

تعدیل پاسخ ایمنی سلولی متعاقب سوختگی در مدل حیوانی موش Balb/c

عبدا... جعفرزاده*^۱، زهیر محمدحسن^۲، معصومه ابتکار^۳، صالح محقق حضرتی^۴

خلاصه

سابقه و هدف: بروز عفونت عامل اصلی مرگ و میر در بیماران با سوختگی می‌باشد. شیوع بالای عفونت‌ها بعد از سوختگی به مهار شدید سیستم ایمنی نسبت داده شده است. هدف این مطالعه تعدیل پاسخ ایمنی سلولی توسط داروهای سایمتیدین و پیریمتامین، پس از سوختگی در مدل حیوانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۸۰ سر موش نر از نژاد Balb/c بیهوش شدند و یک سوختگی تمام ضخامت به اندازه ۱۰٪ کل سطح بدن در آنها ایجاد گردید. سپس پاسخ‌های ازدیاد حساسیت تاخیری (DTH) بر علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و تاثیر سایمتیدین (در دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پیریمتامین (در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر روی این پاسخ در روز دهم بعد از سوختگی بررسی شد.

یافته‌ها: مشاهده شد که در روز دهم بعد از سوختگی پاسخ DTH به شدت مهار می‌گردد. سایمتیدین در دوزهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و پیریمتامین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این پاسخ را اصلاح و به طور قابل معنی‌داری افزایش دادند. سایمتیدین و پیریمتامین به ترتیب در دوزهای ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تاثیری بر روی پاسخ DTH نداشتند. **نتیجه‌گیری:** این نتایج نمایانگر این است که متعاقب سوختگی پاسخ DTH به شدت کاهش می‌یابد و داروهای سایمتیدین و پیریمتامین می‌توانند باعث اصلاح و افزایش این پاسخ بعد از سوختگی شوند.

واژه‌های کلیدی: سوختگی، ازدیاد حساسیت تاخیری، سایمتیدین، پیریمتامین، تعدیل ایمنی

مقدمه

ایمنی سلولی [۶]، ایمنی هومورال [۳۷] و پاسخ‌های غیراختصاصی [۲۴] می‌گردد؛ بنابراین جلوگیری از کاهش فعالیت سیستم ایمنی توسط تعدیل کننده‌های ایمونولوژیک می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی اساسی به منظور کنترل عفونت‌ها مورد توجه قرار گیرد.

اختلالات سیستم ایمنی برای مقابله با عفونت‌ها یکی از مشکلات اساسی مصدومین سوختگی می‌باشد و وخیم‌ترین سببی سمی‌ها از طریق زخم سوختگی ایجاد می‌شوند [۳۶]. یک سوختگی شدید باعث ایجاد تغییرات اساسی در پاسخ‌های

*۱- استادیار ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان (نویسنده مسئول)

۲- استادیار ایمونولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۳- استادیار ایمونولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۴- استادیار ایمونولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

رازی ایران تهیه و تحت شرایط استاندارد از نظر آب، غذا و محیط نگهداری می‌شدند.

۲- روش ایجاد سوختگی: در موش‌های مورد مطالعه، سوختگی تمام ضخامت درجه ۳ به اندازه ۱۰٪ سطح کل بدن حیوان با آب جوش ایجاد گردید. برای این منظور از روش Walker با تغییراتی جزئی استفاده شد [۱،۳۵]. ابتدا حیوان‌ها بی‌هوش شدند و موهای پشت آنها تراشیده شد. سپس موش‌ها در قالب سوختگی قرار داده شدند و سطح پوست پشت آنها بمدت ۸ ثانیه در تماس با آب جوش ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. مطالعات بافت‌شناسی شدت و درجه سوختگی را تأیید نمود.

۳- روش تهیه آنتی‌ژن: آنتی‌ژن مورد استفاده، گلبول قرمز گوسفند (SRBC) بود که از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید و پس از چند مرتبه (۲-۳ مرتبه) شستشو با سرم فیزیولوژی، درصد مورد نیاز از آن فراهم و همان ساعت مورد استفاده قرار می‌گرفت [۱۱،۱۲،۳۸].

۴- اندازه‌گیری DTH: برای سنجش DTH ابتدا 1×10^8 سلول SRBC در زیر جلد (S.C) حیوان تزریق شد و ۵ روز بعد همین تعداد سلول در کف پای راست حیوان تزریق گردید. در کف پای دیگر حیوان حجم مساوی از سالین تزریق شد. سپس ۲۴ ساعت بعد، قطر پای SRBC تزریق شده و قطر پای سالین تزریق شده را با استفاده از کولیس ورنیه با دقت 0.1 mm اندازه‌گیری نموده و طبق فرمول زیر درصد افزایش قطر پای SRBC تزریق شده که نشان‌دهنده DTH است، محاسبه گردید [۱۱،۱۲،۳۸].

قطر پای سالین تزریق شده - قطر پای SRBC تزریق شده

درصد افزایش قطر پای SRBC تزریق شده $\times 100 =$

قطر پای سالین تزریق شده

۵- بررسی اثر سایمتیدین و پیریمتامین بر پاسخ DTH

متعاقب سوختگی: در این مطالعه از قرص‌های تجاری ۲۰۰ میلی‌گرم سایمتیدین (ساخت شرکت کیمیدارو، ایران) و ۲۵ میلی‌گرم پیریمتامین (ساخت شرکت ولکام، انگلیس) استفاده شد. ابتدا قرص مورد نظر در آب مقطر استریل حل شد، سپس مقدار مورد نیاز مورد استفاده قرار گرفت. تهیه و مصرف دارو به صورت روزانه انجام می‌گرفت. برای بررسی اثرات هر یک از

از اندازه‌گیری واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری (DTH)^۱ به منظور ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی در *in vivo* استفاده می‌شود. لنفوسیت‌های T، منوسیت‌ها و ماکروفاژها از مهم‌ترین سلول‌های شرکت‌کننده در ایجاد پاسخ DTH هستند و IL-2 و IFN- γ نقش مهمی در ایجاد این پاسخ دارند [۳]، بنابراین عواملی که باعث کاهش پاسخ DTH می‌شوند، بر روی این اجزا اثرات مهاری دارند. نتایج سایر تحقیقات در مورد تغییرات ایمونولوژیک پس از سوختگی از قبیل کاهش تولید IL-2 و IFN- γ [۶]، کاهش بروز گیرنده IL-2 بر سطح لنفوسیت‌های T [۱۶]، افزایش مقادیر سرمی گیرنده IL-2 [۳۱]، پیدایش سلولهای مهارکننده [۲]، افزایش تولید PGE₂ [۲۹]، کاهش تعداد لنفوسیت‌های T به‌خصوص زیر گروه CD₄⁺ و کاهش شدید نسبت سلول‌های CD₄⁺/CD₈⁺ [۲۱]، نمایانگر پیدایش عواملی است که به روشنی می‌تواند اثرات منفی بر روی پاسخ DTH اعمال نمایند.

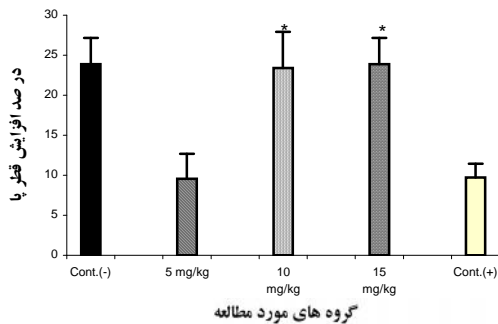
تعدیل‌کننده‌های ایمنی^۲ ممکن است به طور اختصاصی (روندی که منجر به تحریک پاسخ علیه یک آنتی‌ژن خاص شود) و یا غیراختصاصی (تحریک سیستم ایمنی علیه انواع آنتی‌ژنهای مختلف) عمل نمایند [۲۵].

تا به حال از عوامل متعددی از قبیل داروها [۵]، سایتوکاین‌ها [۲۴]، هورمون‌ها [۲۲] و محصولات باکتریایی [۱] به منظور تقویت سیستم ایمنی متعاقب سوختگی استفاده شده است. سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده H₂ هیستامین) و پیریمتامین به‌طور موفقیت آمیزی به منظور تعدیل ایمنی در بعضی موارد که مهار سیستم ایمنی اتفاق می‌افتد، مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷،۳۳]، بنابراین در این مطالعه نیز اثرات دوزهای مختلف داروهای سایمتیدین و پیریمتامین روی پاسخ DTH متعاقب سوختگی در مدل حیوانی موش Balb/c مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- حیوان‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۸۰ سر موش Balb/c از جنس نر در سنین ۱۰-۸ هفته بودند که از انستیتو

دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در افزایش پاسخ DTH متعاقب سوختگی می‌باشد.



نمودار ۱: تاثیر دوزهای مختلف سایمتیدین بر پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری متعاقب سوختگی. علامت * نمایانگر این است که سایمتیدین در دوزهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پاسخ DTH را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت و گروهی که دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت داشته، افزایش داده است ($p < 0.05$).

ب- تاثیر پیریمتامین بر روی پاسخ DTH متعاقب سوختگی: نتایج تاثیر دوزهای مختلف پیریمتامین بر روی پاسخ DTH پس از سوختگی در نمودار ۲ نشان داده شده است. پاسخ DTH در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی پیریمتامین اختلاف معنی‌داری ($p < 0.01$) را با گروه کنترل مثبت نشان داد، ولی وقتی پاسخ DTH در این دو دوز با گروه کنترل منفی مقایسه شد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. به عبارت دیگر پیریمتامین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قادر به تصحیح و افزایش پاسخ DTH بوده است. پاسخ DTH در دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل مثبت نشان نداد اما اختلاف پاسخ بین این دوز و گروه کنترل منفی معنی‌دار بود ($p < 0.01$). این مشاهدات نمایانگر عدم توانایی دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی پیریمتامین در افزایش پاسخ DTH بعد از سوختگی می‌باشد.

داروها، موشها در ۵ گروه (هر گروه شامل ۸-۵ سرموش) گروه‌بندی شدند. یک گروه به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد، در موشهای این گروه سوختگی ایجاد نگردید و هیچ دارویی نیز دریافت نکردند. در چهار گروه سوختگی درجه ۳ به اندازه ۱۰٪ سطح کل بدن ایجاد شد. که از میان آنها گروه کنترل مثبت هیچ‌گونه دارویی دریافت نکردند. در سه گروه دیگر دوز مشخصی از داروی مورد نظر به طور داخل صفاقی تزریق شد. با توجه به مطالعات قبلی، دوزهای مورد استفاده برای سایمتیدین ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای پیریمتامین ۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شدند [۸،۲۷،۳۳]. یک ساعت بعد از ایجاد سوختگی دوزهای معینی از سایمتیدین و پیریمتامین به گروه‌های مربوطه تزریق شدند. تزریق داروی سایمتیدین ۱۰ بار بعد از سوختگی (روزی یک بار) تکرار گردید و تزریق داروی پیریمتامین با توجه به نیمه عمر بالای آن در بدن، فقط یک بار انجام شد [۸،۲۷،۳۳]. سپس در روز دهم بعد از سوختگی پاسخ DTH در همه گروه‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری و مقایسه شد.

۶- روش آماری: نتایج مربوط به DTH در تمامی گروه‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار (SD) محاسبه گردید. مقایسه نتایج مربوط به DTH بین گروه‌های آزمون و کنترل از طریق آزمونهای t و آنالیز واریانس انجام گرفت. در تمامی موارد $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

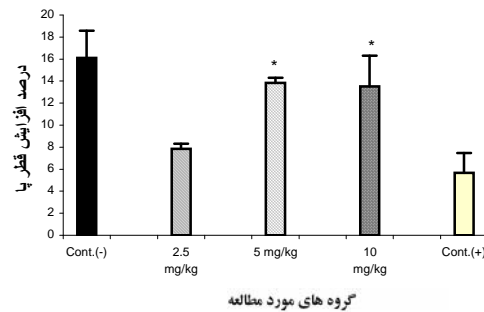
نتایج

الف - تاثیر سایمتیدین بر روی پاسخ DTH متعاقب سوختگی: همان طوری که در نمودار ۱ نشان داده شده است سایمتیدین در دوزهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته است پاسخ DTH را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت (دارای سوختگی و بدون دریافت دارو) و گروهی که دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت داشته افزایش دهد ($p < 0.05$). پاسخ DTH در دوزهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل منفی (بدون سوختگی) نشان نمی‌دهد در صورتی که پاسخ DTH در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری از گروه کنترل منفی کمتر است ($p < 0.05$). این مشاهدات نمایانگر عدم توانایی

می‌تواند از طریق این گیرنده باعث فعال شدن این سلول‌ها شود [۱۷]، البته آزمایش‌های دقیقی نیز فعال شدن سلول‌های T-مهارکننده را متعاقب سوختگی به اثبات رسانده‌اند [۱۹]، بنابراین آنتاگونیست‌های گیرنده H_2 هیستامین از قبیل سایمتیدین شاید بتوانند از طریق جلوگیری از فعال شدن سلول‌های T-مهارکننده، مانع از تضعیف سیستم ایمنی و کاهش پاسخ DTH پس از سوختگی شوند.

هیستامین هم‌چنین ممکن است باعث بهم خوردن تعادل بین سلول‌های TH_1 و TH_2 گردد. این سلول‌ها به ترتیب باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی سلولی و ایمنی هومورال می‌گردند. سلول‌های TH_1 و TH_2 بر روی یکدیگر اثر مهاری دارند [۱۵، ۲۶]. نتایج آزمایشات قبلی ما در مدل حیوانی موش نشان داد که تا ۳۰ روز بعد از سوختگی پاسخ DTH به طور معنی‌داری کاهش یافته و به موازات کاهش پاسخ DTH، افزایش پاسخ آنتی‌بادی مشاهده گردید [۱]. این یافته‌ها و نتایج بعضی از مطالعات دیگر مبنی بر افزایش پاسخ ایمنی هومورال بعد از سوختگی [۳۲]، مؤید این هستند که آسیب سوختگی باعث به هم خوردن تعادل بین سلول‌های TH_1/TH_2 می‌گردد. هم‌چنین نشان داده شده است که هیستامین از طریق گیرنده H_2 باعث مهار تولید IL-12 (فاکتور رشد سلول‌های TH_1) و افزایش تولید IL-10 (مهارکننده سلول‌های TH_1) می‌شود [۹]. این اثرات هیستامین می‌تواند منجر به کاهش فعالیت سلول‌های TH_1 و غالب شدن پاسخ سلول‌های TH_2 گردد. بنابراین سایمتیدین ممکن است نقش موثری در اصلاح و بازگشت تعادل بهم‌خورده سلول‌های TH_1/TH_2 بعد از سوختگی نیز داشته باشد و به این ترتیب پاسخ DTH را افزایش دهد.

مطالعات دیگری نیز در مورد تعدیل سیستم ایمنی توسط سایمتیدین وجود دارد. ممانعت از کاهش تعداد لنفوسیت‌ها بعد از سوختگی، اصلاح بعضی از فاکتورهای ایمنولوژیک در افراد مبتلا به ایدز، افزایش مقاومت در برابر عفونت‌ها بعد از سوختگی، افزایش بقای موش‌های حامل تومور، مهار ادم ناشی از سوختگی و شرکت در پاکسازی رادیکال‌های آزاد از اثرات دیگر سایمتیدین گزارش شده است [۱].



نمودار ۲: تاثیر دوزهای مختلف پیریمتامین بر پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری متعاقب سوختگی. علامت * نمایانگر این است که پیریمتامین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری پاسخ DTH نسبت به گروه کنترل مثبت و دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داده است ($p < 0.01$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که در روز دهم بعد از سوختگی پاسخ DTH بشدت کاهش می‌یابد و داروهای سایمتیدین و پیریمتامین توانایی اصلاح و افزایش پاسخ DTH متعاقب سوختگی را دارند. سایمتیدین آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامین به طور موفقیت‌آمیزی به منظور تقویت سیستم ایمنی در بعضی موارد که مهار سیستم ایمنی اتفاق می‌افتد، مورد استفاده قرار گرفته است [۷]. مکانیسم‌های پیشنهادی برای تقویت سیستم ایمنی توسط سایمتیدین شامل ممانعت از فعال شدن سلول‌های T-مهارکننده [۲۷]، افزایش تولید سایتوکاین‌ها به خصوص $IFN-\gamma$ از سلول‌های TH_1 [۲۳]، تحریک سلول‌های کشنده طبیعی [۴] و افزایش فعالیت سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن [۲۰] می‌باشند.

نشان داده شده است که آسیب سوختگی دارای اثر مستقیم بر روی ماست سل‌ها است و باعث آزاد شدن هیستامین از این سلول‌ها می‌شود. هم‌چنین گزارش شده که متعاقب سوختگی شدید مقادیر بالائی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شوند که می‌توانند باعث دگرانولاسیون ماست سل‌ها و آزاد شدن هیستامین گردند، بنابراین پس از سوختگی میزان سرمی هیستامین افزایش می‌یابد [۲۸]. هیستامین می‌تواند مسئول قسمتی از مهار ایمنی که بعد از سوختگی اتفاق می‌افتد، باشد. گزارش شده است که سلول‌های T مهارکننده دارای گیرنده H_2 هیستامین هستند و هیستامین

حیوانی موش گزارش شده است که پیریمتامین علی‌رغم عدم تاثیر بر روی پاسخ سلول‌های T، باعث کاهش مقاومت در برابر عفونت می‌شود [۱]. این امکان وجود دارد که پیریمتامین از طریق تغییراتی که ممکن است در ایمنی طبیعی ایجاد نماید، مقاومت در برابر عفونت‌ها را تحت تاثیر قرار دهد، اما به هر حال مکانیسم اثر این دارو بر روی سیستم ایمنی هنوز شناخته نشده است.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که متعاقب سوختگی پاسخ DTH که در واقع نمونه‌ای از پاسخ‌های ایمنی سلولی است، به شدت کاهش می‌یابد و داروهای سایمیتدین و پیریمتامین قادر به اصلاح این پاسخ می‌باشند. به علاوه این مطالعه مدل حیوانی معتبری برای بررسی اثرات داروهای مختلف بر سیستم ایمنی پس از سوختگی ارائه می‌دهد.

پیریمتامین یک داروی ۴و۲- دی‌آمینوپیریمیدین می‌باشد و بطور معمول جهت درمان مالاریا و توکسوپلاسموز بکار می‌رود. این دارو ترجیحاً به آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز انگل متصل می‌شود و تبدیل دی‌هیدروفولات به تتراهیدروفولات را مهار می‌کند [۳]. در مورد اثرات این دارو بر سیستم ایمنی گزارش‌های اندکی وجود دارد. اثرات افزایشی این دارو بر روی تولید آنتی‌بادی، پاسخ DTH و فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در موش‌های سالم، موش‌های حامل تومور، موش‌های آلوده به گاز خردل و بیماران مبتلا به ایدز نشان داده شده است [۸،۳۳]. در مطالعه دیگری نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به مالاریا که در برنامه دارویی آنها پیریمتامین وجود دارد، میزان IgG بر علیه انگل نیز افزایش می‌یابد [۱۴]. این مشاهدات نمایانگر اثرات تقویتی پیریمتامین بر روی سیستم ایمنی می‌باشند که با نتایج این مطالعه نیز همخوانی دارند. اما در یک مطالعه دیگری در مدل

منابع

- [۱] جعفرزاده، ع. مطالعه سیستم ایمنی و تأثیر داروهای مؤثر بر سیستم ایمنی متعاقب سوختگی. دانشگاه تربیت مدرس، پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته ایمنی‌شناسی، ۱۳۷۱.
- [2] Alexander JL: Mechanism of immunologic suppression in burn injury. *J Trauma*. 1990, 30:70-75.
- [3] Buchanan KL, Murphy JW: Kinetics of cellular infiltration and cytokine production during efferent phase of delayed-type hypersensitivity. *Immunol*. 1997; 90:189-197.
- [4] Calvieri S, Giannelli V, Zampetti M: Cimetidine and Natural killer cell activity. *Clin Exp Dermatol*. 1988; 13(4): 283.
- [5] Choudhry MA, Fazal N, Namak SY, Haque F: PGE2 suppresses intestinal T cell function in thermal injury: a cause of enhanced bacterial translocation. *Shock*. 2001; 16(3): 183-188.
- [6] Dalton HJ: T-cell responses in burn infection. *Crit Care Med*. 2001, 29(12):2386-2387.
- [7] Della Bella S, Vanoli M, Bazzi S, Scorza R: Successful treatment of common variable immunodeficiency and related disorders with cimetidine and zinc sulfate. *Int J Clin Lab Res*. 1997; 27(1): 79-80.
- [8] Ebtekar M, Hassan ZM: Effect of immunomodulators pyrimethamin and cimetidine on immunosuppression induced by sulfur mustard in mice. *Int J Immunopharmacol*. 1993; 15(4): 533-41.
- [9] Elenkov IJ, Webster E, Papanicolaou DA, Fleisher TA: Histamin potently suppresses human IL-12 and stimulate IL-10 production via H2 receptors. *J Immunol*. 1998; 161(5): 2586-93.
- [10] Freund YR, Riccio ES, Phillips SJ, Dousman L, MacGregor JT: Pyrimethamine impairs host resistance to infection with *Listeria monocytogenes* in BALB/c mice. *Toxicol Sci*. 1998; 42 (2):91-98.

- [11] Hassan ZM, Ebtekar M: Modeling for immunosuppression by sulfur mustard. *Int Immunopharmacol.* 2001; 1(3): 605-610.
- [12] Hassan ZM, Ebtekar M: Immunological consequence of sulfur mustard exposure. *Immunol Lett.* 2002; 1; 83(3): 151-2.
- [13] Holzheimer RG, Curley P, Saporoschetz IB, Doherty JM, Mannick JA: Circadian rhythm of cytokine secretion following thermal injury in mice: implications for burn and trauma research. *Shock.* 2002; 17(6):527-529.
- [14] Hugosson E, Tarimo D, Troye-Blomberg M, Montgomery SM, Premji Z, Bjorkman A: Antipyretic, parasitologic, and immunologic effects of combining sulfadoxine / pyrimethamine with chloroquine or paracetamol for treating un complicated Plasmodium falciparum malaria. *Am J Trop Hyg.* 2003; 69 (4): 366-71.
- [15] Infante DC, Kamradt T: TH1/TH2 balance in infection. Springer Semin Immunopathol. 1999; 21: 317-88.
- [16] Jobin N, Garrel D. Increased serum soluble interleukin-2 receptor in burn patients. *Hum Immunol.* 2000; 61: 233-46.
- [17] Jutel M, Watanabe T, Klunker S: Histamin regulates T-cell and antibody responses by differential expression of H1 and H2 receptors *Nature.* 2001; 27; 413(6854): 420-5.
- [18] Kelly JL, Lyons A, Soberg CC, Mannick JA: Anti-interleukin-10 antibody restores burn-induced defects in T-cell function. *Surgery.* 1997; 122(2): 146-52.
- [19] Kobayashi M, Schmitt DA, Utsunomiya T: Inhibition of burn-associated suppressor cell generation by glycyrrhizin through the induction of contrasuppressor T-cells. *Immunol Cell Biol.* 1993; 71: 181-189.
- [20] Kubota T, Fujiwara H, Itoh T, Yamashita T: Cimetidine modulates the antigen presenting capacity of dendritic cell from colorectal cancer patients. *Mol Cell Pathol.* 2002; 86: 1271-1261.
- [21] Maldonado MD: Specific changes in peripheral blood lymphocyte phenotype from burn patients. Probable origin of the thermal injury-related lymphocytopenia. *Burns,* 1991; 17(3): 188-192.
- [22] Messingham KA, Heinrich SA, Kovacs EJ: Estrogen restores cellular immunity in injured male mice via suppression of interleukin -6 production. *J Leukoc Biol.* 2001; 70(6): 887-895.
- [23] Osná N, Elliott K, Khan MM: The effects of histamine on interferon gamma production are dependent on the stimulatory signals. *Int Immunopharmacol.* 2001; 1(7): 135-45.
- [24] Peter FW, Schuschke DA, Barker JH, Fleishcher Peter B: The effect of severe burn on proinflammatory cytokines and leukocyte behavior: its modulation with granulocyte colony-stimulating factor. *Burns.* 1999; 25(6): 477-86.
- [25] Reuman PD. Immunomodulators. *Pediatr Infect Dis J.* 2001; 20(10): 995-996.
- [26] Romagnani S: T cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000; 85(1): 9-18.
- [27] Sahasrabudhe DM, McCune CS: Inhibition of suppressor T lymphocytes (Ts) by cimetidine. *J Immunol.* 1987; 1; 138(9): 2760-2763.
- [28] Santos FX, Arroyo C, Garrcia I, Blasco R: Role of mast cell in the pathogenesis of postburn inflammatory response: reactive oxygen species as mast cell stimulator. *Burn.* 2000; 26(2): 145-7.
- [29] Schawacha MG, Chung CS, Ayala A, Bland KI: Cyclooxygenase 2-mediated suppression of macrophage interleukin-12 production after thermal injury. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002; 282: c263-c270.

- [30] Tarnchompoo B, Sirichaiwat G, phupong W: Development of 2,4-diaminopyrimidines as antimalarials based on inhibition of the S108N and C59R +S108N mutants of dihydrofolate reductase from pyrimethamine-resistant plasmodium falciparum. *J Med Chem.* 2002; 14; 45(6): 1244-1252.
- [31] Teodorczyk-Injeyan JA: Serum inter leukin-2 receptor as a possible mediator immunosuppression after burn injury. *J Burn Care Rehabil.* 1989; 10(2):112-118.
- [32] Thomson PD, Till Go, Prasad JK, Smith DJ Jr: Enhancement of humoral immunity by heterologous lipid peroxidation products resulting from burn injury. *J Burn Care Rehabil.* 1991; 12(1): 38-40.
- [33] Thong YH, Ferrant A: Immunopotiation by pyrimethamine in the mouse. *Clin Exp Immunol.* 1980; 39(1): 190-194.
- [34] Varedi M, Jeschke MG, Englander EW, Herndon DN: Serum TGF-beta in thermally injured rats. *Shock.* 2001;16(5):380-2.
- [35] Walker HL: A standardized animal burn. *J. Trauma.* 1968; 8(6): 1049-1051.
- [36] Word PA: Pathophysiologic events related to thermal injury of skin. *J. Trauma.* 1990; 30 (suppl.2): 275-279.
- [37] Yamamoto H, Siltharm S, Deserres S, Hultman CS, Meyer AA: Immediate burn wound excision restores antibody synthesis to bacterial antigen. *J surg Res.* 1996; 63:157-162.
- [38] Zimeckri M, Wieczorek Z: Differential patterns of cyclosporin A-induced inhibition of humoral and cellular immune responses to sheep erythrocytes in mice. *Pol J Pharmacol.* 2001; 53: 495-500.

Modulation of Cell-Mediated Immune Response Following Burn Injury in an Animal Model of Balb/c Mice.

A. Jafarzadeh*Ph.D¹; Z.M. Hassan Ph.D², M.Ebtekar Ph.D³, S.M. Hazrati Ph.D⁴,

1- Assistant professor of Immunology, Dept. of Immunology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

2- Associate professor of Immunology, Dept. of Immunology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

3- Assistant professor of Immunology, Dept. of Immunology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

4- Assistant professor of Immunology, Dept. of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background: Infection is the major cause of death in thermal injury patients. Severe suppression of the immune system is the major cause of infection following burn injury. The aim of this study was to modulate the cell-mediated immune response by the use of cimetidine and pyrimethamine in an animal burn model.

Materials and Methods: Male Balb/c mice were anesthetized, and given a 10% total body surface area full-thickness burn. Then the delayed type hypersensitivity (DTH) to sheep red blood cell (SRBC) and the effects of different doses of immunomodulators (cimetidine 5,10 and 15 mg/kg and pyrimethamine 2.5,5,10 mg/kg) on this response were quantitated ten days after the burn.

Results: The marked suppression of DTH was observed ten days after burn's trauma. Cimetidine (at doses of 10 and 15 mg/kg) and pyrimethamine (at doses of 5 and 10 mg/kg) significantly augmented DTH response after thermal injury. Cimetidine and pyrimethamine did not exhibit any effect on DTH response at doses of 5 mg/kg and 2.5 mg/kg respectively.

Conclusion: These results indicated that severe suppression of DTH responses occurred after burn injury. Cimetidine and pyrimethamine prevented inhibition of DTH response following thermal trauma.

Keywords: Burn, Delayed type hypersensitivity, Cimetidine, Pyrimethamine, Immunomodulation.

* Corresponding author tel: (391) 5234003-5

Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, 2002, 2(2): 94-101.