

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ



وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی ایلام

معاونت تحقیقات و فناوری

موضوع

بررسی سرم مثبت توکسوپلاسموز و استروژن - پروژسترن در زنان مبتلا به توده های سینه در غرب کشور

سال 1390-1391

مجریان طرح

چکیده

هدف: توکسوپلازما عفونت انگلی شایع انسان و حیوانات است. معمولاً انسان با خوردن گوشت کم پخته شده یا خام مبتلا به توکسوپلازما می شود. این انگل در داخل بدن فعالیت های سلولی را تحت تاثیر خود قرار می دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی سرم مثبت توکسوپلازما سموز و استروژن - پروژسترون در زنان مبتلا به توده های سینه در شهرستان ایلام و کرمانشاه سال 1391-1390 صورت گرفت.

مواد و روش: این مطالعه به صورت مورد-شاهدی بر روی زنان مراجعه کننده به مرکز درمانی بیمارستان های شهرستان ایلام و کرمانشاه در سال 1390 صورت گرفت. 60 نفر بیمار مبتلا به سرطان سینه به عنوان گروه مورد و 60 نفر سالم به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. این 120 نفر از نظر سطح سرمی IgG, IgM - استروژن و پروژسترون مورد ارزیابی به روش الایزا قرار گرفتند. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS16 و به کمک آزمون T مستقل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: ارتباط معنی داری بین توکسوپلازما و سرطان سینه به دست آمد. $P < 0/01$. گروه مورد از سطح استروژن بالاتری نسبت به گروه کنترل برخوردار بود. ($P < 0/01$) بین پروژسترون و توکسوپلازما ارتباط معنی داری یافت نشد.

عنوان

خلاصه فارسی

خلاصه انگلیسی

فصل اول: مقدمه

مقدمه

بخش اول: بیان مساله و کلیات

1-1-1 تعریف بیماری

1-2-1-1 تاریخچه بیماری در ایران

وجهان

3-1-1 طبقه بندی

4-1-1 مرفولوژی

5-1-1 چرخه زندگی

1-5-1-1 میزبان های انگل

6-1-1 راههای انتقال

7-1-1 آنتی ژنهای توکسوپلازما گوندی

8-1-1 ایمن سازی

9-1-1 چهره بالینی

10-1-1 بیماری زای در انسان

11-1-1 اپیدیمیولوژی

12-1-1 پیشگیری و کنترل

13-1-1 درمان

14-1-1 تشخیص

الف) روش مستقیم جستجوی انگل

ب) تست IFA-IgM ارمینگتون

ج) متیلن بلودای تست MBDT یا تست سابین فیلدمن

د) آزمایش ثبوت عناصر مکمل CFT

تشخیص توکسوپلاسموز در حالت و موارد گوناگون در انسان

بخش دوم: مروری بر مطالعات انجام شده

1-2-1 توکسوپلاسموزیس در بیماران با نقص ایمنی

مطالعات در ایران

مطالعات در جهان

بخش سوم: فرضیات و سوالات

بخش چهارم: اهداف طرح

بخش پنجم: واژنامه و اصطلاحات فنی

فصل دوم: روش مطالعه و اجرا

روش مطالعه و اجرا

1-2 نوع مطالعه

2-2 جامعه مورد مطالعه

3-2 ملاحظات اخلاقی

4-2 مشکلات و محدودیت ها

5-2 نحوه برخورد

6-2 متغیرهای مطالعه

7-2 انتخاب بیماران و گروه کنترل

8-2 روش انجام تست

9-2 نحوه محاسبه و روش های آماری به کاررفته

فصل سوم: نتایج

نتایج

توضیحات جداول

نتایج بررسی درگروه های کنترل

جداول

نمودارها

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

بحث و نتیجه گیری

پیشنهادات

منابع علمی

فصل اول



بیان مساله و کلیات :

توکسوپلازما گوندی، انگل روده ای در گربه ها با طیف وسیعی از میزبانهای واسط و یک انگل رایج در انسان است. انتقال این انگل به انسان معمولاً با خوردن کیستهای توکسوپلازما بعد از دفع توسط گربه یا از طریق خوردن گوشت خام و خوب پخته نشده صورت می گیرد. (1) توکسوپلاسموز در بالغین سالم به صورت عفونت مزمن و در مبتلایان به نقص سیستم ایمنی به صورت بیماری حاد و کشنده ظاهر می نماید بطوریکه در آمریکا مرگ و 10 درصد در اروپا تا ۳۰٪ افراد مبتلا به ایدز ناشی از این بیماری است (۲). اهمیت ویژه این بیماری در زنان باردار می باشد که باعث سقط جنین و یا صدمات و ضایعات شدید مغزی و چشمی در جنین و نوزاد می گردد. این ضایعات می تواند شامل میکروسفالی، هیدروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی، کوریورتینیت که متعاقب آن عوارضی مانند عقب ماندگی ذهنی، ناشنوایی، نابینایی و غیره ایجاد می شود باشد (۳). همچنین مطالعات انجام شده ارتباط بین میزان بالای آنتی بادی علیه توکسوپلازما گوندی و افزایش میزان خطر ابتلا به سرطان رکتال، سرطان سینه، سرطان معده را نشان می دهد (4)

در بیماران با نقص ایمنی به خصوص در بیماران سرطانی میزان تیتراژ آنتی بادی توکسوپلازما بالا می باشد این امر به ممکن است مربوط به این باشد که این بیماران دچار نقص ایمنی هستند. توکسوپلازما در بعضی از بدخیمی ها مانند لمفو، لوسیمی های حاد و مزمن و میلوما هم دیده می شود. در مطالعاتی که اخیراً انجام شده نشان می دهند که آنتی بادی ضد توکسوپلازما در زنان مبتلا به سرطان سینه و تخمدان دیده می شود. البته مکانیسمی که توکسوپلازما می تواند باعث این امر شود ناشناخته است ولی توکسوپلاسموزیس زمینه را برای فعالیت تومور فراهم می کند. (5 و 6 و 7)

سرطان سینه یکی از شایع ترین سرطانها در میان زنان ایرانی محسوب می شود و سالانه 7 هزار زن ایرانی به این سرطان مبتلا می شوند لذا با توجه به این که 70 درصد این بیماران بالای 5 سال عمر می کنند اکنون حدود 70 هزار زن مبتلا به

این بیماری در کشور داریم و این آمار کمی نیست! بویژه آن که سن ابتلا به سرطان سینه در ایران 5 سال پایین تر از سطح جهانی است. با توجه به مطالعات انجام شده و ارتباطی که بین سرطان سینه و آنتی بادی ضد توکسوپلازما وجود دارد و از طرفی با توجه به این امر که تا به حال این بررسی بر روی زنان مبتلا به سرطان صورت نگرفته است ضرورت این طرح مطرح گردید. لذا این مطالعه بر روی زنان مبتلا به انواع توده های سینه صورت خواهد گرفت .

بخش اول کلیات

1-1-1: تعریف بیماری

این بیماری توسط تک یاخته ای درون سلولی بنام توکسوپلازما گوندی ای ایجاد می شود. این تک یاخته قدرت آلوده کردن اکثر مهره داران خون گرم را دارد و بر اساس مطالعات سرم شناسی تخمین زده می شود که یک سوم جمعیت بالغ بیشتر کشورهای جهان به این انگل آلوده باشند با اینکه آلودگی به توکسوپلازما در دنیا انتشار گسترده ای دارد ولی میزان شیوع توکسوپلازما همزمان با علائم بالینی در مقایسه با میزان بالای آلودگی اندک است. با وجود این، عفونت توکسوپلازمایی به شکل نهفته و بدون علائم یا همراه با نشانه های بالینی در پزشکی و دامپزشکی از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا در آلودگی های بار اول نزد زنان باردار ممکن است انگل از جفت عبور کرده و به جنین منتقل شود و موجب بیماری مادرزادی همراه ضایعات شدید دستگاه عصب مرکزی و چشم گردد و گاهی باعث مرگ و یا سقط جنین می شود (8)

همچنین عفونت های مزمن و یا حاد این تک یاخته می تواند در بیماری هایی که سیستم ایمنی آنها دچار اختلال است، به ویژه مبتلایان به ایدز آسیب های زیادی به بار آورد که اگر به موقع درمان نشود منجر به مرگ می شود. عفونت های توکسوپلازمایی در حیوانات نیز مسیری مشابه بیماری انسان دارد و در بسیاری از آنها بویژه گوسفند، بز و خوک سبب سقط جنین، به دنیا آوردن نوزاد زودرس و مرگ می شود و از این راه زیانهای زیادی به اقتصاد وارد می کند (8)

شاخه آپی کمپلسا: (phylum Apicomplexa)

اعضای این گروه دارای چرخه زندگی پیچیده با تناوب تکثیر جنسی و غیرجنسی در یک یا دو میزبان مختلف هستند اکثر این انگل ها داخل سلولی اجباری می باشند. از خصوصیات مرفولوژی آنها داشتن مجموعه راسی خیلی ریز بنام Apical complex است که با میکروسکپ الکترونی قابل رویت میباشد (27)

این انگل ها معمولا یک هسته دارند و فاقد تاژک و مژه هستند به استثناء میکروگامت های تاژکدار، در مرحله جنسی سینگامی وجود دارد و دارای کیست می باشند و تمام آنها زندگی انگلی دارند .

1-1-2-1 تاریخچه:

تاریخچه بیماری در جهان:

توکسوپلازما اولین بار در سال 1908 در جوندگان بنام کنتوکتیلوس گوندی (*cetenodactylus gondii*) در انستیتو پاستور تونس شناسایی شد.

این تک یاخته در گوشت خواران - حشره خواران - جوندگان و خوک ها و پیرماتها و دیگر پستانداران، پرندگان و اغلب در هر نقطه از جهان یافت می شود توکسوپلازما به عنوان یک عامل بیماری زا برای انسان می تواند جای تحقیق زیادی داشته باشد توکسوپلازما گوندی در میانه سال 1980 به تک یاخته های که به عنوان یک فاکتور خطر برای افراد بانقص ایمنی بودند پیوست. 26

در سائوپولوی برزیل انگل را در بافت های یک خرگوش آزمایشگاهی مشاهده کردند که پس از فلج شدن مرده بود. مطالعات بعدی آلودگی به این تک یاخته را در انواع زیادی از حیوانات اهلی و وحشی ثابت کرد، ولی عفونت انسان در سال 1923 بوسیله چشم پزشک مقیم پراگ بنام یانکودر مجله پزشکان چک (The Journal of Czech physicians 1923) گزارش گردید. 28

توکسوپلازما سموزا کتسابی نخستین بار توسط پینکرتین و واین من در سال 1940 پس از جدا کردن از ضایعات نکروتیک اندام های بیماری از پرو گزارش کردند که از یک عفونت سیستمیک همراه با لنف آدنوپاتی مرده بود. در سال

1941 سیبین (sabin) آنسفالیت توکسوپلاسمایی را از کودکان ایالات متحده گزارش کرد. پس از آن در زمینه توکسوپلاسمیا و توکسوپلاسموز در انسان و حیوان مطالعات زیادی انجام گرفت و تا سال 1956 اطلاعات جامعی درباره آن جمع آوری گردید. اما سیر تکاملی این انگل تا مدتی حدود 60 سال پس از شناسایی آن به صورت یک معما ناشناخته مانده بود و از نظر طبقه بندی در تک یاخته شناسی جای مشخصی نداشت. مطالعاتی که منتهی به روشن شدن چرخه زندگی انگل گردید در سال 1965 بوسیله هیجی سن (Hechison) انگل شناس انگلیسی روی گربه آغاز و بوسیله محققین زیادی پی گیری شد و در سال 1960 مشخص شد که توکسوپلاسمیا یک کوکسیدیای روده گربه همانند جنس ایزوسپورا است. 30-31

د- توکسوپلاسمیا در افرادی که اختلال سیستم ایمنی دارند:

توکسوپلاسموز که در میزبان های طبیعی یک عفونت معمولی و در بیشتر موارد بدون علایم بالینی است ممکن است به صورت یک عفونت حاد سیستمیک کشنده درآید. این شکل از بیماری زمانی برومی کند که مکانیزم سیستم ایمنی نارسا و مختل گردد. 71

در این حال عفونت های مزمن نیز فعال شده و منتهی به بیماری حاد و منتشر می شود. بیمارانی که به جهت ابتلا به نوپلاسم سیستم لنفاوی (بخصوص بیماری هوچکین)، بدخیمی های خونی یا برای جلوگیری از رد پیوند اعضا تحت درمان با داروهای سرکوب کننده ایمنی قرار می گیرند و به ویژه مبتلایان به ایدز بیشتر در معرض ابتلا به توکسوپلاسموز حاد هستند. تمام نشانه هایی که در توکسوپلاسموز حاد دیده می شود، ممکن است در این بیماری مشاهده شود. تب، آنسفالیت، مننژو آنسفالیت، کوریورینیت، التهاب عضلات ارادی، پنومونی، بزرگی کبد و طحال و میوکار دیت زیاد دیده می شود. در مبتلایان به ایدز فعال شدن عفونت نهفته از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا اکثر آنها دچار آنسفالیت توکسوپلاسمایی کشنده می شوند. در این بیماری توکسوپلاسمها بیشتر در مغز متمرکز شده ایجاد ضایعه می نمایند. ضایعات گاهی آنقدر وسیع هستند که در اسکن توموگرافی کامپیوتری (CT. scan) بخوبی مشخص هستند. 72

در بیشتر موارد زمانی که شمارش سلول های CD4+ به کمتر از 100 در هر میلی متر مکعب خون برسد ورم مغز پیش می آید. علایم و نشانه های آنسفالیت مانند سردرد، اختلالات شناسایی و جهت یابی و اغما حداقل در 50 درصد بیماران دیده

می شود. سیربیماری ممکن است سریع باشد و بیمار را طی چند روز پس از بروز علائم از پای در آورد، یا اینکه به صورت تحت حاد هفته ها طول بکشد. در بیش از 90 درصد بیماران ایدزی که به علت توکسوپلاسموز از پای در می آیند آنسفالیت دیده می شود. 73

1-1-11 اپیدمیولوژی:

توکسوپلاسموز یک بیماری جهانی است که حداقل یک سوم مردم جهان دارای پادتن ضد توکسوپلاسم هستند. آلودگی در جاهای گرم و مرطوب شیوع بیشتری دارد و در مناطق سرد و خشک به حداقل می رسد. این بیماری در طیف وسیعی از پستانداران گوشتخوار و علف خوارها و نیز در پرندگان دیده می شود بالاترین میزان شیوع با 93 درصد آلودگی در زنان پارسی که تمایل به مصرف گوشت نیم پزویا خام دارند دیده می شود. حداقل 50 درصد کودکان این زنان که در دوره نوزادی با مصرف عصاره به دست آمده از گوشت تغذیه می شوند نیز مبتلا به عفونت بوده اند. در یک طرح ملی در ایالت متحده شیوع سرمی توکسوپلاسموزیس را در خوک های پرورشی 42 درصد و در خوک های آماده برای خرید و فروش 23 درصد بود. 79

بخش دوم

مروری بر مطالعات انجام شده

مطالعات انجام شده در ایران:

در سال 1384 مطالعه ای در بین دختران دانشجوی دانشگاه علوم پزشکی کرمان توسط حاج غنی صورت گرفت در مجموع 93 نفر (16.9٪) دارای آنتی بادی ضد توکسوپلاسم بودند که بیشترین شیوع بین دختران دانشجویانی بود که محل سکونت آنها استان های تهران (35.5)، خراسان (17.4)، و کرمان (12.7) بود.

در سال 1370 نیز در بررسی که توسط آسمار و همکاران صورت گرفت از 1000 نمونه سرم (303) مرد و (697) زن که به روش IFA مورد بررسی قرار گرفتند 69٪ در ایران دارای آنتی بادی مثبت بودند که در 43 درصد عیار آنتی بادی از یک چهارم صدم و در 26٪ آنها عیار آنتی بادی بالاتر از یک چهارم بود.

براساس این تحقیقات به عمل آمده توسط آسمارمیزان آلودگی به این انگل در ایران 50 درصد و انسیدانس آن 19 درصد بوده است .

معلولین ذهنی یعنی افرادی که به لحاظ ویژه گی های خاص جسمانی ،ذهنی و شرایط نگهداری با افراد دیگر جامعه متفاوت هستند، این افراد به طرق مختلف می توانند آلوده شوند دسته ای ممکن است به صورت مادرزادی آلوده به این انگل شده و حتی علت عقب افتاده گی آنها توکسوپلاسموزیس مادرزادی باشد. 93

به همین خاطر مطالعه ای در سال 1381 توسط ابوالقاسم عجمی و همکاران بر روی 336 نفر از معلولین مراکز توانبخشی استان مازندران صورت گرفت میزان کل آلودگی 77.4 درصد در مجموع بود آلودگی در بین پسران 73.3 درصد و در بین دختران 81.1 درصد گزارش داده شد. 94

مطالعات انجام شده در ایران در نقاط مختلف ایران با توجه به شرایط اقلیمی و جغرافیایی در نقاط مختلف فرق می کند بیشتر مطالعات از شیوع حدود یک سوم دخالت می کند. 95

در یک بررسی که در میان دختران دبیرستانی شهرستان جلفا انجام شد میزان شیوع آنتی بادی ضد توکسوپلاسم رادر بین 1000 نمونه خون %21/8 درصدا اعلام کردند. 96

در بررسی دیگر که در بین مراجعین به آزمایشگاه مرکز درمان ابن سینا انجام شد 16/8٪ دارای آنتی بادی ضد توکسوپلاسم بودند. در مجموع شیوع توکسوپلاسم در نقاط مختلف ایران متفاوت است به طوری که در نواحی جنوبی 26٪ در نواحی غربی 36/4٪ در نواحی شمال کشور 55/7٪ در نواحی جنوب غربی 49/6٪ و در نواحی مرکزی ایران 27/4٪ دارای آنتی بادی ضد توکسوپلاسم بودند. 97

بخش سوم:

اهداف اختصاصی طرح :

- 1- تعیین میانگین سطح آنتی بادی IgG در بیماران مبتلا به توده های سینه
- 2- تعیین میانگین سطح آنتی بادی IgG در گروه کنترل
- 3- تعیین میانگین سطح آنتی بادی Ig M در بیماران مبتلا به توده های سینه

- 4- تعیین میانگین سطح آنتی بادی IgM در گروه کنترل
- 5- تعیین میانگین سطح استروژن در بیماران مبتلا به توده های سینه
- 6- تعیین میانگین سطح استروژن در گروه کنترل
- 7- تعیین میانگین سطح پروژسترون در بیماران مبتلا به توده های سینه
- 8- تعیین میانگین سطح پروژسترون در گروه کنترل

1-7- اهداف کاربردی طرح:

بررسی ارتباط بین میزان آنتی بادی ضد توکسوپلازما و استروژن - پروژسترون در زنان مبتلا به توده های سینه و مقایسه با گروه کنترل

فرضیات و سوالات :

در این مطالعه با توجه به نوع مطالعه این سوالات و فرضیات مطرح شد.

فرضیات:

- 1- در زنان مبتلا به سرطان سینه سطح سرمی آنتی بادی ضد توکسوپلازما (IgG) بالاتر از گروه کنترل می باشد.
- 2- در زنان مبتلا به سرطان سینه سطح سرمی آنتی بادی ضد توکسوپلازما (IgM) بالاتر از گروه کنترل می باشد.
- 3- در زنان مبتلا به سرطان سینه سطح سرمی هورمون استروژن بالاتر از گروه کنترل می باشد.
- 4- در زنان مبتلا به سرطان سینه سطح سرمی هورمون پروژسترون بالاتر از گروه کنترل می باشد.

بخش چهارم :

اهداف طرح :

بررسی سرم مثبت توکسوپلازما و استروژن - پروژسترون در زنان مبتلا به توده های سینه
 در این بررسی که در بین 120 نفر از مراجعه کننده به بیمارستان های شهر ایلام و کرمانشاه انجام شد تعداد 60 نفر به عنوان گروه شاهد و 60 نفر به عنوان گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. هدف، بررسی اندازه گیری سطح IgG, IgM, استروژن و پروژسترون در بین مبتلایان به سرطان سینه و مقایسه با گروه کنترل می باشد.

فصل دوم:



روش مطالعه واجرا

2-1: نوع مطالعه

این مطالعه در بین زنان مبتلا به سرطان سینه صورت گرفت. وبه صورت مطالعه case-control انتخاب گردید

2-2: جامعه مورد مطالعه :

جامعه مورد انتخاب برای این مطالعه تعداد 60 نفر آلوده به سرطان سینه و 60 نفر غیرآلوده از بین زنان مراجعه کننده به بیمارستان های شهر ایلام و کرمانشاه انتخاب گردید

2-3: ملاحظات اخلاقی :

هزینه اضافی بر بیمار متحمل نشده و نتایج به صورت محرمانه باقی خواهد ماند نمونه اضافی از بیمار گرفته نخواهد شد.

2-4: مشکلات و محدودیت ها :

تهیه کیت های الایزا و مشکلات مالی

2-5: نحوه برخورد با آنها :

از هزینه شخصی پرداخت گردید

2-6: متغیر های مطالعه:

1- سن

2- جنس

2-7: انتخاب بیماران و گروه کنترل :

در این مطالعه برای بررسی سرولوژیکی میزان آنتی بادی توکسوپلازما و اندازه گیری سطح سرمی استروژن و پروژسترون - از مراجعه کننده بیمارستان های شهرستان ایلام و کرمانشاه استفاده شد .

نحوه نمونه گیری :

برای نمونه گیری ازمرآعه کنندگان به تعداد 120 نفرمجموعاً 120 میکروتیوب آماده گردید.:: طریقه گرفتن نمونه بعدازمرآعه افرآبه آزمایشگاه بیمارستان بعد ازخون گیری نمونه های خون به آزمایشگاه بیمارستان ارجاع داده شد نمونه های خون به مدت 15 دقیقه درحرارت 37درجه سانتی گراد نگهداری وسانتریفیوژگردید(2000دوربه مدت 10دقیقه)درانتخاب نمونه ها دقت می شد که همولیزیا لیپمیک نباشدچرا که تاثیر قابل ملاحظه ای درجواب ها دارد. بعد ازسانتریفیوژ سرم ها بدقت درمیکروتیوب ریخته شده وتازمان انجام آزمایش در 20-فریز می گردید وبرای آزمایش الایزا نگهداری می شد.

مواد استفاده شده ونحوه آماده سازی آنها :

کیت توکسوپلازما گوندی IgG کمپلمان ساخت شرکت پیشتازطب

1)مواد مصرفی کیت :

-پلیت 96-خانه ای حاوی چاهک های پوشش داده شده با آنتی ژنهای توکسوپلازما (Toxoplasma coated plate)

2-محلول رقیق کننده (sample Diluend) وویال هریک حاوی 50 میلی لیتر محلول جهت رقیق کردن نمونه ها

3-محلول آنزیم کنژوکه آماده مصرف (Enzyme conjougate) که یک ویال حاوی 12 میلی لیتر آنتی بادی ضد IgG انسانی متصل شده به آنزیم پراکسیداز

4-استاندارها (Standard set):هریک حاوی 1.5 میلی لیترمحلول استاندارد،شامل غلظت های (100-200-

0-10-50)IU/ML ازآنتی بادی ضدتوکسوپلازما ازنوع IgG،کالیبره شده درمقابل استانداردهای مربع WHO

5-محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-substrate):یک ویال حاوی 12 میلی لیتر تترامیتیل بنزیدین

وآب اکسیژنه (آماده برای مصرف)

6- محلول شستشو (wash Buffer) یک ویال 50 میلی لیتر محلول شستشوی غلیظ 20X دارای محلول بافر فسفات و 0.05% توئین جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، مقدار مورد نیاز با مقطر به نسبت 1 به 20 رقیق کردیم

7- محلول متوقف کننده (Stop solution): یک ویال حاوی 12 میلی لیتر اسیک کلریدریک یک نرمال

8- برچسب مخصوص پلیت

مواد مصرفی عمومی :

1- دستگاه الیزا ریدر که دارای فیلتر 450 نانومتر (در صورت امکان 630 نانومتر به عنوان فیلتر فرانس

2- سمپلر 10 و 100 میکرو لیتری دقیق

3- آب مقطر

4- لوله آزمایش متوسط

5- میکرو تیوب

2-8 روش انجام تست:

اساس تست IgG:

امروزه از روش های ایمنو فلورسانس و الیزا جهت تشخیص آنتی بادی از نوع IgG, IgM ضد توکسوپلاسمایی استفاده می شود از آنجا که آنتی بادی IgG ضد توکسوپلاسمای به طور معمول در کیت های مختلف دیده می شود برای تشخیص دقیق و درست عفونت با این انگل افزایش عیار آنتی بادی IgG در نمونه های سرمی که حداقل به فاصله 10 روز گرفته شده باشد و شناسایی IgM اختصاصی ضد توکسوپلاسمای در یک نمونه منفرد لازم است.

اساس آزمون در این کیت آزمودن ایمنونواسی با روش capture است و آنزیم HRP به عنوان نشانگر بکار می رود در حین اولین انکوباسیون، آنتی بادی anti-Toxoplasma IgG اگر وجود داشته باشد به Toxoplasma-Ag پوشش داده شده در داخل چاهک متصل می گردد.

مواد متصل نشده به وسیله شستشو برداشته می شوند در آنکوباسیون بعدی، دومین آنتی بادی (Anti-human IgG) کتزوکه (HRP) به کمپلکس Toxo-Ag-Ab متصل می شود. بعد از شستشوی دوباره محلول سوبسترا - رنگزا (TMG) در بیک بافر سوبسترا به چاهک ها اضافه می شود که شدت رنگ ایجاد شده مستقیماً با غلظت anti-Toxo-IgG در نمونه ها و استانداردها متناسب است .

روش انجام آزمایش

تمام مواد مصرفی داخل کیت را به دمای اتاق می رسانیم

1) چاهک را برای آزمایش آماده کرده

2- نمونه ها را با کمک محلول رقیق کننده نمونه به نسبت 10 به 10 رقیق کرده (10 میکرو لیتر نمونه را با یک میلی لیتر محلول رقیق کننده نمونه)

3- 10 میکرو لیتر از استانداردها و 100 میکرو لیتر از نمونه ها رقیق شده را به چاهک ها اضافه کردیم

4- چاهک ها را پوشانده توسط برجسب مخصوص پلیت ، چاهک ها را برای مدت 30 دقیقه در دمای اتاق (28- 22) درجه سانتی گراد انکوبه کردیم

5- محتویات چاهک ها را 5 بار با محلول شستشوی آماده مصرف شستشو دادیم در هر دفعه شستشو حدود 300 میکرو لیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نموده و در انتهای عملیات شستشو، چاهک ها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه نمگیر (یا دستمال کاغذی) کوبیده تا قطرات اضافی آب خارج شوند.

6- 100 میکرو لیتر از محلول آنزیم کتزوکه آماده مصرف را به داخل چاهک ها ریخته

7- بعد از پوشاندن چاهک ها توسط برجسب مخصوص پلیت ، چاهک ها را به مدت 30 دقیقه درجه حرارت اتاق (28- 22) درجه سانتی گراد انکوبه کردیم

8- محتویات چاهک هارا خالی کرده وچاهک هارا 5 بار با محلول شستشوی آماده مصرف شستشودادیم

9-100 میکرولیتر محلول رنگزا (chromogen-substrate) را به چاهک ها اضافه کرده

10- چاهک ها را به مدت 15 دقیقه در درجه حرارت اتاق در تاریکی انکوبه کرده

11- با اضافه کردن 100 میکرولیتر محلول متوقف کننده به هر یک از چاهک ها تا ادامه واکنش های آنزیمی متوقف

شود برای پخش جذب نوری هر چاهک از دستگاه الیزا ریدر با فیلتر 450 nm استفاده نموده و جذب نوری چاهک

هارا خوانده می توان از فیلتر نوری 630nm هم استفاده کرد.

محاسبه کیفی :

جهت محاسبه کیفی مقدار cut-off میانگین جذب نوری استاندارد 10/u/ml را به دست آورده

Cut-off value = mean OD of standard 10 IU/ML

برای تعیین جواب های مثبت و منفی ، مقدار ایندکس را از تقسیم جذب نوری نمودن ها بر مقدار CUT-OFF به دست

آورده

Cut-off = Index (col) = OD of sample cut-off value

بر اساس این فرمول مقادیر بالاتر از (1/1) مثبت و پایین تر از (0.9) منفی قلمداد می شوند. نمونه های که مقادیر ایندکس (0.9

و 1.1) می باشد مشکوک بوده. باید پس از مدتی با استفاده از سرم تازه مجددا آزمایش شوند.

کیت سنجش هورمون پروژسترون

محتویات کیت:

1- محلول آنزیم کنژوکه یک ویال 6 میلی لیتر

2- پروژسترون آنزیم 6ml/vial

3- پروژسترون بیوتین 6ml

5- محلول شستشو: یک ویال 50 میلی لیتر محلول شستشوی غلیظ X50

6- محلول رنگزای یک مرحله ای

7- محلول متوقف کننده

مقادیر مورد انتظار:

مقادیر نرمال در سرم افراد طبیعی که توسط تستهای مکرر به روش الیزا به دست آمده بقرار زیر می باشد.

زنان بالغ

Follicular phase: 15-1.40ng/ml

Luteal phase: 20-25 ng/ml

First trimester : 7.25-90ng/ml

Second trimester: 19.5-91ng/ml

Third trimester: 49-422ng/ml

زنان یانسه: 0.0-0.80

روش محاسبه :

در این روش با استفاده از رسم نمودار استاندارد که بر روی محور Xها غلظت های استاندارد و بر روی محور Yها جذب

نوری بیمار ها رسم نموده سپس با وصل کردن این نقاط به هم نمودار استاندارد رسم شد و سپس مقدار غلظت پروژسترون

از روی این نقاط به دست آمد .

کیت سنجش هورمون استروژن:

محتویات کیت:

1- محلول آنزیم کنژوکه یک ویال 6 میلی لیتر

2- استرادیول آنزیم 6ml/vial

3- استرادیول بیوتین 6ml

5- محلول شستشو: یک ویال 50 میلی لیتر محلول شستشوی غلیظ X50

6- محلول رنگزای یک مرحله ای

7- محلول متوقف کننده

مقادیر مورد انتظار:

<i>females</i>	<i>median</i>	<i>Range</i>
Follicular phase	48	9-175
Luteal phase	103	44-196
priovulatory	209	407-281
Treated menopausal	122	42-289
Untreated menopausal	7.3	ND-20
Oral contraceptives	13	ND-103

روش محاسبه:

در این روش با استفاده از رسم نمودار استاندارد که بر روی محور Xها غلظت های استاندارد و بر روی محور Yها جذب نوری بیمار ها رسم نموده سپس با وصل کردن این نقاط به هم نمودار استاندارد رسم شد و سپس مقدار غلظت استروژن از روی این نقاط به دست آمد.

فصل سوم



نتایج

* میانگین سنی در گروه مورد 40 سال و در گروه شاهد 41 سال به دست آمد .

* از 60 زن مبتلا به توده های سینه 40 نفر (66/66) درصد آلوده به توکسوپلازما بودند.

* از 60 نفر زن غیرمبتلا به توده های سینه 26 نفر (43/33) درصد آلوده به توکسوپلازما بودند.

* هیچکدام از زنان مبتلا و غیرمبتلا به سرطان سینه از نظر Igm مثبت گزارش نشدند.

* میانگین غلظت Igg در زنان مبتلا به سرطان سینه 1/87 درصد (SD 1.31) به دست آمد.

* میانگین غلظت Igg در زنان غیرمبتلا به سرطان سینه 1/09 درصد (SD 0.98) به دست آمد. که ارتباط آن با

توکسوپلازما معنی دار بود (p=0/01)

* میانگین غلظت استروژن در زنان مبتلا به سرطان سینه 16.95 درصد (SD 69.80) به دست آمد .

* میانگین غلظت استروژن در زنان غیرالوده 6.93 درصد به دست آمد (SD 39.59). ارتباط آن با توکسوپلازما معنی

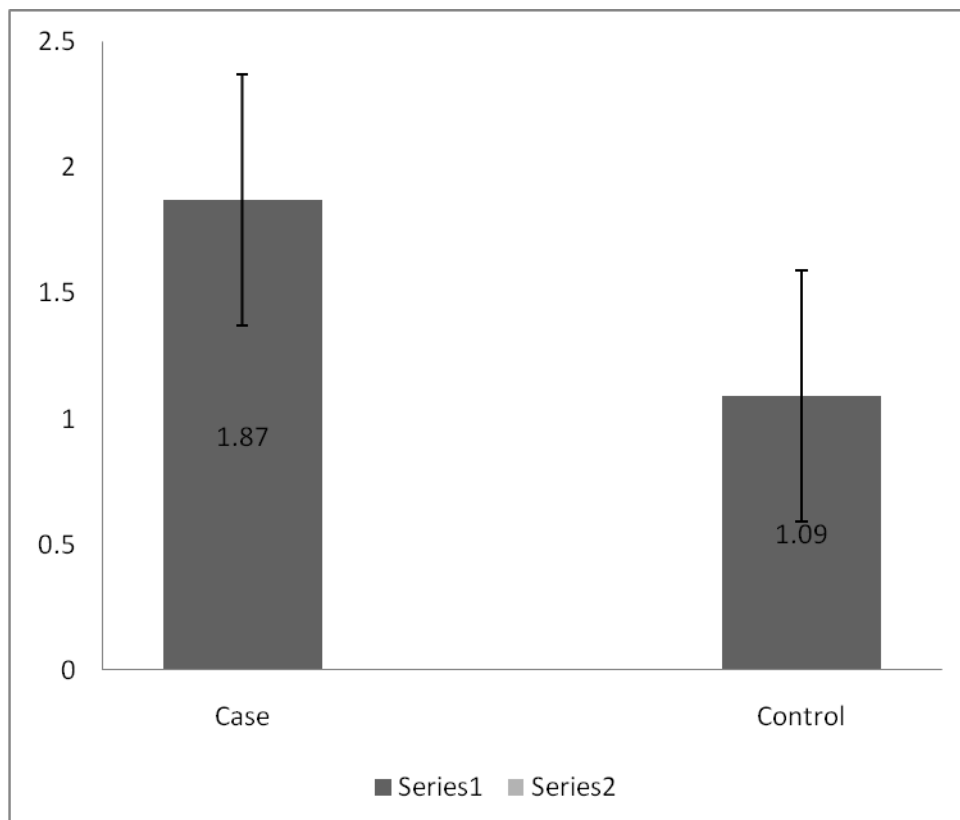
دار بود (p<0/01)

* میانگین غلظت پروژسترون در زنان مبتلا به سرطان سینه 14/53 درصد به دست آمد (SD 13.28).

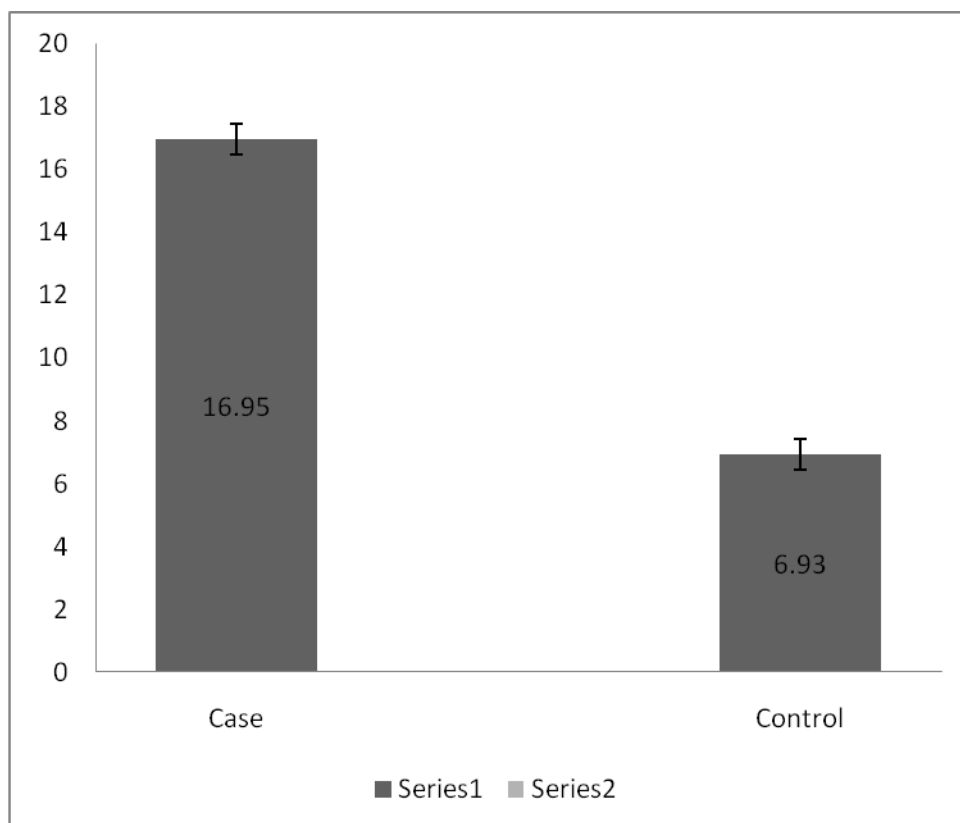
* میانگین غلظت پروژسترون در زنان غیرالوده 14/38 به دست آمد که ارتباط آن با توکسوپلازما معنی دار نبود

*** از نظر بررسی مارکرهای سرطانی در بین زنان آلوده به سرطان سینه درصدهای زیر به دست آمد.

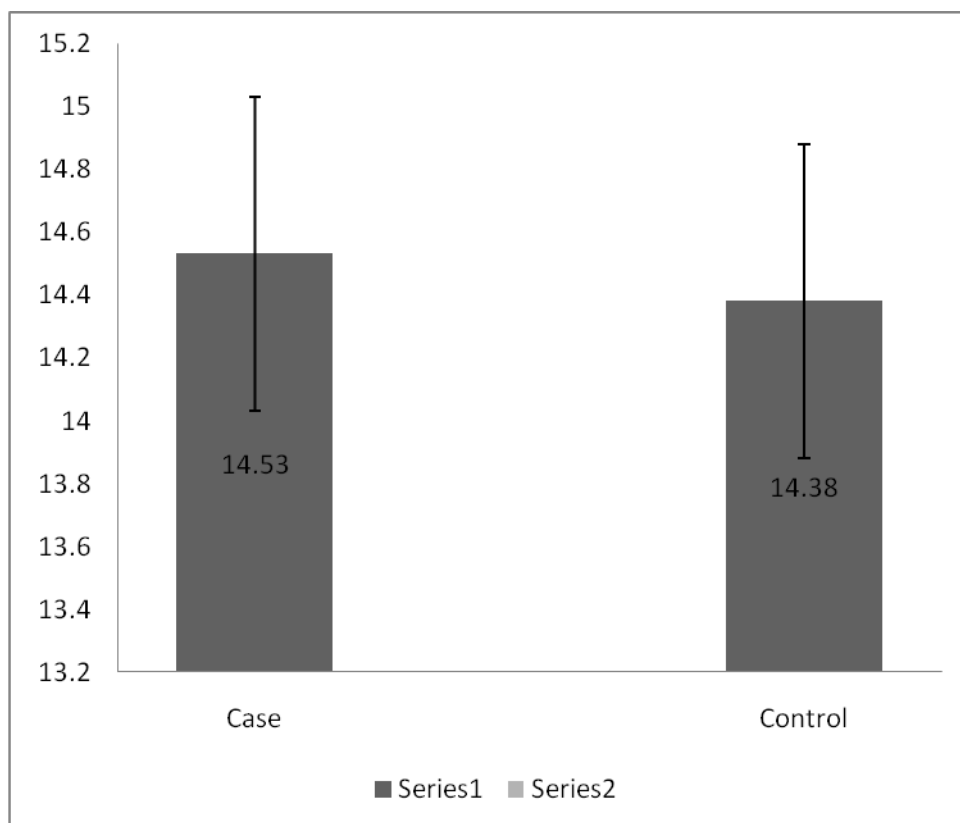
marker					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Tomor Marker	CEA125	16	26.7	26.7	26.7
	CEA19-9	30	50.0	50.0	76.7
	CEA15-3	6	10.0	10.0	86.7
	CEA	8	13.3	13.3	100.0
	Total	60	100.0	100.0	



میانگین غلظت IgG در گروه آلوده و غیر آلوده به توده های سینه

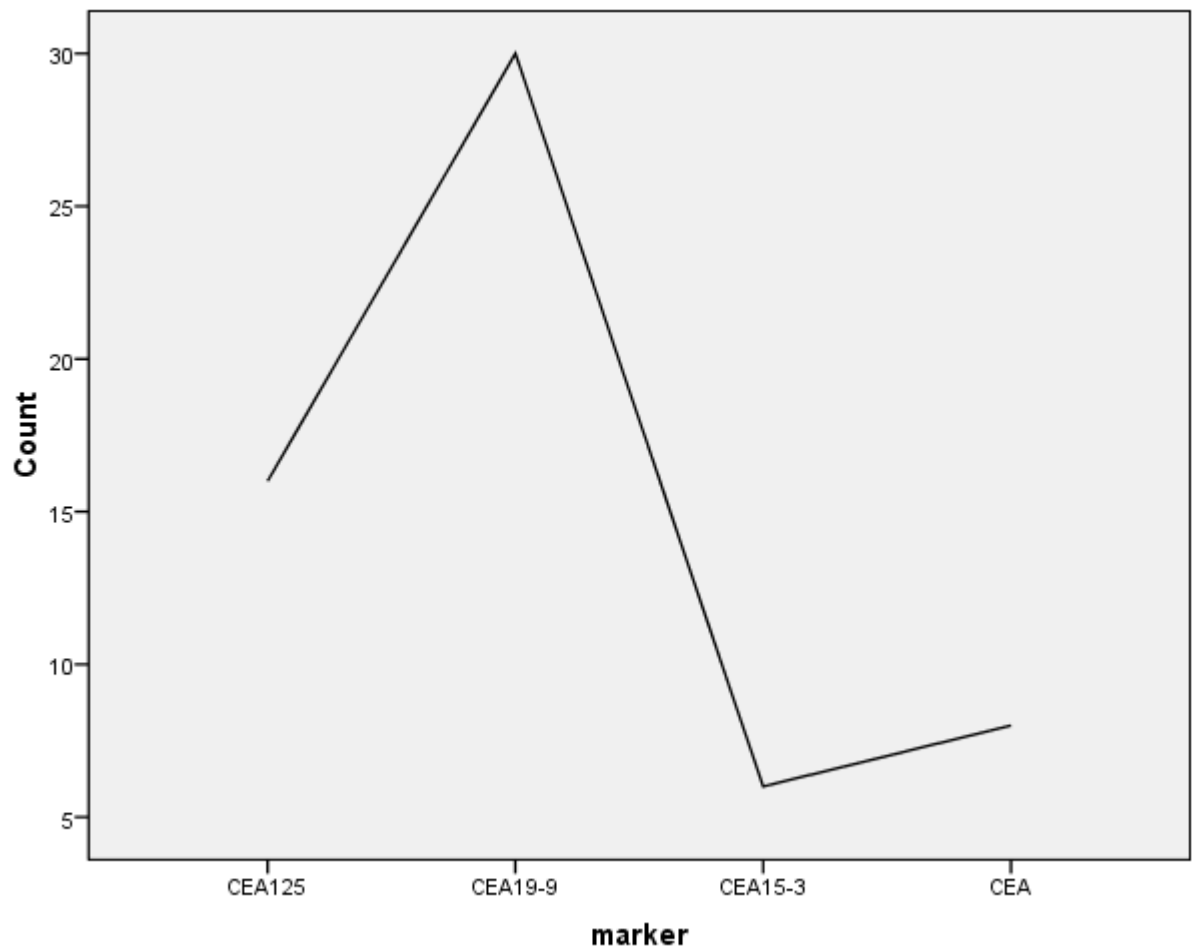


میانگین غلظت استروژن در زنان مبتلا و غیرمبتلا به تودهای سینه برحسب ng/ml



میانگین غلظت پروژسترون زنان مبتلا و غیرمبتلا به توده ای سینه برحسب ng/ml

*درصد فراوانی تومورمارکرهاى سرطانى در بين زنان مبتلا به سرطان سينه



فصل چهارم

بحث و نتیجه
گیری

توکسوپلاسموز عفونتی است که انتشار جهانی دارد. عامل اتیولوژیک آن توکسوپلازما گوندی ، است. این انگل در اصل مربوط به گربه و یک انگل درون سلولی اجبار گربه سانان است ولی در طبیعت طیف وسیعی از مهنداران خونگرم از جمله انسان را آلوده میکند انسان به طور عمده از طریق خوردن گوشت آلوده پخته نشده و سبزیجات و میوه ها (اووسیست رسیده) و همچنین از طریق جفت، آلوده میشود. توکسوپلاسموز در بالغین سالم به صورت عفونت مزمن و در مبتلایان به نقص سیستم ایمنی به صورت بیماری حاد و کشنده تظاهر می نماید بطوریکه در آمریکا مرگ 10 درصد و در اروپا تا ۳۰٪ افراد مبتلا به ایدز ناشی از این بیماری است.

توکسوپلازما گوندی باعث ایجاد کیست در مغز میشود. ایجاد این کیست در مغز میتواند باعث افزایش سطح دوپامین و ایجاد التهاب در مغز شود. التهاب ایجاد شده، سایر قسمتهای مغز به خصوص هورمون های استروئیدی، را تحت تاثیر قرار میدهد سطوح بالای هورمون استروئیدی با ایمنی پایین سلول در ارتباط است. چنین افرادی به علت افزایش در غلظت هورمونهای استروئیدی با کاهش سیستم ایمنی بدن، به بقای این انگل در بدن کمک میکنند (6) به ویژه در بیماران دچار نقص ایمنی، کیستهای غیرفعال ناشی از توکسوپلازما، فعال شده و باعث ایجاد علائم روانی و عصبی در این گونه افراد میشود (۷). مکانیزمی که باعث این تغییرات توسط توکسوپلازما گوندی در میزبان میشود، شناخته شده نیست، ولی ، میتواند شامل القای نورومدولاتور در بافت مغز میزبان مبتلا باشد(۵) توکسوپلازما گوندی، انگل رودهای در گربه ها با طیف وسیعی از میزبانهای واسط و یک انگل رایج در انسان است. انتقال این انگل به انسان معمولاً با خوردن کیستهای توکسوپلازما بعد از دفع توسط گربه یا از طریق خوردن گوشت خام و خوب پخته نشده صورت می گیرد(1) توکسوپلاسموز در بالغین سالم به صورت عفونت مزمن و در مبتلایان به نقص سیستم ایمنی به صورت بیماری حاد و کشنده تظاهر می نماید بطوریکه در آمریکا میزان مرگ و میر 10 درصد در اروپا تا ۳۰٪ افراد مبتلا به ایدز ناشی از این بیماری است (۲). اهمیت ویژه این بیماری در زنان باردار می باشد که باعث سقط جنین و یا صدمات و ضایعات شدید مغزی و چشمی در جنین و نوزاد می گردد . این ضایعات می تواند شامل میکروسفالی، هیدروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی، کوریورتینیت که متعاقب آن عوارضی مانند عقب ماندگی ذهنی، ناشنوایی، نابینایی و غیره ایجاد می شود باشد (۳).

همچنین مطالعات انجام شده ارتباط بین میزان بالای آنتی بادی علیه توکسوپلازما گوندی و افزایش میزان خطر ابتلا به

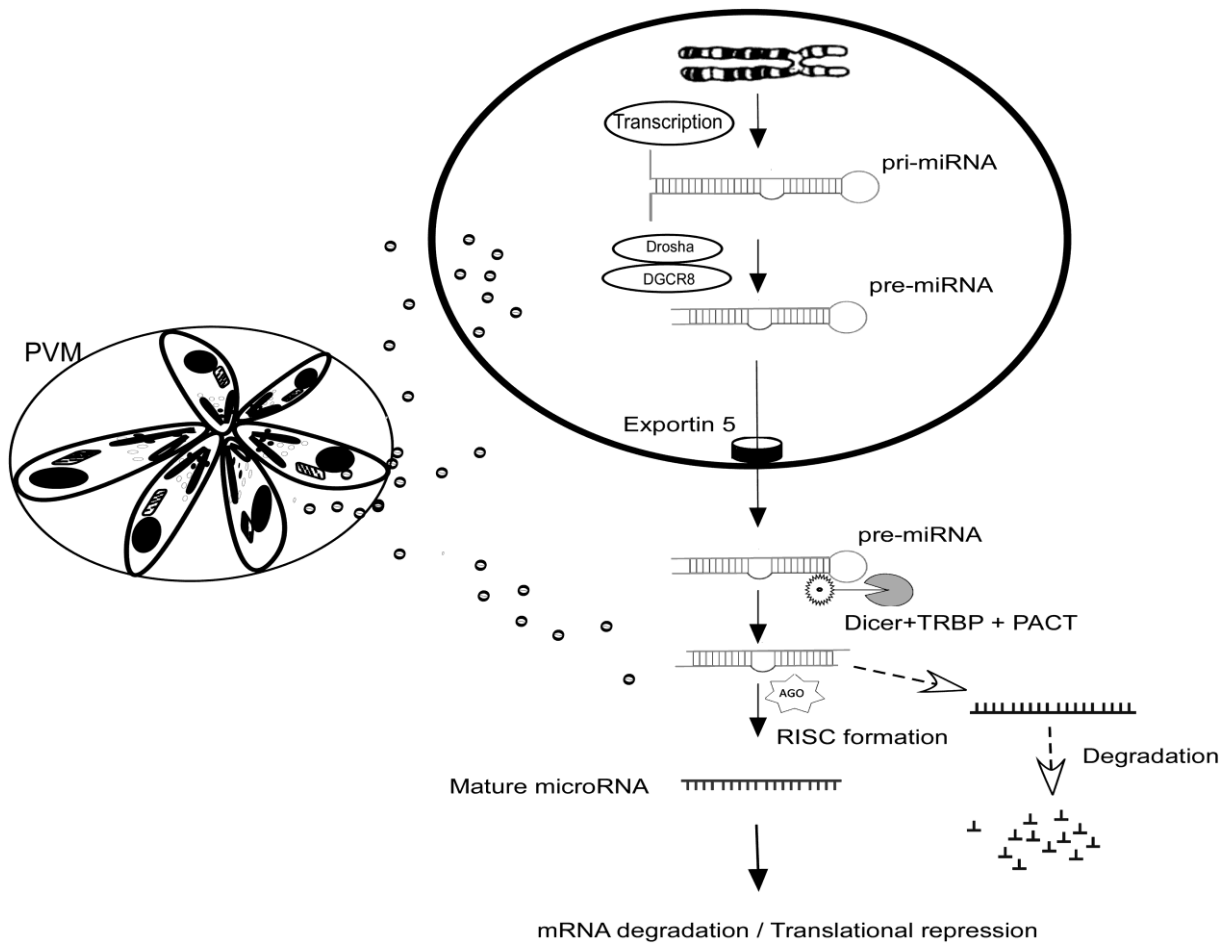
سرطان رکتال، سرطان سینه، سرطان معده را نشان می دهد (4)

در بیماران با نقص ایمنی به خصوص در بیماران سرطانی میزان تیتراژ آنتی بادی توکسوپلازما بالا می باشد این امر به ممکن است مربوط به این باشد که این بیماران دچار نقص ایمنی هستند. توکسوپلازما در بعضی از بدخیمی ها مانند لمفوما، لوسیمی های حاد و مزمن و میلوما هم دیده می شود. در مطالعاتی که اخیراً انجام شده نشان می دهند که آنتی بادی ضد توکسوپلازما در زنان مبتلا به سرطان سینه و تخمدان دیده می شود. البته مکانیسمی که توکسوپلازما می تواند باعث این امر شود ناشناخته است ولی توکسوپلازما همزیست زمینه را برای فعالیت توکسوپلازما می کند. (5 و 6 و 7)

طبق تحقیقات نقش ژنتیک در بروز این سرطان فقط ۵ درصد است اما باید متذکر شد که این وضعیت در کشور ما نامعلوم است و برای تعیین نقش ژنتیک در زنان ایرانی مبتلا باید مطالعه تحقیقاتی وسیعی انجام داد. مهم ترین عواملی که باعث ایجاد سرطان سینه می شود، هورمون های جنسی است. نتایج مطالعات نشان می دهد که افزایش هورمون استروژن در بدن در بروز سرطان سینه نقش دارد. هر قدر سنین باروری یک خانم طولانی تر باشد، احتمال ابتلا به سرطان سینه هم بالاتر می رود بنابراین کسانی که در سنین پایین پرورد و در سنین بالا یائسه می شوند بیش از دیگران در خطر ابتلا به سرطان سینه قرار دارند. شواهد نشان می دهد زنانی که مدت طولانی در معرض استروژن قرار می گیرند (استروژنی که در بدن تولید می شود یا به عنوان دارو مصرف می شود و...) احتمال ابتلا به سرطان سینه در آنان بیشتر است. به عنوان مثال زنانی که شروع عادت ماهیانه در آنان در سنین پایین یعنی کمتر از دوازده سالگی بوده است یا زنانی که بعد از سن پنجاه و پنج سالگی یائسه شده اند یا هرگز بچه دار نشده اند یا برای مدت طولانی هورمون DES مصرف کرده اند بیشتر در خطر ابتلا به سرطان سینه قرار دارند. همچنین زنانی که استروژن مصنوعی (که از اوایل دهه ۱۹۴۰ تا ۱۹۷۱ جهت جلوگیری از سقط جنین مصرف می شد) مصرف کرده اند با خطر ابتلا به سرطان سینه مواجه هستند.

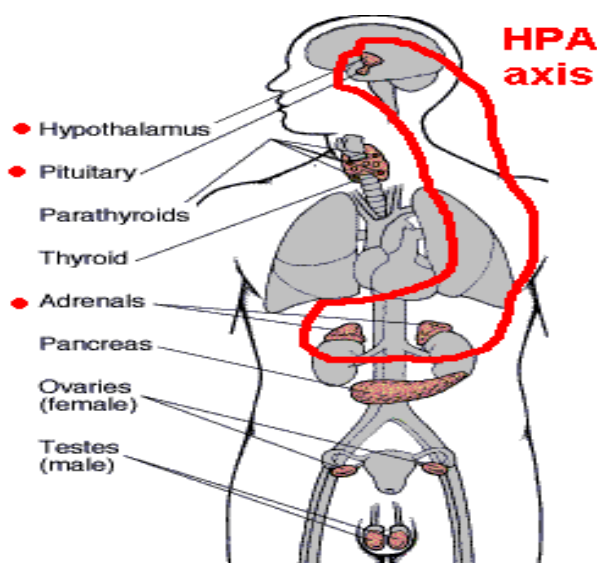
عفونت توکسوپلازما ممکن است شروع و پیشرفت تومورهای مغزی با استفاده از تغییرات در microRNAs در سلول های

مغز شود. (100)



Schematic illustration of the hypothesis that *Toxoplasma* infection alters miRNA pathway leading to brain carcinogenesis. The miRNA synthesis pathway is mediated by multiple protein complexes that sequentially cleave, export and incorporate miRNA into the silencing machinery. miRNA is transcribed by RNA polymerase II or III and this pri-miRNA is processed by Drosha–DGCR8 (Pasha) complex to pre-miRNA, which is exported from the nucleus by Exportin-5 to the cytoplasm. The RNase Dicer is associated with the double-stranded RNA-binding protein TRBP and the PKR activator PACT processes the pre-miRNA hairpin to 22-nt miRNA duplexes. One strand of mature miRNA is loaded into the RNA-induced silencing complex (RISC) along with Argonaute (Ago2) proteins and it directs RISC to silence target mRNAs through mRNA cleavage or translational repression while the complementary strand is degraded. This pathway is tightly regulated at transcriptional and post transcriptional level. The miRNA stability and post translational modifications are used to modulate the functionality of the miRNAs. Proteins of miRNA processing complexes also play a crucial role in regulating the miRNA processing pathway. We hypothesize that effector molecules released by *Toxoplasma* into the host cell may interfere with miRNA synthesis and maturation pathway, which in turn modulate host cell survival or death signaling pathways. Thirugnanam *et al. Infectious Agents and Cancer* 2013 8:8 doi:10.1186/1750-9378-8-8

در این مطالعه نرخ مثبت بودن IgG توکسوپلازما در زنان مبتلا به توده های سینه بالاتر از گروه کنترل بود. در مطالعه ای که توسط Zigueyuana انجام گرفت میزان درصد مثبت بودن IgG در کارسینوما مری 46/15 درصد، سرطان رکتال 63/64 درصد، سرطان معده 10 درصد و سرطان سینه 9/53 درصد گزارش گردید. به نظری رسد این گروه بیشتر در معرض توکسوپلازما بوده اند. به نظر می رسد انگل توکسوپلازما با تغییرات هرمونی در بدن و افزایش هورمون استروژن که در این مطالعه نیز میزان آن بالاتر از گروه کنترل به دست آمد زمینه مناسب را برای ایجاد سرطان سینه در این افراد بالاتر می برد. هر چند که عوامل متعددی به دربروز سرطان سینه دخالت دارند ولی توکسوپلازما نیز می تواند به عنوان یکی از عوامل موثر در این بیماری باشد



این انگل توانایی حمله و تولید مثل در سلول های هسته دار را دارد تاکی زوئیت های توکسوپلازما به میکروگلیا، نوروں ها و آستروسیت ها حمله می کنند در سیستم عصبی سلول های گلیا وجود دارد که از سلول های رفتگر و تمیز کننده هستند آستروسیت ها نیز این نقش را دارند و در سر تا سر مغز یافت می شوند ترشح سایتوکاین ها باعث التهاب و تورم در مغز می شود التهاب و تورم در مغز باعث ترشح نامتعادل دوپامین از نواحی مزولیمبیک و مزوکورتیکال مغز می شود تورم ایجاد شده در مغز باعث ایجاد آسیب سلولی و تاثیر بر محور HPA خواهد شد این عامل باعث ترشح استروژن از غده فوق کلیه می شود افزایش بیش از اندازه هورمون ها جنسی زمینه را جهت فرد به تومور فراهم می کند انگل توکسوپلازما گوندی ای به نظری رسد با یک مکانیسم درون سلولی به طور غیر مستقیم نقش مهمی در تغییرات هورمون های جنسی از جمله استروژن دارد هورمونی که افزایش آن به صورت بلند مدت زمینه ساز بروز سرطان سینه خواهد شد.

References

- 1-Hodkov H, Kolbekov P, Skallov A, Lindov J, Flegr J. Higher perceived dominance in Toxoplasma infected men: A new evidence for role of increased level of testosterone. *Neuroendocrinol Lett.* 2007;28(2):110-4.
- 2-Dubey JP, Toxoplasmosis. In: Collier L, Balows A, Sussman M, (eds). *Microbiology and Microbial Infection*; 19th ed. Vol 5. New York: Arnold, 1998,
- 3- Dubey JP. Toxoplasmosis. *JAVMA* 1994; 205 (11): 1593-1598.
- 4-S. Yazar, O. Yaman, B. Eser, F. Altuntas, F. Kurnaz, I. Sahin, Investigation of anti-Toxoplasma gondii antibodies in patients with neoplasia, *J. Med. Microbiol.* 53 (2004) 1183–1186.
- 5-J.J. Urrutia, R. Sosa, J.H. Kennell, M. Klaus, Prevalence of maternal and neonatal infections in a developing country: possible low-cost preventive measures, *Ciba Found. Symp.* (1979) 171–186.
- 6-A.C. Campagna, Pulmonary toxoplasmosis, *Semin. Respir. Infect.* 12 (1997) 98–105.
- 7-C.A. Hunter, D. Yu, M. Gee, Cutting edge: systemic inhibition of angiogenesis underlies resistance to tumors during acute toxoplasmosis, *J. Immunol.* 166 (2001) 5878
- 8-Available at :<http://en.wikipedia.org/toxoplasmosis>, Wikipedia, the free encyclopedia, 2009.
9. Vern B. Carruthers² and Yasuhiro Suzuki¹ Effects of *Toxoplasma gondii* Infection on the Brain. *Schizophr Bull.* 2007 May; 33(3): 745–751.
10. Halonen SK, Lyman WD, Chiu FC. Growth and development of *Toxoplasma gondii* in human neurons and astrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996;55:1150–1156.
- 11 - Radke JR, Donald RG, Eibs A, et al. Changes in the expression of human cell division autoantigen-1 influence *Toxoplasma gondii* growth and development. *PLoS Pathog.* 2006;2:e105.
12. Powell HC, Gibbs CJ, Jr, Lorenzo AM, Lampert PW, Gajdusek DC. Toxoplasmosis of the central nervous system in the adult. Electron microscopic observations. *Acta Neuropathol (Berl)* 1978;41:211–216.
- 13 Bertoli F, Espino M, Arosemena JR, 5th, Fishback JL, Frenkel JK. A spectrum in the pathology of toxoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med.* 1995;119:214–224.
14. Gazzinelli et al., 1993 R.T. Gazzinelli, S. Hieny, T.A. Wynn, S. Wolf and A. Sher, Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90** (1993), pp. 6115–6119.
15. Chao et al., 1994 C.C. Chao, G. Gekker, S. Hu and P.K. Peterson, Human microglial cell defense against *Toxoplasma gondii*. The role of cytokines, *J. Immunol.* **152** (1994), pp. 1246–1252.
- 16 -Daubener et al., 1993 W. Daubener, K. Pilz, S. Seghrouchni Zennati, T. Bilzer, H.G. Fischer and U. Hadding, Induction of toxoplasmosis in a human glioblastoma by interferon gamma, *J. Neuroimmunol.* **43** (1993), pp. 31–38.

17-Pelloux et al., 1996 H. Pelloux, G. Pernod, B. Polack, E. Coursange, J. Ricard, J.M. Verna and P. Ambroise-Thomas, Influence of cytokines on *Toxoplasma gondii* growth in human astrocytoma-derived cells, *Parasitol. Res.* **82** (1996), pp. 598–603.

18. Peterson et al., 1995 P.K. Peterson, G. Gekker, S. Hu and C.C. Chao, Human astrocytes inhibit intracellular multiplication of *Toxoplasma gondii* by a nitric oxide-mediated mechanism, *J. Infect. Dis.* **171** (1995), pp. 516–518.

19. www.medical-look.com/Parasitic_diseases/Toxoplasmosis.html.

20. Campagna AC. Pulmonary toxoplasmosis. *Semin Respir Infect.* 1997 Jun;12(2):98-105.

14. Gandhi S, Lyubsky S, Jimenez-Lucho V .Adult respiratory distress syndrome associated with disseminated toxoplasmosis. *Clin Infect Dis.* 1994 Jul;19(1):169-71.

21.Salzet, M. et al. (2000) Molecular crosstalk in host–parasite

relationships: schistosome– and leech–host interactions. *Parasitol.*

Today 16, 536–540

22- Damian, R.T. (1989) Molecular mimicry: parasite evasion and host defense. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 145, 101–115.

23 .Damian, R.T. (1997) Parasite immune evasion and exploitation: reflections and projections. *Parasitology* 115 (Suppl.), S169–S175.

18 Escobedo, E.G. et al. (2004) Molecular mechanism involved in the differential effects of sex steroids on the reproduction and infectivity of *Taenia crassiceps*. *J. Parasitol.* 90, 1235–1244

24 .Maswoswe, S.M. et al. (1985) Corticosteroid stimulation of the growth of *Plasmodium falciparum* gametocytes in vitro. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 79, 607–61

25 -Carrero, J.C. et al. Dehydroepiandrosterone decreases while cortisol increases in vitro growth and viability of *Entamoeba histolytica*. *Microbes Infect.* (in press).

26- Freilich, D. et al. (2000) 16-a-bromoepiandrosterone, a dehydroepiandrosterone (DHEA) analogue, inhibits *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium berghei* growth. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 63, 280–283.

27. Galileo Escobedo¹, Craig W. Roberts. Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? *TRENDS in Parasitology* Vol.xx No.xx Monthxxxx
American Journal of Otolaryngology, Volume 28, Issue 3, May-June 2007, Pages 201-204
Usamah Hadi, Charbel Rameh

28. Becky Purvis What Are the Functions of Cortisol? , eHow Contributor. updated: December 1, 2009

29- Flegr J. Effects of toxoplasma on Human Behavior, schizophrenia Bulletin 2007 33(3) 33-38

30- Available at : <http://en.wikipedia.org/toxoplasmosis>, Wikipedia, the free encyclopedia. 2009.

31- Negash T, Tilahun G and Medhin G. seroprevalence toxoplasma gondii in Nazareth town , Ethiopia, East African Journal public health. 2008. 214-3:211

32- Flegr J, Hrdá S, Kodým P. Influence of latent asymptomatic toxoplasmosis on body weight of pregnant women. Folia Parasitologica. 2005; 52 : 199-204.

33- Lindová J, Novátná M, Jan Havlíček and et al. Gender differences in behavioural changes induced latent toxoplasmosis. International Journal for Parasitology . 2006; 36: 1485-1499.

34- Flegr J, Havlíček J, Kodým P, Increased risk of traffic accidents in subjects with latent toxoplasmosis . BMC Infectious Diseases. 2002; 6: 1-6

35- Flegr J, Lindová J, Pivonková V, Havlíček J. , American Journal of physical Anthropology . 2008. 482-479

36- Hodková H, Kolbáková P, Skallová A, Lindová J, Flegr J. Higher perceived dominance in Toxoplasma infected men – a new evidence for role of increased level of testosterone in toxoplasmosis associated changes in human behavior, Neuroendocrinology Letters. 2007 114-110

37- Hulínková D, Sýkora J, Zástěra M. Effect of cortisone on Toxoplasma gondii infection studied by electron . Folia Parasitologica (Praha). 1990; 37(3): 207-212

38- ادریسبیان غلام حسین و همکاران ، تک یاخته شناسی پزشکی . انتشارات دانشگاه تهران ، چاپ اول ، سال 1386 : صفحه 140-141

39- صلاحی مقدم ع. بررسی سرولوژی توکسوپلاسموزیس در مراجعین به درمانگاه شهر ری با استفاده از IFA پایان نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته انگل شناسی پزشکی از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تهران . 1372

40- Shadde F, Sarvestani R.G, Milani M.S. Toxoplasma infection in human and dog pupulation in shiraz , Iran. J. App. Anim. Res 1993; 89-2: 83

41- غروی محمد جواد 1383 تک یاخته شناسی پزشکی چاپ انتشارات تیمورزاده صفحه 107-121

42- Dobrowolski Jm, Sibley LD. Toxoplasma invasion of mammalian cell is powered by the action cytoskeleton of the parasite . cell . 1996; 939-84: 933

43- مارکل ادوارد ترجمه نظری م. و همکاران 1385 انگل شناسی پزشکی انتشارات ارجمند صفحه 377-399

44:ادریسیان غلام حسین ،تک یاخته شناسی پزشکی قسمت اول یاخته های خونی نسجی انتشارات دانشکده بهداشت وانیستیتو بهداشتی نشریه شماره 2110 سال 1367. صفحه 22-24

45-Susc ,Evans D ,Cole RH,Kissinger JC,Ajlokajw,Sibleyl D.Recent expansion of toxoplasma through enhance oral trnsmission science.2003416-299:414؛

46-Holland GN,Lewis KG.Anupdation current practice in the management of the ocular toxoplasmosis .Am J Ophthalmol . 2002104-134:102؛

47-Gilberet RE,Grasd , Wallon M, Pegron F,Ades AE,Dunn DT,.Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of toxoplasma gondii .retrospective cohort study of 544 mother child paris in lyon france .In t J Epidemmiol .2001-30:1303؛ 1308

48-Mc .Culloch W.F,Blaun J.H,Legeem D,Wondtop F.H .Studies on medical and veterinary student skin Testod and for toxoplasmosis .republic Health Rep. 1983-678؛ 689

49-Gilbert R,Dunna D,Wallon M,.Ecological comparison of the risk of mother –to child transmission and clinical manifestation of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol .Epidemiol Infect .2001120-127:113؛

50-Mineo J,Mcleod R,Mark D. Antibodies to toxoplasma gondii major at face protein (SAG-1,P36)inhibite infection of host cells and are produced in murine intestine after peroral infection .J Immunolj. 19933964-150:3951 ؛

51-Liesenfeld o. Immune responses to toxoplasma gondii in the gut .Immunobiology . 1999239-201:229؛

52-Bills SK,Marshal AJ,Zhangy ,Denkerse Y. Human plomorphonuclear leukocytes produce 1L12,TNF-alpha and beta response to toxoplasma gondii antigenus .J Immunol .19997675-102:7639؛

53-Rise Sonsac ,Hienys,scharton –kerstent. Invive microbial stimulation induces repid CD40 ligand independed production of interleukin 12 by dendritic cells and their redistribution to T Cell areas .J Expmed . 19971829-198:1819؛

54-امیرخانی عارف ،بررسی سرواپیدومیولوژی مراجعین مشکوک به بیماری توکسوپلاسموزیس ،دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران درسال های 60-65 پایان نامه تخصصی اپیدومیولوژی شماره 1621

55 -Nilsen H, Christion senl ,Buus S ,Famsgaard A,peterson E,Lauemoller SO. complete protection against lethal toxoplasma gondii infection in mice immunized with aplasmid encoding the SAG 1.gene,Infect Immun . 19996463-6458؛

56-Brinkman K,S Debast ,R Janerwein ,F Ooyaman ,J Hiel ,and J Raema ekers.toxoplasma retinitis,encephalitis ,months after allogeneic bone marrow trans plantation .bon marrow transplant .1998636-21:635؛

57-Luft B.J ,Remington S.S. Toxoplasmic encephalitis in Aipselin .Infect Dis. 1992222-15:211؛

58-Bhopala GM. Development of a vaccine for toxoplasmosis current status .microbes Infect .2003462-5:457؛

59-Barragon A, Sibley L. Transepithelial migration of toxoplasma gondii is linked to parasite motility and virulence. J Exp med. 2002;195:1625-1635.

60-Lies enfold O, Wong Sr. Remington's toxoplasmosis is in the setting of ADIS or without ADIS. In: Bartel SG, Merigan TG, Bolognes D, eds. Text book of ADIS medicine. Baltimore: Williams and Wilkins. 1999;259-225.

61-Liesenfeld O, Remington JS. Toxoplasmosis, Infections disease in women. Philadelphia: WB Saunders. 2001;59-57.

62-Remington SS, McLeod R, Thullie ZP, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Martens M, Faros, Soper D, eds. Infections disease in women. Philadelphia: WB Saunders. 2001;205-346.

63- حاج غنی حسین، آبالان عبدالرحیم، شیوع سرمی آنتی بادی IgG ضد توکسوپلازما بین دختران دانشجوی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، سال تحصیلی 84-1383. فصلنامه بیماری های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری های عفونی و گرمسیری سال سیزدهم، شماره 41، تابستان 1387، صفحات 39-43.

64- آسمار مهدوی و همکاران، سرواپیدمیولوژی پاسیو، بیماری توکسوپلاسموز دبیماران مشکوک به توکسوپلاسموزیس کتاب دومین کنگره بیماریهای قابل انتقال بین انسان و حیوانات سال 1372، صفحات 117-115

65- عجمی ابوالقاسم، شریف مهدی، ضیائی هاجر، عروجی احمد. بررسی سروولوژیک توکسوپلاسموزیس در معمولین ذهنی مراکز توانبخشی استان مازنداران سال 1381. مجله علمی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازنداران، سال نهم شماره 24، پاییز 1378، صفحه 5-1

66- فلاح اسماعیل و همکاران، بررسی اپیدمیولوژی آلودگی به توکسوپلازما در دختران دبیرستانی شهرستان جلفا، فصلنامه باروری و ناباروری/ تابستان 1384، صفحه 269-261

67- چمنی لیلی، زراعتی حجت، عسگری سهیلا، شبستری امید، سلطان قرایی هاله، بررسی سرواپیدمیولوژی C و B توکسوپلازما، هیاتیت، CMV در مراجعین به آزمایشگاه مرکز درمان ناباروری ابن سینا. فصلنامه بیماری های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری های عفونی و گرمسیری، سال یازدهم، شماره 35، زمستان 1385. صفحات 63-59

68-Nassri H, Rad M. Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahvaz, capital of khoozestan province, south-west Ir. Jurnal of tropical medicine and Hygine. 1996;336-332:4.

69- مردانی احمد، کشاورز حسین. مقایسه دو روش ELIS و IFA بررسی سرواپیدمیولوژی عفونت توکسوپلاسمایی در زنان باردار شهر قم. مجله بهداشت عمومی و انستیتو تحقیقات بهداشت عمومی، جلد دوم، شماره سوم. ص 64-57.

70- طراوتی محمدرضا و همکاران. بررسی تیتر IgM و IgG آنتی توکسوپلازما آنتی بادی در سرم خانمهای در شرف ازدواج مراجعه کننده به مرکز بهداشت ارومیه سال 1378، مجله پزشکی ارومیه، سال سیزدهم. شماره دوم. ص 117-109

71- معلائی حسین و همکاران. سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموزیس و عوارض چشمی آن در مادران باردار. مجله دانشکده علوم پزشکی سبزوار سال ششم. شماره 2. تابستان 78. ص 35-21

73 -Stibbs HH. Changes in brain concentrations of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii* infected mice. *Ann Trop Med Parasitol*.1985 157-79:153 ؛

74 -Flegr J·Hrdy I Influence of chronic toxoplasmosis on some human personality factors. *Folia Parasitol*. 1994126-41:122 ؛

75 -Alonso R ،Chaudieu I ،Diorio J ،Krishnamurthy A ،Quirion R ،Boksa P. Interleukin-2 modulates evoked release of [3H]dopamine in rat cultured mesencephalic cells. *J Neurochem* .19931290-61:1284 ؛

76 -Petitto JM ،McCarthy DB·Rinker CM ،Huang Z ،Getty T. Modulation of behavioral and neurochemical measures of forebrain dopamine function in mice by species-specific interleukin-2. *J Neuroimmunol* . 1997190-73:183 ؛

77 -Creese I ،Burt DR ،Snyder SH. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of ant schizophrenic drugs: *Science* .1976.483-192:481 ؛

78-Sawa A ،Snyder SH. Schizophrenia diverse approaches to a complex disease. *Science* .2002695-296:692 ؛

79-Flegr J ،Hruskova M ،Hodny Z ،Novotna M ،Hanusova J. Body height body mass index waist-hip ratio fluctuating asymmetry and second to fourth digit ratio in subjects with latent toxoplasmosis. *Parasitology*. 2005628-621 :130؛

80 -Kankova S ،Sule J ،Nouzova K ،Fajfrlik K ،Women infected with parasite *Toxoplasma* have more sons . *Naturwissenschaften* .2000127-94:122 ؛

81 -Hutchison WM ،Aitken PP ،Wells BWP. Chronic *Toxoplasma* infections and motor performance in the mouse. *Ann Trop MedParasitol*. 1980510-74:505 ؛

82-Witting P-A. Learning capacity and memory of normal and *Toxoplasma*-infected laboratory rats and mice . *Zeitschr Parasitenkunde*. 51-61:29 ؛1979

83 -Webster JP ،Brunton CFA ،Macdonald DW. Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *Parasitology*. 199443-109:37 ؛

84 -Berdoy M ،Webster JP ،Macdonald DW ،Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 2000؛ 1594-267:1591

85 -Hay J ،Hutchison WM ،Aitken PP ،Graham PP. The effect of congenital and adult-acquired *Toxoplasma* infections on activity

- and responsiveness to novel stimulation in mice. *Ann Trop Med Parasitol.* 1983;49:77-83 ;
- 86 -Webster JP. The effect of *Toxoplasma gondii* and other parasites on activity levels in wild and hybrid *Rattus norvegicus*: *Parasitology.* 1994;589-109:583;
- 87-Hrd Š ,Votpka J ,Kodym P ,Flegr J. Transient nature of *Toxoplasma gondii*-induced behavioral changes in mice.*J Parasitol.* .663-86:657;2000
- 88 -Ghorbani M,Edrissian GW ,Afshar A. serological survey of north west and sought west part of Iran. *MedHygn.* 1981 40-1:38 ;
- 89-Noorbakhsh S ,Mamishi S ,Rimaz S. Toxoplasmosis in primiparus pregnant women and their neonates. *Iranian J publ health.* 2002;54-31:51 ;
- 90-Skallova A ,Frynta D ,Kodym P ,Flegr J. The role of dopamine in *Toxoplasma*-induced behavioural alterations in mice an ethological and ethopharmacological study: *Parasitology.* 2006.535–133:525 ;
- 91 -Flegr J ,Zitkova S ,Kodym P ,Frynta D. Induction of changes in human behavior by the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. *Parasitology.*1996.54–113:49 ;
- 92 -Dabbs JM. Age and seasonal-variation in serum testosterone concentration among men:*Chronobiol Int.* 1990.249–245 :7 ;
- 93 -Dabbs JM. Salivary Testosterone measurements – reliability across hours, days, and weeks.*Physiol Behav.* 1990.86–83 :48 ;
- 94 -Shirtcliff EA ,Granger DA ,Likos A. Gender differences in the validity of testosterone measured in saliva by immunoassay. *HormBehav.* 2002;69–62 :42 ;
- 95-Armellini F,Zamboni M,Castell S,Robbi R,Mino A,Tociesco T,Bergamo-Andreis J.A,Bosello O,Interralationship between intraabdominal fat and Total serum testosterone levels in obese women .*metab.* 1994;390-350 :44;
- 96-Kirschner M.A,Jamojlik E,Drejka M,Fachensik J.Anderogen –estrogen metabolism in women with upper body fat versus lower body fat obesity –*J clin Endocriol metab.*1990;479-70:473;
- 97-Haaner ,Distchunit H.H,Pal S.B,Moncay R,Pfeiffer E.F.Fat distribution endocrine and metabolic profile in obese women with and without hirsutism .*metab.*1988;286-37:281;

98 -Availableat :<http://en.Wikipedia.org/encefalopedia/testosterone>, Wikipedia,the free encyclopedia.2010

99-Cox RM, John-Alder HB. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. *J. Exp. Biol.* 2008: 4679–4687 .

100: Sivasakthivel Thirugnanam. Possible role of *Toxoplasma gondii* in brain cancer through modulation of host microRNAs. *Infectious Agents and Cancer.*2012