

تأثیر مقدار ویتامین D3 و اینترفرون گاما بر تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسو پلاسما گوندنی و تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژهای صفافی 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 گوندنی یک انگل داخل سلولی اجباری است که تعداد وسیعی از سلول‌های هسته دار مختلف را در میزبانان واسط خود آلوده می‌کند. تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندنی 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 می‌دهد.

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

یافته‌ها: نتایج به‌دست آمده مشخص نمود که تزریق یک‌بار ویتامین D3 به مقدار 1000 میکروگرم به موش‌ها و سپس اضافه کردن 100 واحد اینترفرون گاما به محیط کشت ماکروفاژها بیش‌ترین تأثیر 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 در این گروه نیز بیش‌ترین مقدار را داشته و در مقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$).
استنتاج: به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف یک‌بار ویتامین D3 به میزان 1000 میکروگرم برای افزایش قدرت انگل‌کشی ماکروفاژها و همچنین افزایش تولید نیتریک اکساید کاملاً موثر بوده و اگر با اینترفرون گاما همراه شود، این اثر قوی‌تر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: توکسوپلاسما گوندنی، ویتامین D3، نیتریک اکساید

* دانش‌آموخته کارشناس ارشد انگل شناسی بیمارستان شهید رجایی بابل

** متخصص انگل شناسی، عضو هیأت علمی (استادیار) تربیت مدرس تهران

*** متخصص انگل شناسی، عضو هیأت علمی (استاد) تربیت مدرس تهران

**** کارشناس ارشد و دانشجوی Ph.D. انگل شناسی، عضو هیأت علمی (مربی) دانشگاه فسا

+ تهران: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی - گروه انگل شناسی

***** متخصص ایمونولوژی، عضو هیأت علمی (استاد) تربیت مدرس تهران

***** وپروس شناسی، عضو هیأت علمی (استادیار) سازمان انتقال خون ایران

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

تاریخ تصویب: 84/7/18

تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 84/3/25

تاریخ دریافت: 83/12/22

E

مقدمه

توکسوپلازما گوندئی یک انگل تک یاخته از شاخه اپی کمپلکسا (Epicomplexa) است که تقریباً پانصد میلیون نفر در سطح جهان دارای آنتی بادی علیه این انگل می باشند (1). وضعیت ایمنی فردی، بیماری را به شکل خود محدود شونده و معمولاً بدون علامت در می آورد (2). هرچند در این بین کسانی هستند که سیستم ایمنی آنها سرکوب شده و یا تحت شیمی درمانی قرار گرفته اند و یا به عفونت ایدز مبتلا هستند، عفونت در این افراد به شکل کشنده ای ظاهر می شود که می تواند به آسیب های شدید سیستم عصبی مرکزی منجر شود. طی حاملگی، انگل می تواند از جفت مادر عبور کرده و جنین را آلوده کند. خطر عفونت و مرگ و میر 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 پاتوژن های داخل سلولی مثل مایکو باکتریوم توبر کلوزیس و سالمونلا تیفی به ایمنی سلولی وابسته است (3). گام حیاتی در حذف این پاتوژن ها فعال شدن ماکروفاژها و تولید سایتوکاین های 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 سلول های کشنده طبیعی (NK Cells) و T cell خواهند بود (4، 5). اتصال اینترفرون گاما به گیرنده اش بر روی ماکروفاژهای فعال، باعث افزایش فعالیت میکروب کشی آنها علیه پاتوژن های داخل سلولی می شود (6). اینترفرون گاما ماکروفاژ را تحریک می کند و به طرف تولید نیتریک اکساید سوق می دهد که آن هم باعث

انهدام تاکی زوئیت های توکسوپلازما گوندئی می شود. در مطالعات متعددی که تا کنون انجام شده، ثابت شده که نیتریک اکساید نقش مهمی در عفونت های داخل سلولی دارد (7 و 8). همچنین مطالعاتی که در موش ها انجام شد نشان داد که سایتوکاین IFN γ فعالیت ضد توکسوپلاسمایی را در ماکروفاژها با القا تولید نیتریک اکساید انجام می دهد (9).

در قدیم از نور آفتاب و روغن کبد ماهی برای درمان بیماری هایی نظیر عفونت توبرکلوزیس استفاده می شد (8). از اواسط قرن نوزدهم گزارش هایی ارائه شد که تا ثرات مفید ویتامین D در درمان توبرکلوزیس را مطرح می کرد (10). معمولاً پایین بودن سطح سرمی ویتامین D3 باعث افزایش حساسیت به عفونت های مزمن می شود (8، 11، 12) و این مطلب با مطالعات ژنتیکی که در این زمینه بر روی گیرنده های ویتامین D3 انجام شده، ثابت شده است (13، 14). ویتامین D3 یک هورمون ایمنومدولاتوری با اثرات مفید در سیستم ایمنی است. این ویتامین همچنین در تمایز سلول های 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 و قادر است رشد باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را در ماکروفاژها مهار کند (15 و 16 و 17). همچنین در مطالعه ای که توسط آغولی (1380) انجام شده تاثیر این ویتامین بر کاهش رشد آماستیگوت های لیشمانیا نشان داده شده است (18). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر ویتامین D3 و اینترفرون گاما بر تکثیر تاکی زوئیت های توکسوپلازما گوندئی و تولید نیتریک اکسید در ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/C بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق یک بررسی تجربی از نوع مداخله‌ای می‌باشد. انگل:

سوش استاندارد RH توکسوپلازما 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:

از موش‌های سفید آزمایشگاهی کوچک (Balb/C) ماده بالغ inbred در محدوده وزنی 18-20 گرم و سن 6-8 هفته‌ای خریداری شده از موسسه واکسن و سرم سازی رازی استفاده شد.

محلول‌ها:

از ویال ویتامین D3 به حجم یک میلی لیتر حاوی 300000 واحد بین المللی در هر میلی لیتر تهیه شده از شرکت Osvah استفاده شد همچنین از الکل اتیلیک 95 به عنوان حلال استفاده گردید. برای کشت انگل از محیط کشت RPMI-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 توکسوپلازما 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 بار در دور 2000 g به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ و شستشو داده شد.

گروه بندی موشهای مورد مطالعه:

در این تحقیق 36 سر موش مورد بررسی قرار گرفتند،

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 جمع آوری و در صفحات 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 اینترفرون گاما اضافه شد.

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

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 هر حفره روزانه از صفحه کشت سلول، جمع آوری شده و از نظر میزان نیتریک اکساید تولید شده مورد بررسی قرار می گرفت. و در پایان روز چهارم، سلول های هر حفره با کمک تریپسین 0/25 درصد (تهیه شده از شرکت دیفکو) استخراج می شد. بدین ترتیب پس از اضافه کردن تریپسین، چند ضربه به کف صافجی وارد می شد و هنگامی که سلول ها کنده می شدند (با کمک مشاهده زیر میکروسکوپ اینورت) را جمع آوری می شد. سپس از ماکروفاژها لام تهیه کرده و پس از فیکس کردن با رنگ گیمسا لام ها را رنگ آمیزی کرده و تعداد تاکی زوئیت های موجود در 100 ماکروفاژ شمارش می شد.

کشت ماکروفاژ:

از ماکروفاژهای موش های Balb/C برای کشت سلولی استفاده شد. سلول ها پس از استخراج در صفحات 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 صفحه کشت سلول، جمع آوری شد و از نظر میزان نیتریک اکساید تولید شده مورد بررسی قرار گرفت. در پایان روز چهارم کشت، سلول های هر حفره با کمک تریپسین استخراج شد و با رنگ آمیزی گیمسا تعداد تاکی زوئیت های هر ماکروفاژ (یکصد عدد ماکروفاژ) در هر گروه شمارش شد.

اندازه گیری نیتريت:

مایع رویی حفرات مربوط به آزمون و شاهد طی 24 ساعت بعد از کشت ماکروفاژهای آلوده جمع آوری می شد و نیتريت موجود در آنها که نشان دهنده میزان نیتريك اكساید است به روش گريس سنجش می شد. NMMA با غلظت 1 میلی مولار به عنوان مهارکننده تولید نیتريك اكساید و SNAP با غلظت 1 میلی مولار به عنوان تقویت کننده مسیر تولید نیتريك اكساید به کار رفت. بعد از 24 ساعت، 100 میکرولیتر از مایع رویی حفرات نمونه های مورد مطالعه یا نمونه استاندارد (نیتريت سدیم از غلظت 10-100 میکرومولار) را در هر حفره صفحه 96 خانه ریخته و 100 میکرولیتر از معرف گريس شامل معرف شماره 1 گريس (سولفانیل آمید 1 درصد در اسید فسفریک 5 درصد حل شده است) و معرف شماره 2 (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 نانومتر خوانده شد.

روش های آماری:

روش های آماری به کار رفته در این تحقیق بدین ترتیب می باشد. برای مقایسه میانگین تعداد انگل ها در ماکروفاژها چون برای هر گروه انگل های موجود در 100 ماکروفاژ شمارش شدند، برای مقایسه میانگین ها در گروه های هر دسته مورد مطالعه از آزمون پارامتری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. اما در مورد مقایسه میانگین های مقادیر نیتريت تولید شده از آزمون ناپارامتری one-way Anova استفاده شد.

یافته ها

اثرات ویتامن D3 بر تکثیر تاکی زوئیت ها در ماکروفاژها در محیط کشت بعد از عفونت با توکسوپلازما گوندئی:

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 و 6) تفاوت معنی داری در بین گروه‌ها دیده نمی‌شود (نمودار شماره 1).

در دسته دوم که بیست چهار ساعت قبل از جمع آوری سلول‌های صفاقی آن‌ها، انگل به شکل داخل صفاقی تزریق شده بود، غلظت نیتریک اکساید در گروه شاهد یک و گروه‌هایی که ویتامین D3 را به تنهایی یا همراه با اینترفرون گاما دریافت نموده‌اند، اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد ($P < 0/05$). هم‌چنین بین گروه شاهد 1 با گروهی که فقط اینترفرون گاما را دریافت نمودند (گروه‌های 3 و 4) اختلاف معنی داری دیده می‌شود (نمودار شماره 2) ($P < 0/05$).

نتایج نیتریک اکساید به دست آمده از تاثیر NMMA و SNAP نیز به ترتیب $287 \pm 5/57$ و $25/7 \pm 0/67$ میکرو مولار می‌باشد.

نتایج به دست آمده از اثر ویتامین D3 بر تکثیر تاکی زوئیت‌ها در ماکروفاژهای دو دسته از موش‌های مورد مطالعه در جدول شماره 1 آمده است.

میانگین تعداد تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندئی در هر ماکروفاژ صفاقی در دسته اول که موش‌ها ویتامین D3 را بیست چهار ساعت قبل از جمع‌آوری سلول‌های صفاقی، به شکل داخل صفاقی دریافت نمودند، تفاوت معنی داری را بین گروهی که ویتامین D3 را به تنهایی یا همراه با اینترفرون گاما دریافت نمودند با گروه‌های شاهد 1 و 2 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 ویتامین D3 بر تولید نیتریک اکساید در سلول‌های میزبان در محیط کشت بعد از عفونت با توکسوپلازما گوندئی:

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

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

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

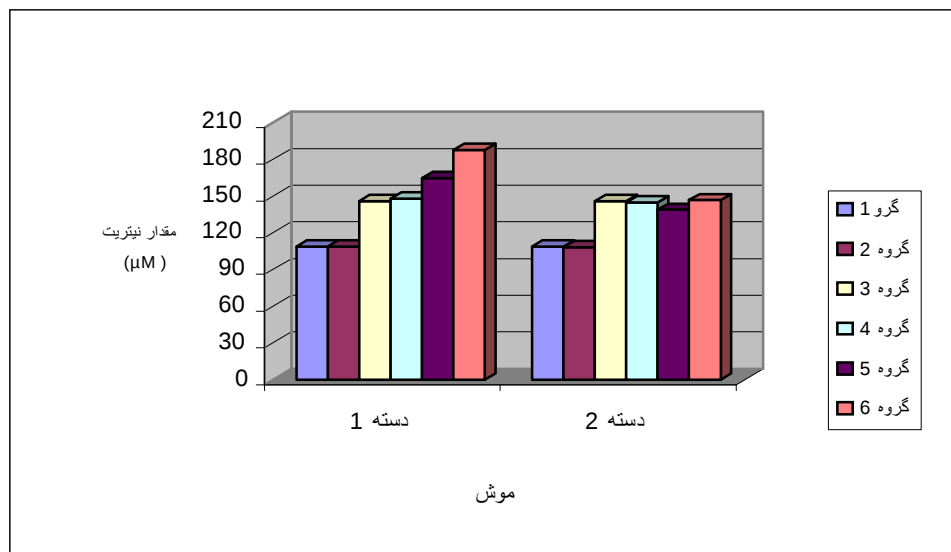
گروه 1: دریافت کننده فقط انگل، گروه 2: دریافت کننده انگل و حلال، گروه 3: دریافت کننده انگل و حلال و اضافه کردن INF γ به محیط کشت، گروه 4: دریافت کننده انگل و اضافه کردن INF γ به محیط کشت، گروه 5: دریافت کننده انگل و ویتامین و اضافه کردن INF γ به محیط کشت، گروه 6: دریافت کننده انگل و ویتامین و اضافه کردن INF γ به محیط کشت. * نشان دهنده گروه‌هایی است که باهم دارای اختلاف معنی دار می‌باشند.

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

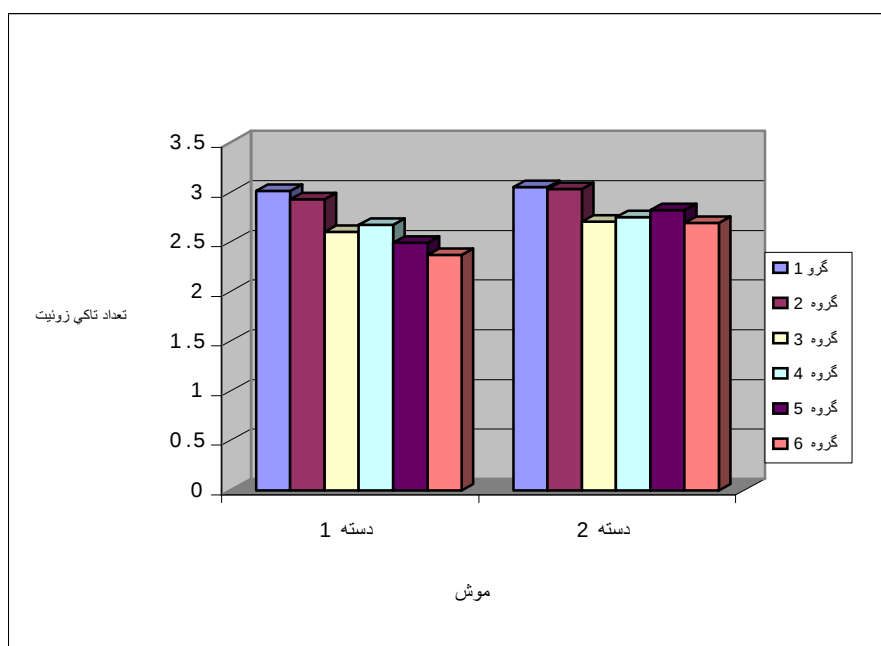
میانگین و انحراف معیار مقادیر نیتریت تولید شده (μ M) توسط ماکروفاژها در گروه‌های مورد مطالعه

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

گروه 1: دریافت کننده فقط انگل، گروه 2: دریافت کننده انگل و حلال، گروه 3: دریافت کننده انگل و حلال و اضافه کردن INF γ به محیط کشت، گروه 4: دریافت کننده انگل و اضافه کردن INF γ به محیط کشت، گروه 5: دریافت کننده انگل و ویتامین و گروه 6: دریافت کننده انگل و ویتامین و اضافه کردن INF γ به محیط کشت.
* وجود اختلاف معنی دار آماری



نمودار شماره 1: میانگین نیتريت توليد شده در ماکروفاژهای دو دسته موش تحت مطالعه



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

بحث

کردن ماکروفاژها برای ستولید نیتریک اکساید با قدرت بیشتری صورت گرفته است و قدرت انگل کشی ماکروفاژها بیش تر شده و تکثیر تاکی زوئیت های توکسوپلازما گوندئی بیش تر مهار شده است. این اثر هنگامی که مقدار 1000 میکروگرم ویتامین D3 همراه با اینترفرون گاما مصرف شود بیش تر به چشم می خورد که می تواند به علت اثر فعال کنندگی این سایتوکاین بر روی ماکروفاژها باشد که همراه با ویتامین D3 تشدید

توکسوپلازما گوندئی قادر به آلوده کردن ماکروفاژها و تقسیم آنها است، به طور طبیعی نقش ماکروفاژها نابودی میکروارگانیسم های مهاجم است. با تحریک ماکروفاژها با سیگنال های مختلف، این سلول ها فعال شده و با مکانیسم های مختلف رشد و تکثیر انگل ها را مهار می کنند.

امروزه استفاده از روش های درمانی که سیستم ایمنی را در مقابله با عفونت ها تقویت می کند، بیش تر مورد نظر محققین است. در تحقیق حاضر نقش ویتامین D3 در تقویت سیستم ایمنی مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیق آغولی و همکاران (1380) مشخص شد که مقدار 800 میکروگرم ویتامین D3 توام با اینترفرون گاما بر مهار تکثیر انگل لیشرمانیا موثر بوده و با این میزان ویتامین D3 بیشترین مقدار نیتریک اکساید تولید شده بود (18). همچنین دیویس¹ (1985) و پاکت² و همکاران (1998) مشابه همین تحقیق را در مورد مایکوباکتریوم انجام داده اند (16، 17). طبق نتایج تحقیق آنها مقادیر متفاوت ویتامین D3 قادر است ماکروفاژها را در مهار تکثیر این میکروب پاتوژن فعال تر سازد. در تحقیق حاضر همان طور که از نتایج هم مشخص است ویتامین D3 در داخل بدن تحت اثر آنزیم 1-آلفا هیدروکسیلاز فعال می شود 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 دریافت نموده بودند به علت اثر تحریکی ویتامین D3 در فعال تر

می شود. ولی در دسته دوم مورد مطالعه که یک هفته ویتامین D3 را به شکل داخل صفاقی دریافت می نمودند، اثرات مهار کنندگی ویتامین D3 بر سیستم ایمنی مشاهده می شود. چون در این گروه نه تنها تکثیر تاکی زوئیت ها نسبت به دسته اول بیش تر بوده بلکه تولید نیتریک اکساید نیز در این گروه کاهش داشته که به علت اثرمهاری است که مصرف طولانی مدت ویتامین D3 بر سیستم ایمنی دارد. ویتامین D3 از طرفی باعث تقویت پاسخ نیتریک اکساید توسط ماکروفاژها می شود؛ یعنی فعالیت ماکروفاژها را تعدیل می کند و از طرف دیگر ماکروفاژهای فعال شده آنزیم 1- هیدروکسیلاز را بیان می کنند و موجب ایجاد 1 و 25- دی هیدروکسی ویتامین D3 می شوند که این محصول مانع بلوغ دندریتیک سل ها می شود و ترشح IL-12، TNF-a، IL-1 را کاهش می دهد (19، 20).

1. Davises
2. Rokett

سیاسگزاری

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.

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

فهرست منابع

1. Adams LB, Hibbs JB. Microbiostatic effect of murine-activated macrophages for *Toxoplasma gondii*. Role of synthesis of inorganic nitrogen oxides from L-arginine. *J. Immunol.* 1990; 144: 2725-2729.
2. Anthony LS, Morrissey PJ, Nano FE. Growth inhibition of *Franciella tularensis* live vaccine strain by IFN γ -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 stimulates early IFN- γ 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-arginine. *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 tuberculosis in Africans: A combined approach using a

- 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 IFN γ 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. Interferon 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 Tuberculosis in different countries. *Respiration* 1999; 66: 196.
 16. Davies PDO. A possible link between vitamin D deficiency and impaired host defence to *Mycobacterium tuberculosis*. *Tubercle* 1985; 66: 301-306.
 17. Rokett K A, Brookes R, Udalove I. 1,25-Dihydroxy vitamin D3 induces nitric oxide synthases 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، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، 1376.
 19. Topilski I, Flaishon L, Naveh Y, Harmelin A. "The anti-inflammatory 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 D3 by lipopolysaccharide stimulated 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.