Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 19, No. 2, Summer 2019, Pages 126-136

Review Article

Arginase Activity and Its Effects on Pathogenesis of *Leishmania* Parasites

Badirzadeh A*

Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +982186703267, Fax: +982188622653, E-mail: badirzadeh.ar@iums.ac.ir

Received: Feb 19, 2019 Accepted: Jun 20, 2019

ABSTRACT

Leishmaniasis is a tropical parasitic disease that has become a major health challenge in many countries of the world. Not only has not been found any effective vaccine or treatment for the disease eradication, but also the advent of drug resistance is also increasing. Therefore, it is vital to take a precise attention to the physiochemical cycles of the *Leishmania* parasite and to identify its biochemical pathways. One of the most important biochemical pathways of host and parasite is the arginase and nitric oxide cycles. By using L-arginine, arginase plays an important role in the metabolic pathways, particularly in ornithine production, polyamines biosynthesis and cellular activities, including proliferation and cell survival. Furthermore, L-arginine, can act as a substrate for inducible nitric oxide synthase (iNOS), which leads to the synthesis of nitric oxide (NO), thereby activating the cellular immune system and clearing intracellular parasites. High Arginase activity reduces the parasite load inside the host cell, and since lymphocytes need L-arginine for their activity, its deficiency impairs the response of host immune cells. Also, parasites arginase **alone** can determine the fate of *Leishmania* parasite within the host cell. The aim of this study was to provide a comprehensive overview of various studies on the arginase activity of both parasite and host and its direct impacts on the immune system and pathogenicity of the *Leishmania* parasite.

Keywords: Arginase; *Leishmania*; Nitric Oxide; Macrophages; Immune System

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

مقاله مروری

فعالیت آنزیم آرژیناز و نقش آن در بیماریزایی انگل‌های *لیشمانیا*

علیرضا بدیرزاده*

گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۸۶۷۰۳۲۶۷ فاکس: ۰۲۱۸۸۶۲۲۶۵۳ پست الکترونیک: badirzadeh.ar@iums.ac.i

چکیده

لیشمانیوز، یک بیماری انگلی گرمسیری است که امروزه به یک چالش بزرگ در بسیاری از کشورهای دنیا تبدیل شده است. تاکنون واکسن یا داروی موثری برای ریشه‌کنی این بیماری پیدا نشده است، از سوی دیگر ظهور مقاومت دارویی، این بیماری را به یک نگرانی جهانی تبدیل کرده است. از این رو توجه بیشتر به چرخه‌های فیزیکوشیمایی انگل *لیشمانیا* و شناسایی مسیرهای بیوشیمایی آن از اهمیت بسزایی برخوردار است. یکی از حیاتی‌ترین این مسیرها چرخه آرژیناز و نیتریک اکساید میزبان و انگل *لیشمانیا* است. آنزیم آرژیناز با استفاده از اسید امینه آرژینین نقش مهمی در مسیرهای متابولیکی به ویژه تولید اورنیتین دارد که منجر به تولید پلی‌آمین‌ها شده و در فعالیت‌های مهم سلولی از جمله تکثیر و بقاء سلولی دخالت دارند. از سوی دیگر آرژینین می‌تواند به عنوان سوبسترا برای آنزیم نیتریک اکساید سنتاز عمل‌کند که منجر به تولید نیتریک اکساید شده و در نتیجه باعث فعال شدن سیستم ایمنی سلولی و از بین رفتن ارگانیسم‌های داخل سلولی می‌شود. فعالیت بالای آنزیم آرژیناز باعث کاهش انگل در داخل سلول میزبان شده و از آنجایی که سلول‌های لنفوسیت برای فعالیت خود به اسید امینه ال-آرژینین احتیاج دارند، کمبود آن باعث اختلال در پاسخ‌های سلول‌های لنفوسیتی می‌شود. همچنین آرژیناز انگل به تنهایی می‌تواند سرنوشت انگل *لیشمانیا* را در داخل سلول میزبان تعیین کند. هدف از این مطالعه، مرور جامع بر مطالعات انجام شده بر روی مسیر آرژیناز انگل و میزبان و بررسی تاثیر آن بر سیستم ایمنی و بیماریزایی انگل *لیشمانیا* می‌باشد.

واژه های کلیدی: آرژیناز، *لیشمانیا*، نیتریک اکساید، ماکروفاژ، سیستم ایمنی

دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰ **پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۳/۳۰

مقدمه

انگل‌های جنس *لیشمانیا*، عامل بیماری لیشمانیوز، تک‌یاخته‌های درون سلولی اجباری‌اند که گستره وسیعی از بیماری‌ها، از زخم‌های جلدی یا پوستی (سالک) خود بهبود شونده تا لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) کشنده را موجب می‌شوند [۱،۲]. انگل *لیشمانیا* بر حسب محیط زندگی خود به دو شکل آماستیگوت داخل سلولی فاقد تاژک و پروماستیگوت خارج سلولی واجد تاژک دیده می‌شوند. این انگل در مهره‌داران، درون سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای تکثیر می‌یابد. این بیماری انگلی با گزش گونه‌های مختلف پشه خاکی به انسان منتقل می‌شود [۳،٤]. در حال حاضر ۱۲ میلیون نفر در ۹۸ کشور جهان دچار انواع مختلف بیماری لیشمانیوز هستند و با حدود ۲ میلیون مورد جدید در هر سال، این بیماری به یک خطر سلامت عمومی در سراسر جهان تبدیل شده است [۲]. این بیماری با تظاهرات بالینی و ژنتیکی پیچیده در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران به عنوان یک بیماری فراموش شده گرمسیری[1] در نظر گرفته می‌شود [۲]. به علت اهمیتی که این

[1] Neglected Tropical Disease (NTD)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

بیماری از نظر بهداشتی دارد، سال‌ها مورد توجه سازمان بهداشت جهانی بوده است، بطوری‌که این بیماری جزءِ ۱۰ بیماری مهم مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری محسوب می‌شود و بخش تحقیقات بیماری‌های گرمسیری سازمان بهداشت جهانی ، این بیماری را در زمرهٔ سه بیماری اول (بیماری خواب، تب دنگی و لیشمانیوز) و جزو بیماری‌های بازپدید[1] و غیرقابل کنترل طبقه بندی کرده است [۵،۶].

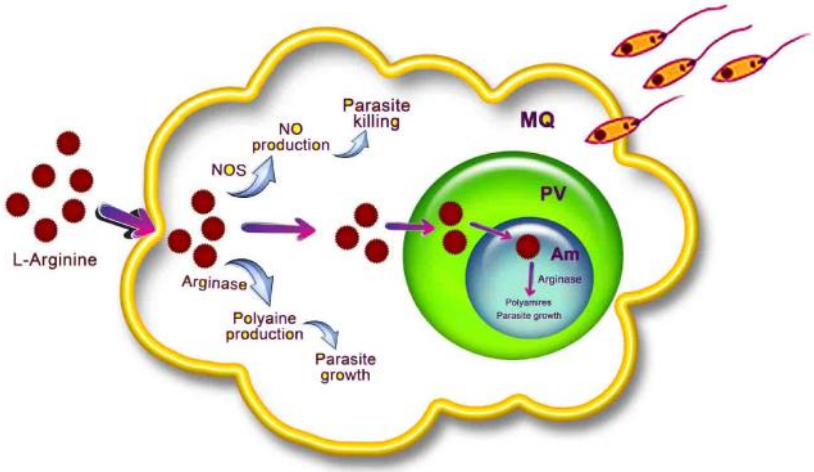
علی‌رغم تلاش‌های زیادی که برای درمان لیشمانیوز صورت گرفته است، درمان مناسبی برای آن و به‌خصوص برای شکل احشایی موجود نیست و سالانه میزان بالایی از مرگ و میر را در سراسر جهان موجب می‌شود. همچنین با وجود تکاپوی زیادی که برای تکوین یک واکسن مناسب علیه این بیماری یا راهکار مناسب برای مبارزه با انگل در بسیاری از مراکز علمی وجود دارد، به دلیل پیچیدگی انگل در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌ها و تنوع زیاد برهمکنش‌های آن با میزبان مهره‌دار، تهیه واکسن مناسب بسیار مشکل است. از این رو توجه بیشتر به این بیماری و رسیدن به روش‌های تشخیصی مناسب برای تشخیص به موقع بیماری یکی از مسائل مهم بهداشت جهانی و سلامت جامعه است [۷،۸].

مقایسه بین ژنوم گونه‌های مختلف انگل *لیشمانیا* نشان داده است که گونه‌های مختلف این انگل دارای تعداد مشابهی ژن هستند، اما تفاوت‌های ژنتیکی بین آنها دیده می‌شود که سبب بروز تفاوت‌های فنوتیپی میان آنها می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده است که گونه‌های غیربیماریزا فاقد برخی از ژن‌های موجود در گونه‌های بیماریزا هستند. لذا یافتن تفاوت‌های بین گونه‌های بیماریزا و غیربیماریزا و حتی گونه‌های بیماریزا با هم کمک شایان توجهی به شناسایی هر چه بیشتر این انگل و نیز یافتن اهداف (تارگت‌های) مهم دارویی و مقابله با این بیماری می‌نماید [۹،۱۰]. در این ارتباط، ال-آرژینین یکی از اسیدهای آمینه بسیار حیاتی برای رشد و تکثیر انگل *لیشمانیا* است. این اسیدآمینه به عنوان سوبسترایی اصلی برای دو آنزیم مهم یعنی نیتریک اکساید سنتاز القا کننده (iNOS) و آرژیناز است. بسته به نوع سایتوکاین تولیدی توسط سیستم ایمنی، ال-آرژینین می‌تواند توسط آنزیم iNOS مورد استفاده قرار گرفته و تولید نیتریک اکساید (NO) نماید و در نتیجه باعث مرگ انگل گردد. همچنین می‌تواند به وسیله آنزیم آرژیناز مورد مصرف قرار گرفته و باعث برقراری مسیر سنتز پلی‌آمین‌ها شود و در نتیجه انگل زنده مانده و در داخل ماکروفاژ رشد و تکثیر نماید. در واقع در این شرایط یک نوع رقابت شدید بین دو آنزیم آرژیناز و iNOS در مصرف ال-آرژینین برای مرگ یا بقا انگل وجود دارد [۱۱،۱۲] (شکل ۱). از آنجایی‌که طی سال‌های اخیر مطالعات گسترده ای بر روی نقش آنزیم آرژیناز در سیستم ایمنی میزبان مهره‌دار و نقش آن در بیماریزایی بیماری‌های مختلف به دلیل عملکرد مستقیم آن در التهاب، صورت گرفته است، لذا هدف از این مطالعه، مروری جامع بر چرخه آنزیم آرژیناز در میزبان مهره‌دار و همچنین در انگل *لیشمانیا* و بررسی تاثیر آن در سیستم ایمنی انسان و در نتیجه نقش بسیار مهم آن در بیماریزایی این انگل و ایجاد بیماری لیشمانیوز می‌باشد.

[1] Re-emergent

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]



شکل ۱. متابولیسم ال-آرژینین و آرژیناز و تاثیر انگل *لیشمانیا* بر آن

نقش سیستم ایمنی در عفونت ناشی از *لیشمانیا*

لیشمانیا یک انگل اجباری درون سلولی است، که سلول‌های هسته دار برای بقاء، تکثیر و تمایز این انگل ضروری هستند [۱۳]. با گزش پشه خاکی و در پاسخ به ورود فرم پروماستیگوت انگل به داخل بدن میزبان پستاندار، اولین سلولی که به موضع عفونت فراخوانده می‌شوند، نوتروفیل‌ها می‌باشند، که به عنوان سلول موثر اولیه و یا سلول فاگوسیت‌کننده عمل می‌کنند [۱۴،۱۵]. نوتروفیل به محل عفونت رسیده و شروع به فاگوسیتوز و برداشت پروماستیگوت‌ها می‌کند که منجر به ترشح اینترلوکین ۸ (IL-8) توسط این سلول‌ها شده که در نتیجه باعث افزایش فراخوانی نوتروفیل‌های بیشتری به موضع عفونت می‌شود [۱۵،۱۶]. سپس موج دوم سلول‌ها یعنی مونوسیت‌ها و ماکروفاژها به موضع عفونت وارد می‌شوند. نوتروفیل‌های آلوده با تولید مدیاتورهایی مانند پروتئین‌های التهابی ماکروفاژ یک الفا/یک بتا (MIP-1α/1β)[1] منجر به فراخوانی مونوسیت‌ها و ماکروفاژها به محل عفونت می‌شوند. ماکروفاژها با ورود به موضع، شروع به برداشت نوتروفیل‌های آلوده می‌کنند [۱۵،۱۷]. برداشت سلول‌های آلوده توسط ماکروفاژها، منجر به فعال‌سازی فعالیت‌های ضدمیکروبی ماکروفاژ نمی‌گردد؛ بدین ترتیب انگل با این روش خود را به سلول اصلی میزبان یعنی ماکروفاژ می‌رساند [۱۷]. انگل بعد از ورود به بدن میزبان خود، مدت زمانی را برای آداپته شدن نیاز دارد، تا خود را به سلول اصلی میزبان یعنی ماکروفاژ برساند و این کار را داخل نوتروفیل‌ها انجام می‌دهد، از این رو نوتروفیل را به عنوان اسب تروجان[2] می‌نامند [۱۷].

ماکروفاژها مهم‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی، برای از بین بردن و پاک کردن انگل هستند. این سلول‌ها به‌واسطه سیگنال‌های متفاوتی می‌توانند فعال شوند که منجر به تکامل آنها به دو زیرگروه متمایز از ماکروفاژها می‌گردد که از نظر عملکردی کاملاً با هم فرق دارند و به دنبال آن نتایج بیماری می‌تواند متفاوت باشد. بنابراین فعال‌سازی مناسب ماکروفاژها برای حذف این پاتوژن درون سلولی بسیار حیاتی و مهم است. در پی فعال‌سازی ماکروفاژها، این سلول‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند: نوع کلاسیک و نوع آلترناتیو [۱۸]. فعال شدن نوع کلاسیک آن به واسطه سایتوکاین‌های سلول‌های T کمکی یک (Th1) مانند اینترفرون گاما (IFN-γ) صورت می‌گیرد، که منجر به تحریک ماکروفاژها برای القاء نیتریک اکساید سنتاز (آنزیمی که آرژنین را به نیتریک اکساید تبدیل می‌کند) می‌شود. نیتریک اکساید یک مولکول بسیار

[1] Macrophage Inflammatory Proteins

[2] Trojan Horse

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

توکسیک است که نقش مهمی را در کشتن انگل‌های داخل سلولی مانند *لیشمانیا* ایفا می‌کند. برخلاف فعال‌سازی کلاسیک، نوع آلترناتیو آن به واسطه سایتوکاین‌های سلول‌های T کمکی دو (Th2) مثل اینترلوکین ٤ (IL-4) و اینترلوکین ۱۰ (IL-10) ایجاد می‌گردد. مشخص شده است که IL-4 از طریق تحریک تولید آرژیناز، منجر به بیان پلی‌آمین‌ها می‌شود، که باعث بقای انگل *لیشمانیا* در درون ماکروفاژها می‌شود [۲۱-۱۹]. همچنین IL-10 مانع انفجار تنفسی شده و جلوی تولید سایتوکاین‌های التهابی از جمله فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF) را می‌گیرد و اثر منفی بر فعالیت‌های ضدانگلی دارد. اینترلوکین ۱۲ (IL-12) یک سایتوکاین کلیدی برای تکامل سلول‌های Th1 و به دنبال آن تولید IFN-γ است. این سایتوکاین به طور عمده به واسطه سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن تولید می‌شود و باعث فعال شدن سیستم ایمنی سلولی شده و در نتیجه انگل داخل سلولی را از بین می‌برد [۲۲].

تعادل بین فاکتورهای میزبان و انگل که فعال‌سازی یا غیرفعال‌سازی ماکروفاژها را کنترل می‌کنند، سرنوشت نهایی انگل را در داخل ماکروفاژهای آلوده تعیین می‌کند. در این راستا مشخص شده است که برخی از مولکول‌های مشتق شده از انگل، نتیجه عفونت *لیشمانیا ماژور* را در موش تنظیم می‌کنند، به‌طوری که در غیاب مولکول‌های شامل فسفوگلیکان، انگل *لیشمانیا* قادر به تولید IL-4 اولیه در موش نمی‌باشد که خود دال بر این مطلب است که مولکول‌های مشتق از انگل می‌توانند پاسخ‌های ایمنی اکتسابی میزبان را به منظور بقاءِ انگل تنظیم کنند [۲۵-۲۲].

چرخه آرژیناز و نقش آن در سیستم ایمنی میزبان

در سال‌های اخیر مطالعات در زمینه نقش آنزیم آرژیناز در عملکرد سیستم ایمنی، به طور چشم‌گیری افزایش یافته است که به دلیل نقش این آنزیم در رویکردهای متفاوتی از التهاب می‌باشد. همچنین مشخص شده است که آنزیم آرژیناز در فرایند سرکوب ایمنی، ایمونوپاتولوژی بیماری‌های عفونی و فرار سلول‌های توموری از سیستم ایمنی نقش مهمی را ایفا می‌کند [۲۶]. این آنزیم که در پستانداران به‌صورت دو ایزوفرم آرژیناز I (ARG I) و آرژیناز II (ARG II) وجود دارد، اسیدآمینه ال-آرژینین را به محصول‌های ال- اورنیتین و اوره هیدرولیز می‌کند (شکل ۱). هر دو ایزوفرم این آنزیم، واکنش بیوشیمیایی مشابهی را کاتالیز می‌کنند، اما از لحاظ بیان سلولی، تنظیم و جایگاه آن در سلول متفاوت می‌باشند. ایزوفرم ARG I در کبد بیان و به عنوان یکی از آنزیم‌های چرخه حیاتی اوره که منجر به خنثی نمودن آمونیاک در پستانداران می‌گردد، ایفای نقش می‌کند. این چرخه در دو بخش سلولی میتوکندری و سیتوزول انجام می‌گردد که در آن آنزیم آرژیناز به عنوان یک پروتئین سیتوزولیک ایفای نقش می‌کند [۲۷]. ایزوفرم ARG II به عنوان یک آنزیم میتوکندریایی در بافت‌های محیطی پستانداران، کلیه، پروستات، روده کوچک و غدد شیری موجود می‌باشد [۲۶].

آنزیم آرژیناز نقش مهمی در مسیرهای متابولیکی به‌ویژه تولید ال- اورنیتین دارد. ال- اورنیتین می‌تواند به پلی‌آمین‌ها از جمله پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین از طریق آنزیم اورنیتین دکربوکسیله[1] تبدیل شود. پلی‌آمین‌های مذکور به عنوان مولکول‌های کاتیونیکی کوچک در بسیاری از فعالیت‌های مهم سلولی از جمله تکثیر و انتقال سلولی دخالت دارند. از طرف دیگر ال- اورنیتین تحت تاثیر اورنیتین آمینوترنسفراز[2] تبدیل به ال- پرولین[3] می‌گردد که یک ماده اساسی در تولید کلاژن می‌باشد. از سوی دیگر ال-آرژنین می‌تواند به عنوان سوبسترا برای آنزیم نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS) مدنظر قرار داده شود که منجر به تولید نیتریک اکساید و

[1] Ornithine Decarboxylase
[2] Ornithine Amino Teransferase
[3] L-proline

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]
[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

حد واسطه‌های نیتروژن فعال مثل پراکسی نیتریت شود (شکل ۱) [۲۷،۲۸]. نیتریک اکساید از اکسیداسیون مولکول ال-آرژینین به ال- سیترولین[1] با واسطه آنزیم iNOS در حضور کوفاکتور نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید[2] تشکیل می‌گردد. نیتریک اکساید یک مولکول مهم بیولوژیک و تنظیم کننده سیستم‌های ایمنی، قلبی و عروقی و عصبی می‌باشد. این ماده یک محرک قوی سیستم ایمنی بوده و در طی التهاب، عفونت و دفع پیوند نقش‌های مهمی را ایفا می‌کند و به عنوان یک مولکول مهم، به طور همزمان در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوزیس) و میزان بقای آن دخالت دارد. همچنین نیتریک اکساید به عنوان یک مولکول تنظیمی و یک مدیاتور سیتوتوکسیک در مسیر ایمنی و به صورت یک مولکول پیام‌دهنده و تنظیم‌کننده در فعالیت‌های سلول، نقش مهمی را ایفا می‌کند. نیتریک اکساید در سلول‌ها و بافت‌های مختلفی از جمله سلول‌های اندوتلیال، نوتروفیل‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی، عروق، ماهیچه‌ها، پلاکت‌ها، فیبروبلاست‌ها، نرون‌ها و سلول‌های آدرنال موجود می‌باشد. این ماده، فعالیت ضدمیکروبی قوی دارد و می‌تواند با سوپراکسید ترکیب و منجر به ایجاد مواد ضدمیکروبی علیه باکتری‌ها، پروتوزوآها، قارچ‌ها و انگل‌های کرمی شود. علاوه بر نقشی که نیتریک اکساید در طی فاز فعال بیماری در کنترل عفونت دارد، در عفونت نهفته نیز موثر می‌باشد. به طوری که در موش‌های مقاوم به انگل *لیشمانیا*، بعد از بهبودی، انگل به مدت طولانی به صورت نهفته حضور دارد، که رادیکال‌های فعال نیتروژن در حفظ این وضعیت خاموش نقش مهمی دارند. اما چنانچه پس از بهبودی کامل، به این موش‌ها مهارکننده iNOS تجویز گردد، تعداد انگل افزایش یافته و بیماری بار دیگر فعال می‌شود [۲۶،۲۹].

مکانسیم عمل نیتریک اکساید سنتاز دقیقاً مشخص نیست و به طرق مختلف اثر سمی خود را ایفا می‌کند. از آن جمله می‌توان به اختلال در تنفس میتوکندریایی، غیرفعال شدن گلوتاتیون پراکسیداز[3] (که به دنبال آن افزایش حساسیت به ترکیبات اکسیدکننده مشاهده می‌گردد)، مهار گلیکولیز[4]، کاهش سنتز DNA (به دلیل مهار ریبونوکلئوتید ردوکتاز[5])، تخریب DNA، اکسیداسیون DNA، اکسیداسیون لیپیدها و اتصال به گروه‌های آهن (منجر به ایجاد کمپلکس نیتروزیل-آهن و غیرفعال سازی آنزیم می‌شود) اشاره کرد [۳۰]. تحقیقات در مورد دو آنزیم آرژیناز و iNOS روز به روز در حال پیشرفت می‌باشد و مشخص گردیده است که بیان هر دو آنزیم در ماکروفاژ توسط سایتوکاین‌های سلول‌های T تنظیم می‌شود. بیان iNOS در ماکروفاژها توسط سایتوکاین‌های سلول‌های Th1، از جمله IFN-γ کنترل می‌شود، در حالی که بیان آرژیناز به وسیله فعال شدن سلول‌های Th2 و به دنبال آن سایتوکاین‌های IL-4، IL-10 و IL-13 انجام می‌گیرد. بین القاء iNOS و سایتوکاین‌های Th1 و از طرف دیگر آرژیناز و سایتوکاین‌های Th2 اثر سینرژیسم وجود دارد. سلول‌های Th2 بیان آرژیناز نوع I را که یک شکل عمومی از انواع سلول‌های میلوئید موشی است و در سلول‌های دندریتیک و گرانولوسیت یافت می‌شود، را کنترل می‌کند. همچنین سایتوکاین IL-21 به عنوان افزایش‌دهنده بیان آرژیناز وابسته به Th2، به وسیله بیان بالای IL-4Rα و IL-13Rα در ماکروفاژهای موشی عمل می‌کند [۱۱،۳۱].

نقش آنزیم آرژیناز در انگل *لیشمانیا*

لیشمانیا یک انگل اجباری داخل سلولی است که بعد از انتقال به میزبان پستاندار، عمدتاً به ماکروفاژها حمله می‌کند. این ماکروفاژها یا انگل را می‌کشند و یا میزبان

[1] L-citrulline
[2] Nicotinamide Adenine Dinucleotide
[3] Glutathione Preoxidase
[4] Glycolysis
[5] Ribonucleotide Reductase

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]
[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

انگل می‌شوند که این امر بستگی به تعادل دو آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و آرژیناز دارد. بر خلاف آرژیناز مهره‌داران که دو ایزوآنزیم از آرژیناز دارند، این انگل فقط یک نوع آنزیم آرژیناز دارد که در اندامکی بنام گلیکوزوم قرار گرفته و از نظر عملکرد شبیه آرژیناز پستاندارن و انسان است ولی از نظر توالی و خواص مولکولی متفاوت می‌باشد. این دو آنزیم از سوبسترای مشترک ال-آرژینین استفاده می‌کنند و توسط سایتوکاین‌هایی که از Th1 (INF-γ) و Th2 (IL-4, IL-13) ترشح می‌شوند با یکدیگر رقابت می‌کنند. سایتوکاین‌های Th1 ماکروفاژ را تحریک می‌کنند که در نتیجه نیتریک اکساید سنتاز، ال-آرژینین را به نیتریک اکساید، اکسید می‌کند. نیتریک اکساید متابولیت مسئول پاکسازی انگل *لیشمانیا* است. سایتوکاین‌های Th2 مسئول غیر فعال کردن ماکروفاژ و تحریک آرژیناز هستند که ال-آرژینین را به ال- اورنیتین هیدرولیز می‌کنند. ال- اورنیتین اسیدآمینه‌ای است که منبع اصلی داخل سلولی برای سنتز پلی‌آمین‌ها برای رشد و تکثیر انگل است. از آنجایی که پلی‌آمین‌ها برای رشد سلولی، پردازش سلولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضروری هستند [۳۲]، با مهار آنزیم آرژیناز اسیدآمینه ال-آرژینین به ال- اورنیتین تبدیل شده و در نتیجه رشد سلولی انگل *لیشمانیا* مهار می‌شود [۳۳]. مطالعات نشان داده است که انگل *لیشمانیا* زمانی که INF-γ در مقدار کم تولید شود، باعث سرکوب نیتریک اکساید میزبان و فعال‌کردن آرژیناز میزبان می‌شود. همچنین انگل *لیشمانیا* توانایی مهار هر دو آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و آرژیناز میزبان را بصورت همزمان داشته و قادر به فعال کردن آرژیناز خود انگل می‌باشد (شکل۱) [۱۱].

عملکرد فیزیولوژیک آنزیم آرژیناز در انگل *لیشمانیا*

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که حذف ژن آرژیناز در انگل *لیشمانیا*، موجب کاهش عفونت لیشمانیوز در میزبان می‌شود. به عنوان مثال در *لیشمانیا ماژور* حذف ژن آرژیناز موجب عدم تولید پلی‌آمین‌ها می‌گردد. همچنین در *لیشمانیا مکزیکانا*، حذف ژن آرژیناز، موجب کاهش عفونت در موش‌ها گردید، ولی نه به واسطه کاهش پلی‌آمین‌ها، بلکه توسط افزایش تولید نیتریک اکساید که با افزایش ال-آرژینین در دسترس موجب کاهش بار انگلی شدند [۳٤]. مطالعات نشان داده است که آرژیناز کد کننده انگل، می‌تواند بر روی پاسخ سلول ماکروفاژ اثر بگذارد، بنابراین هر دو الل کد کننده آن را در *لیشمانیا مکزیکانا* حذف کردند و مشاهده کردند که عدم حضور آرژیناز انگل باعث کاهش عفونت در موش و افزایش تولید نیتریک اکساید به واسطه افزایش تولید نیتریک اکساید سنتاز می‌شود که این نیز به واسطه تولید مقدار بالای IFN-γ و میزان کمتری IL-4 و IL-10 در ماکروفاژ موش‌های آلوده به انگل رخ می‌دهد [۲۳،۳۵،۳۶]. گزارش‌های متعددی نشان داده است که تکثیر سلول‌هایی مانند سلول‌های سرطانی و همچنین میکروارگانیسم‌هایی مانند انگل‌ها و ویروس‌ها به وسیله حذف ال-آرژنین مهار می‌شوند. در مجموع بر اساس مطالعات مختلف انجام شده، می‌توان گفت که ال-آرژنین می‌تواند موجب مهار تکثیر لنفوسیت T شود و در نتیجه مهار پاسخ ایمنی موثر شده و از طرف دیگر موجب افزایش کشتن سلول‌های سرطانی، انگل و ویروس‌ها می‌شود [۲۳،۳۷].

مطالعات دیگری نشان داده است که فعالیت آرژیناز در انگل‌های بیماریزای *لیشمانیا* مانند *لیشمانیا ماژور* سویه ایران، بیشتر از نوع غیربیماریزا *(لیشمانیا تارنتولا)* بوده است. در مطالعه قبلی نویسنده این مقاله آمده است که در ماکروفاژهای آلوده شده با انگل، با افزایش آرژیناز، میزان نیتریک اکساید به شدت کاهش پیدا کرده و در موش‌های بالب سی آلوده شده با *لیشمانیا ماژور*، با افزایش روند عفونت، میزان آرژیناز به شدت افزایش یافته است. در حالی که در موش‌های آلوده شده با *لیشمانیای* غیر بیماریزا

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

(لیشمانیا تارنتولا)، افزایشی در میزان آرژیناز و تورم کف پای موش مشاهده نشده است [۱۹]. در یک مطالعه دیگر، میزان آرژیناز در انگل‌های *لیشمانیای* جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی (سویه وحشی)، بیشتر از سویه استاندارد بوده است. که این نتایج نشان می‌دهد که آرژیناز خود انگل باعث افزایش آرژیناز میزبان و در نتیجه بقاءِ انگل در داخل سلول میزبان شده است [۱۹،۲۰].

مهارکننده‌های آنزیم آرژیناز

از راه‌های مهم دست‌یابی به عملکرد یک پروتئین در موجودات زنده، مهار فعالیت یا حذف آن ژن است. چندین نوع مهارکننده مهم علیه آرژیناز شناخته شده است که می‌توان از مهارکننده‌های تریازولوپیریمیدین[1] [۳۸] و سروپیا[2] علیه *لیشمانیا آمازونسیس* [۳۹]، اسید برونوهگزونیک[3] علیه *لیشمانیا مکزیکانا* [۴۰] و NOHA[4] علیه *لیشمانیا مکزیکانا* و *لیشمانیا ماژور* [۴۰،۳۳] نام برد. از بین این مهارکننده‌ها، NOHA که به دو شکل NOHA و nor-NOHA[5] می‌باشند، بیشترین تاثیرات را بر روی آرژیناز انگل *لیشمانیا* داشته است. از بین این دو Nor-NOHA بهترین مهارکننده برای آرژیناز می‌باشد که تا کنون شناخته شده است. در ساختمان nor-NOHA حدود ۴۰ تاخوردگی بیشتر از NOHA وجود دارد که باعث شده نسبت به NOHA قوی‌تر عمل نماید و در مقایسه با سایر مهارکننده‌ها به میزان بیشتری از رشد انگل جلوگیری کرده است [۴۰،۴۱]. مطالعات مختلف نشان داده است که به دلیل تفاوت قابل ملاحظه آنزیم آرژیناز *لیشمانیا* با آرژیناز انسانی، nor-NOHA می‌تواند به عنوان یک هدف دارویی مناسب در نظر گرفته شود، لذا استفاده از مهارکننده-های آرژیناز یکی از کاندیدهای بسیار مهم برای درمان لیشمانیوز محسوب می‌شود زیرا مهار فعالیت آنزیم آرژیناز باعث کاهش عفونت *لیشمانیا* در ماکروفاژ پستانداران می‌شود. طبق مطالعات مختلف، مهار فعالیت آرژیناز در *لیشمانیا مکزیکانا* و *لیشمانیا ماژور*، موجب کاهش میزان بیماریزایی لیشمانیوز جلدی در موش بالب سی شده است. ماکروفاژهای مستقر در پوست یا سلول‌های دندریتیک آلوده با انگل، دارای منبع غنی از پلی‌آمین‌ها و یا پیش‌سازهای آن برای نگهداری و رشد فرم آماستیگوت انگل *لیشمانیا* هستند. استفاده از مهارکننده‌های آرژیناز سبب غلبه نیتریک اکساید و کاهش پلی‌آمین شده و در نتیجه باعث بهبودی زخم *لیشمانیا* می‌شود [۴۱].

ساخت واکسن علیه لیشمانیوز در ارتباط با آرژیناز انگل و میزبان

تاکنون واکسن موثر بر علیه انگل *لیشمانیا* ساخته نشده است، لذا درمان این بیماری فقط به داروهای شیمیایی متکی است. یکی از کاندیدهای مناسب دارو درمانی علیه این انگل، استفاده از مهارکننده‌های آرژیناز است که برای کنترل عفونت لیشمانیوز می‌تواند موثر باشد [۴۲]. چندین نوع مختلف از واکسن‌ها علیه لیشمانیوز آزمایش شده است که اکثر آنها کارایی موثری نداشته است. در طراحی واکسن علیه انگل *لیشمانیا* باید به این نکته مهم توجه شود که پاسخ سیستم ایمنی از Th2 به Th1 منحرف شود و میزان پاسخ به واسطه Th2 کاهش یابد که یکی از راه‌های اساسی در این زمینه، جلوگیری از القاءِ آرژیناز در ماکروفاژها است که در نتیجه از گسترش انگل در داخل سلول جلوگیری می‌کند [۴۲،۴۳]. علاوه بر این، متابولیسم پلی آمین‌ها که در ارتباط تنگاتنگ با چرخه آرژیناز است، در انگل *لیشمانیا* اهمیت به سزایی دارد، زیرا یک هدف مهم برای تداخلات دارویی است بطوری که از داروی دی‌فلورومتیلواورنیتین[6] که یک مهارکننده اورنیتین دکربوکسلاز[7] است، در مهار رشد انگل

[1] Triazolopyrimidine
[2] Cecropia
[3] Boronohexanoic Acid (ABH)
[4] N^{ω}-hydroxy-L-arginine
[5] N^{ω}-hydroxy-nor-L-arginine

[6] Difluoromethylornithine
[7] Ornithine Decarboxylase (ODC)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]
[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

لیشمانیا استفاده شده است که باعث تعدیل پاسخ ایمنی میزبان در از بین بردن انگل شده و نتایج خوبی را به همراه داشته است [٤٢،٤٤].

نتیجه گیری

فعالیت آنزیم آرژیناز برای تکثیر و بقاء انگل *لیشمانیا* و برقراری عفونت لیشمانیوز بسیار ضروری است. همچنین اندامک اختصاصی انگل *لیشمانیا* بنام گلیکوزوم، محیطی بسیار مناسب برای فعالیت آرژیناز ایجاد کرده و نقش مهمی در ایفای عملکرد فیزیولوژیک انگل دارد. آرژیناز انگل *لیشمانیا*، همراه با آرژیناز میزبان و همچنین آنزیم نیتریک اکساید سنتاز، سیستم پیچیده‌ای را ایجاد می‌کنند که به واسطه تولید نیتریک اکساید یا آرژیناز با استفاده از ال-آرژینین قدم مهمی در موفقیت میزبان یا انگل در تحریک یا سرکوب سیستم ایمنی به نفع انگل یا میزبان را ایفا می‌کنند. بنابراین آرژیناز انگل *لیشمانیا* می‌تواند به عنوان یک هدف بالقوه برای اهداف مهم دارویی و مقابله با این بیماری درنظر گرفته شود.

References

1- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero, M, Desjeux, P, Cano, J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS one. 2012 May; 7(5): e35671.

2- Karimkhani C, Wanga V, Coffeng LE, Naghavi P, Dellavalle RP, Naghavi M. Global burden of cutaneous Leishmaniasis: a cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(5): 584-591.

3- Desjeux, P. The increase in risk factors for Leishmaniasis worldwide. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2001 Oct; 95(3): 239-243.

4- Desjeux, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2004 Mar; 27(5): 305-318.

5- Ready, PD. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. Annu Rev Entomol. 2013 Jan; 58: 227-250.

6- Miandoabi T, Bahrami F, Vaziri VM, Ajdary S. Construction of a Novel DNA Vaccine Candidate encoding LmSTI1-PpSP42 Fusion Protein from *Leishmania major* and Phlebotomus papatasi Against Cutaneous Leishmaniasis. Rep Biochem Mol Biol. 2018 Oct; 7(1): 67.

7- Heidari-Kharaji M, Fallah-Omrani V, Badirzadeh A, Mohammadi-Ghalehbin, B, Nilforoushzadeh, M, Masoori, M, et al. Sambucus ebulus extract stimulates cellular responses in cutaneous Leishmaniasis. Parasite Immunol. 2019 Nov; 41(1): e12605.

8- Niapour A, Bohlooli S, Sharifi Pasandi M, Mohammadi-ghalehbin B. In vitro Anti *Leishmania*l Effect of Agrostemma githago Extract on *Leishmania major* Promastigotes by Cell Count and MTT Assay. J Mazandaran Univ Med Sci. 2018 Jun; 28(165): 13-23. [Full text in Persian]

9- Reguera RM, Balaña-Fouce R, Showalter M, Hickerson S, Beverley SM. *Leishmania major* lacking arginase (ARG) are auxotrophic for polyamines but retain infectivity to susceptible BALB/c mice. Mol Biochem Parasitol. 2009 Nov; 165(1): 48-56.

10- Real F, Vidal RO, Carazzolle MF, Mondego Jorge MC, Costa Gustavo GL, Herai RH et al. The Genome Sequence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: Functional Annotation and Extended Analysis of Gene Models. DNA Res. 2013 Jul; 20(6): 567-581.

11- Wanasen N, Soong L. L-arginine metabolism and its impact on host immunity against *Leishmania* infection. Immunol Res. 2008 Nov; 41(1): 15-25.

12- Roberts SC, Tancer MJ, Polinsky MR, Gibson KM, Heby O, Ullman B. Arginase plays a pivotal role in polyamine precursor metabolism in *Leishmania* characterization of gene deletion mutants. J Biol Chem. 2004 Mar; 279(22): 23668-23678.

13- Kaye P, Scott P. Leishmaniasis: complexity at the host–pathogen interface. Nat Rev Microbiol. 2011 Jul; 9(8): 604-615.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

14- Awasthi A, Mathur RK, Saha B. Immune response to *Leishmania* infection. Indian J Med Res. 2004 Jun; 119(6): 238.
15- Tripathi P, Singh V, Naik S. Immune response to *Leishmania*: paradox rather than paradigm. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007 Nov; 51(2): 229-242.
16- McFarlane E, Perez C, Charmoy M, Allenbach C, Carter KC, Alexander J, et al. Neutrophils contribute to development of a protective immune response during onset of infection with *Leishmania donovani*. Infect Immun. 2008 Dec; 76(2): 532-541.
17- Laskay T, Van Zandbergen G, Solbach W. Neutrophil granulocytes–Trojan horses for *Leishmania* major and other intracellular microbes? Trends Microbiol. 2003 Apr; 11(5): 210-214.
18- Aderem A, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. Annu Rev Immunol. 1999 Jan; 17(1): 593-623.
19- Badirzadeh A, Taheri T, Taslimi Y, Abdossamadi Z, Heidari-Kharaji M, Gholami E, et al. Arginase activity in pathogenic and non-pathogenic species of *Leishmania* parasites. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Jul; 11(7): e0005774.
20- Badirzadeh A, Taheri T, Abedi-Astaneh F, Taslimi Y, Abdossamadi Z, Montakhab-Yeganeh H, et al. Arginase activity of *Leishmania* isolated from patients with cutaneous Leishmaniasis. Parasite Immunol. 2017 Jul; 39(9): e12454.
21- Mohammadi-Ghalehbin B, Hatam G, Sarkari B, Mohebali M, Zarei Z, Bohlooli S. Cytokine profile of *Leishmania infantum* fucose-mannose ligand in vaccinated dogs in the Northwest of Iran. Iran J Immunol. 2017 Oct; 14(4): 293-305.
22- Podinovskaia M, Descoteaux A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. Future Microbiol. 2015 Jan; 10(1): 111-129.
23- Muxel SM, Aoki JI, Fernandes JCR, Laranjeira-Silva MF, Zampieri RA, Acuña SM, et al. Arginine and polyamines fate in *Leishmania* infection. Front Microbiol. 2018 Jan; 8: 2682.
24- Vincendeau P, Gobert AP, Daulouède S, Moynet D, Djavad Mossalayi M. Arginases in parasitic diseases. Trends Parasitol. 2003 Jan; 19(1): 9-12.
25- Mahami-Oskouei M, Mohebali M, Spotin A, Alizadeh Z. A Review of effectual factors in the Pathogenesis of *Leishmania* Parasites. J Ardabil Univ Med Sci. 2018 Oct-Dec; 18(3): 279-297. [Full text in Persian]
26- Caldwell RB, Toque HA, Narayanan SP, Caldwell RW. Arginase: an old enzyme with new tricks. Trends Pharmacol Sci. 2015 Apr; 36(6): 395-405.
27- Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. Br J Pharmacol. 2009 Oct; 158(3): 638-651.
28- Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. Nat Rev Immunol. 2005 Aug; 5(8): 641-654.
29- Alonso-Trujillo J, Rivera-Montoya I, Rodríguez-Sosa M, Terrazas LI. Nitric oxide contributes to host resistance against experimental Taenia crassiceps cysticercosis. Parasitol Res. 2007 Jan; 100(6): 1341-1350.
30- Mauël J, Ransijn A. *Leishmania* spp.: mechanisms of toxicity of nitrogen oxidation products. Exp Parasitol. 1997 Apr; 87(2): 98-111.
31- Satriano J. Arginine pathways and the inflammatory response: Interregulation of nitric oxide and polyamines:Review Article.
Amino Acids. 2004 Apr; 26(4): 321-329.
32- Silva ER, Boechat N, Pinheiro L, Bastos MM, Costa CCP, Bartholomeu JC, et al. Novel Selective Inhibitor of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Arginase. Chem Biol Drug Des. 2015 Apr; 86: 969–978.
33- Kropf P, Fuentes JM, Fähnrich E, Arpa L, Herath S, Weber V, et al. Arginase and polyamine synthesis are key factors in the regulation of experimental Leishmaniasis in vivo. FASEB J. 2005 Apr; 19(8): 1000-1002.
34- Das P, Lahiri A, Lahiri A, Chakravortty D. Modulation of the arginase pathway in the context of microbial pathogenesis: a metabolic enzyme moonlighting as an immune modulator. PLoS Pathog. 2010 Jun; 6(6): e1000899-e1000899.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]

35- Gaur U, Roberts SC, Dalvi RP, Corraliza I, Ullman B, Wilson ME. An effect of parasite-encoded arginase on the outcome of murine cutaneous Leishmaniasis. J Immunol. 2007 Dec; 179(12): 8446-8453.
36- Boitz JM, Gilroy CA, Olenyik TD, Paradis D, Perdeh J, Dearman K, et al. Arginase is Essential for Survival of *Leishmania donovani* Promastigotes but not Intracellular Amastigotes. Infect Immun. 2016 Oct; 85(1): e00554-16.
37- Bronte V, Kasic T, Gri G, Gallana K, Borsellino G, Marigo I, et al. Boosting antitumor responses of T lymphocytes infiltrating human prostate cancers. J Exp Med. 2005 Apr; 201(8): 1257-1268.
38- Cruz EdM, da Silva ER, Maquiaveli CC, Alves ESS, Lucon JF, Reis MBG, et al. Leishmanicidal activity of Cecropia pachystachya flavonoids: Arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. Phytochemistry. 2013 Mar; 89: 71-77.
39- D'Antonio EL, Ullman B, Roberts SC, Dixit UG, Wilson ME, Hai Y, et al. Crystal structure of arginase from *Leishmania mexicana* and implications for the inhibition of polyamine biosynthesis in parasitic infections. Arch Biochem Biophys. 2013 Apr; 535(2): 163-176.
40- Riley E, Roberts SC, Ullman B. Inhibition profile of *Leishmania mexicana* arginase reveals differences with human arginase I. Int J Parasitol. 2011 Jan; 41(5): 545-552.
41- Perrella Balestieri FM, Pires Queiroz AR, Scavone C, Assis Costa VM, Barral-Netto M, Abrahamsohn IdA. *Leishmania (L.) amazonensis*-induced inhibition of nitric oxide synthesis in host macrophages. Microbes Infect. 2002 Jan; 4(1): 23-29.
42- Iniesta V, Gómez-Nieto LC, Molano I, Mohedano A, Carcelén J, Mirón C., et al. Arginase I induction in macrophages, triggered by Th2-type cytokines, supports the growth of intracellular Leishmania parasites. Parasite Immunol. 2002 Apr; 24(3): 113-118.
43- Iniesta V, Carcelén J, Molano I, Peixoto PMV, Redondo E, Parra P, et al. Arginase I induction during Leishmania major infection mediates the development of disease. Infect Immun. 2005 May; 73(9): 6085-6090.
44- Mukhopadhyay, R. and R. Madhubala, Leishmania donovani: Cellular control of ornithine decarboxylase in promastigotes. Int J Biochem Cell Biol. 1995 Apr; 27(9): 947-952.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

[DOI: 10.29252/jarums.19.2.1]