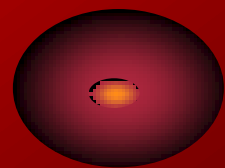


مهربانی در برابر بیماری‌های گرمی



# عوامل موثر در اهمیت بیماریهای کرمی و تفاوت آن ها از سایر عوامل بیماریزا



- عمر طولانی کرم ها : شستوزوما تا 15 سال، فاسیولا هیاتیکا تا 10 سال
- هم زمانی وجود چند انگل در بدن  
**(Polyparasitosis)**
- تعدد کرم ها در اثر خود آلودگی
- عدم تکثیر در بدن میزبان
- روش های بسیار موثر گریز از سیستم ایمنی

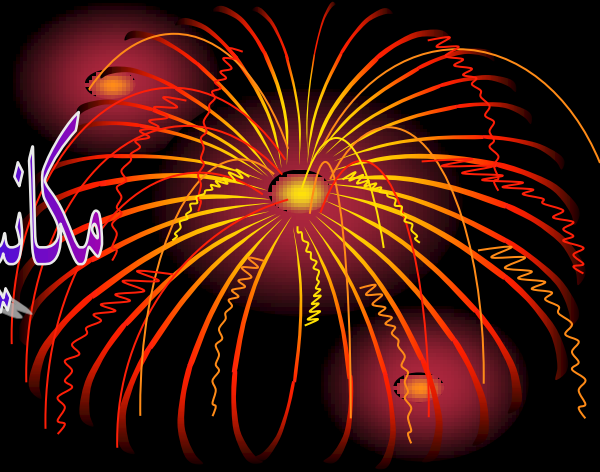
# مکانیزم فرار انگل از پاسخ ایمنی



فرار در برابر پاسخ های دفاع اختصاصی

- ممانعت از بروز ایمنی : اختفا انگل در جایگاه مناسب ( **Privileged sites** ) مثلا انکوسرکا در چشم ، کیست هیداتید در مغز ،

# مکانیزم منحرف کردن و تضعیف پاسخ ایمنی



✓ 1-2: تولید آنتی ژن محلول : تریشینوز.

✓ 2-2: تخریب پاسخ های تشکیل شده : مکانیزم منحرف کردن و تضعیف پاسخ ایمنی :

❖ شکستن آنتی بادی : ش مانسونی

❖ استفاده از **Fc** رسپتور : شیستوزوما

❖ ریزش آنتی بادی : شیستوزوما



۲-۳: تغییرات آنتی ژنیک:

➤ پوسته ریزی یا مولتینگ : آسکاریس و بقیه.

➤ تقلید از آنتی ژن میزبان : شیستوزوما

➤ تغییر ماهیت آنتی ژن یا **Antigens disguise** : جذب

مولکول های میزبان : شیستوزوما

➤ فعال سازی پلی کلونال :

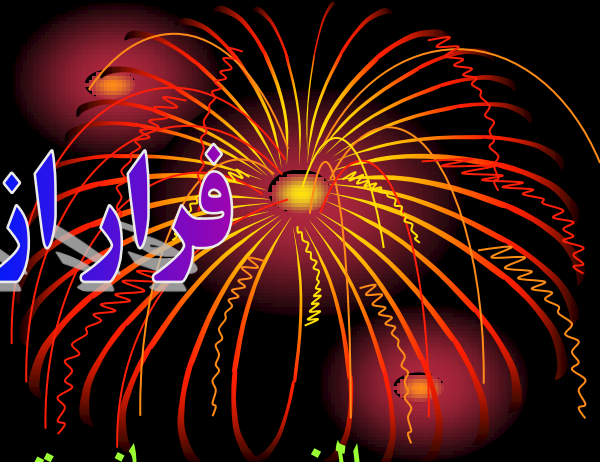
➤ تشکیل ایمون کمپلکس : تریشین + ش ژاپونیکم

➤ ساپرس و فرونشاندن پاسخ ایمنی :

● ممانعت از سنتز اینتر لوکین ۲ مثل تنیا تنیفورمیس

● ممانعت از سنتز رسپتور اینتر لوکین ۲

# فرار از پاسخ دفاع غیر اختصاصی



- الف: ممانعت از سنتز اینترلوکین 1: تنیا تنیفورمیس .
- ب: فرار از دفاع کمپلمان :
- تخریب **C3b** : شسیستوزمولا .
- ممانعت از پلی مریزاسیون **C9**
- ترشح **decay accelerating factor**



*Schistosoma mansoni*  
>200 million infected

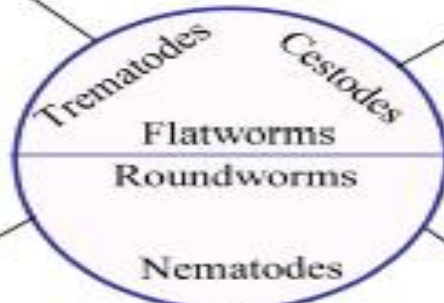


*Echinococcus, Taenia spp*  
>100 million infected



*Schistosoma mansoni*

*Taenia, Hymenolepis spp.*



*Brugia malayi*  
*Onchocerca volvulus*  
*Wuchereria bancrofti*  
157 million infected



*Ancylostoma duodenale*  
*Necator americanus*  
576 million infected



*Acanthocheilonema viteae*  
*Litomosoides sigmodontis*

*Heligmosomoides polygyrus*  
*Nippostrongylus brasiliensis*



*Trichinella spiralis*  
*Trichuris trichiura*  
>600 million infected



*Trichuris muris*  
*Trichinella spiralis*

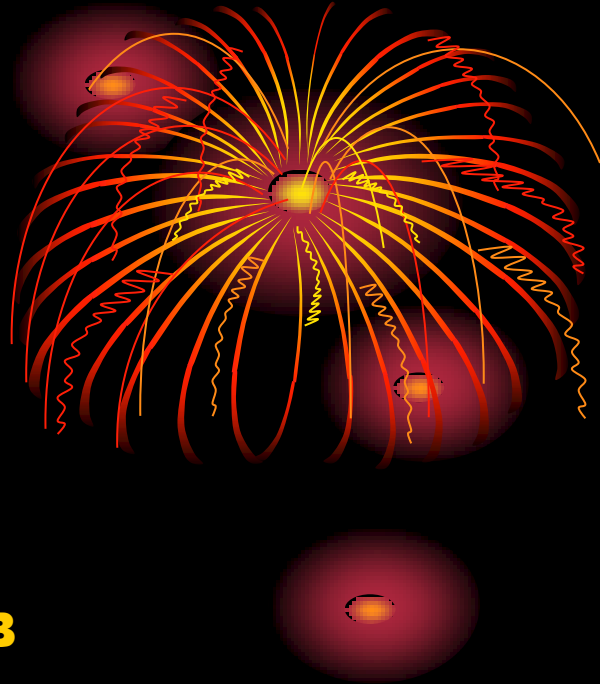


# Nippostrongylus Brasiliensis



- نیپو مدل خوبی برای پاسخ اولیه **Th2** است زیرا بعد از ۲ هفته آلودگی ایجاد می‌گردد.
- میزان طبیعی آن رات است.
- مدلی برای کرم های قلابدار و امثال آن است.





غدد لنفاوي مزانتريك

**Th2**

اينترلوڪين 9

اينترلوڪين 4

**LB**

**[IgE, IgG1]**

**iL13**

**iL5**

افزايش مايعات لومينال

افزايش انقباضات روده اي

انوزينوڦيلي

الگوي مطالعات مربوط به کرم قلابدار و وارد شونندگان از پوست

# Heligmosomoides

## polygyrus



- مدل امثال تریکو استروئیلوس است زیرا از طریق خوردن لارو باعث آلودگی میگردد.
- آلودگی مزمن می دهد لذا برای مطالعات واکنش خاطره ای **CD4 TH2** مناسب است.
- میزبان طبیعی آن موش است.

غدد لنفاوي مزانتريك

**Th2**

اينترلوڪين 4

**LB**

**[IgE, IgG1]**

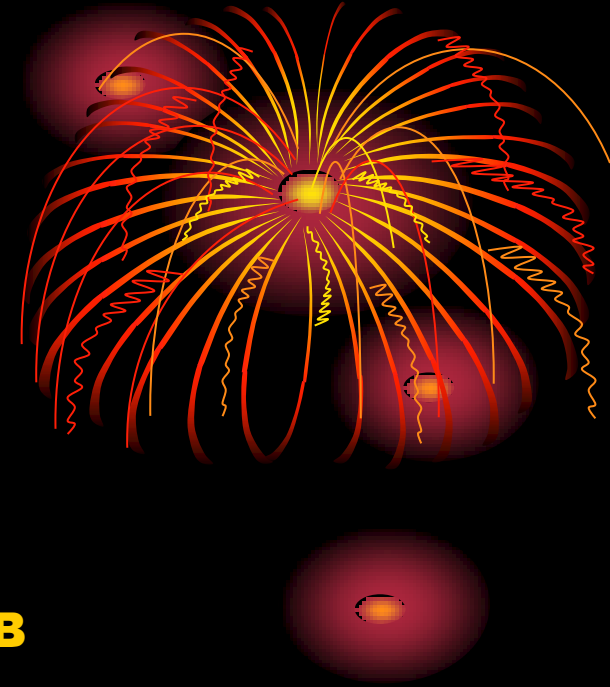
**iL13**

**iL5**

افزايش مايعات لومينال

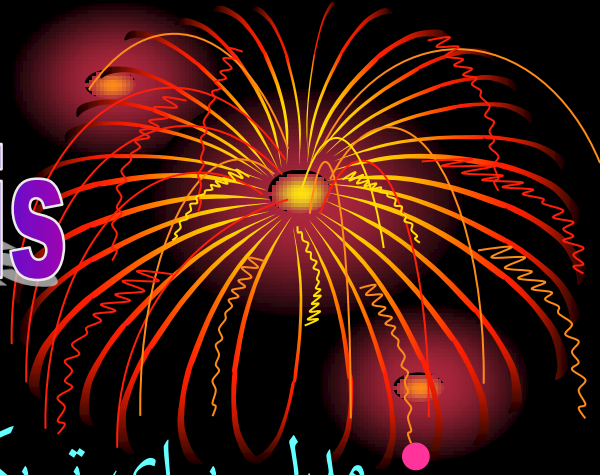
انوزينوڦيلي

افزايش انقباضات روده اي

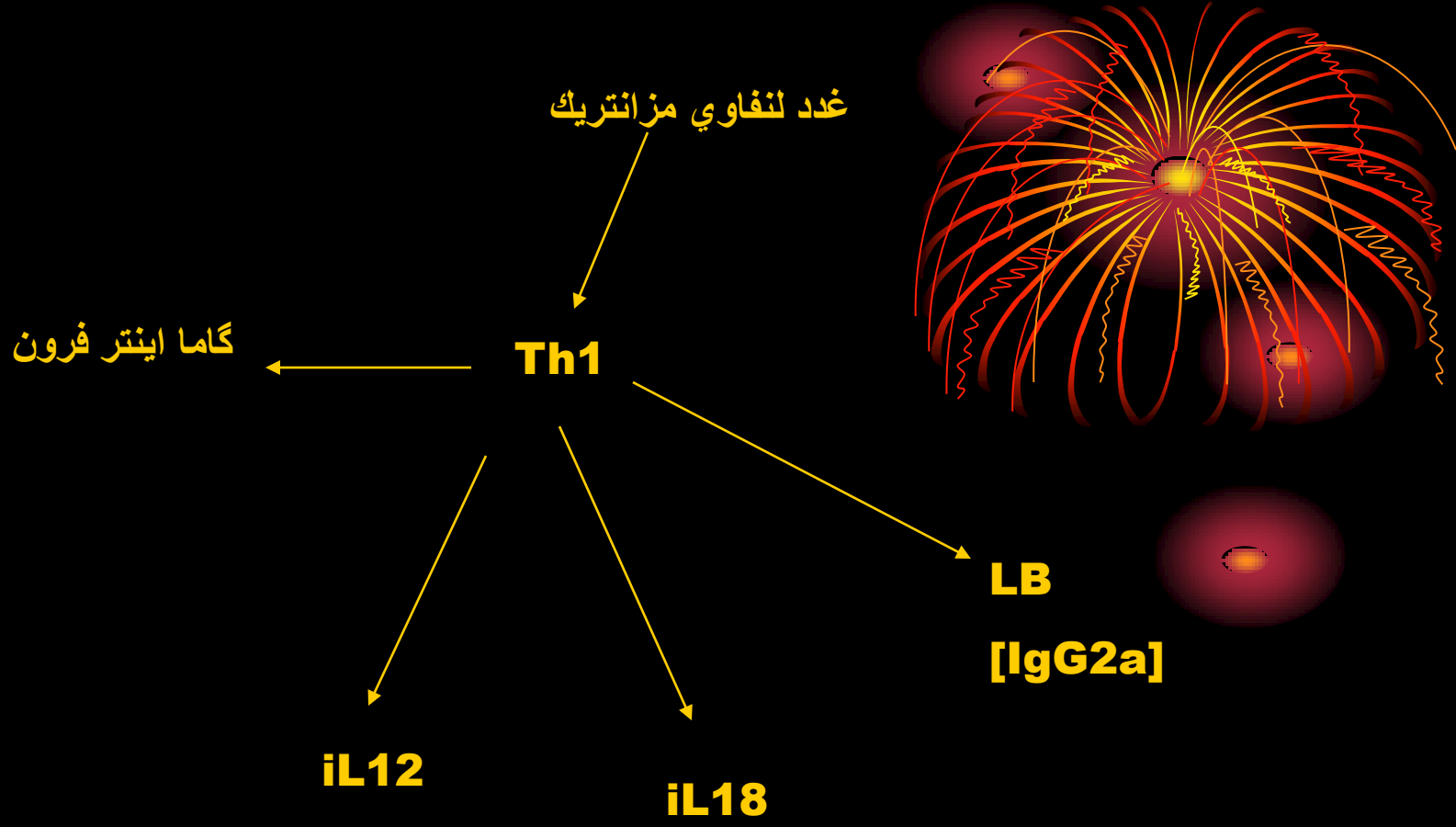


الگوي مطالعات مربوط به کرم تريکواسترونثيلوس

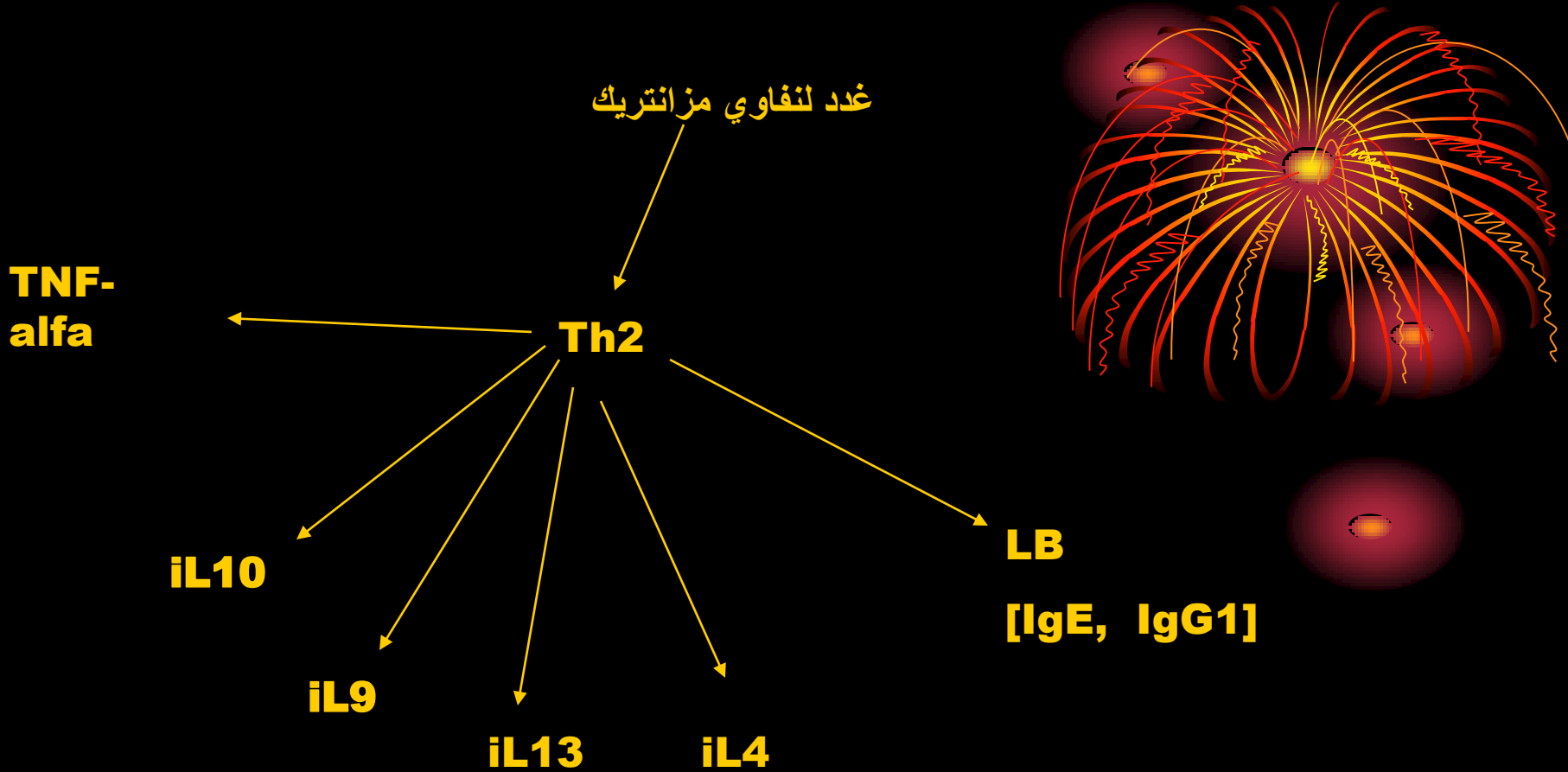
# Trichuris muris



- مدلی برای تریکو سفال و امثال آن است.
- واکنش های متفاوت در مورد آن بیان شده است.
- در موش **BALB1C** واکنش قوی **TH2** و دفع انگل
- در موش **BL/6** واکنش مخلوط **TH1+TH2**
- در موش **AKR** واکنش **TH1** و در عفونت مزمن و عدم دفع انگل



موش حساس به تريکوريس موريس  
 تخم - لارو **L1** در روده كوچك - روده بزرگ - مخاط



موش مقاوم به تريكوريس موريس

اگر در موش مقاوم **iL4** و **iL10** بلوکه شود آلودگي مزمن شده و واكنش **TH1** حادث ميگردد.

# نکته



اینکه چرا هلیگومو زوموئیدس عمدتاً **TH2** را تحریک و تریکوریس موریس هردور را تحریک میکند نامشخص است

- مشخص شده که موریس مولکول‌هایی شبیه گاما اینترفرون ایجاد میکند که واکنش **TH1** را تحریک و باعث بقای خود می‌گردد.

# نتیجه گیری

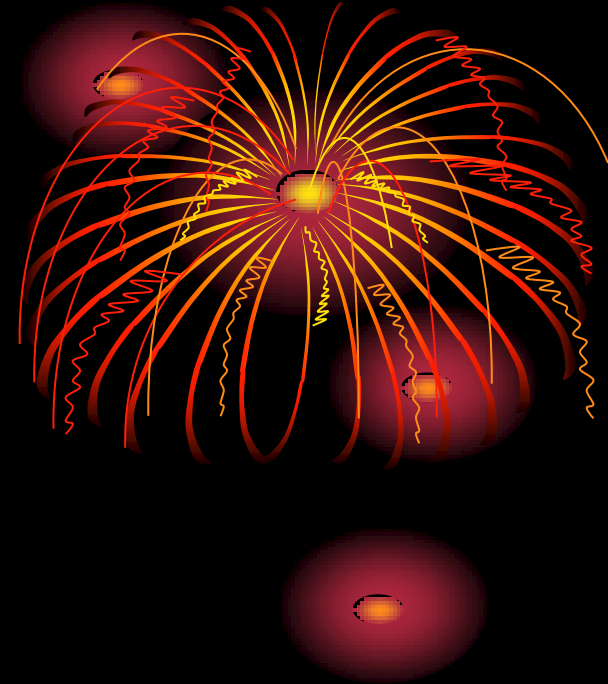


- **iL10** می تواند پاسخ **TH1** را دگرگون کند.
- **TNF-alfa** تاثیر مستقیم بر سلول های اپی اتلیال روده دارد و واکنش **TH2** را افزایش می بخشد.
- **iL4** بیشترین اهمیت را دارد و **Lt** را فعال کرده و تولید **iL5** و ۹ و ۱۳ را باعث میشود.
- ماست سل ها در ۳ انگل فوق حضور داشته اند اما تاثیر زیادی نداشته اند ولی در تریشینلا تاثیر مثبت داشته اند.



تیسٹوزرووما

**TH1**



**iL4**

**B cells**

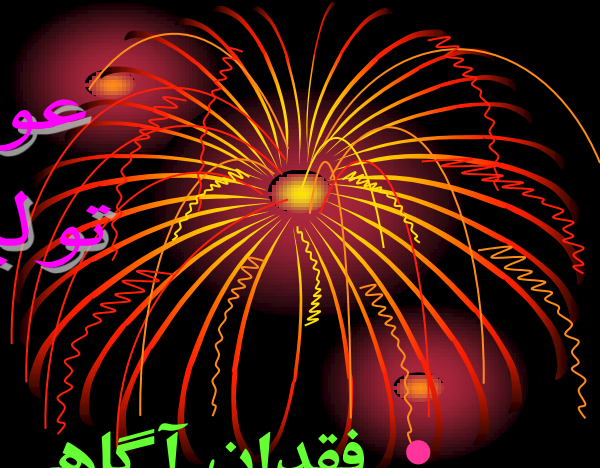
**T-cell constimulatory system**

**TH2**

# Parasite Vaccines.



# عوامل موثر در شکست تولید واکسن موثر انگلی



- فقدان آگاهی نسبت به مکانیزم های درگیر در ایجاد پاسخ های ایمنی محافظت کننده.
- فقدان آگاهی نسبت به آنتی ژن های محرک ایمنی محافظت کننده.
- عدم توانایی تولید آنتی ژن ها به میزان کافی.
- شکست واکسیناسیون موثر در شرایط طبیعی و خارج آزمایشگاهی.
- عدم توانایی جلب رضایت و برآوردن نیازمندیهای تجار و مصرف کنندگان.

# استر اتری واکسن



بعد از کشف واکسن دیکتول بر علیه لارو کرم ریوی  
گاوها در سال 1960 تلاشها برای ساخت دیگر واکسن ها  
آغاز گردید.

- استفاده از انتی ژن های سطحی انگل ها
- استفاده از انتی ژن های دفعی ترشحي انگل ها
- استفاده از لارو اشعه دیده انگل ها
- استفاده از **naked DNA**
- و بالاخره استفاده از ملکول های سطحی انکوسفري در  
مورد تنيا ها

# Success with commercial parasite vaccines ?



## 1. Conventional approaches:

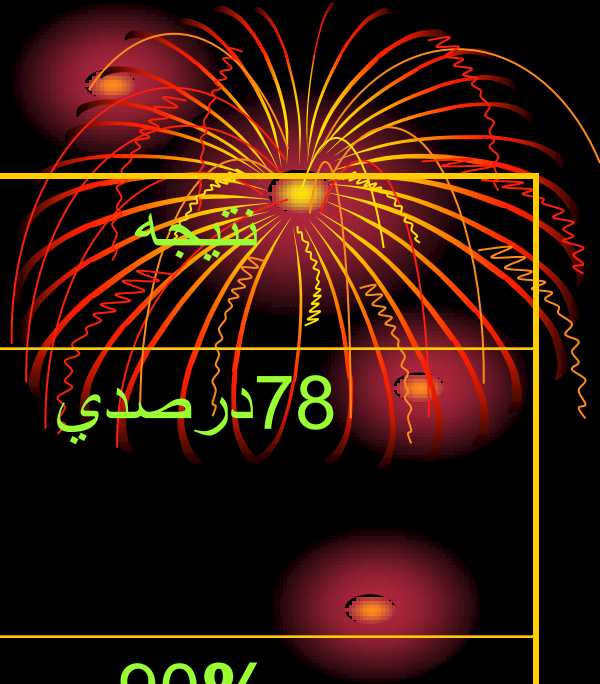
- *Dictyocaulus* : irradiated larval vaccine.

**(Dictol®)**





نتیجه	نام انگل	واکسن
۹۶ تا ۱۰۰ درصدی در گاوها	اکی نوکوکوس	EG95
%حفاظت در گوسفند	تنیا اویس	W40
	تنیاساژیناتا	وهمولوگ
۴۲-۶۹% کاهش بار کرمی در مقایسه با گروه کنترل و ۶۰٪ کاهش در قابلیت زیست تخم های دفع شده	فاسیولوزیز	پروتئاز های کاتپسین
۷۳% کاهش بار کرمی	فاسیولوزیز	هم + کاتپسین
	<b>(98%) تخم انگل های بدست آمده از مجاری صفاوی حیوانات واکسن شده نتوانسته اند جنین دار شوند</b>	
۱۹-۶۹ درصدی گاو	فاسیولا	گلوکاتیون اس ترانس فراز



نام انگل	واکسن	نتیجه
همونکوس کونتورتوس	پروتئینی از سطح میکروویلی روده نماتد	78 درصدی
دیکتیوکولوس ویویپاروس	لارو اشعه دیده 40 کیلو راد	90%
همونکوس کونتورتوس	کانتارتین <b>Contortin</b>	گوسفندان واکسن شده با این پروتئین مقاومتشان افزایش یافت
ش. بویس	لارو اشعه دیده	سودان

Table 1

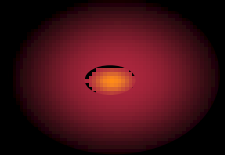
Summary of the main target antigens and outcomes of attempts to produce anti-helminth vaccines for use in veterinary species

Parasite	Vaccine antigen	Comments
<i>Dictyocaulus</i> spp.	X-irradiated L3 larvae	Protection in cattle, sheep. Basis of first commercial helminth vaccine (Huskvac). No effective cross-protection in deer.
	rAChE	No protection
	Adult worm ES	No protection
<i>Ancylostoma caninum</i>	X-irradiated larvae	Protection in dogs
<i>Taenia ovis</i>	rTo45	Highly effective prevention of cyst formation in immunized intermediate hosts. <i>T. solium</i> vaccines less rigorously evaluated due to logistic factors.
<i>Taenia saginata</i>	rTSA-9 and rTSA-18	
<i>Taenia solium</i>	rTSOL-18	
<i>Echinococcus granulosus</i>	rEg95	
<i>Haemonchus contortus</i>	na H11	High levels of protection against homologous challenge in sheep using native proteins. Recombinant forms of the proteins ineffective.
	na H-gal-GP	
	na TSBP	
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>		A variety of larval and/or adult ES fractions, whole body fractions, native and recombinant proteins have been used in challenge trials but none have given sufficient protection to justify commercial vaccine development.
<i>Teladorsagia circumcincta</i>		
<i>Cooperia</i> spp., <i>Nematodirus</i> sp.		



# **Why limited success in parasite vaccine development ?**

- ✓ **Parasites avoid, deflect & confuse host immune system.**
- ✓ **Right parasite antigens not identified yet: complicated life cycles.**  
**(maybe 20,000 proteins in nematodes).**
- ✓ **Protective host responses not understood in target species : multi-responses**



# خصوصیات DNA و اکسن



- اغلب ایمنوژن قوی هستند
- مکانیسم‌های مختلف ایمنی را القاء می‌کنند
- انتقالشان آسان می‌باشد
- مقاوم به حرارت هستند در حالی که واکنش‌های پروتئینی باید در شرایط سرد حمل شوند
- هزینه تهیه این واکنشها کمتر از واکنش‌های پروتئینی نو ترکیب می‌باشد
- به تنهایی می‌توانند به عنوان ادجوانت نیز عمل کنند

# What is a DNA Based Vaccine ?



**Gene encoding antigen cloned into DNA carrier (plasmid) containing host expression trigger (promoter).**



**Vaccinate host with plasmid**



**Parasite DNA produced by host cells**



**Induction of protective immune response**

# واکسناسیون بر پایه DNA در برابر کرمها

واکسن تهیه شده از شیستوزوما ژاپونیکوم

(**schistosoma japonicum**) که در موشها مورد آزمایش قرار گرفته است پاسخی ناشی از حضور آنتی بادی را نشان داده ولی هیچ گونه ایمنی ایجاد نشده است.

واکسن تهیه شده از شیستوزوما مانسونی با نام **sm23** که در موشها مورد استفاده قرار گرفته است در 63 درصد از موشها ایمنی ایجاد کرده است ■

# واکسناسیون بر پایه DNA در برابر کرمها



• واکسن تهیه شده از شistosوما مانسونی (**schistosoma mansoni**) به نام **calpain** که در موشها مورد استفاده قرار گرفته است در 60 درصد از موشها ایجاد ایمنی کرده است.

• واکسن تهیه شده از تیناکراسی سپس (**Taenia crassiceps**) به نام **KETC7** که در موشها مورد استفاده قرار گرفته است در 59 درصد از موشها ماده و در 100 درصد از موشهای نر ایمنی ایجاد کرده است.

• واکسن تهیه شده از اونکوسر کاولولوس (**oncucerca volvulus**) که در موشها مورد بررسی قرار گرفته است در 36-53 درصد از موشها ایمنی ایجاد کرده است.

• واکسن تهیه شده از تیناویس (**Taenia ovis**) که در موشها مورد آزمایش قرار گرفته است تیتراهای متفاوتی از آنتی بادی را در موشها ایجاد کرده است ■

# واکسناسیون بر پایه DNA در برابر کرمها

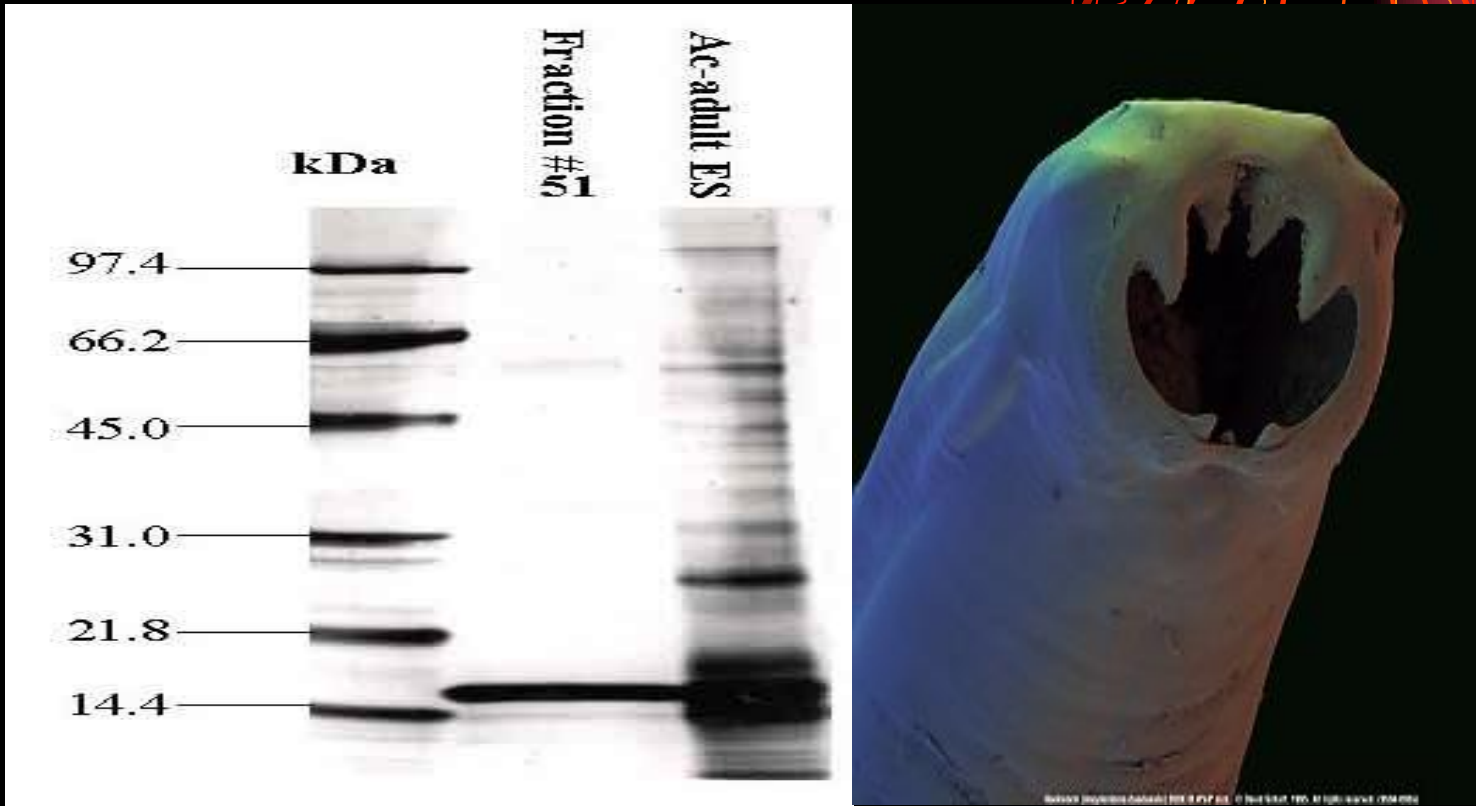
• واکسن تهیه شده از فاسیولاهپاتیکا (**Fasciola hepatica**) که در رتتها مورد آزمایش قرار گرفته است در 74 درصد از رتتهای ماده و در 100 درصد از رتتهای نر ایمنی ایجاد کرده است.

• واکسن تهیه شده از تیناسولیوم (**Taenia Solium**) به نام **CC1** که در خوکهها مورد آزمایش قرار گرفته است. و 3/73 درصد تعداد سیستی سرکههای خوک در مقایسه با کنترل کاهش داشته است.

• واکسن تهیه شده از تیناساژیناتا در گوسالهها مورد آزمایش قرار گرفته است و در نتیجه 99-94 درصد محافظت نشان داده شده است. ■

• واکسن تهیه شده از اکینوکوکوس گرانولوزوس در گوسفندها مورد آزمایش قرار گرفته است و درجه بالایی از محافظت را نشان داده است.

# Recombinant Adult Hookworm Secreted Protein.

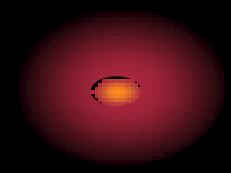


**HUMAN HOOKWORM VACCINE INITIATIVE**  
**The Albert B. Sabin Vaccine Institute.**

# **Recombinant vs. Natural Subunit Vaccines.**

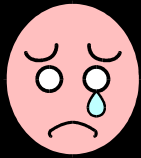


## **Advantages of recombinant:**

- ✓ **Produced cheaply & consistently in bacteria, yeast or cell lines.**
  - ✓ **Natural protein isolation - animals & extra-extraction procedures.**
  - ✓ **Natural protein antigens often impure.**
- 



# Recombinant vs. Natural Subunit Vaccines.



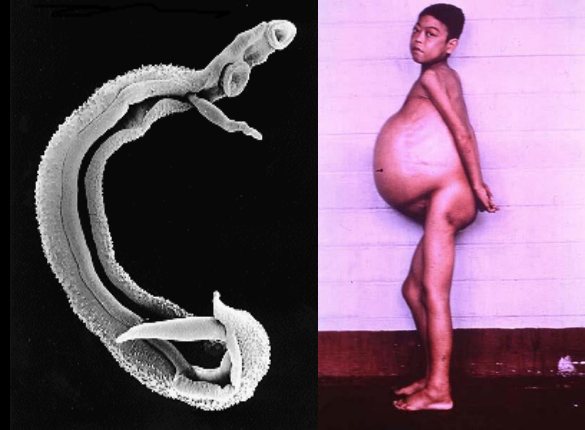
## Disadvantages of recombinants:

- ✗ Parasite populations might be polymorphic  
∴ vaccine ineffective against some strains.
- ✗ Simple recombinant might not stimulate all required immune components  
e.g. immunogenic carbohydrate wrongly processed in production.

# Latest news on recombinant subunit vaccines.

## Schistosomiasis

- ✓ 4 recombinants in Phase I / Phase II human trials (3 internal proteins?).



**Some only reduce egg output not worm burden – decreasing pathology.**

# Latest news on recombinant subunit vaccines.

## Hydatid disease

(Melbourne University & WHO)

- ✓ Trials with molecular vaccine based on egg protein in progress in South America & Asia.

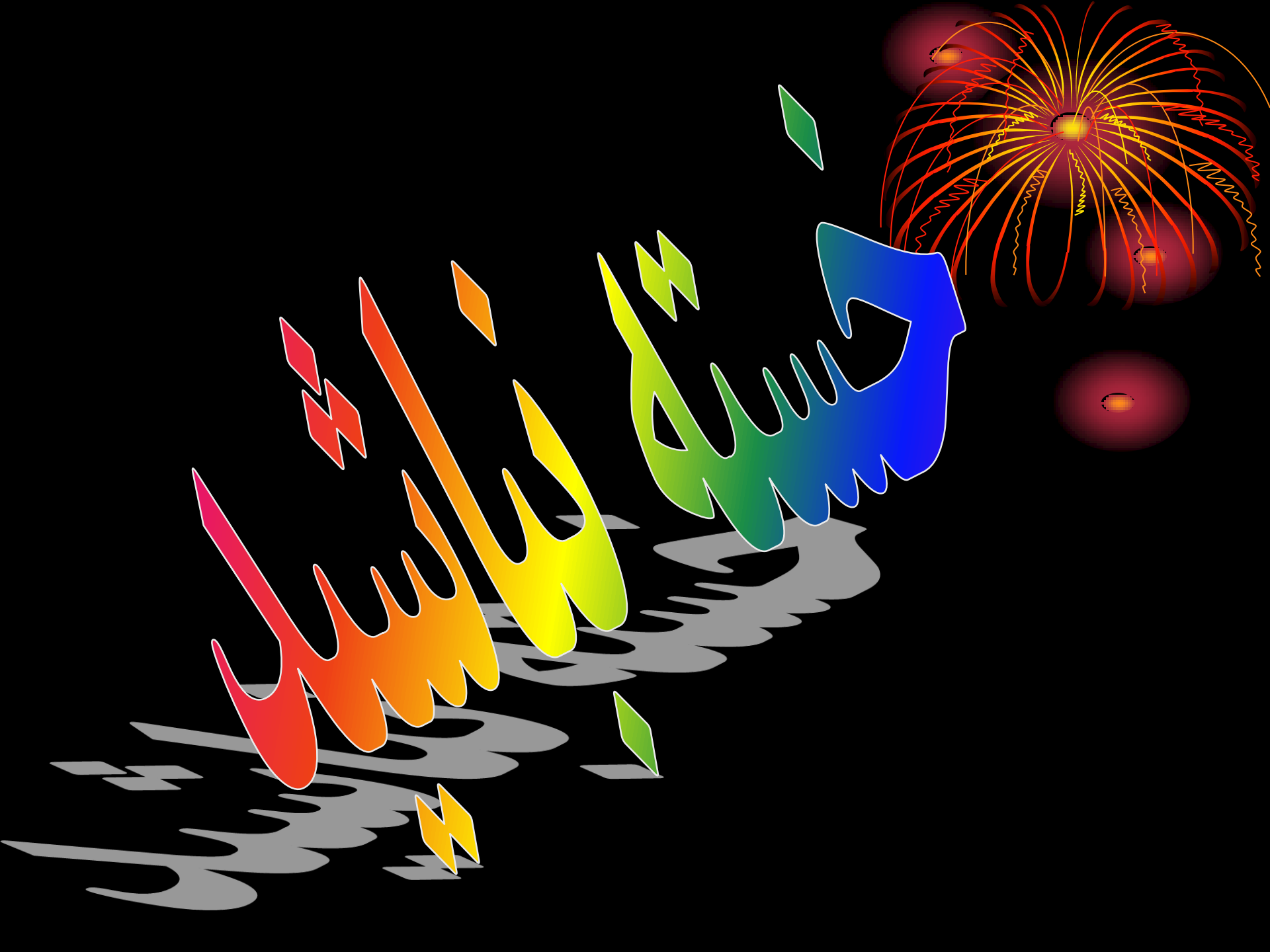


Cerebral hydatidosis

*Echinococcus granulosus*  
adult



(By P.W. Pappas and S.M. Wardrop; original by P. Darben)





**After the oncosphere locates a target organ, the small hydatid cyst that commences development is immediately confronted by the host immune responses, which are mainly cell-mediated, especially involving infiltration of macrophages and eosinophil cells, and low-level polarized Th1 responses.**

**Antibody responses are weak and are, normally, undetectable in the early two to three weeks following infection.**



- **There are extensive data on immune responses against the established cyst both from studies on patients with echinococcosis and from experimentally infected animals (Zhang et al., 2003a). The established parasite produces significant quantities of antigens that modulate the immune responses and these include polarized Th2 responses, balanced with Th1 responses. The coexistence of elevated Th1 cytokines, especially interferon (IFN)- $\gamma$ , and Th2 cytokines including IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10, has been recorded in most hydatid patients where cytokine levels have been measured. In addition, IgG, especially IgG1 and IgG4, IgE and IgM are elevated as the cyst grows and becomes established. When a cyst dies naturally, is killed by chemotherapy treatment or is removed by surgery, Th2 responses drop rapidly, and Th1 responses become dominant. IgG levels can be maintained in humans for several years after the cyst has been removed. Once a patient suffers relapse, the Th2 responses regenerate very quickly.**



- **A remarkable feature of CE infection is the coexistence of**
- **both Th1 and Th2 responses.**