

## بررسی وجود استرس و التهاب عمومی در مبتلایان به آلودگی‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای در دو بیمارستان تهران

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۹ آنلاین: ۱۳۹۴/۰۴/۱۵

وحدت حاجی حسینیلو

شهناز شیربازو\*

هدایت صحرائی

مرکز تحقیقات علوم و اعصاب، گروه

نوروپارازیتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله

(عج)، تهران، ایران.

**زمینه و هدف:** تک‌یاخته‌های روده‌ای از یوکاریوت‌های تک‌سلولی بوده که برای انسان بیماری‌زا بوده و می‌توانند به‌عنوان یک عامل استرس‌زا بر فعالیت سیستم استرسی و عملکرد و حساسیت سیستم ایمنی اثرگذار باشند. هدف از این مطالعه بررسی سطح سرمی کورتیزول و میزان التهاب عمومی (اندازه‌گیری نسبت نوتروفیل به لنفوسیت) در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی (تک‌یاخته‌های روده‌ای) بود.

**روش بررسی:** در یک بررسی مورد-شاهدی در بیمارستان‌های بعثت و بقیه‌الله (عج) در تهران از اردیبهشت تا شهریور ۱۳۹۳، تعداد ۴۰ نفر از مردان مراجعه‌کننده شامل ۲۰ مرد سالم به‌عنوان گروه کنترل و ۲۰ مرد مبتلا به آلودگی‌های انگلی (تک‌یاخته‌های روده‌ای) وارد مطالعه شدند. این افراد از نظر سطح سرمی کورتیزول و نسبت نوتروفیل به لنفوسیت با استفاده از رنگ‌آمیزی رایت و با روش دیفراسیون گلبول‌های سفید بررسی شدند.

**یافته‌ها:** در این پژوهش آلودگی‌های انگلی شامل: ۴۰٪ بلاستوسیتیس همونیس، ۳۵٪ ژیا دی‌لامبلیا، ۱۵٪ انتاموبیا هیستولیتیکا و ۱۰٪ انتاموباکلی گزارش شد. بر اساس یافته‌ها، در میانگین سنی افراد بین دو گروه مورد و شاهد اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد ( $P=0/91$ ). افزایش معنادار در سطح سرمی کورتیزول در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی نسبت به افراد سالم مشاهده گردید ( $P=0/043$ ). افزایش معنادار در نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $P=0/026$ ).

**نتیجه‌گیری:** آلودگی‌های انگلی (تک‌یاخته‌های روده‌ای) می‌توانند سبب افزایش غلظت کورتیزول و کاهش عملکرد سیستم ایمنی گردند. به‌نظر می‌رسد که نسبت نوتروفیل به لنفوسیت می‌تواند از پارامترهای مفید برای ارزیابی میزان فعالیت سیستم استرسی در بیماران آلوده به تک‌یاخته‌های روده‌ای باشد.

**کلمات کلیدی:** پژوهش مورد-شاهدی، استرس، التهاب عمومی، تک‌یاخته‌های روده‌ای، نسبت نوتروفیل به لنفوسیت.

\* نویسنده مسئول: تهران، اقدسیه، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، مرکز تحقیقات علوم و اعصاب، گروه نوروپارازیتولوژی  
تلفن: ۰۲۱-۲۲۲۸۹۹۴۱  
E-mail: s.shirbazou@yahoo.com

### مقدمه

به‌ترتیب عامل بیماری‌های ژیا‌ردیازیس، آمیبیازیس و کریپتوسپوریدیازیس بوده و همگی سبب اختلالات گوارشی ازجمله اسهال می‌شوند.<sup>۱</sup>

عفونت‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای به‌دلیل ایجاد اسهال و سندرم سوء‌جذب، سبب کاهش سلامت عمومی، آنمی فقر آهن، کمبود مواد معدنی، فقر پروتئین و عقب‌ماندگی رشد می‌گردد.<sup>۲</sup> حضور انگل‌های تک‌یاخته‌ای در بدن میزبان به‌عنوان نوعی استرسور محسوب شده و می‌تواند بر میزان اثرات متفاوتی را اعمال کند.

انگل‌های روده‌ای به‌عنوان شایعترین انگل‌های آلوده‌کننده انسان در اغلب نقاط جهان در کانون توجه قرار دارند. عفونت‌های ناشی از انگل‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای، شایعترین عفونت‌های انسانی در کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته هستند. از شایعترین انگل‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای می‌توان از ژیا‌ردیا، انتامبا هیستولیتیکا و کریپتوسپوریدیوم نام برد که

رهایش هورمون‌ها و فاکتورهای رشد میزبان از جمله هورمون‌های غده فوق‌کلیه باعث افزایش سرعت رشد و تولیدمثل خود می‌گردد.<sup>۱۱</sup> هورمون‌های غده فوق‌کلیه اثر مشهودی بر چندین انگل اعمال می‌کنند. استفاده از کورتیزول در پژوهش‌های *in vitro* سبب افزایش تعداد و اندازه گامتوسیت‌ها در مروزیوت‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم می‌گردد. در مقابل زمانی که این انگل در معرض آنالوگ دهیدرواپی‌آندروسترون (DHEA) قرار گیرد، سرعت رشد آن تا ۲۵٪ کاهش می‌یابد.<sup>۱۲</sup>

این‌گونه تصور می‌شود که بیماری‌های انگلی نوعی استرسور برای میزبان محسوب شده و باعث افزایش مزمن در غلظت کورتیزول پلاسما شده که این رویداد سبب افت عملکرد سیستم ایمنی میزبان می‌گردد.<sup>۱۲</sup>

از سوی دیگر تحریک شبکه‌های پاسخ ایمنی روده توسط انگل‌ها ممکن است منجر به پاسخ‌های سیستمیک مختلف گردد. گزارش شده است که *ژیاردیا لامبلیا*، با آزادسازی آنتی‌ژن‌های دفعی - ترشحی موجب فعال شدن انواع پاسخ‌های ایمنی در میزبان می‌گردد.<sup>۱۳،۱۴</sup> بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی فعالیت سیستم استرس و التهاب عمومی با اندازه‌گیری نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در بیماران مبتلا به انگل‌های تک‌پاخته‌ای روده‌ای انجام گردید.

## روش بررسی

این پژوهش به صورت مورد-شاهدی، در ۴۰ نفر از مردان مراجعه کننده به بیمارستان‌های بعثت و بقیه‌الله (عج) در تهران از اردیبهشت تا شهریور ۱۳۹۳ انجام گردید. به منظور تشخیص آلودگی‌های انگلی، از افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان، آزمایش مدفوع گرفته شد.

روش رایج تشخیص آلودگی‌های انگلی در آزمایشگاه‌های طبی، روش مستقیم است و وجود کیست‌ها و تروفوزوئیت‌های آمیبی در نمونه مدفوع، حاکی از ابتلای فرد به بیماری انگلی بود. ۲۰ فرد مبتلا به آلودگی‌های انگلی (تک‌پاخته‌های روده‌ای) با بررسی نمونه مدفوع و ۲۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل به صورت داوطلب وارد مطالعه شدند. برای هر فرد ماهیت و آزادانه بودن شرکت در مطالعه توضیح داده شد و رضایت افراد به منظور شرکت در پژوهش حاضر جلب شد. تمامی افراد حاضر در این پژوهش مرد بوده، مبتلا به هیچ نوع

استرس و عوارض ناشی از آن یکی از مهمترین معضلات بهداشتی جوامع انسانی در طول تاریخ محسوب می‌شود. هر گونه پیشامدی که محیط داخلی موجود زنده را دستخوش تغییر نماید، به عنوان استرس در نظر گرفته می‌شود.<sup>۳</sup> استرسورها به سه دسته بزرگ تقسیم می‌شوند، استرسورهای فیزیکی مانند وجود انگل در بدن، استرسورهای روانی نظیر مواجه شدن با یک محیط جدید و استرسورهایی که هومئوستاز قلبی - عروقی را مختل می‌کنند مانند خونریزی.<sup>۴</sup>

عوامل استرس‌زای مختلف به‌طور عمده پاسخ‌های مشابهی را موجب می‌شوند که به گفته Selye "سندرم تطابقی عمومی" نامیده می‌شوند. پاسخ‌های استرسی که پاسخ‌های هماهنگ در جهت افزایش احتمال بقاء موجود می‌باشند شامل تغییراتی در عملکرد سیستم عصبی، سیستم ایمنی و ترشح هورمون‌هایی نظیر کورتیزول از غده فوق‌کلیه می‌باشند. به هنگام مواجهه با شرایط استرس‌زا، مغز از طریق محور هیپوتالاموسی - هیپوفیزی - فوق‌کلیوی، تمامی سلول‌های بدن را تحت تاثیر قرار می‌دهد.<sup>۵-۹</sup> به هنگام استرس، با تحریک هیپوتالاموس، هورمون Corticotrophin Releasing Hormone (CRH) آزاد شده، به غده هیپوفیز رسیده و در آنجا باعث ترشح هورمون Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) می‌شود. ACTH وارد جریان خون شده و با اثر بر غده فوق‌کلیوی، ترشح کورتیزول را افزایش می‌دهد.<sup>۱۰</sup>

به تازگی در بیماری‌های انگلی مانند مالاریا، توکسوپلاسموزیس، لیشمانیوزیس، شیتوزومیاوزیس و تریپانوزومیاوزیس تنظیم هورمونال پاسخ ایمنی مورد توجه قرار گرفته است. در این گونه بیماری‌ها، میانکنش سیستم‌های ایمنی و اندوکراین، دینامیک و دوطرفه است. در انگل‌ها دو مکانیسم متفاوت برای حفظ حیات در بدن میزبان تکامل یافته است. اولین مکانیسم گریز از پاسخ ایمنی میزبان است مانند مداخله مستقیم در پردازش و نمایش آنتی‌ژن. در مکانیسم دوم، انگل از سیستم میزبان به نفع خود استفاده می‌کند و امتیازاتی مانند رشد و تولیدمثل را به دست می‌آورد. برای نمونه *نگلریا فاولری*، کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی را از سطح به درون سلول کشانده و از این راه مزایایی دوگانه به دست می‌آورد.

مزیت اول به دست آوردن اسید آمینه برای متابولیسم و دیگری جلوگیری از میانکنش سلول میزبان و انگل. شواهد اخیر آزمایشگاهی منتهی به پیشنهاد مکانیسمی دیگر برای بهره‌کشی از میزبان توسط انگل گشته است. بدین صورت که انگل به‌طور مستقیم با تاثیر بر

استفاده از روغن ایمرسیون، در زیر میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰X مشاهده گردید.

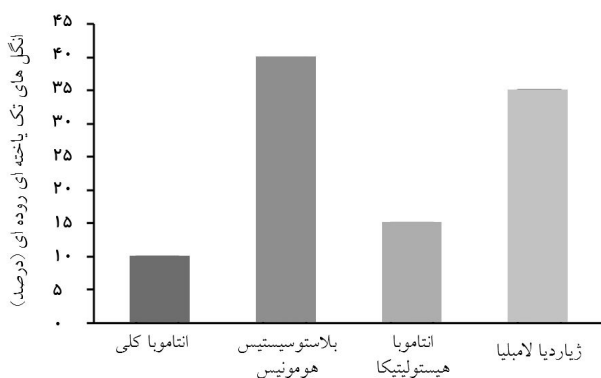
به منظور شمارش سلول‌های خونی، قسمتی از گستره در محلی که سلول‌ها انباشتگی یا فاصله زیاد از یکدیگر نداشته و به صورت مرتب در کنار یکدیگر قرار داشتند، انتخاب شد. در ناحیه منتخب، صد سلول با حرکت مستقیم در عرض لام، شمارش گردید. سپس نسبت نوتروفیل به لنفوسیت محاسبه گردید.

همه نتایج و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) بیان شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون t-test غیر مزدوج در تحلیل نتایج استفاده شد. در تمام آزمون‌ها،  $P < 0/05$  به عنوان مرز معنادار بودن نتایج در نظر گرفته شد. از SPSS software, version 19 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

## یافته‌ها

در این پژوهش آلودگی‌های انگلی شامل ۴۰٪ بلاستوسیسیتیس هومونیس، ۳۵٪ ژیا‌ردیا لامبلیا، ۱۵٪ انتامویا هیستولیتیکا و ۱۰٪ انتامویا کلی گزارش شد (نمودار ۱).

در میانگین سنی افراد در گروه‌های کنترل (۲۵/۷۴  $\pm$  ۱/۱۸ سال) و مبتلا به آلودگی‌های انگلی (۲۷/۱۷  $\pm$  ۲/۷۲ سال)، اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد ( $P = 0/91$ ) (نمودار ۲).



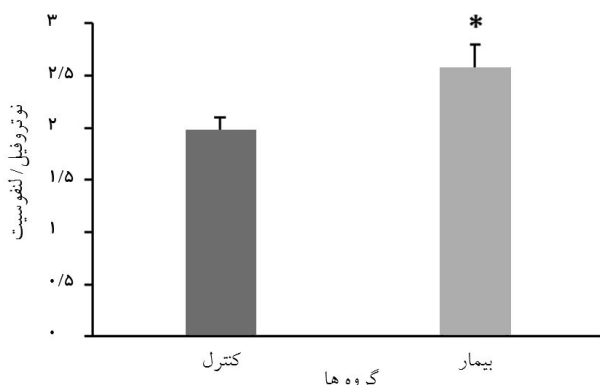
نمودار ۱: بررسی انگل‌های تک یاخته‌ای روده‌ای

بیماری خاص و درگیری سیستم ایمنی نبوده، استعمال دخانیات نداشته و هیچ نوع داروی خاص (به جز استامینوفن و مسکن‌های رایج) مصرف نمی‌کردند.

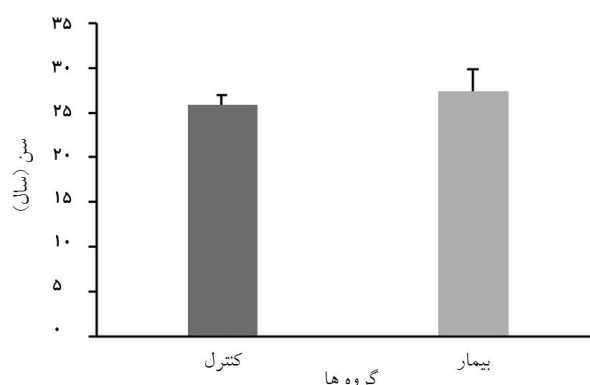
خونگیری به منظور سنجش سطح سرمی کورتیزول و تهیه اسمیرخونی انجام گرفت. از افراد حاضر در پژوهش، ۳ ml خون گرفته شد. از ۲ ml خون برای سنجش سطح سرمی کورتیزول استفاده شد. این مقدار خون در یک لوله آزمایش شیشه‌ای فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد و سپس به مدت پنج دقیقه در سانتیفریوژ (3k30, Sigma, Germany) با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و سرم حاصله پس از جداسازی، داخل Eppendorf 5804R Centrifuge (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) ریخته و در فریزر  $20^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد. به منظور سنجش کورتیزول از کیت سنجش Cortisol (Diagnostic Biochem, Canada) استفاده گردید. اساس این روش رقابت میان آنتی‌ژن کونژوگه و آنتی‌ژن آزاد در استاندارد، کنترل و نمونه مورد سنجش بر سر اتصال به آنتی‌بادی بود. در نهایت امر، میزان جذب نوری با استفاده از الیزا ریدر (Labsystem multiskan MS, Finland) خوانده شد.

به منظور تهیه اسمیر خونی، ۱ ml از این خون در لوله فالكون حاوی  $100\ \mu\text{l}$  EDTA ریخته شد. سپس لوله فالكون به مدت پنج دقیقه روی Plate Shaker (Organon Teknika, Belgium) قرار داده شد تا به خوبی با ماده ضد انعقاد مخلوط گردد. به منظور مشاهده دقیق انواع سلول‌های خونی، ابتدا یک قطره خون بر روی لام، نزدیک به لبه آن ریخته شد. سپس لام دیگری به طور مورب با زاویه حدود  $30^{\circ}$ - $20^{\circ}$  درجه در جلوی قطره خون بر روی لام اول قرار داده و خون در لبه این لام پخش شد.

لام دوم با سرعت در جهت مخالف از ابتدا تا انتها روی لام اول کشیده شد و بدین ترتیب لایه نازک گسترده و یکنواخت از خون روی لام اول به شکل شعله شمع ایجاد گردید. لام‌ها به منظور تثبیت سریع لایه خون، در دمای محیط خشک شدند. سطح لام‌های گسترده پس از خشک شدن با پنج قطره از محلول رنگی رایت به طور کامل پوشانده شد. سپس بافر فسفات رقیق به مقدار برابر با حجم رنگ مورد استفاده، روی لام ریخته شد و بدین ترتیب رنگ موجود در روی لام رقیق شد. رنگ رقیق شده به مدت ۱۵ دقیقه روی لام نگاه داشته شد. پس از شستشو با آب و خشک شدن لام‌ها، سلول‌های خونی با



نمودار ۴: مقایسه توزیع نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در گروه‌های کنترل و بیماران مبتلا به آلودگی‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای \* نشان‌دهنده اختلاف از گروه کنترل است ( $P < 0.05$ ).

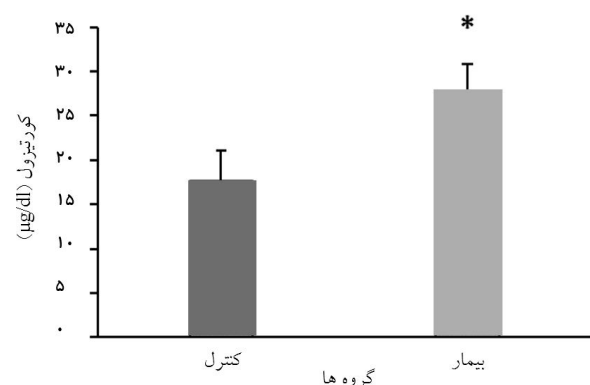


نمودار ۲: مقایسه توزیع سنی افراد در گروه‌های کنترل و بیماران مبتلا به آلودگی‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای

## بحث

در پژوهش حاضر، ارتباط بین آلودگی‌های انگلی (تک‌یاخته‌های روده‌ای) با غلظت کورتیزول سرم و تغییرات سیستم ایمنی (با بررسی نسبت نوتروفیل به لنفوسیت) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه غلظت کورتیزول سرم در دو گروه کنترل و مبتلا به آلودگی‌های انگلی تک‌یاخته‌ای روده‌ای بررسی گردید که نشان‌دهنده افزایش معنادار سطح سرمی کورتیزول در گروه مبتلا به آلودگی‌های انگلی تک‌یاخته‌ای روده‌ای نسبت به گروه کنترل بود.

Escobedo و همکاران گزارش کردند که انگل به‌طور مستقیم با تاثیر بر رهایش هورمون‌ها و فاکتورهای رشد میزبان از جمله هورمون‌های غده فوق کلیه باعث افزایش سرعت رشد و تولیدمثل خود می‌گردد.<sup>۱۱</sup> این مشاهدات نشان می‌دهد که پروتئین‌های شبه‌گیرنده گلوکوکورتیکویدی در انگل‌ها وجود دارد که در میانکشی انگل با لیگاند‌های گلوکوکور-تیکویدی نقش دارد.<sup>۱۵</sup> Li و همکاران نیز نشان دادند که حضور انگل در بدن یک نوع استرسور فیزیکی محسوب شده و سبب تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی-فوق کلیوی و افزایش مزمن در ترشح کورتیزول می‌گردد.<sup>۱۱</sup> Shirbazou و همکاران گزارش کردند که غلظت کورتیزول سرم در افراد مبتلا به توکسوپلازما گونای افزایش می‌یابد.<sup>۱۶</sup> بنابراین به نظر می‌رسد که آلودگی‌های انگلی سبب افزایش مزمن غلظت کورتیزول سرم می‌گردد و نتیجه پژوهش حاضر در راستای نتایجی است که به‌تازگی در رابطه با تاثیر انگل بر غده فوق کلیه گزارش شده است.



نمودار ۳: توزیع سطح سرمی کورتیزول در گروه‌های کنترل و بیماران مبتلا به آلودگی‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای \* نشان‌دهنده اختلاف از گروه کنترل است ( $P < 0.05$ ).

در بررسی سطح سرمی کورتیزول، در دو گروه سالم و بیماران مبتلا به آلودگی‌های انگلی، افزایش معنادار در سطح سرمی کورتیزول در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی ( $27/85 \pm 2/99 \mu\text{g/dl}$ ) نسبت به افراد سالم ( $17/61 \pm 3/52 \mu\text{g/dl}$ ) مشاهده گردید ( $P = 0/043$ ) (نمودار ۳).

افزایش معناداری در نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی ( $2/55 \pm 0/24$ ) نسبت به گروه کنترل ( $1/95 \pm 0/13$ ) مشاهده شد ( $P = 0/026$ ) (نمودار ۴).

منفی استرس ناشی از آلودگی انگلی بر سیستم ایمنی و به‌ویژه تعداد نفوسیت‌ها می‌باشد. نشان داده شده است که انگل‌ها با تعدیل فعالیت سیستم ایمنی بدن میزبان، زمینه ادامه حیات در بدن انسان را فراهم می‌کنند.<sup>۱۱</sup>

تضعیف سیستم ایمنی مشاهده شده در پژوهش حاضر را می‌توان به تاثیر غیرمستقیم حضور انگل‌ها در بدن نسبت داد، بدین معنی که وجود انگل به‌عنوان یک عامل استرس‌زا برای بدن میزبان محسوب شده و ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی از غدد فوق‌کلیه در پاسخ به این عامل استرس‌زا افزایش می‌یابد. این هورمون‌ها اثرات مختلفی را در نقاط مختلف بدن القا می‌کنند که یکی از مهمترین آنها تاثیر بر تمایز نفوسیت‌ها و کاهش حساسیت و فعالیت سیستم ایمنی می‌باشد.<sup>۱۷</sup>

پژوهش حاضر با استفاده از سنجش هورمون استرس و بررسی میزان التهاب عمومی با اندازه‌گیری نسبت نوتروفیل به نفوسیت نشان داد که آلودگی‌های انگلی می‌توانند به‌عنوان یک محرک استرسی عمل کرده و سبب افزایش کورتیزول و کاهش حساسیت و عملکرد سیستم ایمنی گردند.

سپاسگزاری: از همکاری صمیمانه آقای دکتر هدایت صحرايي ریاست محترم و اساتید کوشای مرکز علوم و اعصاب دانشگاه بقیه‌الله (عج)، همچنین از زحمات پرسنل آزمایشگاه در بیمارستان‌های بعثت نهجا و بقیه‌الله (عج) قدردانی می‌گردد.

پژوهشگران بر این باورند که نسبت نوتروفیل به نفوسیت، نسبت به مقدار کلی لکوسیت‌ها در بیماری‌های التهابی شاخص حساس‌تری می‌باشد.<sup>۱۷</sup> براساس نتایج پژوهش حاضر، افزایش نسبت نوتروفیل به نفوسیت، ممکن است با پیشرفت فعال عفونت و یک پیش‌بینی نامساعد از آلودگی به تک‌یاخته‌های روده‌ای مرتبط باشد. از طرف دیگر نسبت نوتروفیل به نفوسیت می‌تواند از پارامترهای بالقوه مفید برای ارزیابی میزان فعالیت سیستم استرسی در این بیماران محسوب گردد. در پژوهش حاضر نسبت نوتروفیل به نفوسیت در اسمیرهای خونی افراد مورد بررسی قرار گرفت که نشان‌دهنده بالاتر بودن این نسبت در افراد آلوده در مقایسه با گروه کنترل است.

Taudorf و همکاران گزارش کردند که در انسان‌ها، افزایش ترشح گلوکوکورتیکوئیدها به‌صورت مزمن، با اثر بر گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در سطح سلول‌های پیش‌ساز نفوسیت باعث کاهش تولید نفوسیت‌ها و اختلال در تمایز آنها می‌گردد.<sup>۱۷</sup> کاهش تعداد نفوسیت‌ها از مهمترین نشانه‌های تاثیر استرس مزمن بر فعالیت دستگاه ایمنی است. از آنجا که تولید و تمایز نوتروفیل‌های خون تحت تاثیر استرس و هورمون‌های استرسی قرار نمی‌گیرد،<sup>۱۸</sup> به‌نظر می‌رسد که نسبت این دو سلول به‌هم و تغییرات آن می‌تواند به‌عنوان یکی از نشانه‌های مهم افزایش فعالیت دستگاه استرس محسوب شود.<sup>۱۷</sup> در پژوهش حاضر نیز این نسبت در افراد مبتلا به آلودگی‌های انگلی افزایش نشان داد که نشان‌دهنده تاثیر

## References

1. Haque R. Human Intestinal Parasites. *J Health Popul Nutr* 2007;25(4):387-91.
2. Simsek Z, Zeyrek FY, Kurcer MA. Effect of Giardia infection on growth and psychomotor development of children aged 0-5 years. *J Trop Pediatr* 2004;50(2):90-3.
3. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 2007;87(3):873-904.
4. Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30(3):695-728; vii-viii.
5. Petrov T, Krukoff TL, Jhamandas JH. Chemically defined collateral projections from the pons to the central nucleus of the amygdala and hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. *Cell Tissue Res* 1994;277(2):289-95.
6. Petrov T, Jhamandas JH, Krukoff TL. Electrical stimulation of the central nucleus of the amygdala induces fos-like immunoreactivity in the hypothalamus of the rat: a quantitative study. *Brain Res Mol Brain Res* 1994;22(1-4):333-40.
7. Gray TS, Piechowski RA, Yracheta JM, Rittenhouse PA, Bethea CL, Van de Kar LD. Ibotenic acid lesions in the bed nucleus of the stria terminalis attenuate conditioned stress-induced increases in prolactin, ACTH and corticosterone. *Neuroendocrinology* 1993;57(3):517-24.
8. Gray TS, Carney ME, Magnuson DJ. Direct projections from the central amygdaloid nucleus to the hypothalamic paraventricular nucleus: possible role in stress-induced adrenocorticotropin release. *Neuroendocrinology* 1989;50(4):433-46.
9. Gully D, Geslin M, Serva L, Fontaine E, Roger P, Lair C, et al. 4-(2-Chloro-4-methoxy-5-methylphenyl)-N-[(1S)-2-cyclopropyl-1-(3-fluoro-4-methylphenyl)ethyl]-5-methyl-N-(2-propynyl)-1,3-thiazol-2-amine hydrochloride (SSR125543A): a potent and selective corticotrophin-releasing factor(1) receptor antagonist. I. Biochemical and pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301(1):322-32.
10. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002;53(4):865-71.
11. Escobedo G, Roberts CW, Carrero JC, Morales-Montor J. Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? *Trends Parasitol* 2005;21(12):588-93.

12. Li M, Leatherland JF, Woo PT. Cortisol and dexamethasone increase the in vitro multiplication of the haemoflagellate, *Cryptobia salmositica*, possibly by interaction with a glucocorticoid receptor-like protein. *Int J Parasitol* 2013;43(5):353-60.
13. Roxstrom-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svärd SG. Giardia immunity: an update. *Trends Parasitol* 2006;22(1):26-31.
14. Turnbull AM, Lin Z, Matthews BN. Severe bilateral anterior uveitis secondary to giardiasis, initially misdiagnosed as a side effect of metronidazole. *Eye (Lond)* 2013;27(10):1225-6.
15. Li M, Woo PT. Glucocorticoid receptors on and in a unicellular organism, *Cryptobia salmositica*. *Int J Parasitol* 2014;44(3-4):205-10.
16. Shirbazou S, Abasian L, Talebi Meymand F. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on plasma testosterone and cortisol level and stress index on patients referred to Sina hospital, Tehran. *Jundishapur J Microbiol* 2011;4(3):167-73.
17. Taudorf S, Krabbe KS, Berg RMG, Pedersen BK, Møller K. Human models of low-grade inflammation: bolus versus continuous infusion of endotoxin. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14(3):250-5.
18. Pillay J, den Braber I, Vrisekoop N, Kwast LM, de Boer RJ, Borghans JA, et al. In vivo labeling with  $^2\text{H}_2\text{O}$  reveals a human neutrophil life-span of 5.4 days. *Blood* 2010;116(4):625-7.

## General inflammation and stress in patients with intestinal protozoan infections in two hospitals in Tehran

Vahdat Haji Hoseinlou M.Sc.  
Shahnaz Shirbazou Ph.D.\*  
Hedayat Sahraei Ph.D.

Neuroscience Research Center,  
Department of NeuroParasitology,  
Baqiyatallah (a.s.) University of  
Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Neuroscience  
Research Center, Department of NeuroParasitology, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Aghdasiyeh St., Tehran, Iran.  
Tel: +98-21-22289941  
E-mail: s.shirbazou@yahoo.com

### Abstract

Received: 24 Jan. 2015 Accepted: 29 Apr. 2015 Available online: 06 Jul 2015

**Background:** Protozoa are unicellular eukaryotes. A type of intestinal protozoan pathogens is the cause of infection and serious injuries in human with or without clinical symptoms. It seems that parasitic infections as a stressor factor can affect on stress system activity and immune system function and sensitivity. The major purpose of this paper was to evaluate serum cortisol level and the general inflammation by measuring neutrophil to lymphocyte ratio in patients with intestinal protozoa.

**Methods:** A total of 40 men were entered in a case-control study in Besat and Baqiyatallah (a.s.) Hospitals in Tehran from April to September 2014. Men were equally divided into 2 groups based on infection with the intestinal protozoa (control and patient groups). This study was conducted on blood samples of these people. Serum cortisol level and neutrophil to lymphocyte ratio were determined in control and patient with the intestinal protozoa groups. Cortisol was measured using cortisol kit (Diagnostic Biochem, Canada) and by ELISA method. In addition, the samples were treated with Wright stain method, and neutrophil to lymphocyte ratio was calculated using WBC diffraction method.

**Results:** According to the results of this study, mean age between control and patient groups was not statistically significant ( $P=0.91$ ). Serum cortisol concentration in patients with the intestinal protozoa was significantly higher than the control group ( $P=0.043$ ). In addition, a significant increase was observed in neutrophil to lymphocyte ratio in patients with parasitic infections compared to the control group ( $P=0.026$ ).

**Conclusion:** Based on the results of this study, parasitic infection (intestinal protozoa) as a stressor factor can increase serum cortisol concentration. In addition, intestinal protozoa was reduced immune system sensitivity and function. It seems that the neutrophil to lymphocyte ratio can be a potential useful parameters for evaluating the stress system activity and function in patients infected with the intestinal protozoa.

**Keywords:** case-control studies, general inflammation, intestinal parasites, neutrophil to lymphocyte ratio, stress.