Archi

REVIEW ARTICLE

Apoptosis as a Potential Target in Therapeutic and Vaccine Interventions against Parasitic Diseases

Roghiyeh Faridnia[1],
Hamed Kalani[2],
Mahdi Fakhar[3]

[1] PhD Student in Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
[3] Associate Professor, Department of Parasitology, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 19, 2018 ; Accepted July 2, 2019)

Abstract

Apoptosis is a physiological cell death that occurs under normal conditions in major biological processes, including the removal of old, damaged, extra, or harmful cells. It plays an important role in natural evolution, tissue homeostasis, removal of cells damaged or infected by viruses, and removal of immune cells activated against self-antigens. The purpose of this review was to examine the role of apoptosis in parasites and helminths. In this study, four English databases and three Persian databases were used to investigate the articles published between 1999 and 2018. Findings showed that in the *Leishmania* parasites, *Plasmodium* and *Toxoplasma gondii* mimic apoptosis with the expression of phosphatidylserine on the surface of the infected macrophages and prevent the recognition of the infected cell by the host immune system. Also, excreted/secreted antigens in the helminths, including *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, and *Schistosoma haematobium* induce apoptosis in immune cells, especially in lymphocytes. Parasites follow different goals by inducing or preventing apoptosis and current article aimed at reviewing these aspects. Moreover, apoptotic blebs from parasite-infected cell can potentially stimulate the host's immune system, therefore, they could be further investigated in vaccine-related studies.

Keywords: apoptosis, parasitic infections, drug design, vaccine

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (175): 173-186 (Persian).

*** Corresponding Author: Mahdi Fakhar -** Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: mahdif53@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

مـــروری

مجـلـــه دانـشـــگاه عـلـــوم پـــزشـــکـــی مـــازنـــدران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۵ مرداد سال ۱۳۹۸ (۱۸۶-۱۷۳)

آپوپتوز به عنوان هدف بالقوه در مداخلات دارویی و واکسن در بیماری های انگلی

رقیه فریدنیا[۱]
حامد کلانی[۲]
مهدی فخار[۳]

چکیده

آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی در فرایندهای مهم بیولوژیکی سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب دیده، اضافی و مضر شده و برای تکامل طبیعی، هوموستاز بافتی، حذف سلول‌های تخریب شده یا آلوده به ویروس و حذف سلول‌های ایمنی فعال شده علیه آنتی‌ژن‌های خودی نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد. هدف از این مطالعه مروری بررسی نقش آپوپتوز در تک یاخته‌ها و کرم‌های انگلی می‌باشد. در این مطالعه چهار پایگاه داده انگلیسی و سه پایگاه داده فارسی در بازه زمانی سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۸ بررسی شدند. نتایج بررسی این مطالعات نشان داد که در انگل‌های *لیشمانیا*، *توکسوپلاسما گوندی* و *پلاسمودیوم* تقلید آپوپتوز با بیان فسفاتیدیل سرین بر روی سطح ماکروفاژهای آلوده و باعث ممانعت از شناخت سلول آلوده توسط سیستم ایمنی میزبان می‌شود. همچنین آنتی ژن‌های دفعی/ترشحی در کرم‌ها شامل *اکینوکوکوس گرانولوزوس*، *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* و *شیستوزوما هماتوبیوم* سبب القای آپوپتوز در سلول‌های ایمنی خصوصا در لنفوسیت‌ها می‌شود. انگل‌ها با ایجاد آپوپتوز و یا ممانعت از آن اهداف متفاوتی را دنبال می‌کنند که در این مقاله مروری جنبه‌های مختلف آن مورد بحث قرار گرفته است. همچنین، اجسام حاصل از آپوپتوز سلول آلوده به انگل قادرند سیستم ایمنی میزبان را به طور قوی تحریک کنند که در آینده می‌توان مطالعاتی در زمینه واکسیناسیون در رابطه با این اجسام انجام داد.

واژه های کلیدی: آپوپتوز، عفونت‌های انگلی، طراحی دارو، واکسن

مقدمه

آپوپتوز (Apoptosis) مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد که در موجودات پرسلولی رخ می‌دهد(۱). آپوپتوز یک واژه یونانی به معنی ریزش برگ درختان پاییزی می‌باشد و اولین بار Kerr و همکارانش در سال ۱۹۷۲ تفاوت میان نکروز و آپوپتوز را کشف کردند و این موضوع جهت توصیف مرگ فیزیولوژیک سلولی بر اساس تغییرات مورفولوژیکی و تمایز آن از نکروز معرفی شد که امروزه این پدیده در مطالعات ضد سرطان جایگاه ویژه‌ای را پیدا کرده است(۲). فرایند آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول تحت کنترل ژن‌ها صورت می‌گیرد که به منظور حذف سلول‌های غیرضروری و ناسالم به‌کار می‌رود(۴،۳).

مولف مسئول: مهدی فخار–ساری: دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، جاده فرح آباد، ساری، ایران Email: mahdif53@yahoo.com
۱. دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استادیار ، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
۳. دانشیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۸/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۹/۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۸/۴/۱۱

www.SID.ir

Archive of SID

آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی در فرایندهای مهم بیولوژیکی سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب دیده، اضافی و مضر شده و برای تکامل طبیعی، هوموستاز بافتی، حذف سلول‌های تخریب شده یا آلوده به ویروس و حذف سلول‌های ایمنی فعال شده علیه آنتی‌ژن‌های خودی نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد. همچنین در تنظیم میزان رشد، تکثیر سلول‌ها، تکامل و سلامت بدن بسیار حائز اهمیت می‌باشد و در نتیجه عدم فعالیت مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی بروز بسیاری از بیماری‌های خود ایمن، سرطان‌ها، عفونت‌های ویروسی رخ می‌دهد(۳). همچنین افزایش غیر طبیعی مرگ سلولی در بیماری‌هایی نظیر اختلالات نورودژنراتیو و ایدز دیده می‌شود(۵). آپوپتوز عملکرد طبیعی سلولی می‌باشد که با کمک آن رشد و تکثیر سلول‌های بدن تنظیم و از ایجاد سرطان جلوگیری می‌شود. در این فرایند، سلول مسئول مرگ خود است، که به آن خودکشی سلولی نیز گفته می‌شود(۶). تعریف واژه مرگ سلولی در کمیته نام‌گذاری (the Nomenclature Committee on Cell Death یا NCCD)، جنبه مورفولوژی مرتبط با مرگ یک سلول را توصیف می‌کند. فرایند آپوپتوز هم مانند تمام مسیرهای سلولی ازمسیرهای مشخص وتوسط تحریک‌های خاصی القا می‌شود. تغییرات سلولی در طی این فرایند شامل جمع شدن سلول، کاهش حجم سلول (پیکنوز)، فشرده شدن کروماتین، تکه تکه شدن هسته، برآمدگی در غشا پلاسمایی، قطعه قطعه شدن DNA، تولید اجسام آپوپتوتیکی و بیان ملکول‌های آپوپتوتیک داخل سلولی و خارج سلولی می‌باشد(۸،۷). تفاوت اصلی این مسیر با نکروز سلولی در عدم ایجاد التهاب و اثر محدود به سلول‌های هدف است. طی فرایند آپوپتوز تغیرات ساختاری کمی در ارگانل‌های سیتوپلاسمی دیده می‌شود یا ممکن است تغییراتی نیز مشاهده نشود. در مقابل آن در مرگ سلولی ناشی از نکروز، ورم سریع سیتوپلاسم (انکوزیس)، پاره شدن غشای پلاسمایی و به دنبال آن کاهش محتویات درون سلولی رخ می‌دهد. در غیاب مارکرهای بیوشیمیایی شایع مربوط به آپوپتوز نفوذپذیری اولیه غشا به نکروز مربوط می‌شود(۷). در آپوپتوز غشاء سیتوپلاسمی به صورت اجسام آپوپتوتیک در می‌آیند، در حالی که در نکروز غشاء تخریب می‌شود و سبب آزاد شدن محتویات داخل سلولی می‌شود. ارگانل‌های سیتوپلاسمی در فرایند آپوپتوز دست نخورده باقی می‌مانند، در حالی که در نکروز تخریب می‌شوند(۹).

برخی داروها سبب القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند(۱۱،۱۰). مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌های انگلی اغلب به علت آسیب بافتی ناشی از مرگ سلول میزبان در نتیجه آپوپتوز می‌باشد. با این حال، گاهی جلوگیری از آپوپتوز توسط انگل ممکن است باعث بقاء آن در سلول میزبان شود(۱۲).

آپوپتوز از دو مسیر خارج سلولی و مسیر داخل سلولی انجام می‌شود(۱۴،۱۳). به مسیر خارجی آپوپتوز القاءشده توسط گیرنده‌های مرگ و به مسیر داخلی مسیر میتوکندریایی آپوپتوز گفته می‌شود(۱۵). در مسیر داخلی در پاسخ به سیگنال‌های مرگ سلولی، نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن مولکول‌های پروآپوپتوتیک از قبیل فاکتور القاءکنندهٔ آپوپتوز شده و موجب ورود سیتوکروم C از فضای بین دو غشاء میتوکندری به داخل سیتوپلاسم می‌شوند. مکانیسم‌های احتمالی عبارتند از باز شدن منفذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی و یا تورم و پاره شدن غشاء خارجی میتوکندری است. در مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی کاسپاز آغازگر، کاسپاز ۹ می‌باشد. کاسپاز ۹ فعال سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی (کاسپاز ۳،۶ و۷) می‌گردد و در نتیجه فرایند آپوپتوز صورت می‌گیرد(۱۶). مولکول‌های مهم عامل آپوپتوز در مسیر خارج سلولی مرتبط با گیرنده القاکننده TNF، Fas لیگاند می‌باشد(۱۷).

کاسپازها جز خانواده سیستئین پروتئازها هستند و نقش محوری در فاز اجرایی آپوپتوز دارند. در روند آپوپتوز، کاسپازها فعال شده و روی سوبسترای خود

www.SID.ir

Archive of SID

عمل می‌کنند و باعث تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک می‌شوند. بنابراین ارزیابی فعالیت کاسپازها به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی آپوپتوز مطرح می‌باشد. با بررسی فعالیت کاسپازها می‌توان مسیر آپوپتوز (خارجی و داخلی) را ارزیابی کرد. بررسی فعالیت کاسپازها با استفاده از سوبسترای اختصاصی آن‌ها صورت می‌گیرد(۱۸). با توجه به نقش بالقوه آپوپتوز در طراحی مطالعات دارویی و واکسن علیه عفونت‌های انگلی و عدم اطلاعات منسجم در این خصوص، به همین منظور مطالعه مروری نظام‌مند حاضر طراحی و اجرا شد.

جستجوی منابع

در این مطالعه جستجوی منابع در ۷ پایگاه داده شامل ۴ پایگاه داده انگلیسی (Scopus، PubMed، SienceDirect، Embase) و ۳ پایگاه داده فارسی (Scientific Information Database [SID]، Islamic Magiran، World Science Citation Center [ISC]) و از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۸ انجام شد. جستجو هم به زبان فارسی و هم انگلیسی انجام گرفت. برای جستجو از ترکیب کلمات "Helminths"، "Apoptosis"، "vaccine"، "protozoan"، "parasitic protozoan" استفاده شد.

غربالگری و انتخاب مطالعات

مطالعاتی که در آن‌ها از آپپتوز در مداخلات دارویی و واکسن علیه عفونت‌های انگلی بیماریزا سنجیده شد، انتخاب شدند. مطالعات را وارد نرم‌افزار EndNote نسخه ۷ نموده و مطالعات تکراری حذف شدند. سپس خلاصه مقالات توسط دو نویسنده به طور مستقل مطالعه شدند و مقالات مرتبط انتخاب شدند. مطالعات انتخاب شده توسط سه نویسنده به دقت خوانده شده و آن‌هایی که معیار ورود را داشتند وارد مطالعه شدند و سایر مطالعاتی که فاقد اطلاعات کافی، وجود فقط خلاصه مقاله، عدم تطبیق روش‌ها با نتایج، تفسیر نادرست نتایج، بودند از مطالعه حذف شدند. اختلاف نظر بین سه نویسنده توسط نویسنده دیگر برطرف شد.

استخراج و آنالیز داده ها

اطلاعات مورد نیاز توسط دو نویسنده مستقل از مقالات انتخاب شده استخراج شد و در صورت نیاز، اختلاف بین آن دو، توسط نویسنده دیگر برطرف شد. اطلاعات استخراج شده در جدول شماره ۱ آورده شده‌اند و شامل مکانیسم اختلال در فرایند آپوپتوز، واکنش سیستم ایمنی، و عوامل مداخله گر در آپوپتوز بود.

جدول شماره ۱: مکانیسم های اختلال انگل ها در فرایند آپوپتوز

منبع	نام انگل	مکانیسم اختلال در فرایندآپوپتوز	واکنش سیستم ایمنی	عوامل مداخله گر درآپوپتوز
(۲۳)، (۲۸-۳۲)، (۳۷-۳۵)	لیشمانیا	-تقلید آپوپتوز با بیان فسفاتیدیل سرین بر روی سطح ماکروفاژ های آلوده و ممانعت از شناخت سلول آلوده توسط سیستم ایمنی میزبان -اتوآپوپتوز (آپوپتوز خود انگل) توسط مکانیزم ناشناخته که به بقای انگل های دیگر کمک می کند.	-مهار پروتئین های التهابی ماکروفاژ میزبان -القاء سیتوکین های ضد التهابی عامل تکثیر و پیشرفت بیماری	-افزایش سایتوکین های Th1 شامل IFNگاما و TNF -افزایش سایتوکین های Th2 شامل IL-4، IL-5 و IL-13
(۱۲)، (۲۱)، (۴۰-۳۹)	توکسوپلاسما گوندیی	- تقلید آپوپتوز با بیان فسفاتیدیل سرین بر روی سطح سلول آلوده و ممانعت از شناخت سلول آلوده توسط سیستم ایمنی میزبان و تضمین بقای انگل درون سلول آلوده	- فعال سازی فاکتور های رونویسی -تغییر در بیان پروتئین های میزبان	- بروز مارکرهای TRAILو Fas-L
(۳۰)، (۴۱-۴۳)	پلاسمودیوم فالسی پاروم	بیان فسفاتیدیل سرین در غشای خارجی اووکینت	- تغییر در میزان سایتوکاین و کموکاین های پیش التهابی	-کاهش سایتوکاین های TNF-α ، IL-6 و MCP -افزایش سایتوکاین IL-10
(۲۲-۲۱)، (۴۶-۴۴)	تریپانوزوما کروزی	اتوآپوپتوز (آپوپتوز خود انگل) توسط لکتین هایی مانند کانکاناوالین A، پروستاگلاندین ها و زیاد بودن تعداد انگل	-القا پاسخ های التهابی با افزایش آلودگی و در نتیجه آپوپتوز سلول های غیر ایمنی نظیر سلول های اندوتلیال عروق	-تولید PGD_2 توسط انگل و القای آپوپتوز -جلوگیری ازآپوپتوز توسط انگل در سلول های قلبی آلوده با افزایش TNF-α و فعال سازی NF-κB -افزایش بیان مولکول های Fas و Fas-L در موش های آلوده
(۴۸)، (۵۴-۵۲)،	کیست هیداتیک تک حفره ای	آپوپتوز لنفوسیت های انسانی توسط فاکتور های موجود در مایع کیست هیداتیک	- با تحریک سایتوکاین ها به سمت Th1رفته و رها سازی رادیکال های آزاد	-افزایش TRAILو Fas-L
(۵۵-۵۶)	کیست هیداتیک حلبچه ای	آپوپتوز سلول های ایمنی توسط مواد دفعی/ترشحی مرحله متاستود	- افزایش تعداد لنفوسیت های T تنظیمی بیان کننده Foxp3+	-افزایش سایتوکاین IL-10 و ممانعت از آپوپتوز
(۵۸-۵۷)	شیستوزوما هماتوبیوم	مواد مترشحه از شیستوزومولا و القای مسیرآپوپتوز با فعال سازی کاسپاز ۳ و ۸	-آپوپتوز سلول هایCD4	-فعال کردن مارکرهای Fas و Fas-L و ممانعت از ایجادگرانولوما در مثانه

www.SID.ir

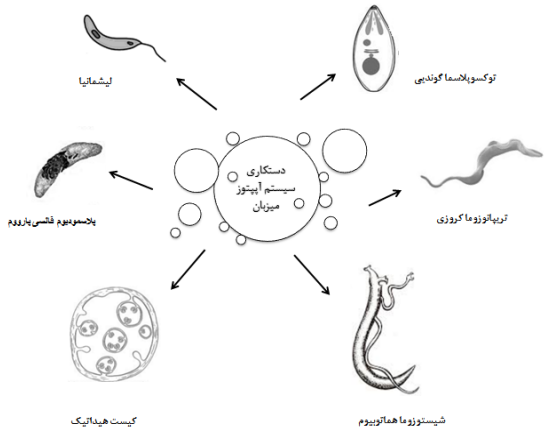
Archive of SID

تاثیر آپوپتوز بر روی سیستم ایمنی

در مراحل اولیه لنفوپویز مسیر پیام رسانی فاکتور رشد یکی از تنظیم کننده‌های ضروری برای هموستازی بوده که این عمل را از طریق افزایش بقای پیش‌سازهای لنفوسیت انجام می‌دهد. در طی تمایز پیش‌سازهای لنفوسیت فرایند آپوپتوز تضمین می‌کند که لنفوسیت‌ها رسپتورهای مربوط به عملکرد خود را بیان می‌کنند و این عمل برای حذف لنفوسیت‌هایی که خطرناک بوده و ممکن است بر علیه بدن میزبان واکنش نشان دهند، ضروری می‌باشد. بسیاری از این فرایندهای گزینشی برای تمایز لنفوسیت‌ها توسط پروتئین‌های خانواده BCL-2 انجام می‌شود که این پروتئین‌ها جزء اعضای پیش آپوپتوزی، ضدآپوپتوزی و رسپتور مرگ TNF می‌باشند. نقص در عملکرد فاکتورهای تنظیم‌کننده مرگ سلولی می‌تواند منجر به شرایط پاتولوژیک همچون نقص سیستم ایمنی، بیماری‌های خودایمن و سرطان شود(۱۹). بخش مهمی از ایمنی ذاتی میزبان در از بین بردن انگل‌ها مربوط به آپوپتوز می‌باشد(۲۰).

آپوپتوز در انگل ها

تک یاخته‌های انگلی که درون سلول زندگی می‌کنند از تخریب سلول آلوده توسط سیستم ایمنی جلوگیری می‌کنند. سلول آلوده دچار مرگ خود به خودی یا آپوپتوز نمی‌شود. سلول‌هایی که دچار آپوپتوز می‌شوند توسط ماکروفاژها شناسایی و بلعیده می‌شوند و انگل درون سلول همراه با سلول از بین می‌رود. بنابراین انگل برای بقای خود درون سلول نیازمند ممانعت از آپوپتوز سلول می‌باشد. در دهه اخیر مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی که از آپوپتوز جلوگیری می‌کنند مشخص شده‌اند. این موضوع که انگل برای بقای خود از مرگ سلول آلوده جلوگیری می‌کند موضوع عجیبی نمی‌باشد. این مکانیسم ممانعتی در ویروس‌ها، باکتری‌ها و تک یاخته‌های انگلی مشاهده شده است. تک یاخته‌های درون سلولی که از آپوپتوز جلوگیری می‌کنند شامل توکسوپلاسما گوندیی، تریپانوزوما کروزی، لیشمانیا، تیلریا، کریپتوسپوریدیوم پاروووم و نوزوما آلجرا می‌باشند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: سیمای کلی از دستکاری سیستم آپپتوز توسط انگل‌ها

اگرچه این انگل‌ها مکانیسم‌های متفاوتی در ورود به سلول میزبان دارند و همچنین موقعیت آن‌ها درون سلول با یکدیگر متفاوت می‌باشد اما از مکانیسم‌های مشابهی برای ممانعت ازآپوپتوز استفاده می‌کنند. تاکنون دو خانواده از مولکول‌ها که ازآپوپتوز ممانعت می‌کنند شناسایی شده‌اند. یکی از این مولکول‌ها پروتئین‌های شوک حرارتی بوده که توسط انگل القا شده و با مولکول‌های مشارکت‌کننده در فرایند آپوپتوز مداخله می‌کند. مولکول دیگر فعال‌سازی فاکتور نسخه برداری NF-κB می‌باشد که تولید آن توسط انگل در سلول میزان افزایش پیدا می‌کند و نسخه برداری ژن مربوط به مولکول‌های ضد آپوپتوز را کاهش می‌دهد(۲۱).

مطالعات اخیر نشان داد که فاگوسیتوز سلول‌های آپوپتوتیک از طریق گیرنده‌های سطحی سلول‌های بیگانه خوار می‌باشد و واسطه‌های ضد التهابی مانند پروستاگلاندین‌ها و TGF-β را ترشح می‌کنند. شواهد اخیر نشان داد که ممانعت از آپوپتوز در ماکروفاژهای حاوی تریپانوزوما کروزی، رشد انگل را در ماکروفاژها افزایش می‌دهد و در شرایط آزمایشگاهی باعث تشدید پارازیتمی می‌شود(۲۲). همچنین آپوپتوز در کرم‌های پهن

www.SID.ir

Archive of SID

در دوران دگردیسی حائز اهمیت می‌باشد و باعث کنترل تعداد سلول و حذف سلول‌های غیر ضروری می‌شود(۸).

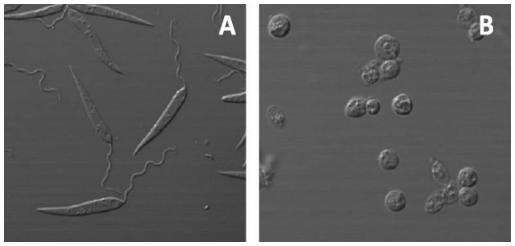
لیشمانیا (Leishmania spp.)

لیشمانیوز مجموعه‌ای از بیماری‌های تک یاخته‌ای قابل انتقال بین انسان و پستانداران است که در بیش از ۸۰ کشور جهان شایع می‌باشد(۲۳). این بیماری به‌طور عمده شامل لیشمانیوز پوستی (سالک)، لیشمانیوز احشایی (کالاآزار)، لیشمانیوز پوستی- مخاطی است و توسط گونه‌های متعدد تک یاخته ای از جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود. آمار ثبت شده مبتلایان به سالک در کشور ما سالیانه حدود ۲۰ هزار نفر است و به نظر برخی متخصصان که ارقام واقعی پنج برابر این تعداد بوده و پس از مالاریا از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی در ایران به شمار می‌رود(۲۵،۲۴). در سیکل زندگی این انگل، آماستیگوت‌ها در سلول‌های فاگوسیتی میزبان، در فاگولیزوزوم‌های اسیدی، تکثیر پیدا می‌کند، در حالی که پروماستیگوت‌ها در روده پشه خاکی ناقل تکثیر پیدا می‌کند. بنابراین، انگل به منظور تکمیل چرخه زندگی خود باید با ماکروفاژهای فعال شده سیستم ایمنی ذاتی بدن میزبان مهره دار مقابله کند و به مقابله با تعاملات پیچیده میزبان بپردازد. فرم آماستیگوت با تقلید آپوپتوز، فسفاتیدیل سرین را بر روی ماکروفاژ آلوده بیان می‌کند و به این ترتیب از شناسایی سلول آلوده توسط میزبان در امان می‌ماند. مهار پروتئین‌های التهابی ماکروفاژ میزبان و القاء سیتوکین‌های ضد التهابی باعث تکثیر انگل و پیشرفت بیماری می‌شود. جالب توجه است که ماکروفاژهای حاوی آماستیگوت مشتق شده از زخم ایجاد شده در موش BALB/c، میزان بیش‌تری از مولکول فسفاتیدیل سرین را در سطح خود در مقایسه با ماکروفاژهای حاوی آماستیگوت به دست آمده از موش‌های C57BL/6 نشان می‌دهد(۲۷،۲۶). در امان ماندن ماکروفاژهای آلوده از سیستم ایمنی میزبان و زنده ماندن آن‌ها وابسته به مکانیسم‌های ماکروفاژ غیر قطبی فعال شده (با فعال‌سازی همزمان iNOS و آرژیناز) می‌باشد که توسط فعالیت ضد لیشمانیایی $CD4^+$ T cells القا می شود. طی فرضیه ای، پاسخ غیر قطبی که منجر به بیان فسفاتیدیل سرین شده منجر به کاهش تولید NO شده و انگل از آسیب در امان می‌ماند و همزمان سنتز پلی‌آمین‌ها نیز افزایش پیدا می‌کند. پاسخ ایمنی میزبان در مقابل انگل لیشمانیا آمازوننسیس معمولاً بسیار ضعیف است و از سیستم Th1/Th2 در مقایسه با لیشمانیا ماژور پیروی نمی‌کند. طی بررسی‌هایی در موش‌های آلوده به لیشمانیا آمازوننسیس دیده شد که Th1 سایتوکین‌های IFN گاما و TNF را ترشح می‌کند و سایتوکین‌های Th2 شامل IL-4، IL-5 و IL-13 و همچنین سایتوکین‌های تنظیمی TGFβ و IL-10 می‌باشند.

در پروماستیگوت‌ها، شرایط متفاوتی با آماستیگوت‌ها اتفاق می‌افتد. هنگامی که فرم پروماستیگوت لیشمانیا در شرایط برون‌تنی (in vitro) محیط کشت از مرحله لگاریتمی به مرحله ایستایی تبدیل می‌شود، فراوانی فسفاتیدیل سرین روی سطح انگل افزایش می‌یابد. علاوه بر این، یک زیر مجموعه از پروماستیگوت‌هایی از روده میانی پشه خاکی فلبوتوموس جمع آوری شد که به انکسین-V (Annexin-V) متصل شدند و به این ترتیب وجود فسفاتیدیل سرین تشخیص داده شد. در هر دو حالت، انگل دچار مرگ آپوپتوزی می‌شوند (تصویر شماره ۲). با این وجود، اضافه کردن پروماستیگوت‌های آپوپتوز شده به محلول تزریق حاوی پروماستیگوت‌های زنده برای ایجاد بیماری در کف پای مدل حیوانی ضروری می‌باشد. پروماستیگوت‌های آپوپتوز شده باعث غیرفعال کردن لکوسیت‌های چندهسته‌ای شده و بقای پروماستیگوت زنده را درون سلول تضمین می‌کند. پروماستیگوت‌های آپوپتوز شده در واقع با مرگ خود بقای پروماستیگوت‌های زنده را تضمین می‌کنند که این رابطه ایثارگرانه در بین جمعیت لیشمانیایی می‌باشد. یک چنین وضعیتی در جمعیت انگل‌های لیشمانیا آمازوننسیس نیز مشاهده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۲: مارکرهای آپوپتوز پروماستیگوت های رشد یافته لیشمانیا اینفانتوم در محیط برون تنی. شکل A مربوط به پروماستیگوت های کشیده رشد یافته لیشمانیا اینفانتوم می باشد و شکلB پروماستیگوت های گرد شده لیشمانیا اینفانتوم در حضور داروی محرک آپوپتوز ادلفوزین را نشان می دهد(۲۸).

در شرایط درون تنی(in vivo) طی تولید اجسام متاسیکلیک در روده پشه خاکی لوتزومیا لونجی پالپیس مشاهده شد که به صورت طبیعی یک زیرمجموعه ای از انگل‌های متاسیکلیک به وسیله آپوپتوز می‌میرند. پروماستیگوت‌های آپوپتوز شده تنها در ناحیه قدامی تا مرز پیشین روده میانی پشه خاکی ناقل یافت می‌شوند. این امر نشان می‌دهد که این نوع مرگ به‌صورت تصادفی رخ نمی‌دهد و بخشی از فرآیند متمایز در شرایط درون تنی می‌باشد. انگل‌های دارای فسفاتیدیل سرین بر روی سطح خود، در طی مرگ آپوپتوتیک بخشی از مورفولوژی آن‌ها دچار تغییر می‌شود اما فسفاتیدیل سرین به طور دایمی در سطح سلول آلوده باقی نمی‌ماند و برای ایجاد پیشرفت ضایعه در شرایط درون تنی، انگل‌های زنده باید به طور همزمان به محلول تلقیحی میزبان پستاندار اضافه شوند. در این شرایط، انگل‌های زنده، اشکال عفونی هستند، در حالی که انگل‌های آپوپتوز شده حاوی فسفاتیدیل سرین، از واکنش التهابی ماکروفاژ جلوگیری می کند(۲۶).

حدود ۲۰ درصد پروماستیگوت‌های فاز ثابت در مجاورت شوک حرارتی با حضور کلسیم دچار تغییرات مورفولوژیکی می‌شوند. این تغییرات بسیار شبیه به آپوپتوز می‌باشند. این تغییرات شامل تجمع کروماتین به صورت تکه‌تکه‌شدن هسته شبیه به اجسام آپوپتوزی بوده در حالی که سیتوپلاسم خود را به صورت طبیعی حفظ می کنند(۲۲).

مطالعات جدید نشان‌دهنده این است که روند آپوپتوز علاوه بر جانداران پر سلولی در تک یاخته‌های یوکاریوتی مانند خانواده کینتوپلاستیدا نیز رخ می‌دهد و این موجودات از این نوع مرگ در جهت کنترل جمعیت سلولی خود استفاده می کنند. تجویز برخی داروها موجب القای مرگ سلولی در انگل لیشمانیا می‌شود. خانواده کاسپازها آنزیم‌هایی هستند که در روند آپوپتوز جانداران پرسلولی نقش اساسی و با عملکرد آبشاری خود موجب ایجاد واکنش‌های آپوپتوز و در نهایت مرگ سلول می‌شوند. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که ژن کاسپاز در انگل‌های لیشمانیا وجود ندارد، بلکه هومولوگ آن ژنی به نام متاکاسپاز است که در کینتوپلاست وجود دارد و از طریق میتوز به هسته منتقل می‌شود. پس از تبدیل sbV به sbIII،sbIII1 از طریق AQP وارد سلول شده و باعث القای PCD می گردد. پروتئینی به نام SKCRP14.1 (Small kinetoplastid calpain related protein) به همراه چند پروتئین دیگر باعث قطعه قطعه شدن DNA می‌شوند و سرانجام باعث تغییر نفوذپذیری غشا و در معرض قرارگیری فسفاتیدیل سرین می‌شود(۲۹).

اخیرا نشان داده شده که چهار داروی ضد لیشمانیایی (آمفوتریسین B، کورکومین، میلتفوسین و پنتامیدین) و مولکول دیگری به نام H2O2 در القاء آپوپتوز در انگل لیشمانیا نقش دارند(۳۰).

از جمله علل دخیل در مقاومت به گلوکانتیم شامل افزایش بیان یوبیکوییتین و ژن‌های AAP3 و افزایش فعالیت PGK PTP، MRPA و مهار ژن‌های MAPK و AQP1 و ژن‌های کلسینورین می‌باشد. ژنوم لیشمانیا حاوی 8272 ژن کدکننده پروتئین می‌باشد که تنها ۳۶ درصد از این ژن‌ها دارای عملکرد می‌باشند(۳۱). از میان این ژن‌ها ژن MAPK واسطه مهم در انتقال سیگنال، تکثیر، پاسخ به استرس و آپوپتوز در سلول‌های یوکاریوت است(۳۲).

بعد از شش دهه استفاده از گلوکانتیم، مکانیسم عمل این دارو به تازگی مشخص شده است. تمام

www.SID.ir

Archive of SID

داروهای آنتیموان پنج ظرفیتی (sbV) باید به فرم سه ظرفیتی (sbIII) تبدیل شوند تا قدرت کشندگی داشته باشند. فرم سه ظرفیتی sbIII باعث آپوپتوز و در نتیجه قطعه قطعه شدن DNA و انتقال فسفاتیدیل کولین به غشای پلاسمایی می‌گردد(۳۳). مشخص شده است که در پیشرفت زخم لیشمانیای ماژور مارکرهای آپوپتوتیک Fas, Fas-L که در القای آپوپتوز نقش دارند عامل تشکیل زخم‌های پوستی هستند(۳۴). انگل لیشمانیا با فعال کردن سیگنال‌های PI3K/Akt و جلوگیری از فعالیت کاسپاز ۳ باعث تاخیر در فعالیت آپوپتوز در سلول میزبان می‌شود(۳۵).

توکسوپلاسما گوندیی (Toxoplasma gondii)

توکسوپلاسما گوندیی انگل درون سلولی است که مهره داران زیادی را آلوده می‌کند. فرم فعال و مهاجم آن تاکی زوئیت می‌باشد(۳۶). فرم تاکی زوئیت به سلول میزبان حمله کرده و در واکوئول‌های پارازیتوفورس جای می‌گیرد و در آن تکثیر یابد. با گذشت زمان انگل به صورت مکرر پروتئین‌های راپتری (ROP) و گرانل‌های متراکم (GRA) را ترشح می‌کند که منجر به نفوذ انگل در سلول میزبان می‌شود. انگل می‌تواند با فرستادن سیگنال و فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی، بیان پروتئین‌های میزبان را تغییر دهد که تعدادی از این پروتئین‌ها نقش تنظیمی در فعالیت آپوپتوز داشته و انگل با مهار این پروتئین‌ها مانع از آپوپتوز سلول آلوده شده که از این طریق در واقع بقای خود را درون سلول آلوده تضمین می‌کند(۳۷). طی مطالعه‌ای که در شرایط برون‌تنی انجام شد، مشاهده شد که سلول‌های دندریتیک آلوده به توکسوپلاسما گوندیی، سبب القا آپوپتوز سلول‌های T و بروز مارکرهای Fas-L , TRAIL شده و از طریق Th1 و Th2 باعث سرکوب پاسخ‌های ایمنی می‌شود(۳۸).

پلاسمودیوم فالسی پاروم (Plasmodium falciparum)

مطالعات کمی در مورد مارکرهای ایجاد کننده آپوپتوز در این انگل وجود دارد. اکثر مطالعات انجام شده بر روی مرحله جنسی داخل گلبول قرمز پلاسمودیوم فالسی پاروم بوده که در محیط برون‌تنی انجام شده است. مرگ سلولی القا شده توسط دارو از یک استرین انگل به استرینی دیگر متفاوت بوده است. مارکرهای شبه آپوپتوز مرگ سلولی در مرحله متحرک زیگوت و اووکینت در لومن روده میانی پشه خاکی در محیط درون‌تنی و برون‌تنی دیده می‌شود(۳۹). واکسن تنها در مرحله خارج از گلبول قرمز اسپروزوئیت‌ها و مرحله کبدی انگل اثر می‌گذارد و باعث بهبود عفونت، علائم بالینی و انتقال بیماری می‌شود. سلولی که توسط یک عامل بیماری‌زا آلوده می‌شود به طور طبیعی تمایل به آپوپتوز شدن دارد تا با مرگ خود باعث از بین رفتن انگل و در نتیجه ممانعت از انتشار آن شود. عوامل بیماری‌زای داخل سلولی همچون ویروس‌ها، باکتری‌ها و تک‌یاخته‌ها برای بقای خود نیاز به ممانعت از القای آپوپتوز توسط سلول دارند که این توانایی با مطالعه بر روی عوامل بیماری زای داخل سلولی که توسط اشعه تضعیف شده‌اند اثبات گردید، به طوری که عوامل بیماری‌زای تضعیف شده قادر به ممانعت از آپوپتوز نبوده در حالی که عوامل پاتوژن فعال از آپوپتوز سلول آلوده ممانعت می‌کنند. به‌نظر می‌رسد هپاتوسیت‌های آلوده شده به انگل مالاریا از طریق القای مکانیسم‌های داخل سلولی و نه خارج سلولی وابسته به گیرنده‌های سلولی و یا وابسته به گرانزیم/پروتئین دچار آپوپتوز می‌شود(۴۰).

اسپروزوئیت‌های پلاسمودیوم فالسی پاروم، سایتوکاین و کموکاین‌های پیش التهابی از جمله TNF-α ، IL-6 و MCP-1 را کاهش و مقدار سایتوکاین‌های ضد التهابی نظیر IL-10 را افزایش می‌دهند که این مکانیسم‌ها منجر به القای آپوپتوز ماکروفاژهای کبدی می‌شود(۴۱).

تریپانوزوما کروزی (Trypanosoma cruzi)

لکتین‌هایی مانند کانکاناوالین A (Concanavalin A) اولین مارکری می‌باشد که باعث القای بیان آپوپتوز در این انگل می‌شود. علاوه بر آن،

www.SID.ir

Archive of SID

وجـود پروسـتاگلاندین‌هـا و تـراکم انگـل‌هـا در محـیط کشت می‌تواند منجر به تحریـک ایجـاد آپوپتـوز شـود. همچنـین مـرگ سـلولی مـی‌توانـد از طریـق دخالـت RNA های ژن‌های حیاتی نیز القا شود. ایـن فـاکتوری‌هـای ذکر شده در مورد القای آپوپتوز در انگل لیشمانیا صادق نمی‌باشند. این فاکتورهـا مـی‌تواننـد باعـث القـا یـا مهـار مرگ سلولی در این انگل شوند(۴۲). در مطالعات مختلـف نشان داده شده کـه تولیـد PGD2 توسـط انگـل موجـب القای آپوپتوز شده و جالب است که در سلول‌های قلبی آلوده، انگل بـا افـزایش TNF-α و فعـال‌سـازی NF-Kb موجب مهار آپوپتوز می‌شود(۴۴،۴۳).

کیست هیداتیک (Hydatid cyst)

کیست هیداتیک بیماری جهان شمول مشترک بـین انسان و دام است که عمدتا توسـط مرحلـه لاروی کـرم نواری اکینوکوکوس گرانولوزوس، سستودی از خانواده تنیده ایجاد مـی‌شـود. بیمـاری در میزبـان‌هـای واسـط از جمله حیوانـات علفخـوار و انسـان عامـل ایجـاد کیسـت هیداتیک و در میزبان نهائی (سگ سانان) ایجاد بیمـاری هیداتیدوز می‌کند. وجـود انگـل در بـدن میزبـان باعـث القای واکنش سیستم ایمنی قوی در بدن میزبان می‌شـود که باعث آزاد شدن انواع مختلف اینترلـوکین شـده کـه نقـش مهمـی در کنتـرل رشـد کیسـت در بـدن میزبـان دارد(۴۵). از مکانیسم هایی کـه در از بـین بـردن کیسـت هیداتیک و نابارور کردن کیست‌های بارور اشاره کـرد، ایمنی ذاتی انسان بر علیه مایع و لایه‌های کیسـت هیـداتیک می‌باشد(۴۶). از مسیرهای ایمنی ذاتی میزبان علیه کیسـت هیـداتیـک می‌تـوان مسیـرهـای Toll-like رسپتـورهـا و آپوپتـوز را نـام بـرد(۴۸،۴۷). اجـزای ایمنـی موجـود در لایه‌های مختلف کیست هیداتیک نقش مهمـی در عـدم شکل‌گیری کیست هیداتیک در بدن میزبـان دارنـد(۴۹). همچنین ایمونوژن‌های مایع کیست که منجر به آپوپتـوز لنفوسیت‌های انسانی می‌شـوند، یـک مکانیسـم در بقـای کیست هیداتیک در مبتلایان می‌باشد(۵۰). آپوپتوز علیـه لایه‌های مختلـف (لایـه‌هـای فیبـروز و ژرمینـال) و مـایع کیست هیداتیک باعث نابارور شدن کیسـت‌هـای بـارور می‌شود(۵۱). در لایه فیبروزی کیست هیـداتیک، سیسـتم ایمنی ذاتی از جمله ماکروفاژها و اعضای آپوپتوز جـای دارند که با تحریک سایتوکاین‌ها به سمت Th1 می‌روند و بـا رهاسـازی رادیکـال‌هـای آزاد از جملـه اکسـیژن و نیتروژن سبب نابارور شدن این کیست‌هـا مـی‌شـوند(۴۹). کمـپلکس تخریـب DNA در پروتواسـکولکس درمـان شده با دگزامتازون در سطح بالایی قرار دارد که این امر موجب ناباروری کیست‌های هیداتیک مـی‌شـود(۵۱). در افراد مبـتلا بـه کیسـت هیـداتیک، احتمـالا مسـیر ایمنـی آپوپتوز میزبان بر علیـه لایـه ژرمینـال کیسـت هیـداتیک بارور به عنوان یکی از مسیرهای مهم در سرکوب و غیـر بارور کردن کیست هیداتیک محسوب مـی‌شـود. نتـایج حاصل از مطالعه‌ای نشان داد که شدت بیان ملکول‌هـای القاکننـده آپوپتـوز TRAIL و Fas-L در لایـه ژرمینـال کیست هیداتیک نابارور در مقایسـه بـا کیسـت بـارور و بافت کنترل سالم اطراف کیست در سـطح نسـبتا بـالایی قرار دارد که نقش مهمی در نابارور کـردن کیسـت‌هـای بارور دارد. وجود آپوپتوز درکیست هیـداتیک بـا قطعـه قطعـه شـدن هسـته، ایجـاد اجسـام آپوپتوتیـک در لایـه ژرمینـال و انـدازه‌گیـری کاسـپاز ۳ در لایـه ژرمینـال و پروتواسکولکس مشخص مـی‌شـود، بـه طوریکـه میـزان کاسپاز ۳ در لایه ژرمینال کیست‌های غیر بارور ۱۰ برابر کیست‌های بارور است(۵۲). تولیدات دفعی ترشحی لارو اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس باعث القا آپوپتـوز در سلول‌های دندرتیک در شرایط برون تنی می‌شود(۵۳).

در مراحـل اولیـه چرخـه زنـدگی اکینوکوکـوس مولتی لوکولاریس یعنـی مرحلـه انکوسـفر مـواد دفعـی/ ترشحی انکوسفر موجب بلوغ سلول‌های دندرتیک شده و تولید IL-10 را در آنها القا می‌کند، در حالی که مـواد دفعی/ترشحی متاسستود بر بلـوغ سـلول‌هـای دنـدرتیک تاثیر نداشته اما موجب افـزایش تعـداد لنفوسـیت‌هـای T تنظیمـی بیـان‌کننـده Foxp3+ مـی‌شـود. همچنـین مـواد

www.SID.ir

Archive of SID

دفعی/ترشحی مرحله پروتواسکولکس قادر به انجام هیچ‌کدام از موارد ذکر شده نمی‌باشد(۵۴).

شیستوزوما هماتوبیوم (Schistosoma haematobium)

مطالعات کمی در زمینه ارتباط این انگل با آپوپتوز انجام شده است. مطالعه ای نشان دادکه تخم شیستوزوما هماتوبیوم موجب آپوپتوز سلول‌های $CD4^+$ و فعال کردن مارکرهای Fas و Fas-L شده و از ایجادگرانولوما در مثانه جلوگیری می‌کند(۵۵). همچنین مواد مترشحه از شیستوزومولا موجب القای مسیرآپوپتوز با فعال‌سازی کاسپاز ۳ و ۸ شده که آپوپتوز در سلول‌های $CD4^+$ T و $CD8^+$ و نه لنفوسیت‌های B زیرپوستی مشاهده می‌شود(۵۶).

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که آپوپتوز فرایندی است که طی آن یک سلول به تکه‌های کوچک‌تر تبدیل شده که این عمل به صورت عادی در سلول‌های سوماتیک اتفاق می‌افتد. انگل‌ها در طی فرآیندهای مختلف از آپوپتوز به نفع خود استفاده می‌کنند. برخی از تک یاخته‌ها با مهار آپوپتوز در سلول آلوده و به طور همزمان تحریک بیان فسفاتیدیل سرین بر روی سطح سلول آلوده آپوپتوز را در سلول تقلید کرده و موجب فرار انگل از سیستم ایمنی می‌شوند. همچنین، گاهی انگل‌ها با ترشح مولکول‌هایی موجب آپوپتوز در سلول‌های ایمنی میزبان نظیر لنفوسیت‌ها شده و از این طریق موجب کاهش پاسخ‌های ایمنی می‌شوند. علاوه بر این، در برخی موارد انگل‌ها موجب آپوپتوز خود شده و گمان می‌رود که این عمل در بقا سایر انگل‌های موجود نقش داشته باشد. القا آپوپتوز توسط انگل‌ها می‌تواند رویکرد جدیدی را به همراه داشته باشد و از آن در مطالعات ضد سرطان استفاده‌کرد. اجسام حاصل از آپوپتوز ماکروفاژهای آلوده به انگل از جمله انگل لیشمانیا قادر به تحریک سیستم ایمنی میزبان بوده که به دنبال آن موجب تغییر در فعالیت‌های لنفوسیت ها، مولکول‌های تنظیم‌کننده و پروتئین‌های التهابی می‌شود که این موضوع جای تحقیق و بررسی بیش‌تری داشته و می‌تواند در آینده به عنوان رویکردی در زمینه مطالعات واکسیناسیون در انگل ها از جمله لیشمانیا مورد بحث و بررسی قرار گیرد. از آن‌جایی‌که درمان فعلی انواع لیشمانیوز بر اساس داروهای شیمیایی می‌باشد و کاربرد آن‌ها با محدودیت‌های جدی مانند هزینه بالا، سمیت، عوارض مصرف دارو و اثربخشی کم مواجه است، موفقیت‌هایی که در زمینه واکسیناسیون علیه انگل لیشمانیا به دست آمده، به‌طور مشخص نشانگر نیاز بیش‌تر به انجام تحقیقات و سرمایه‌گذاری در زمینه تولید واکسن مناسب علیه لیشمانیا می‌باشد(۵۷).

امروزه داروهای زیادی برای درمان انواع لیشمانیوزها به‌کار برده می‌شود ازجمله داروی ضد انگلی آمفوتریسین B را می‌توان نام برد ولی درمان‌های دارویی باعث ریشه‌کنی بیماری نمی‌شوند. امروزه واکسنی که بتواند ایمنی طولانی مدت و موثری در برابر لیشمانیا ایجاد کند، وجود ندارد. بنابراین تحقیقات و مطالعات زیادی در زمینه تهیه واکسن مناسب ضروری می‌باشد(۵۸). برای طراحی یک واکسن ایده آل علیه بیماری لیشمانیوز نیاز به یک آنتی ژن مناسب و همچنین سیستم تحویل آنتی ژنی مناسبی برای ایجاد پاسخ ایمنی مورد نیاز می‌باشد که تا به امروز در حال تحقیق و بررسی می‌باشد(۵۹).

اخیرا نقش واکسن‌های پروآپوپتوزی (Proapoptosis) در تحریک واکنش‌های ایمنی مورد مطالعه قرار گرفته است و عملکرد موثری در برابر بیماری‌های عفونی و سرطان داشته‌اند. اجسام ناشی از آپوپتوز که در القای التهاب نقش دارند، ممکن است سبب افزایش کارایی واکسن شوند چرا که سیستم ایمنی را بهتر تحریک می‌کند. دانستن مکانیسم‌های آپوپتوز و سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی برای طراحی واکسن‌های موثر برای بیماری‌های عفونی و سرطان از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد(۶۰). اخیرا مشاهده شده است که سلول‌های آپوپتوز شده و نه نکروز شده، می‌توانند کاندید مناسبی برای واکسن در شرایط درون‌تنی

www.SID.ir

Archive of SID

باشند(۶۱). بنابراین با توجه بـه مطالعـه حاضـر، در آینـده می‌توان با تکیه بر ایـن اصـول زمینـه‌ای را بـرای سـاخت واکسن علیه عفونت‌های انگلی به خصوص انواع زئونوز آن‌ها فراهم آورد.

References

1. Douglas R. Means to an end: apoptosis and other cell death mechanisms. New York: Cold Spring Harbor; 2011.
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26(4): 239-257.
3. Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death. J Qazvin Univ Med Sci 2013; 17(3): 48-57.
4. Dustar Y, Hashemi M, Malayeri H, Jahani ZG, Gharamaleki MN, Shaveisi-Zadeh F, et al. Studying Variation in Cell Apoptosis Caused by Corticosteroids in Thymus of the Rat. Asian Pacific Journal of Cancer Biology 2017; 1(4).
5. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995; 267(5203): 1456-1462.
6. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. Am J Pathol 2000; 157(5): 1415-1430.
7. Krysko DV, Berghe TV, D'Herde K, Vandenabeele P. Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis. Methods 2008; 44(3): 205-221.
8. Cliffe LJ, Potten CS, Booth CE, Grencis RK. An increase in epithelial cell apoptosis is associated with chronic intestinal nematode infection. Infect Immun 2007; 75(4): 1556-1564.
9. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. Annu Rev Physiol 1998; 60(1): 619-642.
10. Karami-Tehrani F. Caspase dependent apoptosis induced by cladribine in the estrogen receptor negative breast cancer cell line, MDA-MB468. J. Sci I R Iran 2003; 14(4): 303-310.
11. Hashemi M, Karami-Tehrani F, Ghavami S. Cytotoxicity effect of Cladribine on the MCF-7 human breast cancer cell line. IBJ 2004; 8(1): 7-12.
12. Bienvenu AL, Gonzalez-Rey E, Picot S. Apoptosis induced by parasitic diseases. Parasit Vectors 2010; 3: 106.
13. Wong WWL, Puthalakath H. Bcl 2 family proteins: The sentinels of the mitochondrial apoptosis pathway. IUBMB Life 2008; 60(6): 390-397.
14. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology 2007; 35(4): 495-516.
15. Bratton SB, MacFarlane M, Cain K, Cohen GM. Protein complexes activate distinct caspase cascades in death receptor and stress-induced apoptosis. Exp Cell Res 2000; 256(1): 27-33.
16. Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: alive and well in the new millennium. Trends Cell Biol 2001; 11(12): 526-534.
17. Kolomecki K, Maciaszczyk P, Stepien H, Stepien T, Kuzdak K, Ulanska J. P53 concentration and soluble FasL (sFasL) serum level as indicators of apoptosis in patients with benign and malignant thyroid tumors. Bratisl Lek Listy 2005; 106(10): 297-300.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Evaluation of caspase activity in apoptotic cells. J Immunol Methods 2002; 265(1-2): 97-110.
19. Opferman J. Apoptosis in the development of the immune system. Cell Death Differ 2008; 15(2): 234-242.
20. Verbrugge I, De Vries E, Tait S, Wissink E, Walczak H, Verheij M, et al. Ionizing radiation modulates the TRAIL death-inducing signaling complex, allowing bypass of the mitochondrial apoptosis pathway. Oncogene 2008; 27(5): 574-584.
21. Heussler VT,Küenzi P, Rottenberg S. Inhibition of apoptosis by intracellular protozoan parasites. Int J Parasitol 2001; 31(11): 1166-1176.
22. Barcinski M, DosReis G. Apoptosis in parasites and parasite-induced apoptosis in the host immune system: a new approach to parasitic diseases. Braz J Med Biol Res 1999; 32(4): 395-401.
23. Mirzaei F, Bafghi AF, Mohaghegh MA, Jaliani HZ, Faridnia R, Kalani H. In vitro anti-leishmanial activity of Satureja hortensis and Artemisia dracunculus extracts on Leishmania major promastigotes. J Parasit Dis 2016; 40(4): 1571-1574.
24. Parvizi P, Baghban N, Novin EA, Absavaran A. Detection, identification and molecular typing of Leishmania major in Phlebotomus papatasi from a focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central of Iran. Exp Parasitol 2010; 124(2): 232-237.
25. Faridnia R, Kalani H, Fakhar M, Akhtari J. Investigating in vitro anti-leishmanial effects of silibinin and silymarin on Leishmania major. Ann Parasitol 2018; 64(1): 29-35.
26. El-Hani CN, Borges VM, Wanderley JL, Barcinski MA. Apoptosis and apoptotic mimicry in Leishmania: an evolutionary perspective. Front Cell Infect Microbiol 2012; 2: 96.
27. Gannavaram S, Debrabant A. Programmed cell death in Leishmania: biochemical evidence and role in parasite infectivity. Front Cell Infect Microbiol 2012; 2: 95.
28. Jimenez-Ruiz A, Alzate JF, Macleod ET, Luder CG, Fasel N, Hurd H. Apoptotic markers in protozoan parasites. Parasit Vectors 2010; 3: 104.
29. Vergnes B, Gourbal B, Girard I, Sundar S, Drummelsmith J, Ouellette M. A proteomics screen implicates HSP83 and a small kinetoplastid calpain-related protein in drug resistance in Leishmania donovani clinical field isolates by modulating drug-induced programmed cell death. Mol Cell Proteomics 2007; 6(1): 88-101.
30. Basmaciyan L, Azas N, Casanova M. Different apoptosis pathways in Leishmania parasites. Cell Death Discovery 2018; 4(90): 27.
31. Zarean M, Maraghi S, Hajjaran H, Mohebali M, Feiz-Hadad MH, Assarehzadegan MA. Comparison of Proteome Profiling of Two Sensitive and Resistant Field Iranian Isolates of Leishmania major to Glucantime(R) by 2-Dimensional Electrophoresis. Iran J Parasitol 2015; 10(1): 19-29.
32. Kumar D, Singh R, Bhandari V, Kulshrestha A, Negi NS, Salotra P. Biomarkers of antimony resistance: need for expression analysis of multiple genes to distinguish resistance phenotype in clinical isolates of Leishmania donovani. Parasitol Res 2012; 111(1): 223-230.
33. Jaffary F, Nilforoushzaheh MA. Review of the prevalence and causes of antimony compounds resistance in different societies

www.SID.ir

Archive of SID

review article. Tehran University Medical Journal 2017; 75(6): 399-407.

34. Eidsmo L, Nylen S, Khamesipour A, Hedblad MA, Chiodi F, Akuffo H. The contribution of the Fas/FasL apoptotic pathway in ulcer formation during Leishmania major-induced cutaneous Leishmaniasis. Am J Pathol 2005; 166(4): 1099-1108.
35. Ruhland A, Leal N, Kima PE. Leishmania promastigotes activate PI3K/Akt signalling to confer host cell resistance to apoptosis. Cell Microbiol 2007; 9(1): 84-96.
36. Pestechian N, Khanahmad Shahreza H, Faridnia R, Kalani H. Manipulation of IL-10 gene expression by Toxoplasma gondii and its products. Med J Islam Repub Iran 2016; 30: 410 (Persian).
37. Besteiro S. Toxoplasma control of host apoptosis: the art of not biting too hard the hand that feeds you. Microb Cell 2015; 2(6): 178-181.
38. Wei S, Marches F, Borvak J, Zou W, Channon J, White M, et al. Toxoplasma gondii-infected human myeloid dendritic cells induce T-lymphocyte dysfunction and contact-dependent apoptosis. Infect Immun. 2002; 70(4): 1750-1760.
39. Meslin B, Barnadas C, Boni V, Latour C, De Monbrison F, Kaiser K, et al. Features of apoptosis in Plasmodium falciparum erythrocytic stage through a putative role of PfMCA1 metacaspase-like protein. J Infect Dis 2007; 195(12): 1852-1859.
40. James E. Apoptosis: key to the attenuated malaria vaccine? J Infect Dis. 2005; 191(10): 1573-15۷5.
41. Klotz C, Frevert U. Plasmodium yoelii sporozoites modulate cytokine profile and induce apoptosis in murine Kupffer cells. Int J Parasitol 2008; 38(14): 1639-1650.
42. Decote-Ricardo D, Nunes MP, Morrot A, Freire-de-Lima CG. Implication of Apoptosis for the Pathogenesis of Trypanosoma cruzi Infection. Front Immunol 2017; 8: 518.
43. Denninger V, Figarella K, Kubata B, Duszenko M. Differentiation and apoptosis in the sleeping sickness inducing parasite Trypanosoma brucei. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Mierobiology. J Appl Microbiol 2007: 820-829.
44. Faridnia R, Khanahmad KA, Carmen J ,Sinai AP, Burleigh BA. Trypanosoma cruzi infection and nuclear factor kappa B activation prevent apoptosis in cardiac cells. Infect Immun 2006; 74(3): 1580-1587.
45. Faridnia R TS, Khanahmad-Shahreza H, Kalani H, Yousefi-Darani H. Evaluating the gene expression level of IL-12 in the fibrous layer of hepatic hydatid cysts isolated from slaughtered animals. Comp Clin Pathol 2015; 24(5): 1193-1196.
46. Paredes R, Jimenez V, Cabrera G, Iraguen D, Galanti N. Apoptosis as a possible mechanism of infertility in Echinococcus granulosus hydatid cysts. J Cell Biochem 2007; 100(5): 1200-1209.
47. Kanan JH, Chain BM. Modulation of dendritic cell differentiation and cytokine secretion by the hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus. Immunology 2006; 118(2): 271-278.
48. Formigli L, Conti A, Lippi D. "Falling leaves": a survey of the history of apoptosis. Minerva Med 2004; 95(2): 159-164.
49. Cabrera G, Cabrejos ME, Morassutti AL, Cabezon C, Orellana J, Hellman U, et al. DNA damage, RAD9 and fertility/infertility of Echinococcus granulosus hydatid cysts. J Cell Physiol 2008; 216(2): 498-506.

www.SID.ir

Archive of SID

50. Mokhtari Amirmajdi M, Sankian M, Eftekharzadeh Mashhadi I, Varasteh A, Vahedi F, Sadrizadeh A, et al. Apoptosis of human lymphocytes after exposure to hydatid fluid. Iran J Parasitol 2011; 6(2): 9-16 (Persian).
51. Hu H, Kang J, Chen R, Mamuti W, Wu G, Yuan W. Drug-induced apoptosis of Echinococcus granulosus protoscoleces. Parasitol Res 2011; 109(2): 453-459.
52. Spotin A, Sankian M, Varasteh A, Shamsian AA, Vahedi F. Expression of Apoptosis Inducing-Ligands, TRAIL and Fas-L in Hydatid Cyst Germinal Layer and Normal Tissue. J Ardabil Univ Med Sci 2012; 12(1): 7-15 (Persian).
53. Arefkhah N, Mosavi F, Taghipor S, Daneshpor S, Yousofidarani H. Effects of hydatid cyst antigen on Hella cells in vitro. J Shahrekord Univ Med Sci 2013; 15(5): 65-71 (Persian).
54. Nono JK, Pletinckx K, Lutz MB, Brehm K. Excretory/secretory-products of Echinococcus multilocularis larvae induce apoptosis and tolerogenic properties in dendritic cells in vitro. PLoS Negl Trop Dis 2012; 6(2): e1516.
55. Rutitzky LI, Mirkin GA, Stadecker MJ. Apoptosis by neglect of CD4+ Th cells in granulomas: a novel effector mechanism involved in the control of egg-induced immunopathology in murine schistosomiasis. J Immunol 2003; 171(4): 1859-1867.
56. Chen L, Rao KV, He YX, Ramaswamy K. Skin-stage schistosomula of Schistosoma mansoni produce an apoptosis-inducing factor that can cause apoptosis of T cells. J Biol Chem 2002; 277(37): 34329-34335.
57. Javad Akhtari MS, Hajar Ziaei, Mahdi Fakhar. Last Decade Developments on Leishmania Vaccines with Emphasis on Nanovaccines. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26(146): 232-253 (Persian).
58. Ghorbani M, Farhoudi R. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? Drug Des Devel Ther 2018; 12: 25-40.
59. Taheri T RS. Leishmaniasis: recombinant DNA vaccination and different approaches for vaccine development. Clin Inves 2013; 3(11): 1023-1044.
60. Restifo NP. Building better vaccines: how apoptotic cell death can induce inflammation and activate innate and adaptive immunity. Curr Opin Immunol 2000; 12(5): 597-603.
61. Bartholomae WC, Rininsland FH, Eisenberg JC, Boehm BO, Lehmann PV, Tary-Lehmann M. T cell immunity induced by live, necrotic, and apoptotic tumor cells. J Immunol 2004; 173(2): 1012-1022.

www.SID.ir