جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / بهار ۱۳۸۷ / دوره ۱۰ / شماره ۱ (پی‌درپی ۲۵) / صفحات ۲۶ تا ۳۰

تحقیقی

پاسخ‌های ایمنی Th1 و Th2 در عفونت Hymenolepis Nana

دکتر ابوالقاسم عجمی*[1] ، عرازمحمد میرابی[2] ، فرشیده عابدیان[2] ، رؤیا قوامی[3]

۱- استاد گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۲- کارشناس ارشد ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران.
۳- دبیر زیست شناسی مرکز آموزشی فرزانگان ساری.

چکیده

زمینه و هدف : *با وجود مطالعات زیادی که روی حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفته و نقش لنفوسیت‌های Th2 در ایمنی بر علیه کرم‌ها موثر دانسته شده، اما مطالعات جدیدتری که روی موش انجام شده، سلول‌های Th1 را نیز در بعضی از عفونت‌های ناشی از کرم مثل Hymenolepis nana دخیل دانسته‌اند. در مطالعه حاضر به منظور روشن شدن نقش لنفوسیت‌های Th1 و Th2 در ایمنی برعلیه Hymenolepis nana در سرم افراد آلوده به این انگل با استفاده از اندازه‌گیری میزان سایتوکاین‌های IL12 ، IFNγ ، IL5 و IL13 انجام گردید.*

روش بررسی: *این مطالعه مورد – شاهدی طی سال ۱۳۸۵ در دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. ۳۱ بیمار که در آزمایش مدفوع آنها تخم انگل Hymenolepis nana دیده شد و ۳۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس مشابه گروه آزمایش بودند، وارد مطالعه شدند. میزان IL5، IL13، IFNγ و IL12 در سرم آنها به وسیله روش ELISA اندازه‌گیری شد. شمارش گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل در خون محیطی تعیین گردید. برای مقایسه داده‌ها از آزمون‌های تی، من‌ویتنی و ویلکاکسون استفاده شد.*

یافته‌ها : *میانگین غلظت سرمی هر کدام از سایتوکاین‌های IFNγ ، IL12 ، IL5 و IL13 در سرم بیماران بیشتر از گروه کنترل بود. ولی فقط بین غلظت IFNγ و IL13 در دو گروه اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). تعداد منوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در بیماران بیشتر از گروه کنترل بود. ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که علاوه بر Th2 ، لنفوسیت‌های Th1 نیز در پاسخ‌های ایمنی بر علیه Hymenolepis nana فعالیت دارند.*

کلید واژه‌ها: *سایتوکاین ، هیمنولپیس نانا ، عفونت*

* *نویسنده مسؤول : دکتر ابولقاسم عجمی ، پست الکترونیکی : a.ajami@mazums.ac.ir*
نشانی : ساری ، کیلومتر ۱۸ جاده دریا ، مجتمع دانشگاهی رسول اعظم (ص) ، دانشکده پزشکی گروه ایمونولوژی ، تلفن : ۳-۳۵۴۳۰۸۱-۰۱۵۱ ، نمابر : ۳۵۴۳۰۸۷
وصول مقاله : ۸۶/۱/۲۵ ، اصلاح نهایی : ۸۶/۹/۱۲ ، پذیرش مقاله : ۸۷/۲/۹

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ادامه حیات انگل در بدن میزبانی که ایمنی در مقابل آن انگل را کسب کرده، در تحقیقات ایمونوپارازیتولوژی مسأله جالب و حل‌نشده‌ای می‌باشد (۱). در تحقیقات تجربی، نقش سلول‌های T و زیرگروه‌های آن در ایمنی انگل‌ها مشخص شده است (۲). انگل‌های پرسلولی از جمله کرمها به‌وسیله فعالیت ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از بین نمی‌روند. بلکه آنتی‌بادی، کمپلمان و آزاد شدن مولکول‌های تخریب کننده ائوزینوفیلی مثل پروتئین‌های کاتیونی (ECP) در از بین بردن بافت‌های سطحی انگل و ارگان‌های متصل کننده آن موثر می‌باشد و در همه این فعالیت‌ها Th2 دخالت دارد (۳). اطلاعات زیادی مبنی بر نقش سلول‌های Th2 در دفاع بر علیه عفونت‌های کرمی وجود دارد. IL4 در تولید IgE ، IL5 و IL9 از طریق افزایش تولید ائوزینوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها و احتمالاً IL13 با افزایش TNF در ایمنی بر علیه کرمها دخالت دارند (۴و۵). اگرچه اثر سایتوکین‌های Th2 در دفع کرمها روشن می‌باشد، ولی دفع بعضی از کرم‌های دستگاه گوارش در غیاب فعالیت‌های کلاسیک سلول‌های Th2 یعنی فعال شدن سلول‌های B ، تولید آنتی‌بادی، افزایش ائوزینوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها هم انجام می‌گیرد (۶). مطالعات تجربی انجام شده در موش، Th1 را در دفاع بر علیه بعضی از سستودها مثل Hymenolepis nana و Hymenolepis diminuta مخصوصاً در بعضی از مراحل سیکل تکاملی انگل مؤثر می‌دانند (۷و۸).

تحریک لنفوسیت‌های غدد لنفاوی مزانتریک موش‌های آلوده به تخم یا کیست انگل H.nana در in ivtro توسط Con cavalin A نشان داد که تولید سایتوکاین‌های IL5 ، IL4 ، IL3 ، IL2 و IFN γ در مراحل مختلف سیکل تکاملی انگل متفاوت می‌باشد (۹). جدا کردن لنفوسیت‌های اختصاصی بر علیه آنتی‌ژن‌های H.nana از غدد لنفاوی مزانتریک موش‌های BALB/c آلوده و بررسی فعالیت آنها نشان داد که سلول‌های Th1 در جلوگیری از H.nana اهمیت زیادی دارند (۱۰).

تمام مطالعات در مورد پاسخ‌های ایمنی در آلودگی‌های H.nana روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شده و در مورد مکانیسم‌های دفاعی در انسان گزارشی وجود ندارد. لذا این مطالعه به منظور روشن شدن نقش لنفوسیت‌های Th1 و Th2 در ایمنی برعلیه H.nana در سرم افراد آلوده به این انگل با استفاده از اندازه‌گیری میزان سایتوکاین‌های IL12 ، IFNγ ، IL5 و IL13 انجام گردید.

روش بررسی

این مطالعه مورد – شاهدی طی سال ۱۳۸۵ در دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. ۳۱ بیمار (۱۷ مرد و ۱۴ زن) آلوده به انگل H.nana که از نظر بالینی سیستم ایمنی آنها مشکلی نداشت و هیچ دارویی مصرف نمی‌کردند، وارد مطالعه شدند. تشخیص آلودگی به H.nana براساس وجود تخم انگل در مدفوع آنها با استفاده از روش فلوتاسیون انجام شد. بیمارانی که دارای عفونت‌های مختلط انگلی بوده و یا علائمی ناشی از عفونت‌های ویروسی و میکروبی و التهاب داشتند (تب و آزمایش CRP مثبت) از مطالعه خارج شدند.

۳۰ فرد سالم که از نظر بالینی مبتلا به نقص ایمنی نبوده و مبتلا به بیماری‌های التهابی و آلودگی انگلی نبودند (آزمایش مدفوع و CRP منفی) و از نظر سن و جنس با بیماران همانند بودند، به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. ۵میلی‌لیتر از خون محیطی بیماران و گروه کنترل گرفته شد و به دو بخش تقسیم گردید. ۲ میلی‌لیتر از آن با EDTA ۵درصد مخلوط و برای انجام آزمایش CBC استفاده شد. ۳میلی‌لیتر سرم از خون بعد از لخته شدن جدا شد و تا زمان انجام آزمایش برای تعیین غلظت سایتوکاین‌ها در فریزر و دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

غلظت هر کدام از سایتوکاین‌ها در سرم با استفاده از روش الیزا (ELISA) تعیین گردید. کیت‌های مورد استفاده مربوط به شرکت استرالیایی Bender Med System بود که حساسیت کیت‌ها ۳/۲ pg/ml ، ۴ pg/ml ، ۲/۲ pg/ml و ۱/۵ pg/ml به ترتیب برای IL12 ، IFN γ ، IL5 ، HL13 بود.

CBC توسط دستگاه کولتر T 89oE انجام شد و درصد هر کدام از لنفوسیت‌های گردش خون (نوتروفیل، بازوفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و لنفوسیت) تعیین گردید.

نتایج به دست آمده به صورت انحراف معیار±میانگین نشان داده شد. از آزمون‌های آماری تی و من‌ویتنی برای مقایسه میانگین غلظت سایتوکاین‌ها در گروه بیمار و کنترل استفاده

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شد. همچنین آزمون ویلکاکسون و من‌ویتنی برای آنالیز درصد لکوسیت‌ها در دو گروه به کار برده شد. میزان همبستگی بین مقدار سایتوکاین‌های مختلف در بیماران به‌وسیله آزمون پیرسون محاسبه شد. در همه موارد P<۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

غلظت سایتوکاین‌ها و درصد گلبول‌های سفید خون در ۳۱بیمار آلوده به انگل H.nana شامل ۱۴ زن و ۱۷ مرد با متوسط سنی ۱۳/۹±۳۲/۹ و ۳۰ فرد سالم شامل ۱۵ مرد و ۱۵ زن با متوسط سنی ۱۵/۲±۳۵/۱ اندازه‌گیری شد. سن افراد مورد مطالعه از ۲/۵ تا ۴۸ سال متفاوت بود.

میانگین غلظت IFN γ، IL13، IL12، IL5 در سرم بیماران آلوده به H.nana بیشتر از گروه کنترل بود. اما فقط اختلاف بین غلظت IFN γ و IL13 در دو گروه معنی‌دار بود (جدول ۱) (P<۰/۰۵).

*جدول ۱ : مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت سایتوکاین‌های مختلف در سرم افراد آلوده به **H.nana** و گروه شاهد*

گروه‌ها / سایتوکاین‌ها	مورد (pg/ml)	شاهد (pg/ml)	مقدار T	ارزش P
IFN γ	۹/۶ ±۶/۳	۳/۸ ±۴/۳	۴/۲	<۰/۰۵
IL13	۱۲/۴ ±۲۵/۹	۲/۶ ±۳/۶	۲/۰	<۰/۰۵
IL12	۸/۳ ±۱۴/۳	۷/۲ ±۱۲/۵	۰/۳	طبیعی
IL5	۱۵/۵ ±۱۶/۰	۸/۹ ±۱۱/۰۷	۱/۸	طبیعی

*جدول ۲: میزان همبستگی میان غلظت سایتوکاین‌های مختلف در بیماران آلوده به **H.nana***

سایتوکاین‌ها	ایندکس همبستگی	ارزش P
IFN γ – IL12	-۰/۲۹۴	۰/۱۰۹
IFN γ – IL5	-۰/۰۷۴	۰/۶۹۴
IFN γ – IL13	-۰/۲۴۱	۰/۱۹۱
IL13– IL12	-۰/۲۲۸	۰/۲۱۷
IL13– IL5	-۰/۰۱۵	۰/۹۳۰

محاسبه میزان همبستگی بین غلظت سایتوکاین‌های مختلف در گروه بیماران نشان‌دهنده عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین آنها می‌باشد (جدول۲).

بررسی گلبول‌های سفیدخون محیطی و تعیین درصد هر کدام از انواع آنها نشان داد که با وجود افزایش درصد مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و کاهش نوتروفیل‌ها در گروه بیماران در مقایسه با گروه شاهد این کاهش و افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که غلظت سایتوکاین‌های Th1 و Th2 در سرم انسان بعد از آلوده شدن به H.nana افزایش می‌یابد که این افزایش برای IFN γ و IL13 معنی‌دار می‌باشد.

در یک مطالعه تجربی Conchedda نشان داد که تولید سایتوکاین‌ها در مراحل مختلف عفونت و در نژادهای مختلف موش با هم متفاوت می‌باشند (۹). اطلاعات آنها افزایش مقدار IFN γ را در هر دو نژاد موش مورد مطالعه در شروع عفونت با تخم انگل بیان می‌کند. در حالی که فقط در نژاد BAlB/c مقدار IL5 و IL4 بعد از ۵-۴ روز از شروع عفونت افزایش یافته که احتمالاً این افزایش همزمان با زندگی داخل روده‌ای انگل می‌باشد. آنها نتیجه گرفتند که پاسخ‌های Th1 در مرحله تکامل داخل بافتی انگل صورت می‌گیرد و در اولین روزهایی که انگل زندگی داخل روده‌ای را شروع می‌کند، فعالیت Th2 شروع می‌شود. آنها همچنین پیشنهاد کردند که در زمان خودآلودگی (Autoinfection) مهم‌ترین پاسخ ایمنی از نوع Th1 می‌باشد (۹).

مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده پاسخ‌های Th1 و Th2 در افراد آلوده به H.nana می‌باشد، ولی با توجه به تجربی نبودن مطالعه و عدم آگاهی از مرحله تکاملی انگل در بیماران نمی‌توانیم فعالیت Th1 و Th2 را در مراحل مختلف تکاملی انگل از یکدیگر تفکیک کنیم. بدیهی است که Th1 بعد از نفوذ Onchospher به دیواره روده و Th2 در مرحله زندگی داخل روده‌ای انگل فعالیت می‌نمایند (۱۱).

IL12 سایتوکاینی است که به‌وسیله ماکروفاژهای عرضه‌کننده آنتی‌ژن در شروع عفونت تولید می‌گردد و در به‌وجود آمدن Th1 نقش مهمی به عهده دارد. اما از آنجا که H.nana می‌تواند خود آلودگی (Autoinfection) و عفونت‌های مکرر ایجاد کند، بنابراین IL12 می‌تواند همزمان

با افزایش سایتوکاین Th1 و Th2 افزایش پیدا کند (۱۲).

γ IFN یکی از شاخص‌های فعالیت Th1 می‌باشد و در پاکسازی عفونت‌های داخل سلولی مؤثر می‌باشد. این سایتوکاین در تنظیم تولید نوع آنتی‌بادی و افزایش MHCII دخالت داشته و باعث فعالیت ماکروفاژها می‌گردد. در تحقیق Asano نشان داده شده که γ IFN مهم‌ترین و اصلی‌ترین سایتوکاینی است که در جلوگیری از عفونت مجدد با H.nana در میزبان آلوده دخالت دارد (۷). Toenjes در بررسی سایتوکاین‌های تولید شده توسط لنفوسیت‌های جداشده از غددلنفاوی مزانتریک حفره صفاقی و طحال موش‌های BALB/c که یک هفته از آلودگی آنها به لارو Taenia crassiceps گذشته بود، نشان داد که شروع پاسخ‌های ایمنی با افزایش γ IFN همراه بوده است، ولی بلافاصله مقدار γ IFNکاهش یافته و مقدارIL10 افزایش یافته است (۸).

مطالعات تجربی در موش‌های BAlB/c با حذف ماکروفاژها انجام گرفته و دیده شده که این سلول‌ها در ایمنی بر علیه H.nana دخالت دارند (۱۰).

در مطالعه حاضر در همبستگی بین سایتوکاین‌های مترشحه از یک نوع سلول (Th1 یاTh2) و بین سایتوکاین‌های دوسلول (Th2 و Th1) در افراد آلوده به H.nana مشاهده نگردید (جدول۲). در حالی که در پاسخ‌های ایمنی، سلول‌های Th1 و Th2 همدیگر را تنظیم می‌کنند و می‌بایستی بین سایتوکاین‌های ترشح شده توسط Th1 و Th2 همبستگی منفی و بین سایتوکاین‌های هر کدام از انواع Th1 یا Th2 ارتباط مثبت برقرار باشد (۱۳). نتایج حاضر ممکن است به خاطر ایمونوبیولوژی H.nana به دست آمده باشد. این سستود به دلیل این که می‌تواند هر دو مرحله سیکل زندگی بافتی و داخل روده‌ای خود را (خود آلودگی) به صورت هم‌زمان در یک میزبان انجام دهد، با سستودهای دیگر متفاوت می‌باشد. در نتیجه فعالیت هم‌زمان Th1 و Th2 ممکن است بروز کرده و مانع از تشخیص همبستگی بین سایتوکاین‌های ترشح شده از آنها گردد.

شمارش افتراقی لکوسیت‌ها نشان‌دهنده افزایش غیرمعنی‌دار در ائوزینوفیل‌ها، مونوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و کاهش غیرمعنی‌دار نوتروفیل‌ها می‌باشد. افزایش می‌تواند ناشی از فعالیت توأم Th1 (لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها) و Th2 (ائوزینوفیل‌ها) بوده و در نتیجه میزان نوتروفیل‌ها (درصد آنها) را کاهش دهد (۱۴).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر، همانند نتایج مطالعات دیگر نشان‌دهنده پاسخ‌های ایمنی از دو نوع Th1 و Th2 در افراد آلوده به H.nana می‌باشد که احتمالاً Th1 پاسخ‌های ایمنی را برعلیه Onchospher و مرحله بافتی انگل و Th2 پاسخ‌های ایمنی برعلیه مرحله داخل روده‌ای انگل را ایجاد می‌کند.

در این مطالعه غلظت سایتوکاین در سرم بیماران اندازه‌گیری شد و با توجه به پایین بودن غلظت سایتوکاین‌ها در سرم پیشنهاد می‌شود، مطالعه‌ای در مورد ترشح سایتوکاین‌ها توسط لنفوسیت‌های خون محیطی افراد آلوده بعد از تحریک با آنتی‌ژن های H.nana در محیط آزمایشگاهی صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۸۳-۱۲) مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران بود. محققین مراتب تشکر و سپاس خود را از کلیه بیماران و افراد گروه شاهد اعلام می‌دارند.

References

1) Ito A. Basic and applied immunology in cestode infections: from Hymenolepis to Taenia and Echinococcus. *Int J Parasitol.* 1997; 27(10):1203-11.

2) Palmas C, Bortoletti G, Gabriele F, Wakelin D, Conchedda M. Cytokine production during infection with Hymenolepis diminuta in BALB/c mice. *Int J Parasitol.* 1997;27(7):855-9.

3) Persaud R, Wang A, Reardon C, McKay DM. Characterization of the immuno-regulatory response to the tapeworm Hymenolepis diminuta in the non-permissive mouse host. *Int J Parasitol.* 2007; 37(3-4):393-403.

4) Spellberg B, Edwards JE Jr. Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 2001; 32(1):76-102.

5) Geiger SM, Massara CL, Bethony J, Soboslay PT, Carvalho OS, Corrêa-Oliveira R. Cellular responses and cytokine profiles in Ascaris lumbricoides and Trichuris trichiura infected patients. *Parasite Immunol.* 2002; 24(11-12):499-509.

6) Artis D. New weapons in the war on worms: identification of putative mechanisms of immune-mediated expulsion of

gastrointestinal nematodes. *Int J Parasitol.* 2006;36(6):723-33.

7) Asano K, Muramatsu K. Importance of interferon-gamma in protective immunity against Hymenolepis nana cysticercoids derived from challenge infection with eggs in BALB/c mice. *Int J Parasitol.* 1997; 27(11):1437-43.

8) Toenjes SA, Kuhn RE. The initial immune response during experimental cysticercosis is of the mixed Th1/Th2 type. *Parasitol Res.* 2003; 89(5):407-13.

9) Conchedda M, Bortoletti G, Gabriele F, Wakelin D, Palmas C. Immune response to the cestode Hymenolepis nana: cytokine production during infection with eggs or cysts. *Int J Parasitol.* 1997; 27(3):321-7.

10) Asano K, Okamoto K. Murine T cell clones specific for Hymenolepis nana: generation and functional analysis in vivo and in vitro. *Int J Parasitol.* 1991; 21(8):891-6.

11) Finkelman FD, Wynn TA, Donaldson DD, Urban JF. The role of IL-13 in helminth-induced inflammation and protective immunity against nematode infections. *Curr Opin Immunol.* 1999; 11(4):420-6.

12) Mizuno Y, Takada H, Nomura A, Jin CH, Hattori H, Ihara K, et al. Th1 and Th1-inducing cytokines in Salmonella infection. *Clin Exp Immunol.* 2003;131(1):111-7.

13) Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and molecular immunology. Fifth Ed. Philadelphia. Pennsylvania. Elsevier, Saunders company. 2005; pp:243-274.

14) Bhagwant S. Host-tissue reactions and cellular responses to initial and super-imposed hymenolepis nana (cestoda) low level infections in male swiss albino mice. *Science and technology-research Journal.* 1999; 4: 26-37.