مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره سیزدهم، شمارهٔ ۲، اسفند ۱۳۸۹، صفحه ۶۷-۶۳

ارزیابی لنفوسیت های CD4 و CD3 مثبت در عفونت های ناشی از تریکوموناس واژینالیس

علیرضا عبدالهی(MD)* [۱]، فرناز محمدزاده(MD) [۲]

۱- گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- گروه زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دریافت: ۸۹/۱/۳۱ ، اصلاح: ۸۹/۳/۱۲، پذیرش: ۸۹/۵/۱۳

خلاصه

سابقه و هدف: تریکوموناس واژینالیس شایعترین عامل بیماریزای غیر ویرال منتقله از راه جنسی در دستگاه ادراری، تناسلی انسان می باشد که نـه تنهـا واژینیـت بلکـه موجب نازایی، زایمان زودرس، پارگی زودرس کیسه آمنیون و تولد نوزاد با وزن کم نیز می شود. لذا این مطالعه به منظور بررسی چگونگی پاسخ سیستم ایمنی سلولی به این عفونت از طریق ارزیابی لنفوسیت های CD3 و CD4 مثبت و سایتوکین اینترلوکین ۱۰ در بیماران آلوده به این عفونت انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه مقطعی بر روی ۶۵ زن در سنین باروری که از لحاظ بالینی علائم ابتلا به تریکومونیازیس را داشتند با گروه کنترل (بدون علامت) که از لحـاظ سن و شرائط اقتصادی و اجتماعی همسان شده بودند، انجام شد. از افراد تحت مطالعه ۵ سی سی خـون جهـت بررسـی تعـداد لنفوسـیت هـای CD3 و CD4 و غلظـت سایتوکین IL10 گرفته شد و پس از انجام آزمایشات گروهها با هم مقایسه شدند.

یافته ها: از ۶۵ زن مورد مطالعه ۲۵ نفر (۳۸/۵٪) از نظر ازمایشگاهی عفونت تریکوموناس واژینالیس را نشان دادند. درصد لنفوسیت های T (سلول های CD3 مثبت) بطور مشخص در زنان آلوده به عفونت تریکوموناس واژینالیس (۰/۷٪±۷۹/۷۵) نسبت به گروه کنترل (۱۰٪±۵۹/۹۵) بالاتر بود (p<۰/۰۰۰۱). لنفوسیت های T کمک کننده (سلول های CD4 مثبت) نیز بطور معنی داری در زنان آلوده به عفونت تریکوموناس واژینالیس (۰/۹۶٪±۶۷/۹۴) نسبت به گروه کنترل (۰/۹۳±۳۲/۵۲) بالاتر بود (p<۰/۰۰۰۱). هم چنین یک تفاوت معنی دار بین سطح سرمی IL10 در گروه بیمار (۴۲ pg/ml٪±۱۱۹) و گروه کنترل (۰/۱۴pg/ml٪±۱/۰۲) وجود داشت (p<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ایمنی سلولی نقش مهمی در کنترل عفونت ناشی از تریکوموناس واژینالیس دارد، بنابراین پیشنهاد می گردد، مطالعه ای با حجم نمونه بیشتر و چند مرکزی جهت تائید این موضوع انجام پذیرد.

واژه های کلیدی: *لنفوسیت CD4 مثبت، لنفوسیت CD3 مثبت، اینترلوکین ۱۰، تریکوموناس واژینالیس.*

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس عامل تریکومونیازیس، شایعترین عامل بیماریزای غیرویرال بیماری های منتقله از راه جنسی در دستگاه ادراری تناسلی انسان می باشد (۱). حدود ۱۸۰ میلیون زن در سراسر جهان آلوده به این ارگانیسم هستند (۲). در جمعیت های مختلف شیوع تریکوموناس واژینالیس متفاوت است ولی بطور متوسط ۴۷-۵٪ زنان در جهان آلوده به این ارگانیسم هستند (۳و۲). این عفونت نه تنها میتواند سبب درجات متفاوتی از واژینیت شود بلکه میتواند سبب نازائی، زایمان زودرس، پارگی زودرس کیسه آمنیون و تولد نوزاد با وزن کم شود (۴). همچنین احتمال ایجاد و توسعه سرطان مهاجم گردن رحم و شش برابر شدن احتمال آلودگی با ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) را نیز به این ارگانیسم نسبت داده اند (۴و۲). بر اساس آخرین دستورالعمل های اعلام شده بررسی گستره مرطوب Wet mount ترشحات واژینال هنوز اولین راه تشخیصی است و در بیمارانی که از لحاظ بالینی مشکوک به وجود این ارگانیسم هستند ولی در بررسی میکروسکوپی Wet mount ارگانیسمی مشاهده نمی شود کشت ترشحات و یا روش تکثیر و تقویت اسید های نوکلئیک Nucleic acid amplification tests (NAATs) توصیه می شود (۵). سیستم ایمنی مخاطی اولین سد و مرحله دفاعی در برابر ارگانیسم های بیماری زا در دستگاه ادراری تناسلی زنان است (۶). سیستم ایمنی هومورال و سلولی هر دو در این سد دفاعی دخیل هستند. تحریک فعالیت لنفوسیت ها و تولید سایتوکین، اثرات سایتوتوکسیک و در معرض

* مسئول مقاله:
آدرس: تهران، بیمارستان ولی عصر (عج) مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، تلفن: ۶۱۱۹۲۳۳۷-۰۲۱
e-mail:Dr_p_abdollahi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.2.10.7]

قرار دادن آنتی ژن های ورودی به سیستم ایمنی هومورال و در نتیجه تولید آنتی بادی از جمله فعالیت های سیستم ایمنی در این مرحله است. شواهد کمی از چگونگی پاسخ ایمنی و حفاظت بدن در برابر عفونت ناشی از تریکوموناس واژینالیس در دسترس است. نوتروفیل ها نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن داشته و سلول التهابی غالب در ترشحات واژینال در فرد آلوده به تریکوموناس واژینالیس می باشد. براساس آخرین تئوری ها لیزات مترشحه از تریکوموناس واژینالیس ممکن است مانع از آپوپتوز نوتروفیل ها در بافت و در نتیجه کاهش عملکرد سیستم ایمنی در مقابله با این ارگانیسم شود (۷). با توجه به ابهاماتی که در چگونگی پاسخ سیستم ایمنی به این عفونت وجود دارد این مطالعه به منظور بررسی پاسخ سیستم ایمنی سلولی به عفونت ناشی از تریکوموناس واژینالیس از طریق ارزیابی تعداد لنفوسیت های CD3 و CD4 مثبت و سایتوکین IL10 در بیماران آلوده به این عفونت در مقایسه با گروه کنترل انجام شد.

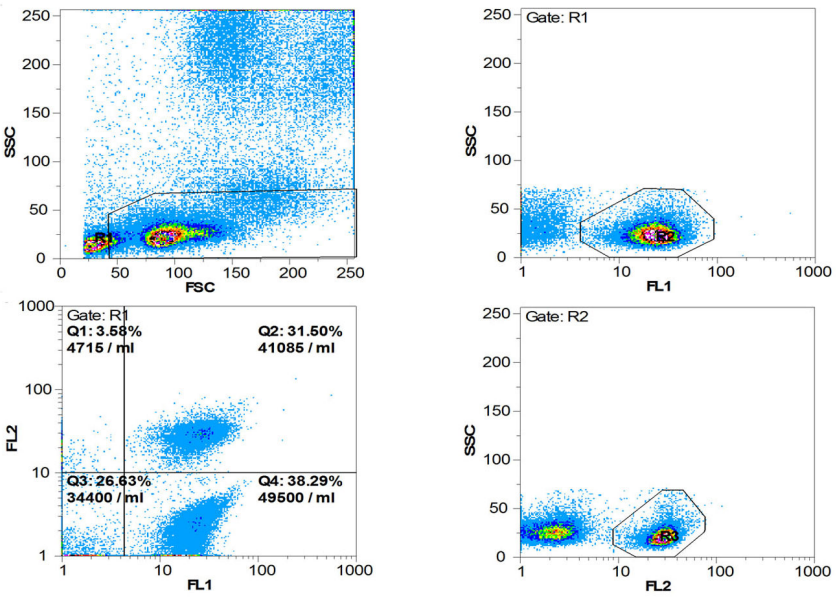
مواد و روشها

این مطالعه مقطعی بر روی ۶۵ زن در سنین باروری که بطور سرپائی به درمانگاه زنان در سال ۱۳۸۸ مراجعه نموده و دارای علائم بالینی (ترشحات واژینال، سوزش ادرار و مقاربت دردناک بودند، انجام شد. برای این افراد (کشت ترشحات از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس در آزمایشگاه ولی عصرعج) انجام شد و ۲۵ نفر که از لحاظ علائم آزمایشگاهی هم مثبت بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص آزمایشگاهی براساس دستورالعمل های CLSI انجام گرفت (۳). به تعداد بیماران با کشت مثبت، ۲۵ نفر از زنانی که از لحاظ سنی و شرائط اقتصادی – اجتماعی زندگی مشابه گروه بیماران بودند، بعنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. مراجعه کنندگانی که سابقه هر گونه نقص ایمنی و یا بدخیمی و یا عفونت هم زمان دیگری داشتند و یا باردار بودند، از مطالعه خارج شدند. به بیماران در مورد اهداف تحقیق توضیح داده شد. از بیماران و گروه کنترل خون حاوی ضد انعقاد جهت انجام فلوسایتومتری و لخته جهت انجام الایزا گرفته شد. تعداد لنفوسیت های CD3-CD4 مثبت با استفاده ازکیت های Dual-colour Reagent, Dako-Denmark A/S و دستگاه فلوسایتومتری PARTEC, PAS -Germany اندازه گیری شد (اساس فلوسایتومتری برمبنای تابش نور لیزر به ماده فلورسنت متصل به آنتی بادی ضد مارکرهای سطحی است). سایتوکین IL10 به روش ELISA و با استفاده از کیت DRG Instruments GmbH , Germany اندازه گیری شد. از آنجائی که این بیماران همراه با فلور طبیعی و یا سایر آلودگی ها بودند، حد نصاب cut-off value میزان درصد لنفوسیت ها و غلظت سایتوکین براساس مطالعات قبلی محاسبه شد (۶).

سپس با استفاده از تست های آماری Non parametric Kolmogrov-Smirnov و T-Test و Man-Whitney رابطه متغیرهای کیفی و با استفاده از واریانس و SD و Mean متغیرهای کمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از ۶۵ زن مورد مطالعه ۲۵ نفر (۳۸/۵٪) از نظر آزمایشگاهی (کشت ترشحات واژینال) به تریکوموناس واژینالیس آلوده بودند. ۷ نفر (۲۸٪) از این ۲۵ نفر همزمان کاندیدا و گاردنلا واژینالیس، ۶ نفر (۲۴٪) ایشرشیاکلی و استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک گروه B (استرپتوکوک آگالاکتیه) و لاکتوباسیل داشتند و در ۱۲ نفر (۴۸٪) باقیمانده تریکوموناس واژینالیس همراه فلور نرمال واژن مشاهده گردید. درصد لنفوسیت های T (سلول های CD3 مثبت) بطور مشخص در زنان آلوده به عفونت تریکوموناس واژینالیس (۷۹/۷۵±۰/۷٪) نسبت به گروه کنترل (۵۹/۹۵±۱۰٪) بالاتر بود ($p<۰/۰۰۰۱$). لنفوسیت های T کمک کننده (سلول های CD4 مثبت) نیز بطور معنی داری در زنان آلوده به عفونت تریکوموناس واژینالیس (۶۷/۹۴±۰/۹۶٪) نسبت به گروه کنترل (۳۲/۵۲±۰/۹۳٪) بالاتر بود ($p<۰/۰۰۰۱$) (تصویر شماره ۱). همچنین تفاوت معنی داری بین سطح سرمی IL10 در گروه بیمار (۱۱۹±۴۲٪ pg/ml) و گروه کنترل (۱/۰۲±۰/۱۴٪pg/ml) مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$).



تصویر ۱. جمعیت افزایش یافته لنفویست های CD3 و CD4 مثبت

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.2.10.7]

بحث و نتیجه گیری

مطالعه یک افزایش معنی دار در غلظت IL10 سرم و سلولهای CD3 و CD4 مثبت در خون محیطی زنان مبتلا به عفونت تریکوموناس واژینالیس را نشان داد که نشانه تحریک و فعال شدن ایمنی سلولی طی این عفونت است. تریکومونیازیس یکی از شایعترین بیماریهای منتقله از راه جنسی (STD) بوده که میتواند سبب ناتوانی های قابل توجه ای در بیماران آلوده شود (۲). شیوع این بیماری در کشورهای مختلف متفاوت است و ممکن است خصوصیات فرهنگی، اجتماعی جوامع در تفاوت این فراوانی در کشورها مؤثر باشد (۴).

در افرادی که شیمی درمانی انجام می دهند، بروز این عفونت افزایش می یابد که میتواند نشاندهنده نقش نقص سیستم ایمنی در ایجاد این آلودگی را باشد (۷). فراوانی عفونت تریکومونازیس واژینالیس در مطالعه حاضر ۳۸/۵٪ بود که نسبت به مطالعات سایر کشورها بالاتر بود (۸). ازدیاد فراوانی این ارگانیسم ممکن است ناشی از فقدان یک روش مؤثر و ایمن در جلوگیری از این عفونت، عوارض جانبی و عدم پاسخ درمانی به داروی مترونیدازول و پیدایش گونه های مقاوم درکشور ما باشد. که لزوم استفاده از روشهای جدید در کنترل این عفونت همچون تولید واکسن را ضروری می نماید. یکی دیگر از علل ازدیاد فراوانی این عفونت در این مطالعه ممکن است سطح اقتصادی- اجتماعی و فرهنگی بیماران حاضر در مطالعه باشد. همچنین استفاده از کاندوم جهت جلوگیری از بیماری HIV و مترونیدازول برای واژینوزهای باکتریال در سالهای اخیر نقش زیادی در کاهش بروز این عفونت نداشته است (۹). پاسخ ایمنی به این عفونت بصورت ترشح آنتی بادی اختصاصی به داخل ترشحات واژن و تولید آنتی بادی (IgM, G) در سرم در مطالعات قبلی شرح داده شده است (۱۰). همچنین در مورد رابطه بین حضور آنتی بادی موضعی و تعداد کم پارازیت در محل عفونت هم در مطالعات قبلی شرح داده شده است (۱۱). به کموتاکسی نوتروفیلی (۱۳و۱۲)، فاگوسیتوز (۱۴)، تولید فاکتور محرکه نوتروفیل ها توسط تریکوموناس واژینالیس (۱۵) و تولید IL8 توسط نوتروفیلها (۱۶) هم در مطالعات قبلی اشاره شده است. عفونت مزمن با این پارازیت شایع است و ایمنی به عفونت مجدد با این ارگانیسم به ندرت دیده شده است (۱۷).

در مطالعه حاضر افزایش معنی دار سلولهای CD3 و CD4 مثبت در خون محیطی زنان مبتلا به عفونت تریکوموناس واژینالیس نسبت به زنان سالم گروه کنترل مشاهده شد. نتایج حاضر مشابه نتایجی است که Paintlia و همکاران گرفتند که در مطالعه ایشان تریکوموناس واژینالیس سبب افزایش معنی دار در شمارش کل لنفوسیت های T به خصوص سلولهای CD4 مثبت در موش های آلوده شده بود، همچنین نسبت سلولهای $CD4^{+}/CD3^{+}$ هم بطور معنی داری در گروه واجد عفونت افزایش یافته بود (۱۱). در بیماران با عفونت حاد تریکوموناس واژینالیس آنزیم آدنوزین د-آمیناز (ADA) که برای بلوغ لنفوسیت های T , B لازم و حیاتی است، نیز افزایش می یابد (۱۸) که این خود می تواند نشانه فعالیت ایمنی سلولی در این عفونت باشد.

لنفوسیت های بیمارانی که مبتلا به تریکومونیازیس فعال هستند اگر در معرض ترشحات حاوی تریکوموناس واژینالیس قرار گیرند، یک پاسخ پرولیفراتیو را از خود نشان میدهند که این نشاندهنده وجود یک واکنش افزایش حساسیت تأخیری (نوع از فعالیت ایمنی سلولی) در عفونتهای تریکومونیازیس است (۱۹). افزایش سلول های CD4 مثبت شاید دلیل محدود شدن تریکوموناس واژینالیس در سطوح مخاطی مناطق آلوده به آن باشد. نتایج مطالعه حاضر همچنین نشاندهنده ازدیاد معنی دار غلظت IL10 در سرم بیماران آلوده به تریکوموناس واژینالیس می باشد که IL10 شاید سبب تولید و ترشح آنتی بادی در این عفونت میشود. از این امر میتوان در تهیه و تولید واکسن جهت این عفونت استفاده نمود. بطور طبیعی IL10 توسط انواع مختلفی از سلولها همچون لنفوسیت های Th2، لنفوسیت های B و ماکروفاژها ترشح می شود. IL10 همچنین ساخته شدن مواد التهابی (مونوگین ها) توسط ماکروفاژها را مهار می کند (۲۱).

افزایش معنی دار غلظت IL10 سرم و سلولهای CD3 و CD4 مثبت در خون محیطی زنان مبتلا به عفونت تریکوموناس واژینالیس نشانه تحریک و فعال شدن ایمنی سلولی طی این عفونت است. پیشنهاد می گردد در مطالعات دیگری جنبه های دیگر ایمنی سلولی مانند ارزیابی عملکرد سلولی به روش LTT و تعیین درصد سلول هایTCD8 و اندازه گیری همزمان سایتوکین های IL4 وIFNα با IL10 انجام پذیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کارکنان آزمایشگاه ولی عصرعج که در انجام این مطالعه ما را یاری دادند کمال تشکر را داریم.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.2.10.7]

Evaluation of CD3 and CD4 Positive Lymphocytes in Trichomonas Vaginalis Infection

A. Abdollahi (MD) [1*], F. Mohammadzadeh (MD) [2]

1. Department of Pathology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Gynecology & Obstetrics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci;13(2); Mar 2011

Received: Apr 20th 2010, Revised: Jun 2nd 2010, Accepted: Aug 4th 2010.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Trichomonas Vaginalis is the most prevalent nonviral agent that causes sexually transmitted disease (STD) in human. This organism causes vaginitis, infertility, preterm labour, premature rupture of membrane and low birth weight. This study was carried out to study the cellular immunity system's response to this infection through evaluation of CD3 and CD4 positive lymphocytes and cytokine interleukin 10 in the patients contaminated with this infection.

METHODS: A cross-sectional study was conducted to compare 65 women having developed clinical symptoms of trichomonasis with control group in terms of age as well as social and economic conditions. They were compared in terms of the number of CD3 and CD4 lymphocytes and IL10 cytokine concentration in their blood.

FINDINGS: Of 65 women studied, 25 (38.5%) were diagnosed with trichomonas vaginalis infection in the lab scale (vaginal discharge culture). More specifically, the percentage of T lymphocytes (CD3 positive cells) in infected women (79.75±0.7%) was (59.95±10%) higher than in the control group ($p\leq0.0001$). Auxiliary T lymphocytes (CD4 positive cells) in the infected women (67.94±0.96%) were also meaningfully (32.52±0.93%) higher than in the control group ($p\leq0.0001$). Moreover, a meaningful difference was observed in the IL10 serum level between the patient group (119 ±42% pg/ml) and the control group (1.02±0.14% pg/ml). ($p\leq0.001$)

CONCLUSION: Based on the results of this study, cellular immunity plays a significant role in controlling trichomonas vaginalis infections. Therefore, another study with more samples and multi centers for confirmation are strongly recommended.

KEY WORDS: *CD4 positive lymphocyte, CD3 positive lymphocyte, Interleukin-10, Trichomona vaginalis.*

*Corresponding Author;
Address: Valiasr Hospital, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran, Iran
Tel: +98 21 61192337
E-mail: Dr_p_abdollahi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.2.10.7]

References

1. Garcia AF, Chang TH, Benchimol M, Klumpp DJ, Lehker MW, Alderete JF. Iron and contact with host cells induce expression of adhesins on surface of Trichomonas vaginalis. Mol Microbiol 2003;47(5):1207-24.
2. Valadkhani Z. Role of pH on adhesion of trichomonas vaginalis isolated from symptomatic and asymptomatic women to vaginal epithelial cells in vitro. Iran J Med Sci 2004;29(3):134-9.
3. Swygard H, Seña AC, Hobbs MM, Cohen MS. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. Sex Transm Infect 2004;80(2):91-5.
4. Yazar S, Daĝcı H, Aksoy Ü, et al. Frequency of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Izmir, Turkey. Inönü Üniversitesi Tip Fakültesi Dergisi 2002;9(3):159-61.
5. Domeika M, Zhurauskaya L, Savicheva A, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis of Trichomoniasis in East European countries. J Eur Acad Dermatol Venereol 2010;24(10):1125-34.
6. Underdown BJ, Schiff JM. Immunoglobulin A: strategic defense initiative at the mucosal surface. Annu Rev Immunol 1986;4:389-417.
7. Song HO, Lim YS, Moon SJ, Ahn MH, Ryu JS. Delayed human neutrophil apoptosis by Trichomonas vaginalis lysate. Korean J Parasitol 2010;48(1):1-7.
8. Schmid GP, Narcisi EM, Mosure D, Secor WE, Higgins J, Moreno H. Prevalence on metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis in a gynecology clinic. J Reprod Med 2001;46(6):545-9.
9. Rosenberg MJ, Davidson AJ, Chen JH, Judson FN, Douglas JM. Barrier contraceptives and sexually transmitted diseases in women: a comparison of female-dependent methods and condoms. Am J Public Health 1992;82(5):669-74.
10. Street DA, Taylor-Robinson D, Ackers JP, Hanna NF, McMillan A. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody to Trichomonas vaginalis in sera and vaginal secretions. Br J Vener Dis 1982;58(5):330-3.
11. Paintlia MK, Kaur S, Gupta NK, Ganguly NK, Mahajan RC, Malla N. Specific IgA response, T-cell subtype and cytokine profile in experimental intravaginal trichomoniasis. Parasitol Res 2002;88(4):338-43.
12. Mason PR, Forman L. In vitro attraction of polymorphonuclear leukocytes by Trichomonas vaginalis. J Parasitol 1980;66(6):888-92.
13. Mason PR, Forman L. Polymorphonuclear cell chemotaxis to secretions of pathogenic and nonpathogenic Trichomonas vaginalis. J Parasitol 1982;68(3):457-62.
14. Rein MF, Sullivan JA, Mandell GL. Trichomonacidal activity of human polymorphonuclear neutrophils: killing by disruption and fragmentation. J Infect Dis 1980;142(4):575-85.
15. Shaio MF, Lin PR, Lee CS, Hou SC, Tang P, Yang KD. A novel neutrophil-activating factor released by Trichomonas vaginalis. Infect Immun 1992;60(11):4475-82.
16. Ryu JS, Kang JH, Jung SY, et al. Production of interleukin-8 by human neutrophils stimulated with Trichomonas vaginalis. Infect Immun 2004;72(3):1326-32.
17. Abraham MC, Desjardins M, Filion LG, Garber GE. Inducible immunity in Trichomonas vaginalis in a mouse model of vaginal infection. Infect Immun 1996;64(9):3571-5.
18. Roitt I, Brostoff J, Male, D. Immunology. 6th ed. London, Mosby 2001; pp: 325-37.
19. Mason PR, Patterson BA. Proliferative response of human lymphocytes to secretory and cellular antigens of Trichomonas vaginalis. J Parasitol 1985;71(3):265-8.
20. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. Annu Rev Immunol 1993; 11:165-90.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.2.10.7]