Archive of SID

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره شانزدهم شماره 52 خرداد و تیر سال 1385 (32 - 24)

تاثیر مقدار ویتامین D3 و اینترفرون گاما بر تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسو پلاسما گوندئی و تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/C

معصومه عبدالله پور (M.Sc.)* **فاطمه غفاری فر** (Ph.D.)**+ **عبدالحسین دلیمی اصل** (Ph.D.)***
احمد زواران حسینی (Ph.D.)**** **کاوس صلح جو** (M.Sc.)***** **سکینه قاسمی نیکو** (M.Sc.)*****
زهره شریفی (Ph.D.)****** **شهلا رودبار محمدی** (Ph.D.)*******

چکیده

سابقه و هدف : توکسوپلاسما گوندئی یک انگل داخل سلولی اجباری است که تعداد وسیعی از سلول‌های هسته دار مختلف را در میزبانان واسط خود آلوده می‌کند. تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی قادر هستند در ماکروفاژهای موش تکثیر نمایند.القاء تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژها یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی علیه عفونت‌های داخل سلولی در موش‌ها است. ویتامین D3 همان‌طور که قبلاً هم ثابت شده، اثر مفیدی در درمان بعضی از بیماری‌ها دارد و تولید نیتریک اکساید را افزایش می دهد.

مواد و روش‌ها : هدف از این تحقیق بررسی تاثیر مصرف ویتامین D3 به مقدار 1000 میکروگرم به صورت تزریق داخل صفاقی به موش Balb/C در زمان‌های متفاوت، سپس آلوده‌سازی موش‌ها با تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی و نهایتا بررسی تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی در ماکروفاژهای آلوده جداسازی شده از این موش‌ها و نیز بررسی نیتریک اکساید تولید شده توسط این ماکروفاژهادر شرایط آزمایشگاهی است.

یافته‌ها : نتایج به‌دست آمده مشخص نمود که تزریق یک‌بار ویتامینD3 به مقدار 1000 میکروگرم به موش‌ها و سپس اضافه کردن 100واحد اینترفرون گاما به محیط کشت ماکروفاژها بیش‌ترین تاثیر را در کاهش تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما داشته است و اختلاف به‌دست آمده در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بود ($P<0.05$). نیتریک اکساید اندازه‌گیری شده دراین گروه نیز بیش‌ترین مقدار را داشته و درمقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود($P<0.05$).

استنتاج : به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف یکبار ویتامینD3 به میزان1000 میکروگرم برای افزایش قدرت انگل‌کشی ماکروفاژها و هم‌چنین افزایش تولید نیتریک اکساید کاملا موثر بوده و اگر با اینترفرون گاما همراه شود، این اثر قوی‌تر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی : توکسوپلاسما گوندئی، ویتامین D3 ، نیتریک اکساید

* دانش‌آموخته کارشناس ارشد انگل شناسی بیمارستان شهید رجایی بابل
** متخصص انگل شناسی،عضو هیأت علمی (استادیار) تربیت مدرس تهران
+ * تهران : دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی - گروه انگل‌شناسی
*** متخصص انگل شناسی،عضو هیأت علمی (استاد) تربیت مدرس تهران
**** متخصص ایمونولوژی،عضو هیأت علمی (استاد) تربیت مدرس تهران
***** کارشناس‌ارشد و دانشجوی Ph.D.انگل‌شناسی، عضو هیات علمی(مربی) دانشگاه فسا
****** ویروس‌شناسی، عضوهیات علمی(استادیار) سازمان انتقال خون ایران

www.SID.ir
Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

******* دکترای قارچ شناسی، عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس

E تاریخ دریافت : 83/12/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 84/3/25 تاریخ تصویب: 84/7/18

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

مقدمه

توکسوپلاسما گوندئی یک انگل تک یاخته از شاخه اپی کمپلکسا (Epicomplexa) است که تقریبا پانصد میلیون نفر در سطح جهان دارای آنتی‌بادی علیه این انگل می باشند(1). وضعیت ایمنی فردی، بیماری را به شکل خود محدود شونده ومعمولا بدون علامت در می‌آورد(2). هرچند در این بین کسانی هستند که سیستم ایمنی آنها سرکوب شده و یا تحت شیمی درمانی قرار گرفته‌اند و یا به عفونت ایدز مبتلا هستند، عفونت در این افراد به شکل کشنده‌ای ظاهر می‌شود که می تواند به آسیب‌های شدید سیستم عصبی مرکزی منجر شود. طی حاملگی، انگل می‌تواند ازجفت مادر عبور کرده و جنین را آلوده کند. خطر عفونت ومرگ ومیر مربوط به مرحله ای از بارداری است که مادر به عفونت مبتلا می شود. در سه ماهه اول بارداری، خطر مرگ بیشتر است. محافظت در مقابل این انگل داخل سلولی و سایر پاتوژن‌های داخل سلولی مثل مایکو باکتریوم توبر کلوزیس و سالمونلا تیفی به ایمنی سلولی وابسته است(3). گام حیاتی در حذف این پاتوژن‌ها فعال شدن ماکروفاژها و تولید سایتوکاین‌های تیپ یک است که در این مرحله ضروری هستند. بعد از تحریک سیستم ایمنی، ماکروفاژها اینترلوکین دوازده تولید می کنند که محرک تولید اینترفرون گاما توسط سلول‌های کشنده طبیعی (NK Cells)[1] و T cell خواهند بود(4، 5). اتصال اینترفرون گاما به گیرنده‌اش بر روی ماکروفاژهای فعال، باعث افزایش فعالیت میکروب کشی آن‌ها علیه پاتوژن‌های داخل سلولی می‌شود(6). اینترفرون گاما ماکروفاژرا تحریک می کند و به طرف تولید نیتریک اکساید سوق می‌دهد که آن‌هم باعث انهدام تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی می‌شود. در مطالعات متعددی که تا کنون انجام شده، ثابت شده که نیتریک اکساید نقش مهمی در عفونت‌های داخل سلولی دارد(7و8). همچنین مطالعاتی که در موش‌ها انجام شد نشان داد که سایتوکاین IFNγ فعالیت ضد توکسوپلاسمایی را در ماکروفاژها با القا تولید نیتریک اکساید انجام می‌دهد(9).

در قدیم از نور آفتاب و روغن کبد ماهی برای درمان بیماری‌هایی نظیر عفونت توبرکلوزیس استفاده می‌شد(8). از اواسط قرن نوزدهم گزارش‌هایی ارائه شد که تا ثیرات مفید ویتامین D در درمان توبرکلوزیس را مطرح می‌کرد(10). معمولاپایین بودن سطح سرمی ویتامین D3 باعث افزایش حساسیت به عفونت‌های مزمن می‌شود(8،11،12) و این مطلب با مطالعات ژنتیکی که در این زمینه بر روی گیرنده‌های ویتامین D3 انجام شده، ثابت شده است(13،14). ویتامین D3 یک هورمون ایمنومدولاتوری با اثرات مفید درسیستم ایمنی است.این ویتامین همچنین در تمایز سلول‌های Th1 و Th2 نقش دارد(7،8) در مطالعاتی که تاکنون انجام شده ثابت شده که ویتامین D3 در تولید نیتریک اکساید نقش مفیدی دارد وقادراست رشدباکتری‌مایکوباکتریوم‌توبرکلوزیس را در ماکروفاژها مهار کند(15و16و17). همچنین در مطالعه‌ای که توسط آغولی (1380) انجام شده تاثیر این ویتامین بر کاهش رشد آماستیگوت‌های لیشمانیا نشان داده شده است(18). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر ویتامین D3 و اینترفرون گاما بر تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی و تولید نیتریک اکسید در ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/C بوده است.

1. Natural. Killer Cells

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

مواد و روش‌ها

این تحقیق یک بررسی تجربی ازنوع مداخله‌ای می‌باشد.

انگل:

سوش استاندارد RH توکسوپلاسما گوندئی که در شرایط انجماد در مخزن ازت گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس نگهداری می‌شد، در موش‌های Balb/C پاساژ داده شد.

حیوان مورد مطالعه :

ازموش‌های سفید آزمایشگاهی کوچک (Balb/C) ماده بالغ inbreed در محدوده وزنی20-18گرم و سن 8-6 هفته‌ای خریداری شده از موسسه واکسن و سرم سازی رازی استفاده شد.

محلول ها :

ازویال ویتامین D3 به حجم یک میلی لیتر حاوی 300000 واحد بین المللی درهر میلی لیتر تهیه شده از شرکت Osvah استفاده شد همچنین از الکل اتیلیک 95 به عنوان حلال استفاده گردید. برای کشت انگل ازمحیط کشتRPMI-1640 ،بیکربنات سدیم و ال. گلوتامین استفاده شد. مواد لازم جهت تهیه محیط کشت و معرف از شرکت سیگما و سرم جنین گاو نیز از شرکت گیبکو تهیه گردید.

آماده سازی انگل:

تعداد 5×10^5 انگل توکسوپلاسما گوندئی سوش RH به صورت داخل صفاقی به موش‌های Balb/C تزریق و 24 ساعت پس از تزریق انگل‌ها, از صفاق موش جدا شد و دو باردر دور g 2000 به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ و شستشو داده شد.

گروه بندی موشهای مورد مطالعه:

دراین تحقیق 36 سرموش مورد بررسی قرارگرفتند،

موش‌ها به دو دسته و هر دسته به شش گروه سه تایی تقسیم شدند. در دسته اول به موش‌های مورد مطالعه انگل به تعداد 5×10^5 و ویتامین D3 به میزان 1000 واحد بین المللی تزریق و سلول‌های صفاقی آن‌ها پس از 24 ساعت جمع آوری و کشت داده شد.

در دسته دوم به موش‌های مورد مطالعه به مدت یک هفته، هر روز به شکل داخل صفاقی ویتامین D3 به میزان 1000 واحد بین المللی تزریق و بعد از یک هفته به موش‌ها انگل به تعداد 5×10^5 تزریق شد و بیست و چهار ساعت بعد سلول‌های صفاقی آن‌ها جمع‌آوری و درصفحات کشت سلول 24 خانه‌ای تهیه شده از شرکت نانک کشت داده شد.

هر دسته به شش گروه تقسیم شد و در هر گروه از سه سر موش Balb/c استفاده شد.

گروه اول: یا گروه شاهد 1 که فقط انگل دریافت کردند و ماکروفاژهای آن‌ها کشت داده شد.

گروه دوم : یا گروه شاهد 2، گروهی که حلال و انگل دریافت نمودند و ماکروفاژهای آن‌ها کشت داده شد.

گروه سوم: گروهی که فقط انگل دریافت کردند و در کشت ماکروفاژ آن‌ها 100 واحد اینترفرون‌گاما اضافه شد.

گروه چهارم: گروهی که حلال و انگل دریافت نمودند و در کشت ماکروفاژهای آن‌ها 100 واحد اینترفرون گاما اضافه شد

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

گروه پنجم: موشهایی که انگل و ویتامن D3 به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و سپس ماکروفاژهای آن‌ها جمع آوری و کشت داده شد.

گروه ششم : گروهی که انگل و ویتامن D3 به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و در کشت ماکروفاژهای آن‌ها 100 واحد اینترفرون گاما اضافه شد.

مایع رویی هرحفره روزانه از صفحه کشت سلول، جمع‌آوری شده و از نظر میزان نیتریک اکساید تولید شده مورد بررسی قرار می‌گرفت. و درپایان روز چهارم، سلول‌های هر حفره با کمک تریپسین 0/25 درصد (تهیه شده از شرکت دیفکو) استخراج می‌شد. بدین ترتیب پس از اضافه کردن تریپسین، چند ضربه به کف صفجخ وارد می‌شد و هنگامی که سلول‌ها کنده می‌شدند (با کمک مشاهده زیرمیکروسکوپ اینورت) را جمع‌آوری می‌شد. سپس از ماکروفاژها لام تهیه کرده و پس از فیکس کردن با رنگ گیمسا لام‌ها را رنگ‌آمیزی کرده و تعداد تاکی زوئیت‌های موجود در 100 ماکروفاژ شمارش می‌شد.

کشت ماکروفاژ:

از ماکروفاژهای موش‌های Balb/C برای کشت سلولی استفاده شد. سلول‌ها پس از استخراج درصفحات 24 خانه کشت سلولی در حضور محیط RPMI-1640 کشت داده شدند. تعداد دو میلیون سلول ماکروفاژ از صفاق موش جدا شده و در صفحه 24 خانه کشت داده شد. 24 ساعت پس از کشت، مایع رویی هر حفره از صفحه‌کشت سلول،جمع‌آوری شد و ازنظرمیزان نیتریک اکساید تولید شده مورد بررسی قرار گرفت. در پایان روزچهارم کشت، سلول‌های هر حفره با کمک تریپسین استخراج شد و با رنگ‌آمیزی گیمسا تعداد تاکی زوئیت‌های هر ماکروفاژ (یکصد عدد ماکروفاژ) در هر گروه شمارش شد.

اندازه گیری نیتریت:

مایع رویی حفرات مربوط به آزمون و شاهد طی24 ساعت بعد ازکشت ماکروفاژهای آلوده جمع آوری می شد و نیتریت موجود در آن‌ها که نشان دهنده میزان نیتریک اکساید است به روش گریس سنجش می‌شد. NMMA با غلظت 1 میلی مولار به عنوان مهارکننده تولید نیتریک اکساید وSNAP با غلظت 1 میلی مولاربه عنوان تقویت کننده مسیر تولید نیتریک اکساید به‌کار رفت .بعد از 24 ساعت، 100 میکرولیتر از مایع رویی حفرات نمونه‌های مورد مطالعه یا نمونه استاندارد (نیتریت سدیم از غلظت100-10 میکرومولار) را در هر حفره صفحه 96 خانه ریخته و 100 میکرولیتر از معرف گریس شامل معرف شماره 1 گریس (سولفانیل آمید 1 درصد در اسید فسفریک 5 درصد حل شده است) و معرف شماره2 (نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید 0/1 درصد که در آب مقطر حل شده است) اضافه شد. سپس 5 دقیقه در دمای اتاق قرار داده و میزان OD حفرات با دستگاه الیزا ریدر در طول موج 550 نانومترخوانده شد.

روش‌های آماری:

روش‌های آماری به‌کار رفته در این تحقیق بدین ترتیب می باشد.

برای مقایسه میانگین تعداد انگل‌ها در ماکروفاژها چون برای هر گروه انگل‌های موجود در100 ماکروفاژ شمارش شدند، برای مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های هر دسته مورد مطالعه از آزمون پارامتری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. اما در مورد مقایسه میانگین‌های مقادیر نیتریت تولید شده از آزمون ناپارامتری one-way Anova استفاده شد.

یافته‌ها

اثرات ویتامینD3 برتکثیرتاکی زوئیت‌ها در ماکروفاژها درمحیط کشت بعد از عفونت با توکسوپلاسما گوندئی:

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

نتایج به‌دست آمده از اثر ویتامینD3 بر تکثیر تاکی زوئیت‌ها در ماکروفاژهای دو دسته از موش‌های مورد مطالعه در جدول شماره 1 آمده است.

میانگین تعداد تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی در هرماکروفاژصفاقی در دسته اول که موش‌ها ویتامین D3 را بیست چهار ساعت قبل از جمع‌آوری سلول‌های صفاقی،به‌شکل داخل صفاقی دریافت نمودند، تفاوت معنی‌داری را بین گروهی که ویتامین D3 را به تنهایی و یا همراه با اینترفرون گاما در یافت نمودند با گروه‌های شاهد1و2 نشان داد($P<0.05$).

در دسته دوم، اختلاف معنی داری بین گروهی که ویتامین D3 را همراه با اینترفرون گاما دریافت نمودند (گروه 6) با گروه شاهد 1 دیده می‌شد($P<0.05$). سایر اطلاعات در جدول شماره 1 آمده است.

اثرات ویتامینD3 برتولید نیتریک اکسایددر سلول های میزبان در محیط کشت بعد از عفونت با توکسوپلاسما گوندئی :

اثرات ویتامین D3 بر تولید نیتریک اکساید در سلول‌های میزبان در محیط کشت بعد از عفونت با توکسوپلاسما گوندئی در جدول شماره 2 آمده است.

در دسته اول مورد مطالعه که موش‌ها به مدت یک هفته موش‌ها ویتامین D3 دریافت کرده بودند، بعد از یک هفته به آن‌ها انگل تزریق شد و بیست و چهار ساعت بعد، سلول‌های صفاقی آن‌ها استخراج شد. در این دسته میزان تولید نیتریک اکساید در همه گروه‌هایی که ویتامین D3 را به تنهایی یا همراه با اینترفرون گاما دریافت نمودند (گروه‌های 5 و6) تفاوت معنی داری در بین گروه‌ها دیده نمی شود(نمودار شماره1).

در دسته دوم که بیست چهار ساعت قبل از جمع آوری سلول های صفاقی آن‌ها، انگل به شکل داخل صفاقی تزریق شده بود ،غلظت نیتریک اکساید در گروه شاهد یک و گروه‌هایی که ویتامینD3 را به تنهایی یا همراه با اینترفرون گاما دریافت نموده‌اند، اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد($P<0/05$). هم‌چنین بین گروه شاهد 1 با گروهی که فقط اینترفرون گاما را دریافت نمودند(گروه‌های3و4) اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود (نمودار شماره 2) ($P<0/05$).

نتایج نیتریک اکساید به‌دست‌آمده ازتاثیر NMMA و SNAP نیز به ترتیب0/67 ± 25/7 و 5/57 ± 287 میکرو مولار می‌باشد.

جدول شماره 1: میانگین و انحراف معیار تعداد تاکی زوئیتهای موجود در ماکروفاژهای آلوده به توکسوپلاسمادردو دسته از موشهای مورد مطالعه دریافت کننده یک دوز ویتامین D3 (دسته اول) و 7 دوز (دسته دوم)

دسته ها	میانگین و انحراف معیار تعداد تاکی زوئیتهای محاسبه شده در 100عدد ماکروفاژ در 6 گروه مورد مطالعه					
	1	2	3	4	5	6
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
دسته1 دریافت کننده یک دوز ویتامین D3 (1000 واحد)	3/ 01± 0/14 *	2/93± 0/16 *	2/ 66± 0/2	2 / 67± 0/13	2/49± 0/19 *	2/37± 0/19 *
دسته2 دریافت کننده 7 دوز ویتامین D3 (1000 واحد) به مدت 7 روز	3/ 05± 0/15 *	3/03± 0/14 *	2/ 7±0/18	2/75± 0/14	2/ 82± 0/17	2/69± 0/2 *

گروه 1: دریافت کننده فقط انگل، گروه 2: دریافت کننده انگل وحلال، گروه3 : دریافت کننده انگل وحلال و اضافه کردن INFγ به محیط کشت، گروه4 : دریافت کننده انگل و اضافه کردن INFγ به محیط کشت، گروه5: دریافت کننده انگل و ویتامین و گروه6 : دریافت کننده انگل و ویتامین و اضافه کردن INFγ به محیط کشت.

* نشان دهنده گروههایی است که باهم دارای اختلاف معنی دار می باشند.

جدول شماره 2 :میانگین و انحراف معیار مقادیر نیتریت تولید شده توسط ماکروفاژهای آلوده به توکسوپلاسما دردو دسته از موش‌های مورد مطالعه دریافت کننده یک دوز ویتامین D3 (دسته اول) و 7 دوز (دسته دوم)

میانگین و انحراف معیارمقادیر نیتریت تولید شده(μM) توسط ماکروفاژها در گرو ههای مورد مطالعه

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

دسته ها	1	2	3	4	5	6
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
دسته1 دریافت کننده یک دوز ویتامین D3 (1000 واحد)	109± 0/8 *	108/9± 1/02 *	146± 0/7	148/2±0/25	165± 1/13 *	187/8± 0/9 *
دسته2 دریافت کننده 7 دوز ویتامین D3 (1000 واحد) به مدت 7روز	109±0/8	108/2± 0/49	146± 0/49	145± 0/52	139± 0/7	146/9 ± 0/96

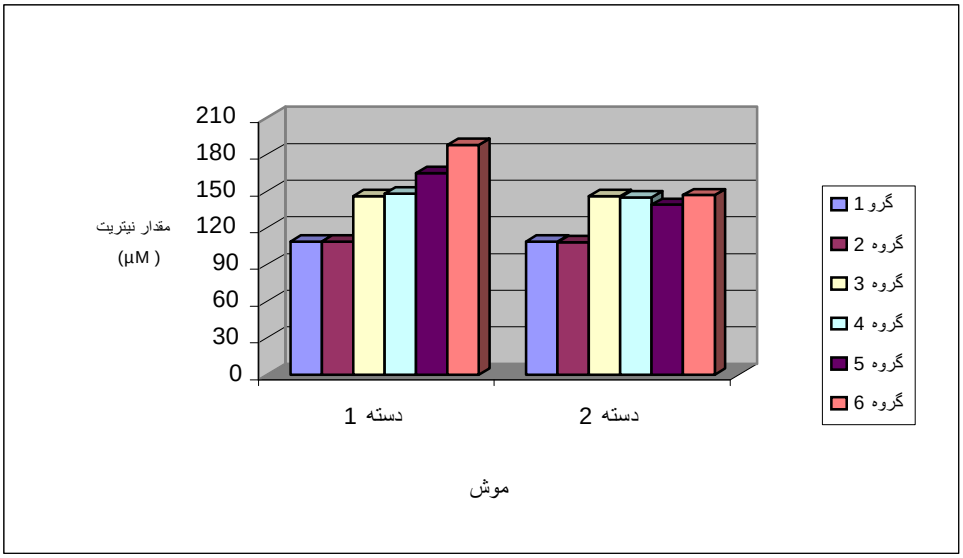
گروه 1: دریافت کننده فقط انگل، گروه 2: دریافت کننده انگل وحلال، گروه3 : دریافت کننده انگل وحلال و اضافه کردن INFγ به محیط کشت، گروه4: دریافت کننده انگل و اضافه کردن INFγ به محیط کشت، گروه5: دریافت کننده انگل و ویتامین و گروه6 : دریافت کننده انگل و ویتامین و اضافه کردن INFγ به محیط کشت.

* وجود اختلاف معنی دار آماری

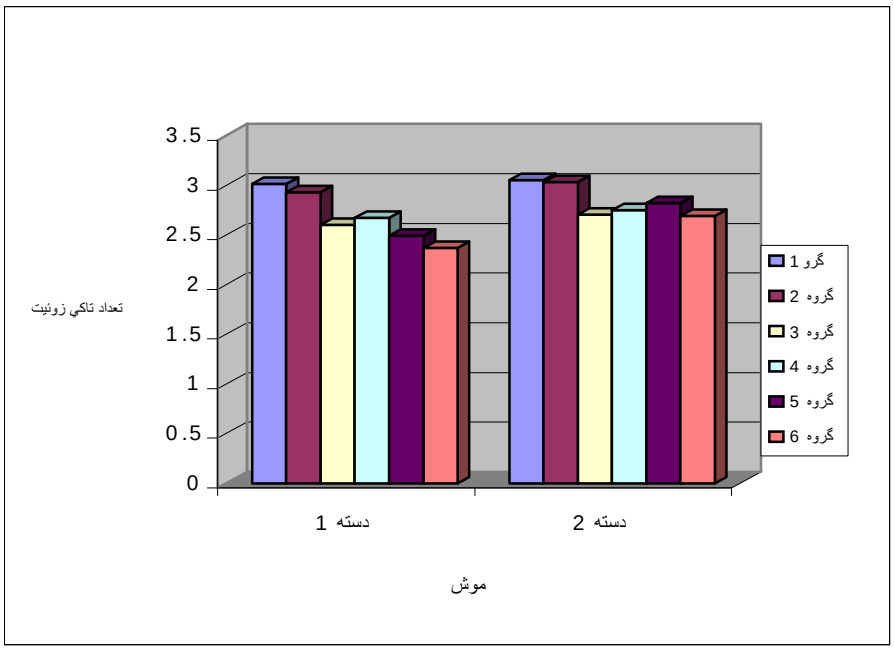
www.SID.ir
Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018



نمودار شماره 1 : :میانگین نیتریت تولید شده در ماکروفاژهای دو دسته موش تحت مطالعه



www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

نمودار شماره 2 : :میانگین تعداد تاکی زوئیتها در ماکروفاژهای دو دسته موش تحت مطالعه

بحث

توکسوپلاسما گوندئی قادر به آلوده کردن ماکروفاژها و تقسیم آن‌ها است، به طور طبیعی نقش ماکروفاژ ها نابودی میکروارگانیسم های مهاجم است. با تحریک ماکروفاژها با سیگنال‌های مختلف، این سلول‌ها فعال شده و با مکانیسم‌های مختلف رشد و تکثیر انگل ها را مهار می کنند.

امروزه استفاده از روش‌های درمانی که سیستم ایمنی را در مقابله با عفونت‌ها تقویت می‌کند، بیش‌تر مورد نظر محققین است. در تحقیق حاضر نقش ویتامین D3 در تقویت سیستم ایمنی مورد بررسی قرارگرفته است. در تحقیق آغولی و همکاران (1380) مشخص شد که مقدار800 میکروگرم ویتامینD3 توام با اینترفرون گاما بر مهار تکثیر انگل لیشمانیا موثر بوده و با این میزان ویتامین D3 بیشترین مقدار نیتریک اکساید تولید شده بود(18). همچنین دیویس[1] (1985) و پاکت [2] و همکاران (1998) مشابه همین تحقیق را در مورد مایکوباکتریوم انجام داده‌اند(17،16) طبق نتایج تحقیق آن‌ها مقادیر متفاوت ویتامین D3 قادر است ماکروفاژها را در مهار تکثیر این میکروب پاتوژن فعال تر سازد. در تحقیق حاضر همان‌طور که از نتایج هم مشخص است ویتامین D3 در داخل بدن تحت اثر آنزیم 1-آلفا هیدروکسیلاز فعال می‌شود و قادر است در تقویت سیستم ایمنی ایفاء نقش کند. به همین دلیل است که در دسته اول که یک نوبت ویتامین D3 را به شکل داخل صفاقی در یافت نموده بودند به علت اثر تحریکی ویتامین D3 در فعال‌تر کردن ماکروفاژها برای ستولید نیتریک اکساید با قدرت بیشتری صورت گرفته است و قدرت انگل کشی ماکروفاژها بیش‌تر شده و تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندئی بیش‌تر مهار شده است. این اثر هنگامی که مقدار 1000 میکروگرم ویتامین D3 همراه با اینترفرون گاما مصرف شود بیش‌تر به چشم می‌خورد که می‌تواند به علت اثر فعال کنندگی این سایتوکاین بر روی ماکروفاژها باشد که همراه با ویتامین D3 تشدید می‌شود. ولی در دسته دوم مورد مطالعه که یک هفته ویتامینD3 را به‌شکل داخل صفاقی دریافت می‌نمودند، اثرات مهار کنندگی ویتامین D3 بر سیستم ایمنی مشاهده می‌شود. چون در این گروه نه تنها تکثیر تاکی زوئیت‌ها نسبت به دسته اول بیش‌تر بوده بلکه تولید نیتریک اکساید نیز در این گروه کاهش داشته که به علت اثرمهاری است‌که مصرف طولانی مدت ویتامین D3 برسیستم ایمنی دارد. ویتامین D3 از طرفی باعث تقویت پاسخ نیتریک اکساید توسط ماکروفاژها می‌شود؛ یعنی فعالیت ماکروفاژها را تعدیل می‌کند و از طرف دیگر ماکروفاژهای فعال شده آنزیم 1- هیدروکسیلاز را بیان می‌کنند و موجب ایجاد 1 و 25- دی‌هیدروکسی ویتامین D3 می‌شوند که این محصول مانع بلوغ دندریتیک سل ها می شود و ترشح IL1, TNF-a , IL-12 را کاهش می‌دهد(20،19).

1. Davises
2. Rokett

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف یکبار ویتامین D3 به میزان 1000 میکروگرم برای افزایش قدرت انگل کشی ماکروفاژ ها و هم‌چنین افزایش تولید نیتریک اکساید کاملا موثر بوده و اگر با اینترفرون گاما همراه شود این اثر قوی‌تر خواهد بود.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد انگل‌شناسی است که کلیه اعتبارات آن توسط دانشگاه تربیت مدرس پرداخت شده است. نگارندگان مقاله از کلیه عزیزانی که در این زمینه همکاری داشته‌اند، نهایت تشکر را دارند.

فهرست منابع

1. Adams LB, Hibbs JB. Microbiostatic effect of murine–activated macrophages for Toxoplasma gondii . Role of synthsis of inorganic nitrogen oxides from l-argentine. ***J. Immunol.*** 1990; 144: 2725-2729.
2. Anthony LS, Morrissey PJ, Nano FE. Growth inhibition of Franciella tularensis live vaccine strain by IFNγ-activated macrophages in mediated by reactive nitrogen intermediates derived from L-arginine metabolism. ***J. Immunol.*** 1992; 148: 1829-1834.
3. Miller N.Toxoplasma gondii (Toxoplasmosis) In: Walshand Hoyt(td). ***Clinical, Neuro Ophthalmology.*** 1995.
4. Janssen R, Van Wengen A, Verhard E, de Bore T. Divergent Role for TNF-α in IFN- γ induced killing of Toxoplasma gondii contributes to selective susceptibility of patients with partial IFN- γ receptor 1 deficiency. ***J. Immunol.*** 2002; 169: 3900-3907.
5. Gazzinelli RT, Wysocka M, Hayashi S, Denkers EY,Hieny S,Caspar P,Trinchieri G, Sher A. Parasite-induced IL-12 stimulatesearly IFN-_ synthesis and resistance during acute infection with Toxoplasma gondii. ***J. Immunol.*** 1994; 153: 2533-2543.
6. Albina JE. On the expression of nitric oxide synthesis by human macrophages. Why no NO? ***J. Leuk. Biol.*** 1995; 58: 643-649.
7. Liew FY, Millott S, Parkinson C, Palmer RM, Mancada S. Macrophage killing of Leishmania parasite in vivo in mediated by nitric oxide from L-argenine. ***J. Immunol.*** 1990; 144: 4794-4797.
8. Kean BH. Clinical toxoplasmosis: 50 years. ***Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*** 1972; 66: 549-571.
9. Stark GR, Kerr IM, Williams BR, Silerman RH, Schreiber RD.How cells respond to interferon. ***Annu.Rev. Biochem.*** 1998; 67: 227.
10. Bellam Y, Ame EP. Identifying genetic susceptibility factor for tuberclosis in Africans: A combined approach using a

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 8:03 +0430 on Sunday March 25th 2018

candidate gene study and genome-wide screen. ***Din. Sci.*** 2000; 98: 245-250.

11. Mayer B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. ***Trends Biochem. Sci.*** 1997; 22: 477-481.
12. Grazzinelli RT, Hakim FT. Synergistic role of CD+4 and CD+8 T-lymphocyte in IFNγ production and protective immunity induced by an attenuated Toxoplasma gondii vaccine . ***J. Immunol.*** 1991; 146: 286-292.
13. Grazzinelli RT, et al. Simultaneous depletion of CD+4 and CD+8 T-lymphocyte is required to reactive chronic infection with Toxoplasma gondii ***J. Immunol.*** 1992; 149: 175-180.
14. Suzuki Y,Orellana MA.Interfron gamma: The major mediator of resistance against Toxoplasma gondii. ***Science*** 1988; 240: 516-518.
15. Chan TYK. Seasonal variation in vitamin D status and the incidence of Tuberclosis in different countries. ***Respiration*** 1999; 66: 196.
16. Davises PDO. A possible link between vitamin D deficiency and impaired host defence to Mycobactrium tuberculosis. ***Tubercle*** 1985; 66: 301-306.
17. Rokett K A, Brookes R, Udalove I. 1,25-Dihydroxy vitamin D3 induces nitric oxide syntheses and suppresses growth of Mycobacterium tuberculosis in a human macrophage-link cell line. ***J. Inf. Immun.*** 1998; 5314-5321.
18. آغولی محمود ،بررسی اثر ویتامین D3 و اینترفرون گاما،بر تکثیر لیشمانیا ماژور و تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/C به روش Invitro، ***پایان‌نامه کارشناسی ارشد***، دانشگاه تربیت مدرس، 1376.
19. Topilski I,Flaishon L,Naveh Y, Harmelin A. “The anti-inflamatory effects of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on Th2 cells in vivo are due in part to control of integrin –mediated T lymphocyte homing” ***Eur J Immunol ,*** 2004; 34: 1068-1076.
20. Reichel H. “25 dihydroxyvitamin D3by lipopolysacharidstimulated normal human macrophages***. J. Clin. Endocrine. Metab.*** 1987; 64: 1-4.
21. Nashold F.E, Miller D.J, Hayes C.E. “1,25 dihydroxyvitamin D3 treatment decreases macrophage accumulation in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis” ***J Neuroimmunol.*** 2000; 103(2): 171-179.

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com