

" به نام خالقى كه به محمد (ص) خواندن آموخت "

شماره پایان نامه : ۲۵۷۲

دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشکده داروسازی

پایان نامه

برای دریافت درجه دکترا از دانشگاه علوم پزشکی تهران

موضوع

مطالعه آنتی کرهای ضدتوکسوپلاسموز (IgG , IgM)  
در مادران سقط کننده بر روش ایمونوفلورسانس

پراهنمایی

استادارجمندجناب آقای دکتر احمد مسعود

نگارش

پرویز موحد

سال تحصیلی ۶۸ - ۱۳۶۷

۹۹۷۲

" تقدیم به ارواح مطهر شهید حکمتا... یاریقلی و شهید  
غلامرضا فلاحی آرزودار، به آنان که هرگز توفیق درک  
مقامشان نصیب نگردید."

تقدیم به :

" مادر عزیز و مهربانم ، که وجود همه مشتعل از مهر به اوست ،  
بیپاس از خودگذشتگی ها و محبت های بیدریفش ، که زندگی  
خود را فدا کارانه برای آسایش و تربیت فرزندانش وقف نموده  
است ."

و

" پدر ارجمند و بزرگوارم ، که برای آسایش و پیشرفت  
فرزندانش در راه تحصیل علم و دانش ، از هیچ کوششی فروگذار  
ننموده است ."

و

" به خواهران و برادران عزیزم ، به آنها که گوهرهای زندگی ام  
هستند و همواره گرمی بخش زندگیم بوده اند ."

باتشکروقدرانی از:

" استاد ارجمند جناب آقای دکتر احمد مسعود که در تهیه و تنظیم  
این رساله صمیمانه مرایاری نموده و از کمکها و راهنماییهای  
ایشان برخوردار بوده ام."

با تشکر فراوان از:

" سرکار خانم نسرين شفيح زاده ، سرکار خانم فاطمه کوچکيان راد  
وسرکار خانم حبيبه شوقي ، کارمندان بخش ایمنولوژی دانشکده  
پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران ، بیاس زحمات بسیاری  
که به ایشان داده‌ام . . "

## الف

### بنام خدا

## پیشگفتار

دوران آبستنی از حساسترین و پرخطرترین مراحل زندگی یک زن می باشد، خصوصا " برای آنان که برای اولین بار می خواهند در شونند این مسئله از ویژگی خاصی برخوردار است. آنچه که در طول ۹ ماه بارداری، مشکلات و سختی های آن را برای یک زن سهل و آسان می سازد، امید به مادر شدن و بدنیا آوردن فرزند سالم است که در رحم خود می پروراند. سقط جنین مسئله ای است که احتمال دارد هر زنی در طول حیات خویش بگونه ای در معرض آن قرار گیرد و گذشته از آنرا احتیاهی که برای او ایجاد میکنند و صرف نظر از مسائل روحی و عاطفی که بدنبال دارد، از نظر هزینه های درمانی و مراقبتهای پزشکی و همینطور صرف وقت پزشکی و اشغال تخت های بیمارستان که امکان پذیرش بیماران دیگر را سبب مینماید، دارای اهمیت و ویژگی خاصی می باشد.

توکسوپلاسموز یکی از بیناریهایی است که سبب سقط جنین می گردد و هر چند درصد کمی از سقط های اتفاق افتاده در اثر این بیماری است، در مناطقی که انتشار این بیماری گسترده باشد، میزان ابتلاء به بیماری بالا و در نتیجه مشکلات ناشی از آن زیاد و سقط های ناشی از آن نیز در صد بیشتری پیدا می کند.

در حال حاضر، معیار مشخصی جهت نشان دادن احتمال سقط در مادران مبتلا به توکسوپلاسموز وجود ندارد و پزشکان برای مجاز دانستن سقط درمانی در این مورد نمیتوانند دلائل کافی ارائه دهند. اما این امید وجود دارد که با مشخص نمودن آستانه تیتر آنتی کروز توکسوپلاسموز در سرم زنانی که بتازگی سقط نموده و یا خطر سقط آنان را تهدید

ب

می نماید بتوان در جهت پیش بینی وقوع سقط در مادران مبتلا به  
توکسوپلاسموز حاد موفقیتی بدست آورد.

بدین منظور، به راهنمایی استاد محترم جناب آقای دکتر  
احمد مسعود، دانشیار گروه میکروبیشناسی و ایمنوبیولوژی دانشکده پزشکی  
دانشگاه علوم پزشکی تهران، برآن شدیم تا با مطالعه ای بر روی زنان  
سقط کرده و یا تهدید به سقط، به این مقصودنا نل آئیم. باشد تا از این  
طریق توانسته باشیم خدمتی هر چند ناچیز، به علم پزشکی کرده باشیم.



## فهرست مطالب

مفصله	عنوان
	<b>فصل اول</b>
۱	۱- مقدمه
۲	۲- تاریخچه
۲	۳- عامل بیماریزا
۷	۴- عفونت کپا توژنزی بیماری
۱۱	۵- اپیدمیولوژی
	<b>فصل دوم</b>
۱۶	۱- پاسخ ایمنی با واسطه سلولی
۱۷	۲- نقش ایمنی هومورال و سلولی در پاتوژنزی بیماری
۱۹	۳- مقاومت طبیعی نسبت به توکسوپلازما
۱۹	۳-۱- جنس میزبان
۲۰	۳-۲- سن میزبان
۲۱	۴- مقاومت اکتسابی
۲۲	۴-۱- مکانیزمهای مقاومت اکتسابی نسبت به توکسوپلازما
۲۳	۴-۲- نقش پاسخ هومورال در ایمنی اکتسابی
۲۷	۴-۳- نقش ایمنی سلولی در مقاومت اکتسابی
۲۷	۴-۴- ماکروفاژهای فعال شده
	۴-۵- پیوستگی اثرات ایمنی سلولی و هومورال در مقاومت
۲۹	نسبت به توکسوپلازما
	<b>فصل سوم</b>
۳۰	۱- تعیین آنتی کدر سرم و مایعات بدن
۳۰	۲- روشهای تشخیص توکسوپلازما

## فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۳۰	۱-۲- آزمایش ساین - فلدمن دای تست
۳۲	۲-۲- آزمایش ایمنوفلورسانس غیرمستقیم (IFA)
۳۳	۳-۲- آزمایش Igm-IFA
۳۶	۴-۲- آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم
۳۷	۵-۲- آزمایش فیکساسیون کمپلمان (CF)
۳۷	۶-۲- آزمایش آگلوتیناسیون
۳۸	۷-۲- روش ELISA
	<b>فصل چهارم</b>
۴۰	۱- مواد دوروشها
۴۰	۱-۱- بیماران
۴۲	۱-۲- افراد سالم
۴۳	۱-۳- روش آزمایش
۴۵	۲- نتایج
۶۱	۳- بحث
۶۴	۴- منابع

## فصل اول

## ۱ - مقدمه

در سالهای اخیر، توکسوپلازما گونه‌هایی به عنوان مسئله‌ای پیچیده و مبهم در ذهن اکثر پزشکان، دامپزشکان، دانشمندان، محققین و اقتصاددانان مطرح شده و دارای موقعیتی خاص در میان پاتوژن‌های مهمی است که برای انسان و حیوانات مشکلاتی ایجاد میکنند. این ارگانیزم در همه جای طبیعت وجود دارد و عامل اتیولوژی بیماری‌های گوناگونی است که قبلاً "یا علل اتیولوژی ناشناخته" ای داشته و با آنها را مربوط به عوامل دیگری می‌دانسته‌اند.

هزینه سالانه‌ای که برای نگهداری و مراقبت از کودکان وبالغینی که از عوارض ناشی از توکسوپلازما درزادی رنج می‌برند، بالغ بر میلیونها دلار می‌باشد. شواهدی مبنی بر وجود توکسوپلازما مزمن بدون علائم بالینی، در میلیونها نفر از مردم در سراسر دنیا در دست است که نشان می‌دهد این بیماری مشکلات عمده‌ای را در طول دوره آبستنی و قبل از تولد، برای انسان بوجود آورده و معمولاً این بیماری باعث مرگ و میر در افرادی می‌شود که سیستم ایمنی آنها به مخاطره افتاده است. گزارشات اخیر، موارد متعددی از آنفالیس توکسوپلازما یی در افرادی که سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS) داشته‌اند نشان می‌دهد (۴۲ و ۵۹). همچنین وجود توکسوپلازما درزادی در بسیاری از حیوانات موجب شده که توجه خاصی نسبت به این مسئله مبذول شود. مخزن این بیماری که از خانواده گریه‌سانان است، از نظر خطری که برای سلامتی عموم دارد از توجه خاصی برخوردار می‌باشد. بنابراین تحقیق پیرامون این بیماری از نظر جامع علمی و دانشگاه‌گسترده‌های مختلف پزشکی و علوم اقتصادی اهمیت فراوان دارد.

## ۲- تاریخچه

بیماری توکسوپلاسموز دارای سابقه ای طولانی در تاریخ پزشکی میباشد. دکتر Janku چشم پزشک اهل پراگ، اولین مورد توکسوپلاسموز را در سال ۱۹۲۳ گزارش کرده است (۲۲). البته عده ای معتقدند که اتیولوژی این بیماری اولین بار توسط Samuel T. Darling (کاشف توکسوپلاسموزیس) در سال ۱۹۰۸ (۱۴)، و در همان سال توسط Splendore در برزیل (۷۴) و در آفریقای شمالی توسط Nicolle و Manceaux (۶۱)، بطور جداگانه ای تشخیص داده شده است. توکسوپلاسموز برای اولین بار در سال ۱۹۳۹ توسط Cowen و Wolf و Paige از یک نوزاد تازه متولد شده جدا گردید. Pinkerton و Weinman در سال ۱۹۴۰ یک بیماری منتشر کننده را در مردی جوان بعلت توکسوپلاسموز و Sabin مواردی از آنفالیس توکسوپلاسموزی را در اطفال شرح دادند. در سال ۱۹۴۸ آزمایش سرولوژی Dye test توسط Sabin و Feldman جهت تشخیص این بیماری ارائه شد و این روش موجب گردید تا محققین بسیاری بر روی جنبه های اپیدمیولوژیکی و بالینی توکسوپلاسموز مطالعه کرده و طیف بیماری را در انسان مشخص نمایند.

## ۳- عامل بیماریزا

توکسوپلاسموز (Toxon در یونانی به معنی کمان و Plasma به معنی شکل میباشد) تک یا خته ای است که دارای یک گونه *Toxoplasma gondii* می باشد. میزبانهای این انگل شامل:

میزبان واسطه ( انسان و جانوران خونگرم ) و میزبان نهایی ( اعضای خانواده گربه سانان ) می باشند که دوره جنسی و غیرجنسی را در میزبان نهایی می گذرانند.

توکسوپلازما انگل داخل سلولی انواع بافتها ، منجمله عضلات و اپی تلیوم روده بوده و به سه شکل مشاهده میشود:

۱ - تروفوزوئیت یا شکل پرولیفرا تیکوکه Endozoite و یا Tachyzoite نامیده میشود.

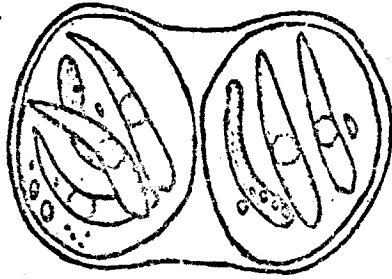
۲ - کیستینجی که اصطلاح Bradyzoite یا Cystozoite نیز در مورد آن بکار میرود.

۳ - اُسیست Oocyst

شکل تاکی زوئیت در طی دوره حاد بیماری دیده میشود و انواع سلولهای پستانداران را مورد حمله و هجوم خود قرار میدهد. البته گلبولهای قرمز خون که فاقد هسته میباشدند احتمالاً از این موضوع مستثنی هستند ولی شواهدی در دست است که نشان میدهد حتی گلبولهای قرمز خون مسنوس توسط تاکی زوئیتهای توکسوپلازما مورد هجوم قرار میگیرند (۷۳).

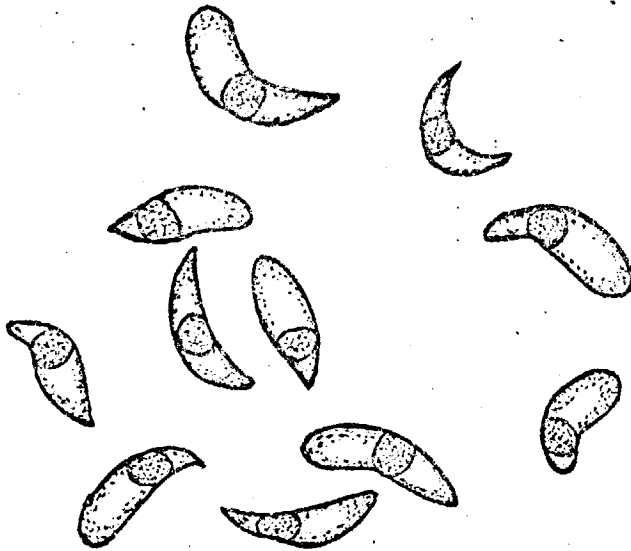
تاکی زوئیت توکسوپلازما در محیط های با رطوبت کافی هلالی یا بیضوی بایک انتهای گرد و یک انتهای باریک و نقطه ای میباشد. عرض آن ۲ تا ۴ و طول آن ۴ تا ۸ میکرومتر است. این ارگانیزم با رنگ راینت یا گیمسنا بخوبی رنگ میگیرد و جهت انجام آزمایشات سرولوژیک ( Dye test ) و یا فلورسنت آنتی بادی ( از آن استفاده میشود. ( شکل ۳ - ب ).

هسته در مرکز واقع نشده و تاژک ، مژک یا پای کاذب ندارد. حرکت ارگانیزم توسط تا شدن بدن و یا لغزیدن توأم با چرخش در حول محور طولی بدن صورت میگیرد. شکل تروفوزوئیت برای بقاء و تکثیر خود نیاز به محیط



*T. gondii* x 4,000

شکل ۳ - الف - اُسیست های حاوی اسپروزوئیت



شکل ۳ - ب - تاقی زوئیت های توکسوپلازما گونه ایی - طول

آنها حدود ۷ میکرون و عرض آنها حدود ۲ میکرون می باشد.

سلولی دارد. این شکل انگل در اثر سرمای زیاد، تغییرات فشرسار  
اسموتیک، خشکی و تاثیرشیره معده انسان نابود میشود. ارگانیزم  
بطور تجربی در آزمایشگاه در صفاق موش، کشتهای نسجی، سلولهای  
پستانداران و جنین تخم مرغ رشد و تکثیر می یابد. تغییرات در ویرولانسی  
سوشهای مختلف به میزان تهاجم و تکثیر ارگانیزم در محیط کشت بستگی  
دارد. تروفوزوئیت توکسوپلازما حاوی دستگاه گلژی، ریبوزومها،  
رتیکولوم آندوپلاسمیک و میتوکندری می باشد.

DNA و RNA آن مشخص و از DNA و RNA سلول میزبان قابل  
افتراق است. اینکه چرا توکسوپلازما با ید بصورت یک ارگانیزم اجباری  
داخل سلولی باشد روشن نیست، اما بطور قطع هسته سلول برای بقا آن  
مورد نیاز نمی باشد. از آنجا که تاکی زوئیتها قابلیت آلوده سازی  
سلولهای فاگوسیت را به همان خوبی سلولهای غیر فاگوسیت دارا میباشند  
لذا چگونگی ورود انگل به درون سلولها قابل بحث بوده و از پیچیدگی  
خاصی برخوردار است.

Suter و Vischer در سال ۱۹۵۴ (۷۹) و همینطور Jones  
و همکاران در سال ۱۹۷۲ (۴۴) اطلاعات خود را ارائه دادند که نشان می داد  
اولین مرحله ای که انگل توسط آن وارد سلولها میشود فاگوسیتوز می باشد  
در حالیکه Wildfur در سال ۱۹۵۴، Norrby و Lucke در  
سال ۱۹۶۶، Bommer و همکاران در سال ۱۹۶۸ عقیده داشتند که  
ارگانیزم بوسیله عمل نفوذ فعال به درون سلولها راه می یابد  
(۸۶ و ۹۵۵).

دومین شکل از توکسوپلازما، شکل کیست عضلانی است که درون سیتوپلاسم  
سلول میزبان تشکیل شده و ممکنست حاوی هزاران انگل باشد.