM. Trypsin-like serine proteases in Lutzomyia longipalpis–expression, activity and possible modulation by Leishmania infantum chagasi. PloS One 2010; 5(5):e10697.
11. Dillon RJ, Ivens AC, Churcher C, Holroyd N, Quail MA, Rogers ME, et al. Analysis of ESTs from Lutzomyia longipalpis sand flies and their contribution toward understanding the insect–parasite relationship. Genomics 2006; 88(6):831-40.
12. Ramalho-Ortigão M, Jochim RC, Anderson JM, Lawyer PG, Pham VM, Kamhawi S, et al. Exploring the midgut transcriptome of Phlebotomus papatasi: comparative analysis of expression profiles of sugar-fed, blood-fed and Leishmania major-infected sandflies. BMC Genomics 2007; 8(1):300.
13. Jochim RC, Teixeira CR, Laughinghouse A, Mu J, Oliveira F, Gomes RB, et al. The midgut transcriptome of Lutzomyia longipalpis: comparative analysis of cDNA libraries from sugar-fed, blood-fed, post-digested and Leishmania infantum chagasi-infected

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019

sand flies. BMC Genomics 2008; 9(1):15.
14. Pitaluga AN, Beteille V, Lobo AR, Ortigão-Farias JR, Dávila AM, Souza AA, et al. EST sequencing of blood-fed and Leishmania-infected midgut of Lutzomyia longipalpis, the principal visceral leishmaniasis vector in the Americas. Mol Genet Genomics 2009; 282(3):307-17.
15. Dostalova A, Votypka J, Favreau AJ, Barbian KD, Volf P, Valenzuela JG, et al. The midgut transcriptome of Phlebotomus (Larroussius) perniciosus, a vector of Leishmania infantum: comparison of sugar fed and blood fed sand flies. BMC Genomics 2011; 12(1):223.
16. Rogers ME, Hajmova M, Joshi MB, Sadlova J, Dwyer DM, Volf P, et al. Leishmania chitinase facilitates colonization of sand fly vectors and enhances transmission to mice. Cell Microbiol 2008; 10(6):1363-72.
17. Ivens AC, Peacock CS, Worthey EA, Murphy L, Aggarwal G, Berriman M, et al. The genome of the kinetoplastid parasite, Leishmania major. Science 2005; 309(5733):436-42.
18. Eschenlauer SC, Faria MS, Morrison LS, Bland N, Ribeiro-Gomes FL, DosReis GA, et al. Influence of parasite encoded inhibitors of serine peptidases in early infection of macrophages with Leishmania major. Cell Microbiol 2009; 11(1):106-20.
19. Morrison LS, Goundry A, Faria MS, Tetley L, Eschenlauer SC, Westrop GD, et al. Ecotin-like serine peptidase inhibitor ISP1 of Leishmania major plays a role in flagellar pocket dynamics and promastigote differentiation. Cell Microbiol 2012; 14(8):1271-86.
20. Secundino N, Kimblin N, Peters NC, Lawyer P, Capul AA, Beverley SM, et al. Proteophosphoglycan confers resistance of Leishmania major to midgut digestive enzymes induced by blood feeding in vector sand flies. Cell Microbiol 2010; 12(7):906-18.
21. Sadlova J, Myskova J, Lestinova T, Votypka J, Yeo M, Volf P. Leishmania donovani development in Phlebotomus argentipes: Comparison of promastigote- and amastigote-initiated infections. Parasitology 2017; 144(4):403-10.
22. Secundino N, Eger-Mangrich I, Braga EM, Santoro MM, Pimenta PF. Lutzomyia longipalpis peritrophic matrix: formation, structure, and chemical composition. J Med Entomol 2005; 42(6):928-38.
23. Sadlova J, Volf P. Peritrophic matrix of Phlebotomus duboscqi and its kinetics during Leishmania major development. Cell Tissue Res 2009; 337(2):313-25.
24. Dinglasan RR, Devenport M, Florens L, Johnson JR, McHugh CA, Donnelly-Doman M, et al. The Anopheles gambiae adult midgut peritrophic matrix proteome. Insect Biochem Mol Biol 2009; 39(2):125-34.
25. Hosseini-Vasoukolaei N, Idali F, Khamesipour A, Yaghoobi-Ershadi MR, Kamhawi S, Valenzuela JG, et al. Differential expression profiles of the salivary proteins SP15 and SP44 from Phlebotomus papatasi. Parasit Vectors 2016; 9(1):357.
26. Coutinho-Abreu IV, Sharma NK, Robles-Murguia M, Ramalho-Ortigao M. Targeting the midgut secreted PpChit1 reduces Leishmania major development in its natural vector, the sand fly Phlebotomus papatasi. PLoS Negl Trop Dis 2010; 4(11):e901.
27. Feldhaar H, Gross R. Immune reactions of insects on bacterial pathogens and mutualists. Microb Infect 2008; 10(9):1082-8.
28. Kumar S, Molina-Cruz A, Gupta L, Rodrigues J, Barillas-Mury C. A peroxidase/dual oxidase system modulates midgut epithelial immunity in Anopheles gambiae. Science 2010; 327(5973):1644-8.
29. Diaz-Albiter H, Sant'Anna MR, Genta FA, Dillon RJ. Reactive oxygen species-mediated immunity against Leishmania mexicana and Serratia marcescens in the phlebotomine sand fly Lutzomyia longipalpis. J Biol Chem 2012; 287(28):23995-4003.
30. Bates PA. Leishmania sand fly interaction: progress and challenges. Curr Opin Microbiol 2008; 11(4): 340-4.
31. Sacks DL, Modi G, Rowton E, Spath G, Epstein L, Turco SJ, et al. The role of phosphoglycans in Leishmania-sand fly interactions. Proc Natl Acad Sci 2000; 97(1):406-11.
32. Wilson R, Bates MD, Dostalova A, Jecna L, Dillon RJ, Volf P, et al. Stage-specific adhesion of Leishmania promastigotes to sand fly midguts assessed using an improved comparative binding assay. PLoS Negl Trop Dis 2010; 4(9):e816.
33. Ramalho-Ortigao J, Traub-Csekö Y. Molecular characterization of Llchit1, a midgut chitinase cDNA from the leishmaniasis vector Lutzomyia longipalpis. Insect Biochem Mol Biol 2003; 33(3):279-87.
34. Hosseini-Vasoukolaei N, Mahmoudi AR, Khamesipour A, Yaghoobi-Ershadi MR, Kamhawi S, Valenzuela JG, et al. Seasonal and physiological variations of Phlebotomus papatasi salivary gland antigens in central Iran. J Arthropod Borne Dis 2016; 10(1):39-49.
35. Hosseini-Vasoukolaei N. Sand fly saliva: toward a

vaccine against leishmaniases. Vaccine Res 2015; 2(2):86-92.
36. Lima JB, Araujo-Santos T, Lazaro-Souza M, Carneiro AB, Ibraim IC, Jesus-Santos FH, et al. Leishmania infantum lipophosphoglycan induced-Prostaglandin E2 production in association with PPAR-γ expression via activation of Toll like receptors 1 and 2. Sci Rep 2017; 7(1):14321.
37. Forestier CL, Gao Q, Boons GJ. Leishmania lipophosphoglycan: how to establish structure-activity relationships for this highly complex and multifunctional glycoconjugate? Front Cell Infect Microbiol 2015; 4:193.
38. Kamhawi S, Ramalho-Ortigao M, Pham VM, Kumar S, Lawyer PG, Turco SJ, et al. A role for insect galectins in parasite survival. Cell 2004; 119(3):329-41.

Downloaded from jhc.mazums.ac.ir at 1:22 +0330 on Saturday February 23rd 2019