غلظت پلاسمایی CD26 و CD30 در بیماری سالک

دکتر رضا جعفری شکیب*- دکتر سهیلا اژدری**- دکتر خامسی پور*** - دکتر محمدعلی شکرگزار****- دکتر حسین مرتضوی*****- دکتر بهاره ملک افضلی******- دکتر بهروز نیک بین*******

* استادیار گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

** استادیار گروه ایمنی‌شناسی، انستیتو پاستور تهران

*** دانشیار مرکز بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** استادیار مرکز بانک سلولی انستیتو پاستور تهران

***** استادیار گروه پوست، دانشگاه علوم پزشکی تهران

****** استادیار مرکز بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران

******* استاد گروه ایمنی‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/٤/۲٤

تاریخ پذیرش: ۸٤/۱۲/۲٦

چکیده

مقدمه: شایع‌ترین شکل لیشمانیا نوع پوستی آن یعنی سالک است که ضایعه‌ای جلدی بوده و معمولا با به جای گذاشتن جوشگاه ناخوش آیندی خودبخود بهبود می‌یابد اگر چه بندرت ممکن است بیماری به شکل غیر بهبود یابنده ظهور کند که به درمان‌های رایج نیز مقاوم خواهدبود پاسخ Th1 در شکل بهبود یابنده و پاسخ Th2 در شکل غیربهبودیابنده بیماری نشان داده شده است. از طرف دیگر نشانگرهای CD26 و CD30 مولکولهائی سطحی هستند که به ترتیب عمدتا بر سطح سلول‌های Th1 و Th2 بیان می‌شوند و در بعضی بیماری‌ها به ترتیب ارتباطی بین میزان پلاسمایی CD26 (sCD26) و CD30 (sCD30) و پاسخ‌های Th1 و Th2 یافت شده است.

هدف: بررسی ارتباط بین افزایش غلظت پلاسمایی sCD26 و sCD30 و پاسخ Th1/Th2در بیماری سالک برای یافتن مارکرهای ایمونولوژی در پیش‌بینی روند بیماری.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که در سال ۱۳۸۲ بر بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی یا مرکزآموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام تهران انجام شده، غلظت پلاسمایی sCD26 و sCD30 در ۳٦ بیمار با ضایعه بهبود یابنده، ۱۰ بیمار با ضایعه غیر بهبود یابنده و۲۳ شاهد بدون سابقه سالک به روش ELISA اندازه گیری شده است

نتایج: sCD26 و sCD30 در بیماران غیر بهبود یابنده به طور معنی‌داری بالاتراز بیماران با ضایعه بهبود یابنده وگروه شاهد بود($p<۰/۰۵$) اگر چه این اختلاف در sCD30 بارزتر از sCD26 بود، ولی بین دو گروه بیماران و شاهد با زخم بهبود یابنده اختلافی معنی‌دار در غلظت پلاسمایی sCD26 وsCD30 دیده نشد.

نتیجه گیری: در مجموع به نظر می رسد که میزان sCD30 می تواند به عنوان شاخصی برای بررسی نوع پاسخ ایمنی در بیماری سالک در نظر گرفته شود.

کلید واژه‌ها: آنتی ژن‌های سی دی ۲٦/ آنتی ژن‌های سی دی ۳۰/ لیشمانیاز جلدی

مقدمه

لیشمانیوز یک بیماری انگلی‌ست و عامل آن گونه‌های مختلف انگل تک‌یاخته جنس لیشمانیا(leishmania) هستند. تظاهر بالینی این بیماری بسته به گونه انگل لیشمانیا و پاسخ ایمنی میزبان، از ضایعه پوستی خود بخود بهبود یابنده تا بیماری احشایی کشنده متفاوت است (۱) لیشمانیوز جلدی بیماری اندمیک در مناطق حاره و تحت حاره جهان ازجمله ایران است که درکشور ما بیشتر به سالک معروف است. عامل این بیماری در ایران معمولا" L. major و L.tropica وندرتاً L. infantum است(۲). تظاهرات بالینی سالک اکثراً به صورت ضایعه جلدی خودبخود بهبود یابنده (healing) است که حتی بدون درمان معمولا "با برجای گذاشتن جوشگاه بهبود می‌یابد و معمولاً فرد در برابر ابتلای به

نویسنده مسئول: دکترسهیلا اژدری؛ تهران- میدان پاستور- انستیتو پاستور

sohary@yahoo.com

عفونت بعدی مصون می‌شود. بندرت ممکن است سالک به شکل غیر بهبود یابنده (non-healing)درآید و سال‌ها ضایعه باقی بماند و به انواع درمان‌ها مقاوم است(۳).

در نژادهای خالص موش آلوده به L. major پاسخ ایمنی وتعادل بین Th1 (تولید IFN-γ) و Th2 (تولید IL-4 و IL-5) کاملا "با تظاهرات بالینی مطابقت دارد(٤). سلول‌های Th2 در نژادهای حساس افزایش می یابند که همراه با پیشرفت بیماری و انتشار آن به احشاء و در نهایت مرگ است؛ ولی در نژادهای مقاوم پاسخ Th1 بروز می‌کند که باعث بهبود و مقاومت در برابر عفونت مجدد می شود(۵).

هر چند در لیشمانیوز انسانی‌ارتباط تظاهرات بالینی با پاسخ Th1/Th2 به طور مشخص نشان داده نشده است ولی در سالک بهبود و مصونیت معمولاً با مثبت شدن واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری (آزمون پوستی لیشمانین LST) و بروز پاسخ Th1 در کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) در پاسخ به تحریک آنتی‌ژن‌های لیشمانیا همراه است(۸-٦) که در افراد مبتلا به شکل سالک غیربهبودیابنده پاسخ ایمنی از نوع Th2 است(۱۰-۸). نوع پاسخ Th1/Th2 معمولاً با بررسی سایتوکاین‌های خاص تولیدشده توسط سلول‌ها درمحیط کشت مشخص‌می‌شوداما اخیراً گزارش‌هائی مبنی بر بیان انتخابی نشانگرهای مختلف روی هر یک از این زیر گروه‌ها ارائه شده است(١٤-۱۲).

یکی از این نشانگرهای سطحی CD26 است که فعالیت آنزیمی دارد و اولین بار به عنوان مارکر فعالیت سلول‌های T معرفی شد(۱۱). طبق گزارش‌های اخیر بیان CD26 توسط سلول‌های T به پاسخ Th1 مربوط است (۱۲ و۱۳) و شکل محلول پلاسمایی آن (sCD26) اثر تنظیمی بر پاسخ سلول‌های T دارد ولی اهمیت فیزیولوژیک این یافته هنوز روشن نیست(١٤).

CD30 مارکر دیگریست که فعالیت سلول‌های T را نشان می‌دهد و بیشتر با الگوی ترشح سایتوکاینی Th2مربوط است (١٦،١٥). شکل محلول CD30 (sCD30) بعد از فعالیت سلولی در سرم آزاد می‌شود. غلظت sCD30 در بعضی از بیماری‌های آتوپیک مانند درماتیت آتوپیک (۱۷) و آسم (۱۸) افزایش می یابد.

در این مطالعه سطح سرمی sCD26 و sCD30 در بیماران مبتلا به سالک در دو شکل بهبود یابنده وغیر بهبود یابنده اندازه‌گیری شد تا ارتباط احتمالی بین این نشانگرها و نوع پاسخ Th1/Th2و تظاهرات بالینی آنها روشن شود. در این صورت شاید بتوان از اندازه‌گیری این نشانگرها به عنوان روشی ساده برای بررسی نوع پاسخ Th1/Th2استفاده کرد.

مواد و روش ها

در این مطالعه ٣٦ بیمار مبتلا به سالک شکل بهبود یابنده و ۱۰ بیمار مبتلا به سالک شکل غیر بهبود یابنده که در سال ۱۳۸۲ به مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام و یا بیمارستان رازی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه کرده بودند انتخاب شدند. بیماران غیر بهبود یابنده زخم را حداقل به مدت دو سال داشتند و دست کم سابقه یک دوره درمان کامل با گلوکانتیم و ندادن پاسخ به درمان را داشتند. بیماری سالک در این افراد از نظر مشاهده انگل با روش گسترش مستقیم و یا کشت ثابت شده بود. ۲۳ داوطلب نیز از مناطق غیراندمیک، بدون سابقه سالک و با آزمون پوستی لیشمانین منفی (leishmanin skin test) به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند(جدول ۱). ابتدا اهداف طرح برای شرکت‌کنندگان به زبان ساده شرح داده شد و در صورت تمایل داوطلبان به شرکت در طرح و پس از امضای رضایت‌نامه، مورد معاینه بالینی قرار گرفتند تا بیماری دیگری بجز سالک نداشته‌باشند. از این افراد خون هپارینه گرفته شد و پلاسمای جدا شده آن در فریزر ۷۰°C- تا موقع استفاده نگهداری شد.

جدول ۱: مشخصات گروهها

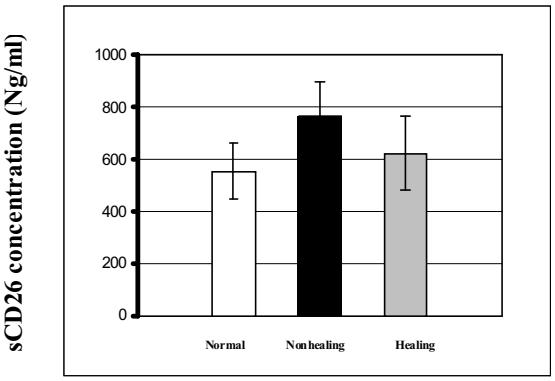
	غیربهبود یابنده	بهبود یابنده	شاهد
تعداد	۱۰	۳۶	۲۳
سن (سال)	۲۷/۲±۲۰/۸	۳۰/٤±۱٦/۳	۳۳/۵±٦/۱
میانگین مدت بیماری (ماه)	۹۲/٤±٤۸/۳	۵/٦±۵/۷	–
نسبت مرد به زن	۸ به ۲	۲۷ به ۸	۱۹ به ٤
تست‌لیشمانین‌مثبت (بالای ۵ میلی متر)	۷	۲۰	۰

میزان غلظت sCD26 و sCD30 با کیت‌های module set شرکت BenderMedsystems, Vienna, Austeria به روش Sandwich ELISA طبق دستور سازنده اندازه‌گیری شد. حساسیت آزمایش برای sCD26، ۷۸ نانوگرم در میلی لیترو برای sCD30، ٦/٤ واحد در میلی لیتر بود.

داده‌ها با نرم‌افزار Sigmastat 2 و با توجه به توزیع نرمال یا غیرنرمال آن آنالیزگردید. نتایج sCD26 به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و با روش ANOVA تجزیه و تحلیل شده است. نتایج sCD30 به صورت میانه (بیشترین-کمترین مقدار) نشان داده شده و با روش Kruskal-Wallis تجزیه وتحلیل شده است وسطح اطمینان ۰/۰۵ >p معنی‌دار در نظر گرفته شد.

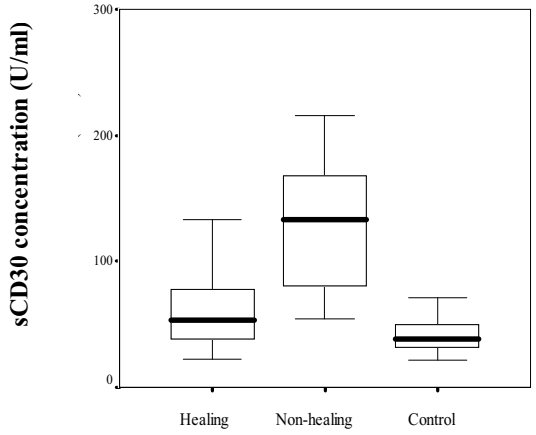
نتایج

سطح پلاسمایی sCD26 : نتایج نشان داد که غلظتsCD26 در گروه بیماران غیربهبودیابنده ۱۳٤/٤۲±۷٦٤/۸ و در گروه بهبودیابنده۱٤۱/۰۵±٦۲۳/۵ و در گروه شاهد۱۰۸/۲±۵۵٤/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بود که از نظر آماری بین گروه بیماران غیربهبودیابنده با گروه بهبود یابنده و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود داشت(p<۰/۰۵) ولی بین گروه بهبودیابنده و گروه شاهد این اختلاف معنی‌دار نبود(شکل ۱).



شکل ۱ : مقایسه sCD26 در سه گروه

سطح پلاسمایی sCD30 :نتایج نشان می‌داد که غلظت sCD30 در گروه بیماران غیربهبودیابنده(۲۱٦-٥٤/٤)۱۳۳ و در گروه بهبودیابنده(۱٤۵/٦- ۲٦)۵۳/٦ و در گروه شاهد (۷۱/۲-۲۲)۳۸/٤ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر بود که از نظر آماری بین گروه غیر بهبود یابنده با گروه بهبودیابنده و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود داشت(p<۰/۰۵) ولی بین گروه بهبودیابنده و شاهداختلاف معنی‌دارنبود(شکل ۲).



شکل۲ : مقایسه sCD30 در سه گروه

بحث و نتیجه‌گیری

اولین بار Mossman و همکاران در موش نشان دادند که زیر گروه‌های Th1 و Th2 سایتوکاین‌های متفاوتی ترشح می کنند که به ترتیب مسئول مقاومت و حساسیت در مقابل

عفونت با L. major هستند(٤).

مطالعاتی در مورد پاسخ‌های ایمنی در لیشمانیوز انسانی انجام شده‌است. نتایج در انسان مانند مدل موشی مشخص نیست، ولی اکثراً در جریان بیماری و بهبود، آزمون پوستی لیشمانین مثبت می‌شود و کشت سلولی در پاسخ به آنتی‌ژن‌های لیشمانیا الگوی پاسخ Th1 را نشان می دهد (٦، ٩و ١٩). اخیراً بعضی نشانگرهای سطح سلولی شناسایی شده‌اند که ترجیحاً با فعالیت سلول‌های Th1 و Th2 همراه هستند بررسی این نشانگرها امکانی را فراهم می‌کند که بدون بررسی سایتوکاین‌ها که عملی پرهزینه، وقت‌گیر و نیازمند تجربه زیاد است بتوان الگوی پاسخ Th1/Th2 را با روش ساده‌تری از راه تعیین این نشانگرها مشخص کرد هیچ‌کدام از این مارکرها انحصاری نیستند، لیکن بررسی هم زمان چند نشانگر مثل sCD26 و sCD30 امکان نتیجه‌گیری دقیق‌تر را برای تعیین پاسخ Th1/Th2 در لیشمانیوز انسانی میسر می‌سازد. sCD26 و sCD30 در بعضی موارد مثل حاملگی و همودیالیز بررسی شده‌اند و اندازه‌گیری آنها در ارزیابی پاسخ Th1/Th2 مفید بوده(٢٠و٢١)، اما در بعضی از بیماری‌ها کمک کننده نبوده است(٢٢و٢٣) .

دراین مطالعه غلظت sCD30 در گروه غیربهبودیابنده به‌طور بارز بالاتر از دو گروه دیگر بود که مشابه با دیگر نتایج نشانه نقش احتمالی پاسخ Th2 در مزمن شدن بیماری می‌تواند باشد(٨و٩). افزایش اندک sCD30 در افراد گروه بهبود یابنده در مقایسه با شاهد می‌تواند به دلیل فعال شدن لنفوسیت‌ها و تکثیرآنها باشد زیرا CD30 تا حدودی نشان‌دهنده فعالیت سلول‌های T نیز هست(١٥).

افزایش معنی‌دار sCD26 در گروه غیر بهبود یابنده می‌تواند ناشی از فعالیت Th1 (البته همراه با Th2) باشد چنین وضعیتی(پاسخ توام Th1 و Th2) در لیشمانیوز پوستی مخاطی از آمریکای جنوبی نیزگزارش شده‌است(١٩). البته افزایش‌نیافتن قابل‌توجه CD26 در گروه بیماران بهبودیابنده این احتمال را ضعیف می‌کند. از طرف دیگر گزارش‌هائی مبنی بر افزایش این مارکر بر سطح کراتینوسیت‌ها در ضایعات التهابی پوست نیز وجود دارد(٢٤). بنابراین، این احتمال وجود دارد که در شکل غیربهبودیابنده به دلیل التهاب مزمن مقدار sCD26 افزایش یافته باشد.

از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که شاید اندازه‌گیری sCD30 روش‌مفیدی برای ارزیابی پاسخ ایمنی‌در بیماران مبتلابه سالک باشد. اما در این باره لازم است تا بررسی‌های بیشتری مخصوصاً با روش فلوسیتومتری انجام شود.

منابع

1.Reed SG, Scott PA. Immunologic Mechanisms in Leishmania. In: Cunningham MW, Fujinami RS. (Editors). Effects of Microbes on Immune System. 1st Edition. Philadelphia; Lippincot Williams, 2000: 537-554.

٢- صائبی، اسماعیل: بیماریهای انگلی در ایران. تهران، انتشارات حیان، ١٣٧٧.

3. Dowlati Y. Cutaneous Leishmaniasis: Clinical Aspect. Clin Dermatol 1996; 14(5): 425-431.

4. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two Types of Murine Helper T Cell Clones. J Immunol 1986; 136: 2348-57.

5. Reiner SL, Locksley RM. The Regulation of Immunity to Leishmania Major.Ann Rev Immunol 1995; 13:151-77.

6. Kemp M, Hey AS, Kurtzhals JA, et al. Dichotomy of the Human T cell Response to Leishmania Antigens, Th1 Like Response to Leishmania Major promastigote Antigens in Individuals Recovered from Cutaneous Leishmaniasis. Clin Exp Immunol 1994; 96:410-415.

7. Mahmoodi M, Khamesipour A, Dowlati Y, et al. Immune Response Measured in Human Volunteers Vaccinated with Autoclaved Leishmania Major Vaccine Mixed with Low Dose of BCG. Clin Exp Immunol 2003; 134. 303-308.

8. Ajdari S, Alimohammadian MH, Eslami MB, et al. Comparison of Immune Profile of Non-healing Cutaneous Leishmaniasis Patients with Those with Active Lesions and Those who Have Recovered From Infection. Infect Immunity 2000; 98: 1760-4.

9. Habibi GR, Khamesipour A, McMaster WR, Mahboudi F. Cytokine Gene Expression in Healing and Non- Healing Cases of Cutaneous Leishmaniasis in Response to in Vitro Stimulation with Recombinant gp63 Using Semi-Quantitative RT-PCR. Scand J Immunol 2001; 54:414-420.

۱۰- مرتضوی، حسین؛ خامسی پور، علی؛ حلاجی، زهرا؛ [و دیگران]: مقایسه تولید اینترفرون گاما و آزمون پوستی لیشمانین در موارد لیشمانیوز پوستی بهبود نیابنده با موارد بهبود یافته از بیماری. فصلنامه بیماریهای پوست،۱۳۸۱، شماره ۲۰، صص: ۹-۳.

11. Fox DA, Hussey RE, Fitzgerald KA, et al. Ta_1, A Novel 105 KD Human T cell Activation Antigen Defined by a Monoclonal Antibody. J Immunol 1984; 133: 1250-1256.

12. Scheel-Toellner D, Richter E, Toellner KM, et al. CD26 Expression in Leprosy and Other Granulomatous Diseases Correlate with the Production of IFN-γ. Lab Invest 1995; 73:685-690.

13. Willheim M, Ebner C, Baier K, et al. Cell Surface Characterization of T Lymphocytes and Allergen-specific T cell clones: correlation of CD26 Expression with Th1 Subsets. J Allergy Clin Immunol 1997; 100:348-55.

14. Von Bonin A, Huhn J, Fleischer B. Dipeptidyl Peptidase IV/CD26 on T Cells Analysis of an Alternative T Cell Activation Pathway. Immunological Review 1998; 161:43-53.

15. Falini B, Pileri S, Pizzolo G, et al. CD30 (Ki-1) Molecule: A New Cytokine Receptor of the Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily as a Tool for Diagnosis and Immunotherapy. Blood 1995; 85: 1-14.

16. Del Prete, De Carli M, Almerigogna F, et al. Preferential expression of CD30 by human CD4+ T Cells producing Th2 type Cytokines. FASEB Journal 1995; 9: 81-6.

17. Katoh N, Hirano S, Suehiro M, et al. Soluble CD30 is More Relevant to Disease Activity of Atopic Dermatitis than Soluble CD26. Clin Exp Immunol 2000; 121:187-92.

18. Leonard C, Tormey V, Faul J, et al. Allergen-Induced CD30 Expression on T Cells of Atopic Asthmatics. Clin Exp Allergy 1997; 27:780-786.

19. Diaz NL, Zerpa O, Ponce LV, et al. Intermediate or Chronic Cutaneous Leishmaniasis: Leukocyte Immunophenotypes and Cytokine Characterisation of the Lesion. Exp Dermat 2002; 11(1): 34-41.

20. Hoshimoto K, Ohta N, Ohkura T, Inaba N. Changes in Plasma Soluble CD26 and CD30 During Pregnancy: Markers of Th1/Th2 Balance?. Gynecol Obstet Invest 2000; 50(4): 260-3.

21. Nakao K, Nagake Y, Okamoto A, et al. Serum Levels of Soluble CD26 and CD30 in Patients on Hemodialysis. Nephron 2002; 91(2): 215-221.

22. Bengtsson A. The Role of CD30 in Atopic Disease. Allergy 2001; 56:593-603.

23. Keane NM, Price P, Lee S, et al. An Evaluation Serum Soluble CD30 Levels and Serum CD26 (DDP IV) Enzyme Activity as Markers of Type 1 and Type 2 Cytokines in HIV Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. Clin Exp Immunol 2001; 126(1): 111- 116.

24. Novell M, Savoia P, Fierro M T,et al. Keratinocytes Express Dipeptidyl-Peptidase IV (CD26) in Benign and Malignant Skin Diseases. Br J Dermatol 1996; 134: 1052-1056.

Soluble CD26 and CD30 Concentration in Cutaneous Leishmaniasis

Jafari Shakib R. (Ph.D), Ajdari S. (Ph.D), Khamesipour A. (Ph.D), Shokrgozar M.A. (Ph.D), Mortazavi H. (MD), Malakafzali B(MD), Nikbin B. (Ph.D)

Abstract

Introduction: Cutaneous leishmaniasis (CL) is the most common form of leishmaniasis that usually heals spontaneously with unsightly scar but rarely non-healing lesion of CL develops which is refractory to all types of therapy. It is shown that Th1 and Th2 response is associated with healing and non-healing form of the diseases, respectively. On the other hand, it is reported that CD26 and CD30 are associated with Th1 and Th2 types of response, respectively. In some diseases, there is a relationship found between level of CD26 and CD30 and Th1 and Th2 responses.

Objective: The goal of this study was to determine the concentration of soluble CD26 and soluble CD30 (sCD26 and sCD30) as a possible marker for Th1/Th2 response in CL

Materials and Methods: The blood samples were taken from 36 patients with healing form of the lesion and 10 patients with non-healing form of CL who were referred to Razi hospital or Center for Research and Training in Skin Diseases and Leprosy in Tehran during 2003-2004. As a control blood samples were taken from 23 volunteers with no history of CL. In this study, the concentration of sCD26 and sCD30 were measured in plasma by ELISA method.

Results: The results showed that the plasma levels of sCD26 and sCD30 were significantly higher in non-healing form of the disease than healing form of CL or control group ($p<0.05$). The level of sCD30 was more prominent than sCD26. There was no significant difference in the level of sCD26 or sCD30 markers in healing form of CL compared to normal control group.

Conclusion: Overall it seems that the level of sCD30 might be a useful marker to study the immune response in CL, which needs to be studied further.

Key words: Antigens, CD 30/ Antigens, CD 26/ Leishmaniasis, Cutaneous