کاهش فعالیت آلکالین فسفاتازی سرم در لیشمانیوز پیشرفته در موش حساس **Balb/c**

دکتر رویا یارائی[1]*، دکتر طوبی غضنفری[2]

[1] PhD ایمونولوژی استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهد
[2] PhD ایمنولوژی، دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهد

آدرس برای مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خ شهید عبدالله زاده، شماره ۲۹، کدپستی:۱۴۱۵۶-۳۵۱۱۱، نمابر: ۸۸۹۶۶۳۱۰، ryaraee@yahoo.com
دریافت مقاله: مرداد هشتاد و چهار پذیرش برای چاپ: آبان هشتاد وچهار

چکیده

سابقه و هدف: *فعالیت آلکالین فسفاتازی سرم یکی از نشانگرهای اختلالات کبدی است که در بیماریهای مختلفی دچار تغییر می‌شود. در این بررسی فعالیت آلکالین فسفاتازی در سرم موشهای Balb/c آلوده شده با انگل لیشمانیا ماژور با سرم موشهای نرمال مورد مقایسه قرار گرفته است.*

مواد و روش‌ها: *تعداد ۱۰۶ پروماستیگوت تهیه شده از انگل لیشمانیا ماژور سویه MRHO/IR/76/ER در حجم ۰/۰۵ میلی لیتر محیط کشت RPMI به کف پای موش Balb/c تزریق شد. بعد از ۵۰ روز با خونگیری از قلب موش اندازه گیری فسفاتاز آلکالین انجام شد. یافته ها با الکالین فسفاتاز گروه کنترل با استفاده از آزمون t مورد مقایسه قرار گرفت.*

یافته‌ها: *نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز در سرم وجود دارد. در گروه موشهای مبتلا به شکل پیشرفته بیماری میانگین فعالیت آلکالین فساتازی سرم حدود ۳۳ U/l می‌باشد در حالیکه در موشهای نرمال این فعالیت تقریبا دو برابر است. اختلاف بین دو گروه با $p< ۰/۰۰۵$ معنی‌دار است.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به اینکه در بیماریهای التهابی معمولا فعالیت آلکالین فسفاتازی افزایش می‌یابد، کاهش مشاهده شده می‌تواند به پیشرفت بیماری و اسیب کبدی ناشی از آن نسبت داده شود.*

واژگان کلیدی: ***لیشمانیوز، آلکالین فسفاتاز، موش Balb/c، سرم***

مقدمه

لیشمانیوز یکی از بیماریهای بومی کشور ماست که بعضا با ایجاد اپیدمی‌هایی در برخی از مناطق گرمسیری کشور مشکلات فراوانی را برای ساکنین این مناطق فراهم آورده است. مشکل عمده وجود برخی موارد غیر قابل درمان و همچنین مواردی از لیشمانیوز احشائی می‌باشد. یافتن هر گونه راهکار جدید درمانی نیازمند شناخت دقیق پاتوفیزیولوژی و بیولوژی ملکولی بیماری است. لذا جستجوی تغییرات مختلف به ویژه در پارامترهای مربوط به سرم می‌تواند کمکی در جهت شناخت بهتر بیماری باشد(۱،۲). فعالیت آلکالین فسفاتازی که یکی از مارکرهای اختلالات کبدی است در بیماریهای دیگر از جمله بیماریهای اتوایمیون و برخی بیماریهای عفونی و شرایط التهابی تغییرات آشکاری دارد (۳). موش Balb/c به دلیل حساسیت به انگل لیشمانیا ماژور و گسترش بیماری به عنوان مدل مناسبی جهت بررسی موارد غیر قابل درمان لیشمانیوز جلدی و همچنین به عنوان مدل لیشمانیوز احشائی در مرحله پیشرفته بیماری استفاده می‌گردد (۴).

در تحقیق حاضر فعالیت آلکالین فسفاتازی در سرم موشهای Balb/c آلوده به انگل در مرحله پیشرفتهٔ بیماری در مقایسه با موشهای سالم مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوان آزمایشگاهی: از موش Balb/c ماده در سن ۵ هفته استفاده شد. این موش‌ها در محل مخصوص نگهداری حیوانات در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد تحت شرایط استاندارد آب و غذا و دما نگهداری می‌شدند.

لیشمانیا ماژور: انگل لیشمانیا ماژور سویهٔ MRHO/IR/76/ER از مرکز تحقیقات و آموزش بیماریهای پوست و جذام دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید و تا زمان استفاده در محیط کشت NNN نگهداری شد. هنگام استفاده در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰٪ FCS و ۱۰۰ IU/ml پنی‌سیلین استرپتومایسین کشت داده شده در فاز ایستای رشد شمارش شده برای آلوده سازی حیوان مورد استفاده قرار گرفت (۵).

Archive of SID

www.SID.ir

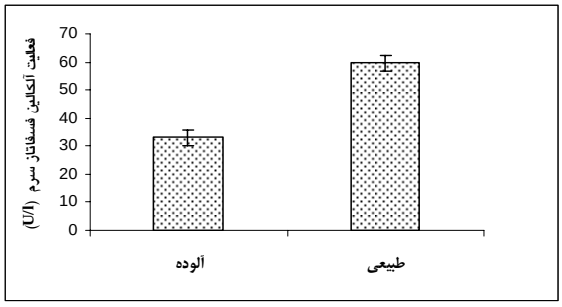
آلوده سازی حیوان: تعداد ۱۰۶ پروماستیگوت در حجم ml ۰/۰۵ محیط کشت RPMI به کف پای حیوان تزریق گردید. به گروه کنترل حجم مشابه از محیط فاقد انگل تزریق شد. پس از گذشت ۳۰ روز زخم قابل مشاهده بود. بعد از ۵۰ روز قطر زخمها با کولیس اندازه‌گیری شد و پس از بیهوش کردن حیوان خونگیری از قلب انجام گرفت. تعداد موشها در گروه آلوده چهار و در گروه نرمال سه عدد بود.

سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز: از کیت سنجش آلکالین فسفاتاز Granutest (با سوبسترای ۴-نیتروفنیل فسفات) استفاده شد. به این نحو که ۴ میکرولیتر از هر نمونه سرم در چاهک‌های پلیت الایزا قرار گرفت و بلافاصله ۲۰۰ میکرولیتر محلول واکنش به آن اضافه گردید، جذب اولیه در ۴۰۵ nm قرائت گردید و سپس به مدت ۵ دقیقه در فواصل یک دقیقه‌ای جذب در هر چاهک قرائت و تغییرات جذب در واحد زمان محاسبه و طبق دستورالعمل کیت به واحد بین‌المللی در لیتر (U/l) تبدیل گردید.

روش آماری: میانگین به دست آمده در هر گروه محاسبه و T-test انجام شد. $p<0/05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تمامی موشهای آلوده دچار زخم گسترده در ناحیه تزریق شدند. میانگین قطر زخم در موش‌های آلوده ۳/۵۵±۰/۴ میلی‌متر بود. میانگین فعالیت آلکالین فساتازی سرم در موش‌های آلوده ۳۳/۰۲±۵/۹ U/l و در موشهای نرمال ۵۹/۶۷±۵/۷ U/l به دست آمد. اختلاف بین دو گروه با $p<0/005$ معنی‌دار است (شکل ۱).



شکل ۱- فعالیت آلکالین فسفاتازی سرم موش آلوده به انگل لشمانیا ماژور و موش نرمال

بحث

فعالیت الکالین فسفاتاز در بافتهای مختلف و از جمله سرم مشاهده می‌شود. مقدار آن در سرم در بیماریهای مختلف به ویژه کبدی، صفراوی و افزایش فعالیت استئوبلاستیک مورد توجه است و به طور معمول در این بیماریها با افزایش آلکالین فسفاتاز مواجه هستیم (۳، ۶). مواردی که کاهش فعالیت گزارش شده باشد شامل آنمی و سوء تغذیه به ویژه کمبود روی (۷) و آسیبهای شدید کبدی مثل آسیبهای ناشی از پاسخ‌های ایمنی در موش Balb/c است (۸). در تحقیق حاضر مشاهده شده است که فعالیت الکالین فسفاتازی سرم در موش Balb/c آلوده به لیشمانیا نسبت به نرمال کاهش یافته است. در حالیکه در تنها گزارش موجود در مورد اندازه‌گیری فعالیت الکالین فسفاتاز در سرم موش آلوده به لیشمانیا دونوانی مشاهده شده است که همراه با آلودگی حیوان به انگل فعالیت آلکالین فسفاتازی سرم افزایش یافته و با کاهش انگل و بهبود حیوان کاهش می‌یابد و به حد طبیعی می‌رسد (۹). البته در این تحقیق از نژاد موش B10.Lpa استفاده شده است که نژاد بهبود یابنده (از لیشمانیا) است. با توجه به این که موش Balb/c مورد استفاده در این تحقیق نسبت به این انگل حساس بوده و معمولا بهبود نمی‌یابد کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم در مراحل پیشرفته بیماری به شکل دیگری قابل توجیه است، چرا که تحقیقات متعددی حاکی از این است که آلودگی مزمن با لیشمانیا می‌تواند موجب آسیب کبدی شود از جمله در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشائی آسیب کبدی مشاهده می‌شود (۱۰) و نیز آلودگی مزمن با L.donovani در هامستر موجب تخریب وسیع کبدی می‌گردد (۱۱). لذا می‌توان انتظار داشت در موش Balb/c (که به دلیل حساسیت به انگل لیشمانیا ماژور و گسترش بیماری به عنوان مدل مناسبی جهت بررسی لیشمانیوز احشائی در مرحله پیشرفته بیماری است) نیز فعالیت الکالین فسفاتازی کاهش یابد و می‌توان این کاهش را به پیشرفت و گسترش بیماری ظرف ۵۰ روز از آلودگی و تخریب کبدی نسبت داد. با توجه به این یافته می‌توان کاهش فعالیت الکالین فسفاتازی را به عنوان نشانگری که احتمالا بتواند برای ارزیابی میزان گسترش و پیشرفت بیماری نقش کمکی داشته باشد مورد بررسی و تحقیقات بیشتر قرار داد.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1.Dowlati Y. Cutaneous leishmaniasis: clinical aspect. Clin Dermatol. 1996; 14(5):425-31.

2.Melby PC. Recent developments in leishmaniasis. Curr Opin Infect Dis. 2002; 15(5):485-90.

3.Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. N E J MED, 2000, 342(17):1266-1271.

4.Rosat JP, MacDonald HR, Louis JA. A role for gamma delta + T cells during experimental infection of mice with Leishmania major. J Immunol. 1993; 150(2):550-5.

۵. مطالعه آزمایشگاهی اثر عصاره سیر و فراکشن‌های جداشده از آن بر منحنی رشد انگل لیشمانیا ماژور. غضنفری طوبی، حسن زهیر محمد، یارائی رویا. مجله پزشکی کوثر، شماره ۵، جلد ۲، ۱۳۷۹، ص ۱۱۷-۱۲۲.

6.Limdi JK, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. Postgrad Med J. 2003; 79(932):307-12.

7. Chernecky CC, Berger BJ. Laboratory tests and diagnostic procedures. WB Saunders Company, Phyladelphia, USA, 1997, 170-173.

8. Xu Q, Lu J, Wang R, Wu F, Cao J, Chen X. Liver injury model induced in mice by a cellular immunologic mechanism--study for use in immunopharmacological evaluations. Pharmacol Res. 1997; 35(4):273-8.

9. Premaveti G. Alkaline phosphatase levels in the serum of B10. LP-1 mice infected with Leishmania donovani. Ann Trop Med Parasitol. 1980; 74(2):257-8.

5.Vianna VL, Takiya CM, de Brito-Gitirana L. Histopathologic analysis of hamster hepatocytes submitted to experimental infection with Leishmania donovani. Parasitol Res. 2002; 88(9):829-36.

6.el Hag IA, Hashim FA, el Toum IA, Homeida M, el Kalifa M, el Hassan AM. Liver morphology and function in visceral leishmaniasis (Kala-azar).J Clin Pathol. 1994; 47(6):547-51.

Archive of SID

www.SID.ir