مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۶، شهریور ۱۳۹۴(شماره پی در پی۱۰۱)

همراهی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت 137G/C با بیماری کاندیدیازیس واژینال

محمد سلیمانی پور[1]*، سیروس نعیمی[2]

[1]گروه مامایی ـ پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد استهبان ، استهبان ، ایران، [2]گروه زیست شناسی ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون ، کازرون ، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: کاندیدیازیس واژینال یک بیماری فرصت طلب مخاطی است که ۷۵ درصد از خانم‌های واقع در دوران باروری را برای حداقل یک بار آلوده می‌نماید. عوامل مختلفی از جمله فاکتورهای ژنتیکی و ایمونولوژی در ایجاد این بیماری نقش مهمی را ایفا می‌نمایند. اینترلوکین ۱۸ از جمله سایتوکاین‌های مهم در سیستم ایمنی بوده و ژن آن در چندین موقعیت دارای چند شکلی تک نوکلئوتیدی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ و ارتباط آنها با بیماری کاندیدیازیس واژینال بود.

روش بررسی: در این مطالعه موردی ـ شاهدی، از خون محیطی ۱۰۰ خانم مبتلا به بیماری کاندیدیازیس واژینال و ۱۰۰ زن سالم جهت استخراج DNA استفاده گردید. پلی مورفیسم ژن اینتر لوکین ۱۸ در موقعیت‌های-607C/A و G/C-138 با روش Allele Specific PCR مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج حاصله از مطالعه با آزمون‌های مجذور کای مورد مطالعه قرار گرفت و برای بررسی این که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در جایگاه مورد بررسی از تعادل هاردی واینبرگ تبعیت می‌کنند یا خیر از الگوریتم‌های موجود در برنامه آرلی کویین استفاده شد.

یافته‌ها : فراوانی ژنوتیپ‌های حاصل از پلی مورفیسم موقعیت -607C/A مربوط به ژن IL-18 تفاوت معنی‌داری را در افراد مبتلا به کاندیدیازیس واژینال و گروه کنترل نشان نداد($p>0/05$). در صورتی که در موقعیت G/C -138، تفاوت معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ CC و آلل C مشاهده گردید که این تفاوت با افزایش معنی‌دار آلل مذکور در بیماران همراه بود($p<0/05$).

نتیجه‌گیری : با توجه به این که، افزایش میزان بیان ژنوتیپ CC و آلل C باعث کاهش فعالیت پروموتر ژن اینترلوکین ۱۸ گردیده و بالطبع باعث کاهش اثرگذاری این سایتوکاین در سیستم ایمنی می‌گردد و از آن جایی که این سایتوکاین باعث سوق یافتن سیستم ایمنی به سمت Th1 می‌گردد، لذا به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت پروموتر این ژن می‌تواند منجر به کاهش فعالیت سیستم ایمنی گردیده و در نتیجه افراد را مستعد به بیماری کاندیدیازیس واژینال نماید.

واژه‌های کلیدی: پلی مورفیسم، کاندیدیازیس واژینال ،اینترلوکین ۱۸، ژنوتیپ

***نویسنده مسئول: محمد سلیمانی‌پور**، گروه مامایی ـ پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد استهبان، استهبان، ایران
Email: M_Solimanipour@Iauestahban.ac.ir

مقدمه

کاندیدیازیس واژینال که اغلب به وسیله *کاندیدا آلبیکنس*[1] ایجاد می‌شود، یک بیماری فرصت‌طلب مخاطی است که ۷۵ درصد از خانم‌هایی که در دوران باروری می‌باشند را برای حداقل یک بار هم که شده، آلوده می‌نماید(۱) .این میکروارگانیزم معمولاً به عنوان نرمال فلورا، در مجاری دستگاه تناسلی وجود دارد(۴ـ۲). با این حال تحت شرایط خاصی می‌تواند یک دامنه از بیماری‌ها از قبیل کاندیدیازیس واژینال[2]، کاندیدیازیس اوروفاژینال[3] و عفونت سیستمیک[4] منتشر را ایجاد کند(۵). اکثر بیماران مبتلا به کاندیدیازیس منتشر، نوروپاتیک[5] هستند(۶). فاکتورهای دخیل در ایجاد کاندیدیازیس واژینال متفاوت بوده و شامل دیابت، حاملگی، HIV ، درمان با گلوکوکورتیکوئیدها، درمان‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی و یا درمان با آنتی‌بیوتیک می‌شود(۱۰ـ۷)، عفونت کاندیدا آلبیکنس به وسیله سیستم ایمنی ذاتی و سلولی شناسایی می‌شود. سیستم ایمنی ذاتی با فاگوسیت کردن عامل بیماری ، علاوه برکشتن میکرواورگانیسم با ارایه آن به سلول‌های سیستم ایمنی اکتسابی(به عنوان سلول اراده دهنده آنتی ژن) و هم‌چنین ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی باعث فعال شدن سیستم ایمنی اکتسابی می‌شوند. تعادل بین دو سیستم Th1 و Th2 ایمنی اکتسابی در پاسخ به عفونت‌های کاندیدیایی نقش مهم و پیچیده‌ای را ایفا می‌نماید. سیستم ایمنی اکتسابی در مقابل عفونت‌های قارچی با ترشح اینترفرون گاما(INF- γ) باعث فعال شدن سیستم ایمنی اکتسابی از مسیر ایمنی سلولی Th1 می‌گردد که یکی از مکانیسم‌های پاسخ ایمنی سلول در مقابله با کاندید یا و دفاع در مقابل این بیماری می‌باشد. از طرف دیگر با تولید اینتر لوکین ـ ۴ و اینتر لوکین ـ ۱۰، باعث سوق یافتن سیستم ایمنی به سمت Th2 و مهار پاسخ‌های التهابی می‌گردد که این می‌تواند منجر به مستعد شدن فرد به بیماری گردد (۱۴ـ۱۱).

اینترلوکین ـ ۱۸ از جمله سایتوکاینهایی می‌باشد که با اثر سینرژیستی[6] بر روی اینترلوکین ۱۲، باعث القاء تولید اینترفرون گاما گردیده و در نتیجه پاسخ ایمنی را به سمت Th1 سوق می دهد. اینترلوکین ۱۸ در فرم بیولوژیکی به صورت یک پیش‌ساز غیر فعال ساخته شده و بعد از این که به وسیله کاسپاز ۱ یا دیگر کاسپازها شکسته شد به فرم فعال تبدیل می‌گردد(۱۶ و ۱۵).

اینترلوکین ـ ۱۸ می‌تواند بر روی سلول‌های Th1، سلول‌های کشنده طبیعی، سلول‌های B و سلول‌های دندریتیک اثر کرده و این سلول‌ها را در حضور اینترلوکین ـ ۱۲ وادار به تولیداینترفرون گاما نماید. از جمله نکات مورد توجه در مورد اینترلوکین ـ ۱۸، ذکر این نکته ضروری است که این سایتوکاین در غیاب اینترلوکین ـ ۱۲، بر روی سلول‌های کشنده طبیعی، لنفوسیت‌های T و بازوفیل‌ها

1-Candidia Albicans
2-Vulvovaginal Candidiasis
3-Orophaginal Cndidiasis
4-Systemic Infection
5-Neuropathic
6-synergistic

اثر کرده و باعث می‌شود که این سلول‌ها ،اینترلوکین- ۱۳و اینترلوکین- ۱۴ ترشح نمایند و سیستم ایمنی را به سمت Th2 سوق دهند. بنابراین اینترلوکین ۱۸، قادر هست که هم ایمنی ذاتی و هم پاسخ‌های Th1 و Th2 را القاء نماید.

ژن اینترلوکین ۱۸(OMIM ۶۰۰۹۵۳) بر روی کروموزوم شماره 11q22.2-q22.3 قرار دارد و دارای شش اگزون می‌باشد. چندین پلی مورفیسم برای ژن مذکور شناخته شده است که در موقعیت‌های مختلف قرار دارد. با توجه به نقش مهم این سایتوکاین در سیستم ایمنی، هدف از این مطالعه بررسی پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین- ۱۸ در موقعیت‌های (C-607A) و (G-137C) در افراد مبتلا به بیماری کاندیدیازیس واژینال و مقایسه آن با زنان سالم بود.

روش بررسی

در این تحقیق موردی ــ شاهدی، بیماران مراجعه کننده به پزشکان متخصص زنان و زایمان در استان بوشهر، در طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳، به صورت تصادفی انتخاب شده که بیماری افراد مذکور با توجه به علایم کلینیکی بیماری و اطلاعات حاصل از آزمایش‌ها و تست اسلاید کالچر و مشاهده قارچ کاندیدیا و تأیید آن به وسیله متخصص قارچ شناسی پزشکی، مورد تأیید قرار گرفته شد. لازم به ذکر است که قبل از خون‌گیری، افراد مورد مطالعه به طور کامل توجیه شده و از آنها رضایت‌نامه کتبی مبنی بر اجازه استفاده از نمونه‌های خون ایشان در جهت کارهای تحقیقاتی گرفته شده است. این بررسی با توجه به شیوع بیماری و نظر متخصص آمار بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس واژینال صورت گرفته است. تعداد ۱۰۰ نفر خانم به عنوان گروه کنترل در مطالعه، به طور تصادفی از میان مراجعه‌کنندگان به کلینیک متخصصان زنان و زایمان، به نحوی انتخاب شدند که هیچگونه علایم بالینی ناشی از بیماری را نشان ندادند. از افراد مورد مطالعه ۵ سی‌سی خون سیاهرگی گرفته شد و به لوله‌های آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی با روش Proteinase K استخراج شد. جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه در موقعیت‌های 607C/A- و138G/C- از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز اختصاصی آلل استفاده گردید. این نوع PCR زمانی استفاده می‌شود که تفاوت بین پلی مورفیسم ژن‌های مختلف تنها در نوکلئوتید آخری باشد. آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی ارایه شده در جدول ۱ زیر انجام گردید(۱۷)؛

a – پرایمر برای بررسی پلی‌مورفیسم C-607-A ژن IL-18

1-Common Reverse 5'-TAA CCT CAT GGA CTTCC-3'

2-Forward I 5'-gTT GCA GAAAGT GTAAAAATT ATTAC-3'

3-Forward II 5'-GTT GCA GAAAGT GTAAAAATT ATTAA-3'

4-Controle (internal) 5'-CTT TGC TAT CATTCC AGG AA-3'

b – پرایمر جهت بررسی پلی مورفیسم G-137-C ژن IL-18

1-Common reverse 5' –AGG AGG GCA AAATGC ACT GG-3'

2-Forward I 5'- CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAAAG-3'

3-forwardII 5'- CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AC-3'

4-(internal controle) 5'-CCA ATA GGA CTG ATT ATT CCG CA-3'

انجام واکنش PCR برای تعیین پلی مورفیسم در موقعیت C/A ۶۰۷ به این صورت بود که، برای هر نمونه دو تیوپ نیم میلی‌لیتری مخصوص PCR در نظر گرفته شد و در تیوپ مزبور ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر، ۰/۷۵ میکرولیتر از مخلوط ۱۰ میلی‌مولار dNTP، ۰/۵۵ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۲۵ میلی مولار، یک میکرولیتر از پرایمر FI در تیوپ شماره یک و یک میکرولیتر از پرایمر FII در تیوپ شماره ۲ ، مقدار ۳۴/ میکرولیتر از پرایمر کنترل و مقدار یک میکرولیتر از پرایمر Reverse در هر تیوپ ریخته شد که همگی پرایمرها با غلظت (۲۰ پیکومولار) بودند. سپس با آب دیونیزه شده به مقدار ۱۵/۸۶ میکرولیتر مقدار محلول موجود در هر تیوپ را به ۲۲ میکرولیتر رسانده و در مرحله بعد ، مقدار یک میکرولیتر از DNA الگو با غلظت ۰/۳ میکروگرم بر میکرولیتر به آن اضافه شد و در نهایت به هر کدام از تیوپ‌ها مقدار ۲ میکرولیتر از آنزیم Taq پلی مرازبا غلظت(۱ .....فارسی.....) اضافه شد. مخلوط حاصل ابتدا در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد و سپس برای ۳۲ سیکل، شامل ۲۰ ثانیه واسرشته شدن (denaturation) در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ ثانیه مرحله اتصال پرایمر (annealing) در دمای ۶۴ درجه و ۸۰ ثانیه جهت مرحله طویل‌سازی(extent ion) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکرار شد. نهایتاً به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد طویل سازی نهایی صورت گرفت.

مقادیر استفاده شده جهت موقعیت G/C -137 نیز مشابه موقعیت C/A-607 می‌باشد با این تفاوت که در این جا از پرایمرهای اختصاصی خود موقعیت که قبلاً به آن اشاره شده است استفاده شد.

واکنش انجام شده و مراحل مشابه پلی‌مورفیسم در موقعیت C/A ۶۰۷ بود به جز اینکه در مراحل PCR، تعداد سیکل ۳۰ چرخه و زمان اتصال پرایمر ۸۰ ثانیه بود.

محصول نهایی سپس بر روی ژل آگاروز ۲ درصد و با رنگ‌آمیزی ژل رد (Gel Red) الکتروفورز و مشاهده گردید. براین اساس سه ژنوتیپ برای این پلی‌مورفیسم‌ها قابل مشاهده می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایش ASP-PCR بر روی بیماران و گروه کنترل با شرایط ذکر شده مورد آزمایش منجر به تولید محصولی به طول ۱۹۶ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ۳۰۱ به عنوان کنترل داخلی در مورد پروموتر C/A-607 و هم‌چنین یک قطعه به طور ۲۶۱ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ۴۴۶ جفت باز به عنوان کنترل داخلی در مورد پروموتر G/C-137 گردید. در الکتروفورز در صورتی که فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت باشد فقط قطعه C و یا قطعه A را در مورد پروموتر ۶۰۷- و یا فقط قطعه G و یا قطعهC را در مورد پروموتر ۱۳۷- مشاهده می‌گردد. و اگر فرد هتروزیگوت باشد هر دو قطعه در ژل الکتروفورز ظاهر می‌گردد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری مجذور کای،

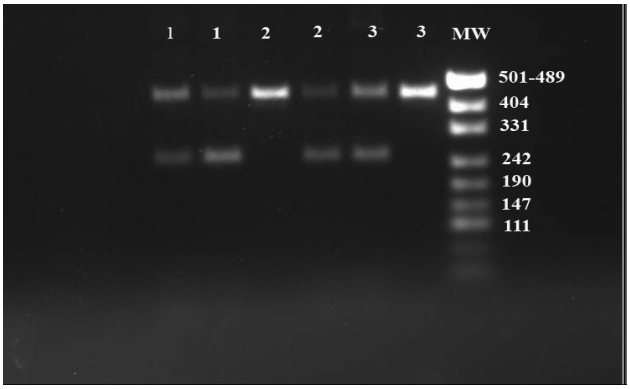
تجزیه و تحلیل شد. جهت تعیین این مطالعه از تعادل ژنتیک جمعیت ، تبعیت می‌کند یا خیر، از آزمون تعادل هاردی ـ وین برگ[1] استفاده شد. این اصل به این صورت بیان می‌شود که فرکانس آلل‌ها و ژنوتیپ در یک جمعیت از نسلی به نسل دیگر ثابت می‌ماند یا در تعادل است، در صورتی که عوامل مختل کننده خاصی رخ ندهد. از جمله این عوامل مختل کننده می‌توان به جهش، انتخاب طبیعی، شارش ژن و جفت گیری غیرتصادفی اشاره کرد(۱۸).

یافته‌ها

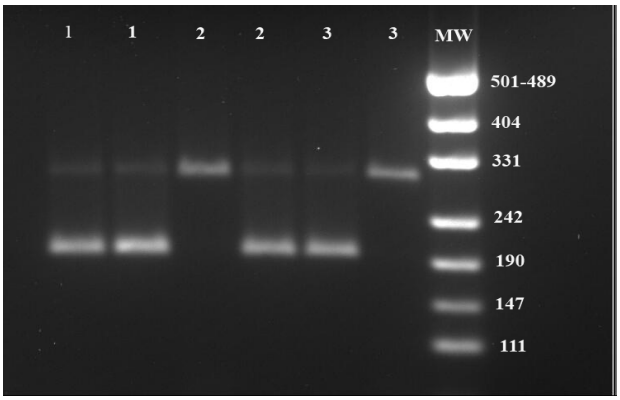
در این بررسی میانگین سنی بیماران مورد مطالعه۶ ±۲۳/۴ سال و میانگین سنی افراد کنترل ۷±۲۵/۸ سال بود. نتایج حاصل از آزمایش PCR منجر به ایجاد قطعاتی از ژنوم گردید که شرح آن در بخش مواد و روش‌ها ذکر شد (تصاویر ۱ و ۲). از میان ۱۰۰ نفر مورد مطالعه در بیماری کاندیدیازیس واژینال، در پروموتر ۶۰۷- ، (۳۴ درصد) ژنوتیپ CC، (۱۲ درصد) ژنوتیپ AA و (۵۴ درصد) ژنوتیپ CA را نشان دادند. و در مورد افراد گروه کنترل به ترتیب (۳۱ درصد) ، (۱۳ درصد) و (۵۶ درصد) می‌باشد. با استفاده از آزمون‌های آماری، مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری بین افراد بیمار و گروه کنترل وجود ندارد. از طرف دیگر بررسی آلل‌های پروموتر ژن اینتر لوکین ۱۸ در موقعیت ۶۰۷- ، نشان داد که (۶۱ درصد) از افراد بیمار دارای آلل C و ۳۹ درصد، دارای آلل A می‌باشند که این نسبت در افراد گروه کنترل به ترتیب ۵۹ درصد و ۴۱ درصد می‌باشد. نتایج حاصله به وسیله نرم‌افزار epi2000 و آزمون مربع کای نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ و آلل پروموتر ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۶۰۷- میان بیماران وافراد کنترل وجود ندارد.

نتایج حاصل از بررسی پلی‌مورفیسم ژن اینتر لوکین ۱۸ در موقعیت 137G/C-، نشان داد که از میان ۱۰۰ نفر مورد مطالعه در بیماری مذکور در پروموتر ۱۳۷- ، ۳۸ نفر (۳۸درصد) دارای ژنوتیپ GG، ۲۲ نفر (۲۲ درصد) دارای ژنوتیپ CC و ۴۰ نفر(۴۰ درصد) دارای ژنوتیپ GC بوده‌اند. که این درصد در مورد افراد گروه کنترل به ترتیب ۴۰ نفر(۴۰ درصد) ، ۱۴ نفر(۱۴ درصد) و ۴۶ نفر(۴۶ درصد) بود. با استفاده از آزمون‌های آماری، تفاوت معنی‌داری بین افراد بیمار و گروه کنترل مشاهده گردید($p=۰/۰۱$). از طرف دیگر بررسی آلل‌های پروموتر ژن اینتر لوکین ۱۸ در موقعیت مذکور ، نشان داد که (۵۸ درصد) از افراد بیمار دارای آلل G و (۴۲ درصد)، دارای آلل C می‌باشند که این نسبت در افراد گروه کنترل به ترتیب (۴۸ درصد) و (۵۲ درصد) می‌باشد. در مقایسه فراوانی آلل‌های G و C بیماران با گروه کنترل نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد($p=۰/۰۲$). (جداول۱و۲).

1-Hardy- Weinberg



تصویر ۱: شناسایی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم موقعیت ۱۳۷- در ژل آگارز ۱/۵درصد
۱- باند هتروزیگوت GC، ۲- باند هموزیگوت CC، ۳- باند هموزیگوت GG



تصویر ۲ : شناسایی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم موقعیت ۶۰۷- در ژل آگارز ۱/۵درصد
۱- باند هتروزیگوت AC ، ۲- باند هموزیگوت CC، ۳- باند هموزیگوت AA

جدول ۱: مقایسه پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ (-137G/C;-607 C/A) در بیماران مبتلا به کاندیدیازیس واژینال وکنترل

لوکوس	بیمار	کنترل	ژنوتیپ	P
تعداد	۱۰۰	۱۰۰		
-607C/A	۳۴(٪۳۴)	۳۱(٪۳۱)	**CC**	۰/۰۸
	۵۴(٪۵۴)	۵۶(٪۵۶)	CA	
	۱۲(٪۱۲)	۱۳(٪۱۳)	AA	
-137G/C	۳۸(٪۳۸)	۴۰(٪۴۰)	GG	۰/۰۱
	۲۲(٪۲۲)	۱۴(٪۱۴)	CC	
	۴۰(٪۴۰)	۴۶(٪۴۶)	GC	

جدول۲: مقایسه فراوانی آللهای اینترلوکین ۱۸ (-137G/C;-607 C/A) در بیماران مبتلا به کاندیدیازیس واژینال وکنترل

لوکوس	بیمار	کنترل	آلل	P
	۲۰۰	۲۰۰		
-۶۰۷	۱۲۲(٪۶۱)	۱۱۸(٪۵۹)	C	۰/۱۲
	۷۸ (٪۳۹)	۸۲(٪۴۱)	A	
-۱۳۷	۱۱۶(٪۵۸)	۹۶(٪۴۸)	G	۰/۰۲
	۸۴(٪۴۲)	۱۱۴(٪۵۲)	C	

بحث

مخمر دی مرفیک کاندیدا آلبیکانس در مجاری گوارشی به عنوان یک میکروارگانیزم هم زیست عمل می‌کند(۲۳-۱۹). با این حال تحت شرایط خاصی، این ارگانیزم می‌تواند به عنوان یک پاتوژن باعث ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از کاندیدازیس واژینال تا عفونت سیستمیک منتشر گردد(۲۴). مخمر کاندیدا آلبیکانس، به وسیله سیستم ایمنی ذاتی شناسایی می‌شوند. خانواده رسپتورهای شبه Toll (TLR) و همچنین رسپتور شبه لکتین(LR) از کلاس‌های اصلی رسپتورهای الگوهای شناسایی هستند که در شناسایی کاندیدا آلبیکانس نقش مهمی دارند(۲۵) این مولکول‌ها بر سطح سلول‌های بیکانه خوار تک هسته‌ای بیان شده و به عنوان گیرنده‌های شناسایی عوامل بیماری‌زا (PRRs) شناخته می‌شوند(۲۶). مطالعه‌های انجام شده، نشان دهنده این مطلب است که وجود پلی مورفیسم در موقعیت‌های C/A 607- و G/C 137- در پروموتر ژن اینتر لوکین ـ ۱۸ ، می‌تواند باعث تفاوت در اتصال فاکتورهای نسخه‌برداری به ناحیه پروموتر ژن اینتر لوکین- ۱۸ گردیده و در نتیجه باعث تغییر در فعالیت ژن این سایتوکاین گردد(۲۸) . تاکنون مطالعه‌ای در مورد پلی مورفیسم این سایتوکاین و بیماری کاندیدیازیس واژینال انجام نشده است، ولی مطالعه‌های دیگری در مورد عملکرد این سایتوکاین در دیگر عفونت‌های ایجاد شده به وسیله کاندیدیا انجام گرفته است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ انجام گردیده، به نقش این سایتوکاین در جلوگیری از عفونت سیستمیک کاندیدیا در موش‌ها اشاره گردیده است(۲۹). جانسون و همکاران به بررسی پلی‌مورفیسم تعدادی سایتوکاین از جمله اینترلوکین- ۱۸ در بیماری عفونت خونی ایجاد شده به وسیله کاندیدیا پرداخته و ارتباطی در این مورد مشاهده نکردند(۳۰) . در مطالعه‌ای که به وسیله ترادیف و همکاران انجام شد ، این محققین به این نتیجه رسیدند که سلول‌های اپی‌تلیال با تولید اینترلوکین ـ ۱۸ و اینتر فرون گاما ، یک نقش محافظتی

موضعی را در مقابل کاندیدیا در بیماری کاندیدیازیی اوروفارینژیال، ایفا می‌نمایند(۳۱) .

در این مطالعه ، به بررسی پلی مورفیسم ژن اینتر لوکین ۱۸ در موقعیت‌های ۱۳۷- و ۶۰۷- و ارتباط آنها با بیماری کاندیدیازیس واژینال پرداخته شد .با توجه به بررسی‌های انجام شده، به نظر می‌رسد که این مطالعه اولین مطالعه بوده و تاکنون گزارشی در این مورد ارایه نشده است. نتایج نشان دهنده این مطلب است که ژنوتیپ CC در موقعیت 137- ژن اینترلوکین ـ ۱۸ در بیماران نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد، که همین تفاوت را در مورد آلل C در موقعیت مذکور نیز مشاهده می‌گردد. مطالعه‌های انجام شده، نشان‌دهنده این مطلب است که، تغییرC به A در موقعیت ۶۰۷- ، باعث تغییر در فعالیت فاکتورهای اتصال به DNA که از فاکتور cAMP به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند، می‌گردد. از طرف دیگر نشان داده شده است که جایگزینی آلل C به جای آلل G در موقعیت ۱۳۷- ، باعث تغییر در جایگاه اتصال فاکتور هسته‌ای H4TF-1 می‌گردد(۳۲). آلل G در موقعیت ۱۳۷- و آلل C در موقعیت ۶۰۷- ، با فعالیت پروموتر ژن اینترلوکین ۱۸ همراهی مثبتی را نشان می‌دهد(۳۲) .

نتیجه‌گیری

در مطالعه انجام شده، فرکانس ژنوتیپ CC و آلل C در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل، افزایش چشمگیری را نشان می‌داد و با توجه به مطالب ذکر شده، به نظر می‌رسد که افزایش میزان بیان ژنوتیپ CC و آلل C، باعث کاهش فعالیت پروموتر ژن اینترلوکین ـ ۱۸ و به دنبال آن باعث کاهش اثرگذاری این سایتوکاین در سیستم ایمنی بوده و از آن جایی که این سایتوکاین باعث سوق یافتن سیستم ایمنی به سمت Th1 می‌گردد، لذا کاهش فعالیت پروموتر این ژن می‌تواند منجر به کاهش فعالیت سیستم ایمنی گردیده و در نتیجه افراد را مستعد به بیماری‌های عفونی و از جمله کاندیدیازیس واژینال نماید. برای درک بهتر مکانیسم عملکرد این سایتوکاین در ایجاد و یا مقاومت در برابر بیماری کاندیدیازیس واژینال، پیشنهاد می‌گردد که در مطالعه‌های بعدی به بررسی سطح سرمی این سایتوکاین در افراد بیمار و مقایسه آن با افراد کنترل سالم و همچنین بررسی میزان بیان ژن اینتر لوکین ۱۸ در بیماران و افراد سالم صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۲۸۱، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد استهبان بود که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES:

1.Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PRI. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic diagnostic and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178: 203-11.
2.Fleury FJ. Adult vaginitis. Clin Obstet Gynecol 1981; 24: 407-38.
3.Giraldo P, von Nowaskonski A, Gomes FA, Linhares I, Neves NA, Witkin SS.. Vaginal colonization by Candida in asymptomatic women with and without a history of recurrent vulvovaginal candidiasis. Obstet Gynecol 2000; 95: 413-6.
4.Mardh PA , Rodrigues AG, Genç M, Novikova N, Martinez-de-Oliveira J, Guaschino S. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidiasis: a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. Inst J STD AIDS 2002; 13: 552-639.
5.Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol. 2015 Jul 9. pii: S0002-9378(15)00716-4.
6.Spellberg BJ, Filler SG, Edwards JE Jr. Current treatment trategies for disseminated candidiasis. Clin Infect Dis 2006; 42: 244-51.
7.Kent HL. Epidemiology of vaginitis. Am J Obstet Gynecol 1991; 165: 1168-76.
8.Milsom IMD, Forssman LMD. Repeated candidiasis: reinfectionor recrudescence? A review. Am J Obstet Gynecol 1985; 152: 956-8.
9.Nawrot U, Grzybek-Hryncewicz K, Zielska U, Czarny A, Podwińska J.The study of cell-mediated response in recurrent vulvovaginal candidiasis. FEMS Immunol Med Microbiol 2000; 29: 89-94.
10.Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol 1985; 152: 924-34.
11.Pugliese A, Beltramo T, Todros T, Cardaropoli S, Ponzetto A. Interleukin-18 and gestosis: correlation with Helicobacter pylori seropositivity. Cell Biochem Funct 2008; 26(7): 817-9.
12.Huang XD, Huang HF, Dong MY, Yao QW, Wang HZ. [Relationship between serum and placental interleukin-18 levels and preeclampsia. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2005; 34(6): 495-8.
13.Sakai M, Shiozaki A, Sasaki Y, Yoneda S, Saito S. The ratio of interleukin (IL)-18 to IL-12 secreted by peripheral blood mononuclear cells is increased in normal pregnant subjects and decreased in pre-eclamptic patients. J Reprod Immunol 2004; 61(2): 133-43.
14.Adams KM, Mandel LS, Guthrie KA, Atkinson MW. Interleukin-18 in the plasma of women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2003; 188(5): 1234-7.
15.Bohn E, Sing A, Zumbihl R, Bielfeldt C, Okamura H, Kurimoto M, et al. IL-18 (IFN-gamma-inducing factor) regulates early cytokine production in, and promotes resolution of, bacterial infection in mice. J Immunol 1998; 160(1): 299-307.
16.Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S, Yoshimoto T, Nakanishi K. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. Adv Immunol 1998; 70: 281-312.
17.Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. J Neuroimmunol 2001; 112: 146–52.
18.Emigh Ted H. A Comparison of tests for hardy–weinberg equilibrium. Biometrics 1980; 36(4): 627–42.
19.Fidel PL, Sobel A. Inmunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 335-48.
20. Fleury FJ. Adult vaginitis. Clin Obstet Gynecol 1981; 24: 407-38.
21.Girardo P, von Nowaskonski A, Gomes FA, Linhares I, Neves NA, Witkin SS. Vaginal colonization by candida in asymptomatic women with and without a history of recurrent vulvovaginal candidiasis. Obstet Gynecol 2000; 95: 413-6.
22.Hurley R. Trends in candidal vaginitis. Proc R Soc Med 1977; 70(4):1-8.
23.Milsom IMD, Forssman LMD. Repeated candidiasis: reinfectionor recrudescence? A review. Am J Obstet Gynecol 1985; 152: 956-8.
24.Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis. Lancet 2007; 369(9577): 1961-71.
25.Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of Candida albicans by the innate immune system. Nat Rev Microbiol 2008; 6: 67-78.
26.Dardick C, Ronald P. Plant and animal pathogen recognition receptors signal through non-RD kinases PLoS Pathog. 2006 Jan;2(1).
27.Damian J, Krysan,Fayyaz S. Sutterwala, Melanie Wellington. Candida albicans, Macrophages, and Pyroptosis PLoS Pathog. 2014 Jun 26;10(6).

28.Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. J Neuroimmunol 2001; 112: 146-52.
29.Ro Jos WM. Van der Meer, and Bart Jan Kullberg gier J. L. Stuyt, Mihai G. Netea Johan H. van Krieken, Recombinant Interleukin-18 Protects against Disseminated Candida albicans Infection in Mice. The Journal of Infectious Diseases 2004; 189:1524–7
30.Johnson MD, Plantinga TS, Van de Vosse E, Velez Edwards DR, Smith PB, et al . Cytokine gene polymorphisms and the outcome of invasive candidiasis: a prospective cohort study. Clin Infect Dis 2012; 54(4): 502-10 .
31.Tardif F, Goulet JP, Zakrazewski A, Chauvin P, Rouabhia M. Involvement of interleukin-18 in the inflammatory response against oropharyngeal candidiasis. Med Sci Monit 2004; 10(8): BR239-49.
32.Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutationanalysis of the human IL-18 promoter: A possible role of polymorphisms in expression regulation. J Neuroimmunol 2001; 112: (1-2)146–52.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Association of IL-18 Gene Polymorphism at Position -137G / C with Vaginal Candidiasis

Solimanipour M[1*], Naeimi S[2]

[1]Department of Midwifery and Nursing, Estahban Branch, Islamic Azad University, Estahban, Iran [2] Department of biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 23 Apr 2015 Accepted: 10 Aug 2015

Abstract

Background & aim: Vulvovaginal Candidiasis (VVC) is a common disease affecting more than 75% of all women at least once in their lifetime. Various factors, including genetic and immunology factors, plays an important role in this disease. IL-18 is an important cytokine in immune system and has several polymorphisms in the promoter region. This study attempted to evaluate associations between IL-18 gene polymorphisms in patients with acute Vulvovaginal Candidiasis.

Methods: In the present case-control study, a total of 100 women with Vulvovaginal Candidiasis and 100 healthy women in Iran were examined. DNA was extracted by saluting out method and Single nucleotide Polymorphisms of the IL-18 gene at positions -607 (C/A) and -137 (G/C) were analyzed by the Allele-specific PCR method and data were compared in both groups by using Pearson's chi-square test and to investigate that the genotypes study in the position followed the Hardy-Weinberg equilibrium, was assessed by the Arlequin 3.1.
Results: The results of this study showed that the frequency of genotypes of polymorphic position -607 C / A; IL-18 genes were not significantly different in patients with vaginal Candidiasis and the control group P> 0.05. On the other hand, in patients ,there was an association with a significant increase in the C allele and CC genotype, of the single nucleotide polymorphisms (SNPs) at position-137G/C in the IL-18 gene promoter and Vulvovaginal Candidiasis (P< 0.05) .

Conclusion: Due to the fact that an increase in the expression of CC genotype and allele C, can lead to reduction of Interleukin-18 gene promoter activity and according to the impact of that activity of this cytokine can lead to Th1 system, it seems that the promoter activity of this gene may lead to reduced activity of the immune system and as a result be prone to vaginal Candidiasis

Key words: Vulvovaginal candidiasis, IL-18, Genotype, Polymorphism

***Corresponding Author: Solimanipour M,** Department of Midwifery and Nursing, Islamic Azad University – Estahban Branch, Estahban, Iran
Email: M_Solimanipour@Iauestahban.ac.ir

Please cite this article as follows:
Solimanipour M, Naeimi S. Association of IL-18 Gene Polymorphism at Position -137G / C with Vaginal Candidiasis. Armaghane-danesh 2015; 20 (6): 505-515.