



مالاریا

و

مشکلات

تهیه واکسن

دکتر حسین کشاورز
دانشیار گروه میکروبیشناسی و انگل شناسی
دانشگاه علوم پزشکی ایران

□ خلاصه

مالاریا یکی از مهمترین بیماریهای انگلی شایع در مناطق گرمسیری جهان است که توسط تک یاخته پلاسمودیوم ایجاد می شود. سالانه حدود ۲۰۰ میلیون نفر به بیماری مبتلا می شوند و مرگ و میر ناشی از آن سالانه به حدود ۱/۵ میلیون نفر بالغ می گردد. مقاومت در مقابل مالاریا بدلیل ایمنی طبیعی و ایمنی اکتسابی حاصل می شود. پروتئین های پلازما، آنتی ژن دافی، گلیکوفورین A، اسید سیالیک، الکتروولیت های داخل سلولی، هموگلوبین های C, S, F و همینطور آنزیم G6PD فاکتورهای موثر در ایمنی طبیعی هستند. علیرغم تحریک فوق العاده زیاد سیستم ایمنی هومورال و سلولی در مقابل پلاسمودیم، انگل در بدن میزبان

باقی مانده و با مکانیسم های مختلفی از سیستم دفاعی بدن فرار می کند. ساختمان پیچیده آنتی ژنهای موجود در مراحل مختلف انگل و طبیعت واکنش با سیستم ایمنی از حل سریع مشکل تهیه واکسن جلوگیری می کند فقط تعداد کمی از آنتی ژنهای پلاسمودیم در ایجاد مصونیت نقش دارند و بقیه آنتی ژنها یا در ارتباط با مصونیت نقش ندارند و یا پاسخ غیر مطلوب ایجاد می کنند. مراحل اصلی سیکل زندگی پلاسمودیم که بعنوان واکسن مورد استفاده قرار می گیرند شامل آنتی ژنهای سطحی اسپوروزوئیت و مروزوئیت می باشد. آنتی ژنهای محافظتی این دو مرحله بطور اختصاصی شناسائی شده اند و بعضی از آنها را بکمک متد نوسازی

(recombinant) سنتز نموده اند و در مدل های حیوانی و همینطور انسان به همراه اجزای مختلف واکسن مورد استفاده قرار گرفته است. در بعضی مواقع در مقابل واکسن های فوق مصونیت کافی ایجاد نشده و همینطور مصونیت بوجود آمده فقط برای مدت کوتاهی پایدار است. مشکلاتی که در راه دستیابی به واکسن مالاریا موجود می باشد شامل انتخاب اجزای مناسب، تغییرات آنتی ژنتیکی مربوط به گونه و سوش، وجود سرکوب کننده ها در انگل، انتخاب کاریر یا حامل مناسب در موقع تزریق واکسن و مسئله بعد استفاده از واحدهای فرعی آنتی ژن مالاریا می باشد که بعضاً بعنوان ایمونوژن ضعیف عمل می کنند مخصوصاً آنهایی که



دارای اپی توپهای مخصوص برای سلولهای T هستند. به نظر می آید که یک واکسن موثر ضد مالاریا می بایست مخلوطی از آنتی ژنهای مرحله غیر جنسی داخل گلبول قرمزی با اپی توپهای اسپوروزوئیت باشد.

□ مقدمه:

مالاریا یکی از مهمترین بیماریهای انگلی شایع در مناطق گرمسیری جهان است که توسط تک یاخته پلاسمودیوم (Plasmodium) ایجاد می شود. در میان

تمام بیماریهای انگلی

که بوسیله تک

یاخته ها ایجاد می

شود مالاریا هنوز

بیشترین میزان مرگ و میر را در

کودکان دارد. سالانه حدود

۲۰۰ میلیون نفر به این بیماری

مبتلا می شوند و حدود

۱/۵ میلیون نفر از آن

می میرند.

انگل پلاسمودیوم از رده اسپوروزا

می باشد. گونه های مختلف

پلاسمودیوم مانند پلاسمودیوم ویواکس

(P.vivax)، پلاسمودیوم اول

(P.Ovale) پلاسمودیوم فالسیپارم

(P.falciparum) و پلاسمودیوم مالاریه

(P.malariae) برای انسان بیماریزا

می باشند. این انگل دارای سیکل

زندگی مشترکی بین انسان و پشه می

باشد. پشه آنوفل ماده بعنوان میزبان

اصلی انگل است و تکثیر جنسی یا

اسپوروگونی در این میزبان انجام

می شود. انسان میزبان واسط است که

تکثیر غیر جنسی یا شیزوگونی در بدن او

انجام می گیرد. علاوه بر مرحله

شیزوگونی سلولهای جنسی یا گامتوسیت ها نیز در بدن انسان بوجود می آید. در اینجا به اختصار چرخه زندگی پلاسمودیوم بیان می شود.

پشه آنوفل ماده هنگام مکیدن خون مایع بزاقی خود را که حاوی اسپوروزوئیت است به بدن انسان وارد می کند. اسپوروزوئیت ها طی یک ساعت

از خون خارج شده به سلولهای پارانشیم کبدی می روند و شروع به تقسیم می کنند. با پاره شدن سلولهای کبدی

مروزوئیت ها به داخل خون آزاد می شوند. مروزوئیتها با اتصال به گیرنده غشاء گلبولهای قرمز وارد آنها می شوند و پس از رشد و تکامل تقسیم

شده شیزونت را بوجود می آورند. با پاره شدن گلبولهای قرمز آلوده و آزاد شدن مروزوئیتها

سیکل خونی مجدداً تکرار می شود. تعدادی از مروزوئیتها که وارد گلبول قرمز می شوند

تشکیل سلولهای جنسی یا گامتوسیتها را می دهند. پس از ورود گامتوسیتها به معده پشه

تغییراتی در آنها صورت می گیرد و همینطور بعضی از گامتوسیتها چندین بار تقسیم می شوند

که نهایتاً گامت تر و ماده تولید می شود. پس از تشکیل گامت تر و ماده عمل لقاح صورت می گیرد و تخم تشکیل می گردد

که بعداً به اووکینیت (Ookinete) تبدیل شده و به داخل معده پشه نفوذ کرده و پس از ۱۰ تا ۲۴ روز اسپوروزوئیتها در داخل اووسیت تکامل یافته و با پاره شدن غشاء آن اسپوروزوئیتها بیرون ریخته و به غدد بزاقی می روند که فرم آلوده کننده برای انسان می باشد.

□ ایمنی در مقابل پلاسمودیوم

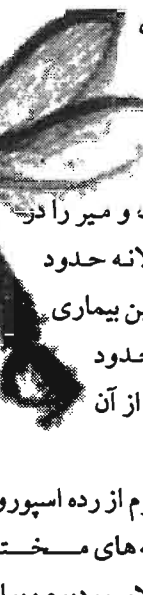
در مناطق اندمی مالاریا مرگ و میر بزرگسالان خیلی کمتر است زیرا نسبت به پلاسمودیوم فالسیپارم که خطرناکترین فرم آن است مصونیت نسبی یا کامل ایجاد می شود. این مصونیت در اثر ابتلاء به بیماری نشان می دهد که احتمال ایمنی سازی بر علیه مالاریا وجود دارد. مصونیت در مقابل مالاریا بدلیل ایمنی طبیعی و ایمنی اکتسابی حاصل می شود.

□ ایمنی طبیعی (پاسخهای غیر اختصاصی)

مقاومت طبیعی یا ذاتی علیه مالاریا بوسیله عواملی غیر از مکانیسمهای ایمنی اختصاصی بوجود می آید و بدلیل اینکه این فاکتورها بوسیله عوامل ژنتیکی کنترل می شوند در میزبانهای مختلف متفاوت است. ایمنی طبیعی می تواند از دو نظر مورد مطالعه قرار گیرد. اول از نظر عوامل ارثی موجود در افرادی که در مناطق مالاریا خیز زندگی می کنند و برای آنها مفید و سودمند است و دوم از نظر مکانیسم زندگی انگلی.

با مطالعه موارد فوق می توان واکنش بین مروزوئیت و گلبول قرمز و مواد مورد نیاز داخلی سلولی برای رشد مرحله غیر جنسی انگل را مشخص کرد. یکی از مهمترین نکاتی که باید از طریق مطالعه ژنتیکی روشن شود کنترل پاسخهای ایمنی در مقابل مالاریا است.

تأثیر مکانیسمهای مقاومت طبیعی اکثراً در مراحل خونی غیر جنسی است و تعداد کمی از آنها در آلودگی اسپوروزوئیت و رشد خارج گلبول قرمز





باشد یا خیر، به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

□ ایمنی اکتسابی (پاسخهای اختصاصی)

در سیر تکاملی پلاسمودیوم، میزبان با شکل های مختلف مالاریا که دارای آنتی ژنهای متعددی است روبرو می شود و در نتیجه هم سیستم ایمنی هومورال و هم ایمنی سلولی تحریک می شود.

افرادیکه در مناطق اندمی مالاریا زندگی می کنند فقط در اثر عفونتهای مکرر سطح بالایی از ایمنی را بدست می آورند حتی در کودکان تیرآنتی بادی در سال سوم زندگی به حداکثر می رسد. ایمنی بر علیه انگلهای پلاسمودیوم اختصاصی است و بطور کلی ایمنی بر علیه ویواکس و مالاریه سریعتر از فالسیپارم ایجاد می شود در حالیکه ایمنی ضد فالسیپارم بعد از هفت سال تماس مداوم ایجاد می گردد. ایمنی بدست آمده ایمنی استریل نمی باشد ولی باعث کاهش شدت بیماری و همینطور عفونت بدون علائم می شود.

□ پاسخ ایمنی هورمورال

در مقابل مالاریا

آنتی ژنهای مختلف مالاریا محرك قوی در سیستم ایمنی هورمورال می باشند. آنتی بادیهای سنتز شده عمدتاً از نوع IGM و IgG می باشند. در بعضی مناطق مقدار IgG تا هفت برابر مقدار IgG افراد سالم افزایش پیدا می کند و از این مقدار آنتی بادی تولید شده حدود ۱/۳ آن بعلت عفونت با مالاریا است و فقط حدود ۵ درصد از آن در مقابل فالسیپارم اختصاصی است. در طول زندگی در مناطق مالاریا خیز مقدار gm۱

گیرنده آن گلیکوفورین A می باشد.

الکتروولیت های داخلی سلولی یکی دیگر از عوامل غیر اختصاصی در رشد انگل پلاسمودیوم می باشد. در حیواناتی که میزان یون سدیم داخل گلبول قرمز بالایی دارند انگل مالاریا دیده نمی شود (سگ، گربه، گاو). یکی از مواد مورد نیاز انگل در داخل گلبول قرمز یون پتاسیم زیاد می باشد. کشت داخل گلبول قرمزی و رشد انگل در محیط In Vitro به مقدار زیادی یون پتاسیم نیاز دارد. این نیاز بالا به یون پتاسیم، مهار رشد انگل در داخل

در سیر تکاملی پلاسمودیوم، میزبان با شکل های مختلف مالاریا که دارای آنتی ژنهای متعددی است روبرو می شود و در نتیجه هم سیستم ایمنی هومورال و هم ایمنی سلولی تحریک می شود.

سلولهای داسی شکل در فشار اکسیژن پائین را توجیه می کند. همینطور دیده شده است که هموگلوبین F و هموگلوبین C و افرادیکه فاقد آنزیم G6PD هستند نسبت به انگل فالسیپارم مقاوم می باشند. مطالعات مختلفی ارتباط بعضی از هاپلوتیپ های HLA را از مناطق مالاریا خیز نشان داده است و مشاهده شده که در این مناطق افراد بیشتر B17، A2، HLA دارند البته اینکه این هاپلوتیپ در ارتباط با ژن پاسخ ایمنی مربوط به مالاریا می

تأثیر دارند.

عواملی که در آلودگی اسپوروزوئیت تأثیر دارند شامل: پروتئین های پلازما و گیرنده های موجود در سطح سلولها می باشد. پروتئین های موجود در سرم جنونندگان و میمونها به اسپوروزوئیت های گونه های پلاسمودیوم متصل می شود. هر چند اهمیت این مشاهدات کاملاً شناخته نشده است اما به نظر می آید در زنده ماندن اسپوروزوئیت و آلوده کردن سلولهای کبدی مؤثر باشند.

عوامل موجود در گلبول قرمز که در چرخه زندگی داخل گلبول قرمزی انگل تأثیر دارد و ایجاد ایمنی طبیعی می کند در نفوذ انگل به گلبول قرمز و همینطور رشد انگل در داخل گلبول قرمز می باشد.

یکی از عوامل گیرنده های موجود در سطح گلبول قرمز می باشد که برای نفوذ مروزوئیت ها به داخل آنها لازم است. گیرنده های موجود در غشاء گلبول قرمز برای پلاسمودیوم ویواکس آنتی ژن دافی می باشد. انگل پلاسمودیوم از این طریق به غشاء گلبول قرمز متصل شده و بعد وارد گلبول قرمز می شود. گلبولهای قرمز انسانی که فاقد آنتی ژن دافی می باشند نسبت به مهاجم انگل پلاسمودیوم ویواکس مقاوم هستند. اکثر سیاه پوستان غرب آفریقا و تعداد زیادی از سیاه پوستان شرق آفریقا فاقد این آنتی ژن می باشند که در نتیجه نسبت به عفونت پلاسمودیوم ویواکس مقاوم هستند. این یک مصنوعیت ذاتی وابسته به نژاد یا منطقه جغرافیائی می باشد. پلاسمودیوم فالسیپارم، فرم خطرناک پلاسمودیوم قادر به مهاجم به گلبولهای قرمز دافی منفی می باشد و



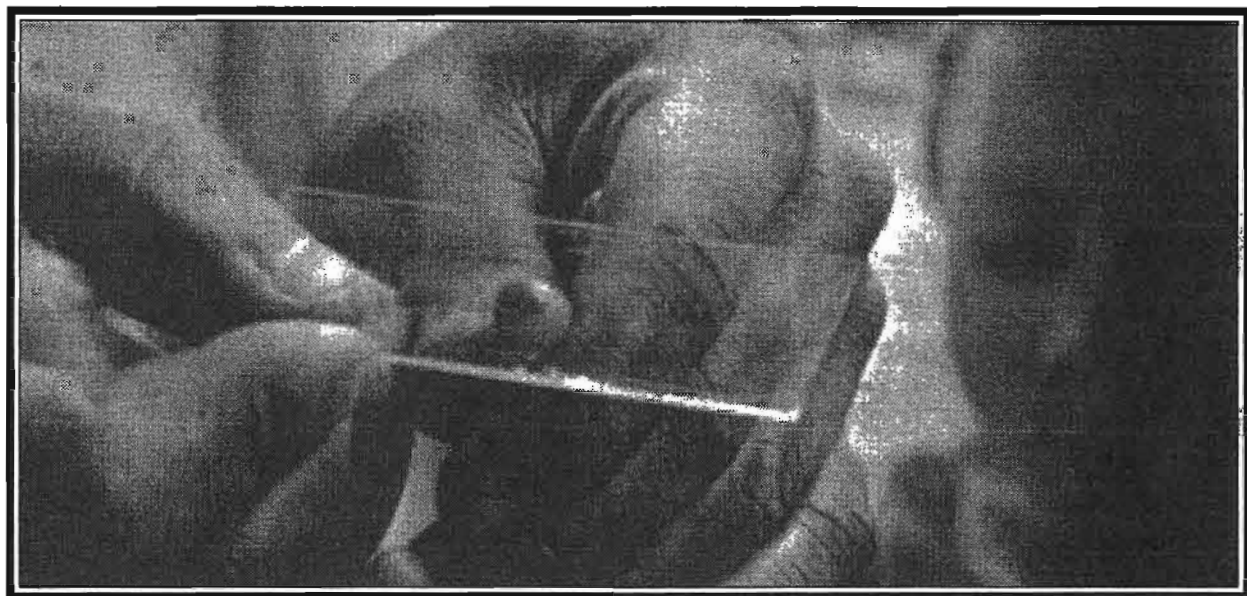
افزایش می یابد و بیشترین مقدار آن در افرادی که طحال بزرگ دارند دیده می شود. آنتی بادیهای غیر اختصاصی سنتز شده ممکن است شامل آنتی بادیهای هترو فیل و همینطور آنتی بادی بر علیه گلبولها، لنفوسیتها، کمپلمان، فاکتور آنتی نوکلئور و فاکتور و ماتوئیدی باشند.

به نظر می آید که گونه های مختلف پلاسمودیوم میتوزنهای مختلفی تولید کنند. محلول صاف شده بدست آمده از محیط کشت فالسیپارم باعث تبدیل سلولهای بلاستی (Blast)

مرحله غیر جنسی داخل گلبول قرمزی در زمان عفونت مالاریا ایجاد می شود که بوسیله تستهای سرولوژی مشخص می گردند. آنتی بادیهای اختصاصی شامل ایزوتیپ های IgG، IgA و IgM می باشد که معمولاً در هفته اول عفونت های اولیه ایجاد می شود. مقدار آنتی بادی IgE و IgD در طول عفونت بون تغییر باقی می ماند.

IgM و IgG ممکن است برای مدت طولانی در خون باقی بمانند که اساس بسیاری از واکنشهای سرولوژی می باشد. مقدار کمی از این آنتی بادیها با

دهنده آن باشند. ولی این آنتی بادیها بر علیه آنتی ژنهای سطحی انگل که در گلبول قرمز آلوده وجود دارد نمی باشد. در مراحل مختلف انگل ایمونوگلوبولین های محافظتی اختصاصی تولید می شود و این آنتی بادیها مستقیماً در مقابل آنتی ژنهای سطحی انگلی که در سلول آلوده وجود دارد تولید می شود، آنتی بادیهای تولید شده فقط در مقابل همان مرحله خاص نقش محافظتی دارد یعنی آنتی ژنهای محافظتی موجود در مراحل مختلف انگل اختصاصی است که نتیجتاً



transformation) لنفوسیت های خون محیطی در انسان می شود. این میتوزنها به گیرنده های میتوزنیکی سلولهای B چسبیده و بطور غیر اختصاصی باعث تحریک سلولهای B می شود و افزایش تعداد سلولهای آنتی بادی ساز با روش PFC که IgM اختصاصی برای گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) را سنتز می کند مشخص شده است.

علاوه بر آنتی بادیهای غیر اختصاصی، آنتی بادیهای اختصاصی در مقابل مرحله خارج گلبول قرمزی و

ایمنی محافظتی مربوط می باشد. مقدار زیادی از آنتی ژنها که با این آنتی بادیهای اختصاصی واکنش نشان می دهند برای گونه های مختلف و مراحل مختلف انگل مشترک هستند در حالیکه ایمنی محافظتی نسبت به گونه و مراحل مختلف اختصاصی است. این آنتی بادیهای غیر محافظتی ممکن است بر علیه آنتی ژنهای محلول و یا متابولیت های مختلف انگل باشد که در سرم وجود دارد و یا قسمتی از مواد تجزیه شده انگل و آنتی ژنهای تشکیل

آنتی بادیهای خاص را تولید می کند. ایمنی کامل نسبت به اسپوروزیوت در پی واکنش سرم ایمنی با اسپوروزیوت و مشاهده رسوب بطور In Vitro مشخص می شود. این واکنش مستقل از کمپلمان است و نشانه واکنش آنتی بادی با آنتی ژنهای سطحی اسپوروزیوت (CSP) می باشد که بعد از ده دقیقه منجر به تشکیل رسوب شبیه به نخ می شود. به نظر می آید این آنتی بادیها تماس اسپوروزیوت با سلولهای کبیدی را بلوکه می کند.



سیتوتوکسیسیته و ترشح مدیاتورهایی در فعال کردن منوسیت ها و ماکروفاژها می باشد.

□ سلولهای T کمکی در مالاریا

همانطور که ذکر شد آنتی بادیها در ایجاد مصونیت اکتسابی مالاریا نقش مهمی دارند سلولهای T که در سنتز آنتی بادی نقش دارند بنام سلولهای T کمکی (TH) معروف هستند و در سطح خود دارای آنتی ژن CD4 سلولهای T کمکی TH2 خود به دو گروه، TH1 تقسیم می شوند که TH2 در کمک به سلولهای B در سنتز آنتی بادی و در مورد آرگانسیم های خارج سلولی نقش مهم تری دارد در حالیکه TH1 بیشتر در واکنش های ازدیاد حساسیت تأخیری و در مورد پاتوژنهای داخل سلولی موثر می باشند. بنابراین مقاومت اکتسابی نسبت به اسپوروزوئیت به تیموس وابسته می باشد. موشهای تیمکتومی شده در معرض پرتو واقع شده، و یا موشهایی که بطور ارثی فاقد تیموس می باشند (nu/nu) در مقابل اسپوروزوئیت ها آنتی بادی تولید نمی کنند. امروزه اپی توپهای مختلفی از اسپوروزوئیت را مشخص کرده اند که سلولهای T حیوانات مختلف منجمله سلول T انسانی را تحریک می کند.

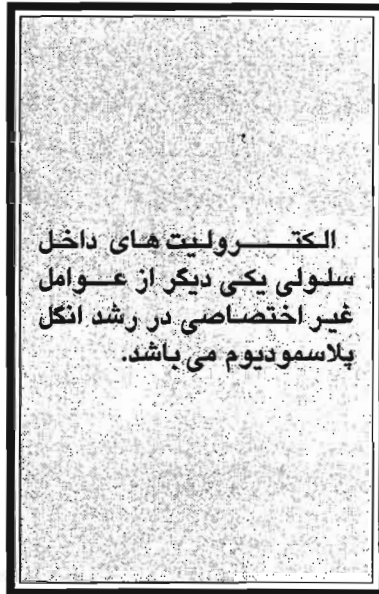
در فاز اول عفونت مالاریا پاسخ عمده به عهده سلولهای TH1 می باشد.

این سلولها از نوع سلولهایی است که در ازدیاد حساسیت تأخیری نقش دارد و در مرحله دوم پاسخ اختصاصی بوسیله سلولهای TH2 ایجاد می شود که برای تولید آنتی بادی و مسئول تبدیل Igm به IgG است. یعنی سلولهای T برای القاء

کلاسیک می باشد. در کودکان آفریقای غربی بطور حاد به پلاسمودیوم فالسیپارم آلوده شده اند، مقدار C3 آنها خیلی کاهش پیدا کرده است اما در مقدار عوامل دیگر مثل عامل B هیچگونه تغییری مشاهده نشده است.

واکنش سیتوتوکسیستی با واسطه آنتی بادی نیز می تواند گلبولهای قرمز آلوده به انگل را از بین ببرد. سلولهای کیلر (K)، منوسیت ها نوتروفیل ها در این پدیده دخالت دارند.

ممکن است آنتی بادیها باعث تسهیل عمل فاگوسیتوز شوند (Opsonization)



و در نتیجه سلولهای بیگانه خوار به کمک آنتی بادی اختصاصی باعث جذب یا فاگوسیتوز سریع آنتی ژنهای انگل شوند. رل قطعی این واکنش در ایجاد ایمنی اکتسابی تحت بررسی است.

□ پاسخ ایمنی سلولی در پلاسمودیوم

ایمنی سلولی در ایجاد مصونیت نسبت به مالاریا نقش دارد. فعالیت این سلول در ایجاد ایمنی شامل همکاری با سلولهای B برای سنتز آنتی بادی،

آنتی بادیهای تولید شده در مقابل اسپوروزوئیت های مختلف وابسته به تیموس است چون تیمکتومی کردن موش ها سنتز آنتی بادیهای خنثی کننده را متوقف می کند.

ایمنی ایجاد شده نسبت به مراحل غیر جنسی خونی، از نظر گونه و مرحله اختصاصی است. برای ورود پلاسمودیوم به گلبول قرمز گیرنده های خاصی لازم می باشد که احتمالاً آنتی ژنهای دافی، گلیکوفورین A، فیبرونکتین و یا اسید سیالیک در اتصال مروزوئیت به گلبول قرمز دخالت دارند.

آنتی بادیهای محافظتی ممکن است مستقیماً با انگل یا گلبولهای قرمز آلوده به انگل و یا با عمل توأم با کمپلمان و یا با همکاری سلولهای موثر دیگر وارد عمل شوند.

به نظر می رسد که آنتی بادی ها بر روی مروزوئیت های خارج سلولی عمل کنند و به طور تجربی مشاهده شده که آنتی بادی اتصال مروزوئیت به گلبول قرمز را مهار می کند. این عمل بدون دخالت کمپلمان و فقط بوسیله بخش F₂(ab) آنتی بادیهای IgG, IgM ایجاد می شود و در ارتباط با فعالیت آگلوتیناسیون می باشد که یک حالت اختصاصی گونه ای است. علاوه بر مکانیسم فوق ممکن است سیستم کمپلمان به روش کلاسیک یا الترناطیو فعال شود و سپس به کمک آن می تواند انگل را از بین ببرد. همزمان با پاره شدن شیزونت ها و آزاد شدن مروزوئیت ها مقدار کمپلمان سرم مخصوصاً C₁, C₂, C₄ در بیماران کاهش می یابد. کاهش مقدار C₄ علامت فعالیت کمپلمان بطریقه



و نگهداری ایمنی مالاریا و آنتی بادی ها برای کنترل تعداد انگل در عفونت حاد لازم است.

پاسخ سلولهای T به آنتی ژنهای همولوگ انگل بوسیله واکنشهای پوستی ازدیاد حساسیت تأخیری یا در In Vitro بوسیله عمل تبدیل سلولهای بلاستی (Blast transformation) نشان داده می شود.

علاوه بر نقش کمکی سلولهای T در سنتز آنتی بادی مکانیسم های دیگری از طریق سلولهای T اعمال می شود این مکانیسم عبارتند از:

۱- عمل مستقیم سلولهای T سیتوتوکسیک که از طریق آنتی ژنهای MHC صورت می گیرد یعنی سلولهای آلوده به انگل توسط گیرنده های آنتی ژنیکی سلولهای TC شناسایی می شوند و از طرف دیگر CD8 موجود در سطح سلولهای TC آنتی ژنهای MHC کلاس I را شناسایی می کند.

۲- از سلولهای T فعال شده مدیاتورهای مختلفی (لنفوکاین ها) نیز تولید می شود که بعضی از آنها برای ماکروفاژها و نوتروفیل ها خاصیت شیمو تاکسی دارند. بعضی از آنها باعث فعال کردن عمل فاگوسیتوز ماکروفاژها می شود در نتیجه مواد وابسته به اکسیژن مثل هیدروژن پراکسیداز، اکسیژن تکی، سوپر اکسیدرادیکال و بنیان هیدروکسی آزاد می شود که باعث از بین بردن انگل داخل گلبول قرمز آلوده می شود.

۳- همینطور از سلولهای T فعال

شده لنفوکایینی بنام اینترلوکین II تولید می شود که باعث فعال شدن سلولهای کشنده طبیعی طبیعی NK می شود که می تواند به از بین بردن انگل کمک کند.

۴- مدیاتور دیگر که بوسیله THI ترشح می شود ایتروفرون گاما می باشد که نقش محافظتی در مقابل مالاریا مخصوصاً در مقابل مرحله خارج گلبول قرمزی (شیزونت کبدي) دارد.

گاهی سلولهای T بطور غیر اختصاصی موادی را تولید می کنند که این مواد در از بین بردن مالاریا دخالت دارند. مثلاً در مقابل BCG یا Corynebacterium parvum ، Mycobacterium bovis لنفوکاین فعال کننده ماکروفاژ (MAF) تولید می شود که این فاکتورها در از بین بردن مالاریا هم موثر می باشد.

ماکروفاژهای فعال شده و سلولهای T و NK در مقابل آنتی ژنهای مختلف فاکتور نکروز کننده توتور (TNF) تولید می کنند که فعالیت های بیولوژیکی متعددی دارد. این فاکتور می تواند رشد انواع مختلف انگل مالاریا را متوقف کند. این ماده در محیط بی هوازی غیر فعال است اما در داخل گلبول قرمز می تواند عوامل وابسته به اکسیژن را تولید نماید که در از بین بردن انگل موثر باشد.

علیرغم تحریک فوق العاده زیاد سیستم ایمنی همورال در مقابل پلاسمودیوم، انگل در بدن میزبان باقی مانده و با مکانیسم های مختلفی از جمله قرار گرفتن در محل های امن، تغییرات آنتی ژنیکی، تولید آنتی ژنهای محلول و

کمپلکس آنتی ژن و آنتی بادی در خون، تولید ایمنو سوپرسیوهای مختلف از سیستم دفاعی بدن می گریزد.

مصون سازی

ساختمان پیچیده آنتی ژنهای موجود در مراحل مختلف چرخه زندگی مالاریا و طبیعت واکنش آن با سیستم ایمنی میزبان مانع از حل سریع مشکل تهیه واکسن می شود. انگل پلاسمودیوم از تعداد زیادی آنتی ژن تشکیل شده است و فقط تعداد کمی از آنها پاسخ ایمنی محافظتی را تحریک می کنند و بقیه آنتی ژنها یا در ارتباط با مصونیت نقشی ندارند و یا پاسخ غیر مطلوب ایجاد می نمایند. بنابراین خط مشی تهیه واکسن مالاریا باید بر پایه تعیین آنتی ژنهایی باشد که بطور اختصاصی پاسخ ایمنی محافظتی پایدار را تحریک کنند. مرحله بعد مستلزم کد کردن ژنهای سازنده آنتی ژن و یا ساختمان آنتی ژنی محافظتی، آنالیز زنجیره نوکلئوتیدها و تولید مصنوعی این آنتی ژنها بوسیله مهندسی ژنتیک می باشد.

کوشش در ایجاد مقاومت مصنوعی در مقابل مالاریا به تحقیقات آقای Sergent در سال ۱۹۱۰ بر می گردد. ایشان سعی کرد با استفاده از اسپوروزویت، پرندگان را در مقابل مالاریا مصون نماید. روشهای متعدد مصون سازی با استفاده از اسپوروزویت یا گلبول قرمز آلوده غیر فعال شده یا ضعیف شده مورد استفاده قرار گرفته است. مراحل اصلی سیکل زندگی پلاسمودیوم که می تواند بعنوان واکسن مورد استفاده قرار گیرد عبارتند از:



۱- مرحله اسپوروزوئیت

۲- مرحله مروزوئیت و شیزونت

خونی

۳- مرحله گامتوسیت ها

نظر به اینکه بحث مصون سازی بر علیه مالاریا خارج از بحث فعلی است منحصرأ اشاره مختصری به روشهای مصون سازی می شود.

مرحله اسپوروزوئیت دارای آنتی ژنهای متعددی می باشد که در تحریک سیستم ایمنی موثرند. القاء ایمنی با اسپوروزوئیت هایی که با اشعه ماورای بنفش، فرمالین و یا بطریقه تخریب مکانیکی غیرفعال شده است در پرندگان مورد مطالعه قرار گرفته است. بیشترین موفقیت واکسن در پستانداران با اسپوروزوئیت های اشعه دیده بدست آمده است. ایمنی ایجاد شده از نظر گونه ای اختصاصی است و ایمنی فقط ۳ تا ۶ ماه پایدار است. آنتی ژنهای اصلی اسپوروزوئیت، که رل اصلی و فعال در تهاجم کبدی ایفاء می کند پروتئین CSP (Circumsporozoite Protein) با وزن مولکولی ۶۷-۵۸ کیلو دالتون می باشد که باعث تحریک سیستم ایمنی هومورال می شود و خانواده آنتی ژنها CSP با تکنولوژی هیبریدوما مشخص شده اند و با کمک ویروس آبله گاوی و متدنوسازی (Recombinant) این آنتی ژن را بطور مصنوعی تهیه نموده اند و از آن بعنوان واکسن اسپوروزوئیت استفاده کرده اند. از آنجائیکه این آنتی بادی بطور اختصاصی با اسپوروزوئیت که مدت کوتاهی در خون باقی می ماند واکنش نشان میدهد و بر علیه مراحل خونی موثر نیست در نتیجه چنانچه یک اسپوروزوئیت از مکانیسم سیستم دفاعی بدن فرار کند باعث شروع عفونت می

شود بهمین خاطر برای یافتن واکسن موثر بر علیه این مرحله بهتر است آنتی ژنهای محافظتی که قادرند سیستم دفاعی بدن را بر علیه مرحله خارج گلبول قرمزی (داخل سلولهای کبدی) برانگیزد شناسائی کرد که احتمالاً مربوط به ایمنی سلولی می باشد و امروز چند اپی توپ از آنتی ژنهای اسپوروزوئیت را مشخص کرده اند که بوسیله سلولهای T شناسائی می شوند. مشکلات عملی در تهیه این نوع واکسن طریقه ارائه آنتی ژن و در انتخاب اجوانت و احتمال مکانیسمهای مهار کننده مرحله جنسی

ایمنی سلولی در ایجاد مصنوعیت نسبت به مالاریا نقش دارد. فعالیت این سلولها در ایجاد ایمنی شامل همکاری با سلولهای B برای سنتز آنتی بادی سیتوتوکسی سیتی مستقیم و ترشح مدیاتورهای در فعال کردن منوسیت های و ماکروفاژها می باشد.

داخل گلبول قرمز انگل می باشد. با توجه به اینکه افراد مصون شده بر علیه عفونت اسپوروزوئیت در مقابل مرحله غیر جنسی محافظت نمی شوند این واکسن می تواند قسمتی از یک واکسن پلی والان به همراه آنتی ژنهای سایر اشکال باشد.

آنتی ژنهای مرحله خونی انگل تقریباً پیچیده تر و متعدد تر می باشند آنتی ژن های این مرحله بعلت تماس مداوم با سیستم ایمنی هدف خوبی برای مطالعات واکسن سازی می باشند.

آنتی ژن هایی که تا کنون در مصون سازی بر علیه مراحل خونی استفاده شده اند شامل مواد مختلف، مثل گلبول قرمز آلوده اشعه داده شده، غیر فعال شده یا گرما، ضعیف شده، کشته شده و یا فراکشنهای بدست آمده از کروماتوگرافی می باشند که برای موثر بودن بعضی از آنها در بعضی از گونه های حیوانی می بایست از اجوانت استفاده نمود.

استفاده از مروزوئیت های مرحله داخل گلبول قرمز موثرترین فرم واکسن می باشد. با توجه باینکه مروزوئیت های آزاد فاقد آنتی ژنهای گلبول قرمز آلوده می باشند منبع خوبی برای تهیه واکسن می باشند و احتیاج به غیر فعال کردن ندارند. زیرا پس از گذشت حدود یکساعت قدرت تهاجم به گلبولهای قرمز را از دست می دهند.

انواع آنتی ژنهای محافظتی این مرحله را در P.Knowlesi و پلاسمدیوم فالسیپارم شناسائی کرده اند و با استفاده از اجوانت در میمونها مصنوعیت ایجاد نموده اند اما گاهاً بدلیل بوجود آمدن آنتی ژنهای جدید در بعضی از میمونها مصنوعیت بوجود نیامده است. با استفاده از ماده شیمیایی ستر شده 66 Spf بعنوان واکسن در منطقه ای از کلمبیا در ۷۳۸ نفر، هر چند تا اندازه ای مصنوعیت موثر ایجاد کرده است اما سئوالات زیادی را در محافل علمی برانگیخته است. هنوز مهمترین مشکل حل نشده انتخاب آنتی ژن مناسب از چندین آنتی ژن محافظتی و همینطور مشکل انتخاب کاریر (Carrier) که باید به پیتید مربوطه متصل شود و مشکل انتخاب اجوانت مورد نیاز برای انسان در تهیه واکسن می باشد. و همینطور در استفاده عملی



در میان تمام بیماریهای انگلی که بوسیله تک یاخته ها ایجاد می شود مالاریا هنوز بیشترین مرگ و میر را در کودکان دارد.

واکسن علاوه بر مشکلات فوق، مسائل ایمنولوژیکی حل نشده مثل اثر ایمنوسوپرسیوها که در عفونت مالاریا ایجاد می شود وجود دارد.

واکسن گامتها بدون آنتی ژن های مراحل غیر جنسی داخل گلبول قرمزی از نظر مرحله ای اختصاصی است و بر روی مراحل غیر جنسی هیچگونه تأثیری ندارد و مصون سازی با گامتها در مالاریای میمون نیاز به اجوانت دارد در حالیکه اجوانت در عفونتهای چونندگان و پرندگان مورد نیاز نمی باشد، در سلولهای حیوانی بعد از ایمونیزاسیون مهره داران با گامتها آنتی بادی هایی تولید می شود که تکامل انگلها را در داخل معده پشه آنوفل ماده مهار می کند و مانع تشکیل تخم و در نهایت از بوجود آمدن اسپوروزوئیت جلوگیری می کند و مانع انتقال بیماری می شود با تولید واکسن بر پایه آنتی ژن های مرحله جنسی انگل می توان وفور مالاریا را در مناطق اندمی با کاهش سطح انتقالی انگل کم کرد.

مشکلات موجود در تهیه واکسن

با وجودیکه مصونیت بر علیه اسپوروزوئیت در انسان به نتیجه رسیده است مشاهده شده است افرادی که در مناطق بومی زندگی می کنند و علیرغم اینکه چندین سال در تماس با انگل بوده اند هنوز نسبت به عفونت مجدد حساس هستند. به نظر نمی رسد که این حالت به تنوع آنتی ژن های اسپوروزوئیت مربوط باشد و امکان دارد که مرحله غیر جنسی داخل گلبول قرمز اثر مهار کنندگی روی پاسخهای ضد اسپوروزوئیت داشته باشد. بعلاوه مشاهدات موجود نشان نمی دهد که انسان در نتیجه عفونت طبیعی مصونیت موثر بر علیه مراحل خارج گلبول قرمزی (مرحله کبیدی) یا فرمهای جنسی پلاسمودیوم کسب نماید بهمین خاطر مرحله غیر جنسی داخل گلبول قرمزی که هم مصونیت محافظتی که از نظر گونه و مرحله اختصاصی است ایجاد می نماید و هم مکانیسمهای دفاعی غیر اختصاصی را تحریک می کند بعنوان مهمترین منبع آنتی ژن بحساب می آید. به نظر می رسد که یک واکسن موثر ضد مالاریا به ترکیب آنتی ژنهای مرحله داخل گلبول قرمزی با شاخص های آنتی ژنی اسپوروزوئیت نیاز داشته باشد.

مشکلاتی که در راه دستیابی به واکسن مالاریا موجود می باشد بطور خلاصه عبارتند از:

۱- حتی اگر ایمونوژن محافظتی شناسائی شود ممکن است بدون استفاده از اجوانت موثر واقع نشود. چه نوع اجوانتی باید استفاده کرد؟ یک اجوانت ممکن است در یک حیوان خیلی موثر باشد در حالیکه در حیوان دیگر موثر

نباشد. مثلاً آنتی ژن مالاریا با اجوانت فروند کامل میمونها را در مقابل P.Knowlesi کشنده محافظت می کند اما هیچگونه مصونیتی در موش ایجاد نمی کند.

۲- مسئله دیگر در رابطه با تهیه واکسن مصونیتی است که در مقابل عفونت مرحله غیر جنسی داخل گلبول قرمز پلاسمودیوم فالسیپارم ایجاد می شود که از نظر استرین اختصاصی است. استرین های متعدد اختصاصی در یک منطقه وجود دارد که هر کدام یک آنتی ژن مخصوص به خود دارند. همینطور بعضی از انگلهای مالاریا می تواند آنتی ژن های خود را در مقابل پاسخهای ایمنی میزبان تغییر دهند. در تهیه واکسن بطور روشن باید یک ایمونوژن عمومی برای همه انگلهای مالاریا وجود داشته باشد.

۳- مسئله دیگر استفاده از واحدهای فرعی آنتی ژن مالاریا می باشد که بعضاً بعنوان واکسن استفاده می شود و ممکن است از نظر ایمونوژنیسیته ضعیف باشند مخصوصاً آن دسته از آنتی ژنهایی که اپی توپ های مخصوص برای سلولهای T دارند که تعداد این نوع اپی

در مناطق اندمی مالاریا مرگ و میر بزرگسالان خیلی کمتر است، زیرا نسبت به پلاسمودیوم فالسیپارم که خطرناکترین فرم آن است مصونیت نسبی یا کامل ایجاد می شود.



مورد بعضی از آنها باید کاربرد مناسب را انتخاب کرد.

۶- موثر بودن واکسن در کودکان جوان و بزرگسالان که به مقدار کم مصون هستند و همینطور تعداد زیادی از افراد که در موقع واکسیناسیون آلوده می شوند می بایست مورد مطالعه قرار گیرد.

توپهای خیلی کم می باشد.

۴- وجود مهار کننده ها (Immunosuppressive)، واکسن مورد نظر می بایست عاری از مهار کننده ها باشد تا بتواند بطور کامل موثر واقع شود.

۵- انتخاب کاربرد (Carrier)، بعد از مشخص کردن آنتی ژن محافظتی در

به نظر می آید که یک واکسن مؤثر ضد مالاریا می بایست مخلوطی از آنتی ژنهای مرحله غیرجنسی داخل گلبول قرمزی با اپی توپهای اسپوروزوئیت باشد.

within the circumsporozoite protein of Plasmodium vivax recognized by murine T lymphocyte. *Experimental parasitology*, 27:271-277,1991.

10- ROITT, I.M. ESSENTIAL IMMUNOLOGY. BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS 1988.

11- Valero, M.v. et al. Vaccination with SPF 66, a chemically synthesised vaccine, against Plasmodium falciparum Malaria in Colombia. *Lancet*, 341:705-710,1993.

12- Virella, G. Immunological aspects of the host-parasite relationship. In: Introduction to medical Immunology, Virella, G., Goust, J.M. and Fudenberg, H.H. eds. Immunology series, 50:239-257,1990.

Experimental and clinical data.

Immunological reviews, 112:49-70,1989.

5- Maizels, R.M. Parasite antigens. In parasites: Immunity and pathology. Behnke, J.M. ed. Taylor and Francis Publication, 1990, pp 23-41.

6- Marsh, K. Malaria, Patarroyo's vaccine. *Lancet*, 341:729-730, 1993.

7- Mc Gregor, I.A. and Wilson, R.J.M. Specific Immunity: acquired in man. In: principles and practice of malarology, W.H. and Mc Gregor, I.A. eds. Churchill Livingstone publication, 1988, pp 559-619.

8- Mosmann, T. and Moore, K.W. the role of IL-10 in cross regulation of TH1 and TH2 response. In Immunoparasitology Today by Ash, C. and Gallagher, R.B. eds. A49_A53, 1991.

9- Rodrigues, M.M., Paiva, A.C.M., Dutra, A.P., Yoshida, N. and Nakaie, C. Identification of epitopes

● منابع و مأخذ

1- Cohen, D. and Warren, K. Immunology of parasitic infectious. Blackwell scientific Publications, 1982.

2- Cohen, S. and Deans, J.A. Specific acquired immunity in experimental malaria In: Principles and practice of Malarology, Wernsdorfer, W.H. and Mc Gregor, I.A. eds. Churchill livingstone publication, 1988, pp 515_557.

3- D' Antonio, L.E., Keshavarz-Valian, H. and Alger, N.E. Malaria Vaccine antigen (s): Detergent Solubilization and partial isolation with recovery of immunoprotective activity. *Infect. Immun.* 43: 442-444, 1984.

4- Grau, G.E., Pigué, P.F., Vassalli, P. and Lambert, P.H. Tumor necrosis factor and other cytokines in cerebral malaria: