مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۶، شماره۴/ مهر و آبان ۱۳۹۳/۹۹-۹۵

**مقاله تحقیقاتی کوتاه**

# بررسی تاثیر آنتی ژن تخم انگل های *توکساسکاریس لئونینا* و *توکسوکارا کانیس* بر ایجاد ائوزینوفیلی در مدل حیوانی

میلاد بدری چوکامی[1]، زهرا کیانی[2]، رقیه فریدنیا[1]، محمد موسوی[1]، حجت الله مهرابی کوشکی[1]، نادر پسته چیان[1]، حسین یوسفی دارانی[1*]

[1]مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ [2]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۰

## چکیده:

***زمینه و هدف:*** **توکسوکاراها و توکساسکاریس انگل روده سگ و گربه می باشند که لارو آن ها باعث ایجاد ائوزینوفیلی در انسان می شود. در این تحقیق به صورت اختصاری تأثیر آنتی ژن های تخم برخی از این انگل ها بر ایجاد ائوزینوفیلی بررسی شده است.**

***روش بررسی:*** **در این مطالعه تجربی تعداد ٥٤ سر موش سوری در شش گروه قرار گرفتند. به گروه های مورد، آنتی ژن تخم *توکسوکارا کانیس* یا *توکساسکاریس لئونینا* بدون ادجونت از راه داخل صفاقی و یا همراه با ادجوانت فروندز از راه زیر جلدی تزریق شد. گروه های شاهد هیچ تزریقی دریافت نکردند. هر تزریق سه بار با فاصله زمانی دو هفته تکرار و بعد از هر تزریق، شمارش گلبول های سفید از نمونه های خونی انجام شد.**

***یافته ها:*** **اختلافی بین میانگین گلبول های سفید شامل لنفوسیت ها، ائوزینوفیل ها، نوتروفیل ها، مونوسیت ها و بازوفیل ها در گروه های مورد در مقایسه با گروه های شاهد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).**

***نتیجه گیری:*** **بر خلاف لاروها، آنتی ژن های انگل های مورد مطالعه باعث ائوزینوفیلی در موش ها نشدند؛ با این حال تحقیقات بیشتری در این خصوص توصیه می گردد.**

***واژه های کلیدی:*** **توکسوکارا کانیس، *توکساسکاریس لئونینا*، آنتی ژن تخم، ائوزینوفیلی، سلول های سفید خون.**

## مقدمه:

کرم های *توکساکارا کانیس* (*Toxocara canis*)، *توکساکارا کاتی* (*Toxocara cati*) و *توکساسکاریس لئونینا* (*Toxascaris leonina*) از خانواده کرم های گرد بزرگ می باشند که ساکن روده کوچک سگ، گربه و گوشتخوران وحشی بوده و نقش انگلی دارند (۳-۱). تخم این انگل ها با مدفوع حیوانات آلوده دفع شده و روی خاک به تخم آلوده کننده تبدیل می شود. این تخم ها ممکن است همراه با مصرف سبزیجات آلوده، خام خواری و یا راه های دیگر توسط انسان خورده شوند. لارو انگل های *توکسوکارا کانیس* و *توکسوکارا کاتی* در احشای انسان باعث ایجاد بیماری توکسوکاریازیس می گردند که یکی از مهمترین ویژگی های این بیماری ائوزینوفیلی می باشد (۶-۴). در واقع لاروهای کرم های توکسوکارا از طریق سایتوکاین IL5 و تأثیر بر روی آنتی بادی IgE سبب هایپر ائوزینوفیلی شدید می شوند و می توانند حتی عوارض آلرژیک ایجاد نمایند (۹-۷).

علیرغم اینکه لاروهای توکسوکاراها باعث ائوزینوفیلی شدید می شوند، نقش آنتی ژن های تخم *توکساکارا کانیس* و نیز تخم توکساسکاریس *لئونینا* در ایجاد ائوزینوفیلی مشخص نشده است؛ لذا در راستای یافتن یک آنتی ژن که بتواند باعث افزایش ائوزینوفیل ها گردد، در این تحقیق تأثیر آنتی ژن های تخم انگل های فوق بر ایجاد ائوزینوفیلی در موش های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

## روش بررسی:

در این مطالعه تجربی تعداد ۵۴سر موش سوری out bred به صورت مساوی به شش گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

*نویسنده مسئول: اصفهان-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان-مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری-تلفن:۰۹۱۳۱۸۱۲۸۰۵، E-mail:yousofidarani@gmail.com



www.SID.ir

گروه مورد ۱ که به آن ها آنتی ژن تخم *توکسوکارا کانیس* همرا با ادجونت از راه زیر جلدی تزریق شد؛ گروه مورد ۲ که به آن ها آنتی ژن تخم *توکساسکاریس لئولنینا* همرا با ادجونت از راه زیر جلدی تزریق شد؛ گروه مورد ۳ که به آن ها آنتی ژن تخم *توکسوکارا کانیس* بدون ادجونت از راه داخل صفاقی تزریق شد؛ گروه مورد ۴ که به آن ها آنتی ژن تخم *توکساسکاریس لئولنینا* بدون ادجونت از راه داخل صفاقی تزریق شد و دو گروه موش دیگر که بدون انجام هیچ تزریقی به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند.

برای تهیه آنتی ژن، تخم های هر انگل از رحم کرم های ماده که در فرمالین نگهداری می شدند تخلیه گردیده و در لوله آزمایش جمع آوری شدند. جهت تعیین وضعیت غلظت تخم های تهیه شده ۱۰ میکرولیتر از هر لوله آزمایش برداشته و روی لام زیر میکروسکوپ تعداد تخم آن شمارش گردید. نهایتاً تخم های به دست آمده با سرم فیزیولوژی شستشو داده شده و با دستگاه سونیکاتور سونیکه گردیدند.

تزریق دوم و سوم به ترتیب ۱۴ روز و ۲۴ روز بعد از تزریق اول انجام گردید. یک روز قبل از تزریق دوم و سوم و سه روز بعد از تزریق سوم از سینوس چشم موش ها خونگیری به عمل آمد. از نمونه های خون تهیه شده گسترش های نازک خونی تهیه و پس از رنگ آمیزی با رنگ گیمسا، میزان هر یک از سلول های سفید خونی در لام رنگ آمیزی شده تعیین گردید.

برای مقایسه شمارش سلول ها بین گروه ها (با توجه به توزیع نرمال داده ها) از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD در نرم افزار SPSS استفاده گردید.

## یافته ها:

در موش های تزریق شده با آنتی ژن تخم *توکسوکارا کانیس* و نیز *توکساسکاریس لئولنینا* تعداد سلول های سفید خونی به خصوص ائوزینوفیل ها در دو روش مختلف تزریق در محدوده طبیعی قرار داشت و مقایسه گروه های مورد بررسی با گروه های شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد ($P>0/05$؛ جدول شماره ۱).

**جدول شماره ۱: شمارش انواع گلبول های سفید در خون موش های تزریق شده با آنتی ژن تخم انگل های مورد مطالعه**

| زمان تزریق | نوع گلبول های سفید | گروه ها | | |
|---|---|---|---|---|
| | | شاهد ۱ | مورد ۱ | مورد ۲ |
| ۱۴ روز بعد از تزریق اول | لنفوسیت | ۷۴/۵±۲/۹ | ۷۶/۹±۲/۳ | ۷۲/۹±۲/۳ |
| | نوتروفیل | ۲۱/۵±۲/۲ | ۱۸/۵±۱/۷ | ۲۴/۱±۲/۵ |
| | انوزینوفیل | ۲±۰/۷۵ | ۱/۷۵±۰/۴۶ | ۱/۳۳±۰/۵ |
| | مونوسیت | ۱/۲۵±۰/۷۱ | ۲/۲۶±۰/۷۱ | ۰/۸۹±۰/۶ |
| | بازوفیل | ۰/۵±۰/۵۳ | ۰/۶۳±۰/۷۴ | ۰/۵۶±۰/۵۳ |
| ۱۰ روز بعد از تزریق دوم | لنفوسیت | ۷۴/۵±۲ | ۷۵/۴±۲/۶ | ۷۳±۱/۸ |
| | نوتروفیل | ۲۲/۱±۲ | ۲۰/۹±۲/۶ | ۲۳/۱±۲/۱ |
| | انوزینوفیل | ۱/۵±۰/۵۳ | ۱/۵±۰/۵۳ | ۱/۶۷±۰/۷۱ |
| | مونوسیت | ۱/۵±۰/۵۳ | ۱/۵±۰/۵۳ | ۱/۴±۰/۵۳ |
| | بازوفیل | ۰/۳۸±۰/۵۲ | ۰/۷۵±۰/۴۶ | ۰/۷۸±۰/۴۴ |
| ۳ روز بعد از تزریق سوم | لنفوسیت | ۷۸±۲/۵ | ۷۷/۸±۱/۶۷ | ۷۸/۴±۱/۵۱ |
| | نوتروفیل | ۱۸/۵±۲/۴ | ۱۹±۱/۹ | ۱۷/۹±۱/۴ |
| | انوزینوفیل | ۱/۶۳±۰/۵۲ | ۱/۵±۰/۵۳ | ۱/۶۷±۰/۷۱ |
| | مونوسیت | ۱/۳۶±۰/۵۲ | ۱/۲۵±۰/۷۱ | ۱/۲۲±۰/۴۴ |
| | بازوفیل | ۰/۲۵±۰/۴۶ | ۰/۵±۰/۵۳ | ۰/۷۸±۰/۶۷ |

*داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند؛ گروه مورد ۱: تزریق آنتی ژن تخم توکسوکارا کانیس همراه با ادجونت؛ گروه مورد ۲: تزریق آنتی ژن تخم توکسوکارا کانیس بدون ادجونت؛ گروه مورد ۳: تزریق آنتی ژن تخم توکساسکاریس لئولنینا همراه با ادجونت؛ گروه مورد ۴: تزریق آنتی ژن تخم توکساسکاریس لئولنینا بدون ادجونت؛ گروه های ۱ و ۲ شاهد بدون هیچگونه تزریق.*

Archive of SID



www.SID.ir

## بحث:

تحقیقات بر روی لارو انگل های توکسوکارا نشان داده است که آنتی ژن های دفعی– ترشحی این انگل ها باعث ایجاد ائوزینوفیلی می شوند (۱۰،۱۱). با این حال در این تحقیق که با هدف بررسی تأثیر آنتی ژن های تخم توکسوکارا کانیس و توکساسکاریس لئولنینا بر سلول های سفید خون به ویژه ائوزینوفیل ها انجام شد، نتایج تحقیق نشان داد که هیچکدام از آنتی ژن های تخم های این دو انگل تغییری در شمارش گلبول های سفید موش های تزریق شده با آنتی ژن به وجود نمی آورند که می تواند به دلیل استفاده از انگل فیکس شده در فرمالین در مطالعه حاضر باشد. احتمال دارد فرمالین باعث تغییراتی در آنتی ژن های تخم توکسوکارا کانیس شود . از سویی دیگر لارو زنده و در حال تکامل ممکن است آنتی ژن هایی را بیان کند که در تخم بیان نمی شوند.

در سایر مطالعات تاثیر تخم انگل های مورد بررسی در مطالعه حاضر بر فاکتورهای خونی گزارش نشده است؛ اما در انگل های دیگر، تغییرات هماتولوژیک متعاقب آلودگی های انگلی بررسی گردیده است. به عنوان مثال انگل تریپانوزوما کروزی (۱۳) باعث کاهش تعداد گلبول های سفید در ابتدای آلودگی شده؛ اما با گذشت زمان تعداد این سلول ها مخصوصاً لنفوسیت ها افزایش یافته است (۱۳). همچنین متعاقب آلودگی با شیستوزوما هماتوبیوم (۱۴) افزایش نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها و مونوسیت ها و کاهش تعداد لنفوسیت ها مشاهده گردیده است (۱۴). علاوه بر این تغییرات فاکتور های هماتولوژیک در آلودگی های دیگر انگلی از قبیل لیشمانیا (۱۵)، توکسوپلاسما گوندی (۱۶) و نیز پلاسمودیوم ها (۱۷،۱۸) مطالعه و گزارش شده است (۱۸-۱۵). همانطور که قبلاً نیز بیان شد، احتمالاً دلیل تغییر در تعداد گلبول های سفید در مطالعات فوق مربوط به وجود انگل زنده و نه آنتی ژن آن در بدن میزبان باشد.

## نتیجه گیری:

بر خلاف لاروها، آنتی ژن های انگل های مورد مطالعه باعث ائوزینوفیلی در موش ها نشدند؛ در واقع آنتی ژن های تخم های فیکس شده در فرمالین توکسوکارا کانیس و توکساسکاریس لئولنینا تغییری در شمارش ائوزینوفیل ها در موش های مورد مطالعه بوجود نیاوردند؛ لذا استفاده از آنتی ژن های تخم های زنده این انگل ها در مطالعات بعدی توصیه می گردد.

## تشکر و قدردانی:

هزینه انجام این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تامین گردیده است؛ لذا از تمامی عزیزانی که در این پژوهش ما را همراهی نمودند سپاسگزاریم.

## منابع:

1. Pinelli E, Aranzamendi C. Toxocara infection and its association with allergic manifestations. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2012; 12(1): 33-44.
2. Park JE, Oh MJ, Oh DH, Oh IM, Yoo KH, Im SG, et al. A case of toxocariasis with visceral larva migrans combined with ocular larva migrans. Korean J Med. 2012; 83(4): 543-9.
3. Okulewicz A, Perec-Matysiak A, Bunkowska K, Hildebrand J. *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* in wild and domestic carnivores. Helminthologia. 2012; 49(1): 3-10.
4. Seo M, Yoon SC. A seroepidemiological survey of toxocariasis among eosinophilia patients in Chungcheongnam-do. Korean J Parasitol. 2012 Sep; 50(3):249-51.
5. Hossack J, Ricketts P, Te HS, Hart J. A case of adult hepatic toxocariasis. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol. 2008; 5(6): 344-8.



www.SID.ir
Archive of SID

6. Lim JH. Foodborne eosinophilia due to visceral larva migrans: a disease abandoned. J Korean Med Sci. 2012; 27(1): 1-2.
7. Wisniewska-Ligier M, Wozniakowska-Gesicka T, Sobolewska-Dryjanska J, Markiewicz-Jozwiak A, Wieczorek M. Analysis of the course and treatment of toxocariasis in children-a long-term observation. Parasitol Res. 2012; 110(6):2363-71.
8. Maizels RM. Toxocara canis: molecular basis of immune recognition and evasion. Vet Parasitol. 2013 Apr 15; 193(4): 365-74.
9. Tlamçani Z, Lemkhenete Z, Lmimouni B. Role of eosinophils in parasitic infections. Cont J Biomed Sci. 2013; 7(1): 7-11.
10. Piccard H, Muschel RJ, Opdenakker G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression. Crit Rev Oncol Hematol. 2012; 82(3):296-309.
11. Albanesi M, Mancardi DA, Jonsson F, Iannascoli B, Fiette L, Di Santo JP, et al. Neutrophils mediate antibody-induced antitumor effects in mice. Blood. 2013; 122 (18): 3160-4.
12. Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF, Schantz P, Maizels R. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. Trends Parasitol. 2009; 25(4): 182-8.
13. Sales PA, Jr., Golgher D, Oliveira RV, Vieira V, Arantes RM, Lannes-Vieira J, et al. The regulatory $CD^{4+}CD^{25+}$ T cells have a limited role on pathogenesis of infection with Trypanosoma cruzi. Microbes Infect. 2008; 10(6): 680-8.
14. Seki T, Kumagai T, Kwansa-Bentum B, Furushima-Shimogawara R, Anyan WK, Miyazawa Y, et al. Interleukin-4 (IL-4) and IL-13 suppress excessive neutrophil infiltration and hepatocyte damage during acute murine schistosomiasis japonica. Infect Immun. 2012; 80(1): 159-68.
15. Bautista G, Ramos A, Gil S. Visceral leishmaniasis in hematopoietic stem cell transplantation. Transpl Int. 2012; 25(7): e83-5.
16. Bautista G, Ramos A, Fores R, Regidor C, Ruiz E, de Laiglesia A, et al. Toxoplasmosis in cord blood transplantation recipients. Transpl Infect Dis. 2012; 14(5):496-501.
17. Noulin F, Borlon C, van den Eede P, Boel L, Verfaillie CM, D'Alessandro U, et al. Cryopreserved reticulocytes derived from hematopoietic stem cells can be invaded by cryopreserved Plasmodium vivax isolates. PLoS One. 2012; 7(7): e40798.
18. Xu L, Zheng X, Berzins K, Chaudhuri A. Cytokine dysregulation associated with malarial anemia in Plasmodium yoelii infected mice. Am J Transl Res. 2013; 5(2): 235-45.

Archive of SID



www.SID.ir

*Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*
*(J Shahrekord Univ Med Sci) 2014 Oct, Nov; 16(4): 95-99.* ***Short communication***

# Effect of *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* egg antigens on induction of eosinophilia in animal model

Badri-Chokame M[1], Kiani Z[2], Faridnia R[1], Mousavi M[1], Mehrabi-Koshaki H[1], Pestechian N[1], Yousofi-Darani H[*1]

[1]Infectious and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; [2]Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 23/Feb/2013 Accepted: 1/Dec/2013

**Background and aims:** Toxocara and Toxascaris are intestinal parasites of dogs and cats and *Toxocara canis* larva can develop eosinophilia in human body. In this study the effect of the antigens of eggs of *Toxocara canis* (*T. canis*) or *Toxascaris leonina* (*T. leonine*) on eosinophilia development was investigated.

**Methods:** In this experimental study, 54 surrey mice were assigned to six groups. Case groups were injected with antigens of *T. canis* and *T. leonina* eggs. These antigens were injected either intraperitoneally without adjuvant or subcutaneously with Freund's adjuvant**.** To groups of mice as control groups underwent no injection. Each injection was repeated three times with an interval of two weeks and after each injection blood sample was taken from the mice and white blood cells in a blood sample were counted.

**Results:** Mean white blood cells consisting of lymphocytes, eosinophils, neutrophils, monocytes, basophils in the groups injected with *T. canis* and *T. leonina* eggs were obtained in normal range compared with control groups and no difference was seen among the groups (P>0.05).

**Conclusion:** Unlike Larvae of *T. canis*, antigen of *T. canis* and *T. leonina* eggs caused no change in eosinophil count in the studied mice. Therefore, further research is recommended in this regard.

***Keywords: Toxocara canis, Toxascaris leonina*, Egg antigens, Eosinophilia, White blood cells.**

Archive

**Cite this article as:** Badri-Gokame M, Kiani Z, Faridnia R, Mousavi M, Mehrabi-Koshaki H, Pestechian N, Yousofi-Darani H. Effect of *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* egg antigens on induction of eosinophilia in animal model. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(4): 95-99.

[*]**Corresponding author:**
*Infectious and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989131812805, E-mail.yousofidarani@gmail.com*



www.SID.ir