

ارزیابی واکنشهای ازدیاد حساسیت جلدی نسبت به آنتیژنهای کاندیدا آلبیکنس

دکتر علی ناصری بندقراپی^۱، دکتر علیرضا خسروی^{۲*}، دکتر سیدمحمد مؤذنی^۳، دکتر پروین منصوری^۴

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۸۱-۷۷، (۱۳۸۰)

مواد و روش کار

جهت انجام این مطالعه مراحل زیر طی شد:

الف) تهیه سوش کاندیدا آلبیکنس: سوش مورد نظر از مواد بالینی جدا شده، پس از کشت بر روی محیط مناسب، با استفاده از آزمایشاتی مانند توانایی ایجاد لوله زایا، ایجاد کلامید و کونیدی در محیط کورن میل آگار حاوی توئین ۸۰ و استفاده از کیت‌های API تشخیص آن، تأیید گردید.

ب) تولید انبوه: برای کشت انبوه کاندیدا آلبیکنس از محیط کشت YPD broth استفاده شد. محیط کشت به ارلن‌های یک لیتری (هر ارلن حاوی ۲۰۰ میلی لیتر) اضافه گردیده و استریل شد. سپس سوسپانسیون غلیظی از مخمر در آب مقطر استریل تهیه شده و میزان مناسبی از آن به هر ارلن اضافه گردید به طوری که غلظت اولیه مخمر 5×10^6 سلول در هر میلی لیتر باشد و در نهایت محیط‌های کشت به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۶ درجه سانتیگراد و در یک انکوباتور چرخان قرار داده شد. هر روز محیطها از نظر رشد قارچی و آلودگیهای احتمالی مورد بازرسی قرار گرفتند. پس از رشد لازم، سلولهای مخمری جمع‌آوری گردیده و سه بار شستشو با بی‌کربنات آمونیم ۱۲۵ درصد مولار انجام شد. مرحله اول در 0.1×10^6 به مدت ۱۰ دقیقه بود. مایع رویی دور ریخته شد و رسوب در بافر بالا دوباره سوسپانسیون گردیده و مرحله اول تکرار شد. سومین سانتریفیوژ در $4000 \times g$ و به مدت ۱۵ دقیقه بود. پس از شستشو، سلولهای مخمری در برابر بی‌کربنات آمونیم 0.05×10^6 مولار دیالیز شده و فریز گردیدند.

ج) شکستن مخمر و تهیه عصاره کاندیدا آلبیکنس: این کار براساس روش Axelsen, Savolainen و Kumar با تغییراتی انجام شد که به اختصار بیان می‌شود (۱۷، ۱۳، ۳). برای شکستن سلولهای مخمری از دوروش سونیکاسیون و نیز Glass bead همراه با ورتکس استفاده شد. به رسوب مخمری به‌دست آمده در مرحله قبل PBS اضافه گردید به طوری که یک سوسپانسیون ۵۵ درصد (W/V) به‌دست آید. سپس به این سوسپانسیون آنتی‌پروتئاز PMSF افزوده شد و با استفاده از دستگاه سونیکاتور، سونیکاسیون انجام شد. شکستن سلولها قبل و بعد از انجام سونیکاسیون با استفاده از روش شمارش سلولی مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. در روش دوم نیز سوسپانسیون مورد نظر به لوله‌های شیشه‌ای استریل مناسب اضافه گردید و بعد به این سوسپانسیون، گلوله‌های شیشه‌ای به قطر ۱ میلی‌متر به مقدار حدود ۲ برابر وزن سوسپانسیون اضافه شد. درب لوله‌ها محکم بسته شد و با دور بالا ورتکس گردید. این عمل تا زمانی که حدود ۹۰-۸۰ درصد سلولها بشکنند ادامه یافت و مثل مرحله قبل متناوباً شکستن سلولهای مخمری ارزیابی شد. به‌منظور تهیه عصاره کاندیدا آلبیکنس، سوسپانسیون حاوی سلولهای مخمری شکسته شده طی سه مرحله در ۴ درجه سانتیگراد در دوره‌های $6000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه، $26000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه و $150000 \times g$ به مدت ۱ ساعت سانتریفیوژ گردید و در نهایت یک مایع رویی شفاف به‌دست آمد. عصاره خام (Crude extract) به‌دست آمده پس از اندازه‌گیری مقدار پروتئین آن با روش برادفورد با استفاده از فیلترهای ۰/۲ میکرون، فیلتر گردید و پس از استریل کردن تا زمان استفاده فریز شد.

د) سدیم دودسولفات پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز

۱) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران - ایران.

۲) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه آموزشی ایمنی‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران - ایران.

۴) دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران - ایران.

* مکاتبات و تقاضای کپی مقاله.

به‌منظور ارزیابی واکنشهای جلدی نسبت به آنتیژنهای کاندیدا آلبیکنس، مطالعه‌ای به مدت یک سال روی ۱۸۰ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم (۹۵ نفر مبتلا به درماتیت آتوپیک و ۸۵ بیمار دارای آسم) مراجعه‌کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی و کلینیک آلرژی تهران، انجام گرفت. ۶۲ نفر (۳۴/۴ درصد) از این بیماران مذکر و ۱۱۸ نفر (۶۵/۶ درصد) آنان مؤنث بودند. پس از تهیه آنتیژن مناسب در مورد همه بیماران تست خراش جلدی انجام شد. نتیجه این تست در ۵۳/۳ درصد از بیماران و ۴/۳ درصد از افراد گروه شاهد مثبت بود. در این مطالعه، نتایج مثبت تست جلدی در مبتلایان به درماتیت آتوپیک ۵۲/۶ درصد و در بیماران دارای آسم ۵۴/۱ درصد بود. بیشترین موارد واکنشهای مثبت فوری در گروه سنی ۲۹-۲۰ و ≥ 50 سال مشاهده گردید. واژه‌های کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، درماتیت آتوپیک، آسم، آلرژی.

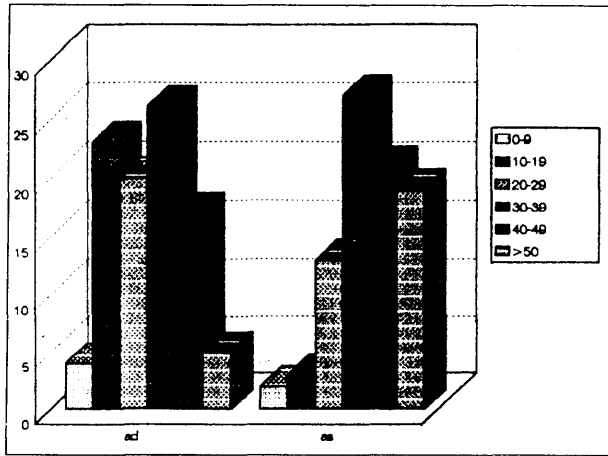
آلرژی نسبت به قارچها از زمانهای بسیار دور مورد توجه بوده است و بتدریج مطالعات دقیقتر جهت شناسایی ترکیبات آنتیژنیک قارچها و نقش آنها در پاتوژنز بیماریهای آلرژیک مورد توجه محققین قرار گرفته است. درماتیت آتوپیک یک بیماری اگزامی مزمن پوستی است که معمولاً در افراد با زمینه آتوپی اتفاق می‌افتد (۱۵). پاتوفیزیولوژی این اختلال نشان می‌دهد که آلرژنها نقش مهمی در پاتوژنز درماتیت آتوپیک دارند (۱۶). آسم نیز یک بیماری چند فاکتوری و پیچیده است که در آن فاکتورهای آلرژیک و غیرآلرژیک دخالت دارند. حساسیت ناشی از آلرژنها در توسعه آسم حایز اهمیت می‌باشد (۱۸).

کاندیدا آلبیکنس فلور معمول مخاط دهان، واژن، دستگاه تنفس و مجرای گوارشی در انسان می‌باشد (۱۰). این عامل در انسان و طیف وسیعی از حیوانات به‌صورت فلور یا بیماریزا حضور دارد. این مخمر نه تنها باعث عفونتهای فرصت‌طلب در بیماران سرکوب‌شده ایمنی می‌گردد، بلکه واکنشهای آلرژیک را نیز در افراد حساس‌شده به آن سبب می‌شود. ازدیاد حساسیت ناشی از این عامل در بیماریهایی چون آسم، رینیت آلرژیک، درماتیت آتوپیک و کهیر گزارش گردیده است (۱۲).

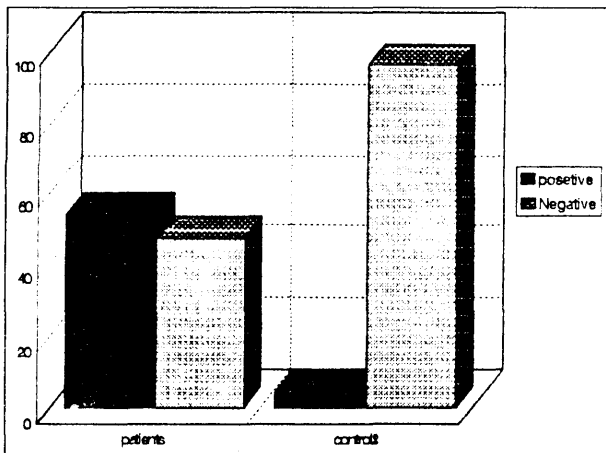
رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی به‌عنوان یک منبع آلرژن از نظر ایجاد علائم آلرژی در افراد حساس مورد تأکید قرار گرفته است (۷) به طوری که بین حضور کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی با واکنشهای جلدی فوری و نیز نشانه‌های درماتیت آتوپیک و آسم ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۱۱ و ۷). بیشتر آنتیژنهای تهیه‌شده از کاندیدا آلبیکنس که در حال حاضر در تستهای پوستی، سرولوژیک و ... به کار می‌رود، عصاره‌های خام حاوی پلی‌ساکارید (مانان) و پروتئین هستند.

Longbottom و همکاران حضور فعالیت آلرژنی را در هر دو بخش نشان داده و پیشنهاد نموده‌اند که بخش پروتئینی حاوی اجزای آلرژنی مهمتری است و مانان دارای نواحی باندشدن اختصاصی برای IgG است. تحقیقاتی که در زمینه آلرژی به‌عمل آمده است خود گویای این واقعیت است که آلرژی تحت تأثیر فاکتورهایی از قبیل وراثت، جغرافیا و مسایل اقتصادی است. بنابراین برای هر منطقه جغرافیایی لازم به‌نظر می‌رسد که برخی تحقیقات با در نظر گرفتن این موارد انجام گیرد. به‌علاوه قدرت و تأثیر عصاره‌های قارچی که به‌طور داخلی در کشورها برای کارهای تحقیقاتی تهیه می‌شوند به مقدار قابل توجهی بالاتر از عصاره‌های تجاری است (۲). مطالعه حاضر به‌منظور تهیه آنتیژن پروتئینی مناسب از کاندیدا آلبیکنس و ارزیابی واکنشهای جلدی فوری نسبت به آن انجام گرفته است.

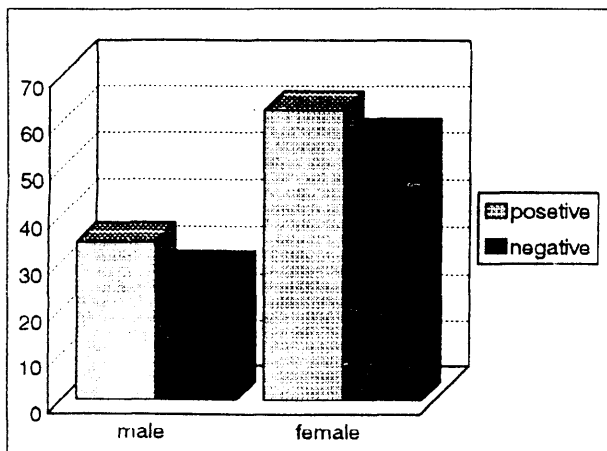




نمودار ۱ - فراوانی بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم برحسب گروه سنی.



نمودار ۲ - فراوانی پاسخ جلدی نسبت به آنتی‌ژنهای کانیدینا آلبيکس در دو گروه بیمار و شاهد.



نمودار ۳ - فراوانی پاسخ جلدی بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم برحسب جنس.

(SDS-PAGE) عصاره: به منظور تعیین الگوی الکتروفورس تیک و تفکیک اجزای عصاره مورد نظر، این عصاره با استفاده از ژل گرادینت ۱۷/۵-۵ درصد و نیز ژل ۱۱ درصد براساس روش *laemmli* الکتروفورس گردید. پروتئینهای استاندارد مورد استفاده در ژل گرادینت شامل موارد زیر بود: ۹۴ کیلودالتون (فسفوریلاز b)، ۶۶ کیلودالتون (BSA)، ۴۳ کیلودالتون (آلبومین)، ۳۰ کیلودالتون (کربنیک انهدراز)، ۲۰/۱ کیلودالتون (تریپسین) و ۱۴/۴ کیلودالتون (آلفا۲-آلبومین). پس از انجام الکتروفورس و رنگ آمیزی ژل با رنگ کوماسی آبی R-۲۵۰ منحنی استاندارد رسم شد و با تعیین RF هر یک از باندها و استفاده از منحنی استاندارد که خطی بود، وزن ملکولی آنها تعیین گردید.

ه) آماده سازی عصاره کانیدینا آلبيکس جهت تست پوستی: قبل از تهیه عصاره برای تست پوستی آزمایشات لازم از نظر استریل بودن و آلودگی احتمالی به باکتری و قارچ انجام شد. عصاره پروتئینی کانیدینا آلبيکس با PBS حاوی ۵۰ درصد گلیسرین رقیق گردید به طوری که نمونه حاوی مقدار پروتئین مناسب جهت تست پوستی باشد. سپس با فیلترهای ۰/۲ میکرون استریل شد و به داخل ظرفهای اپندورف استریل منتقل گردید. به عنوان کنترل مثبت از محلول هیستامین هیدروکلراید ۱ میلیگرم/میلی لیتر و جهت کنترل منفی از PBS حاوی ۵۰ درصد گلیسرین که آنتی ژن‌ها به کمک آن رقیق شده بودند استفاده شد.

و) انتخاب بیماران و گروه شاهد: بیماران مورد بررسی به طریق نمونه برداری مستمر و تصادفی انتخاب شدند، بدین ترتیب که بیماران مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی (ره) و کلینیک آلرژی تهران ابتدا توسط پزشک متخصص پوست و ریه معاینه می شدند و از بین این افراد بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم جهت آزمایشات بعدی در گروه بیماران قرار می گرفتند. گروه شاهد نیز شامل افرادی بودند که سابقه بیماریهای آلرژیک نداشتند (سالم - غیر آتوپیک). قبل از انجام تست جلدی از بیماران خونگیری شده و همچنین پرسشنامه ای حاوی اطلاعات لازم تکمیل گردید.

ز) انجام تست: ابتدا ناحیه مورد آزمایش (قسمت جلویی ساعد دست) با آب و صابون شسته شد و در مجاورت هوا خشک گردید. سپس با الکل محل تزریق تمیز گردید و با خودکار بروی پوست دایره های کوچکی به فاصله حداقل ۵ سانتیمتر کشیده شد و با علامتی نوع ماده تست شده مشخص گردید. سپس قطره کوچکی در وسط هر دایره مشخص روی پوست قرار داده شد. بعد سوزن (سوزن یکبار مصرف شماره ۲۷) با یک زاویه ۴۵ درجه به وسط قطره روی پوست به طور ملایم فشار داده شد، سپس نوک سوزن بالا آورده شد به طوری که خراش ایجاد گردد. خراش پوست نباید طوری عمیق شود که ایجاد خونریزی شود. بعد از یک دقیقه با دستمال کاغذی قطرات آلرژن از روی پوست پاک شد تا ایجاد واکنش بیش از حد معمول ننماید. بعد از ۱۵ دقیقه واکنش پوستی با کمک یک خط کش میلیمتری شفاف اندازه گیری شد و نتایج ثبت گردید. تستی به عنوان مثبت تلقی گردید که برآمدگی با قطر متوسط ۳ میلیمتر بزرگتر از برآمدگی ایجاد شده به وسیله کنترل منفی ایجاد کند و علاوه بر آن پیرامون برآمدگی نیز قرمز باشد.

نتایج

در این مطالعه ۱۸۰ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم (۹۵ نفر مبتلا به درماتیت آتوپیک و ۸۵ نفر بیمار دارای آسم) مورد مطالعه قرار گرفتند که ۶۲ نفر (۳۴/۴ درصد) مذکر و ۱۱۸ نفر (۶۵/۶ درصد) مؤنث بودند. بیماران طیف سنی ۸۰-۷ داشتند و میانگین سنی آنها ۳۴/۲ سال بود. بیشترین تعداد بیماران در گروه سنی ۳۹-۳۰ سال بود (نمودار ۱). ۷۰ نفر سالم، غیر آتوپیک به عنوان شاهد انتخاب گردیدند که بیشترین آنها نیز در گروه سنی ۳۹-۳۰ سال بودند و میانگین سنی آنها ۳۲/۳ سال بود.



همچنین از ۸۵ بیمار مبتلا به آسم ۱۹ نفر (۲۲/۴ درصد) فقط دارای آسم بودند و ۶۶ نفر (۷۷/۶ درصد) مبتلا به آسم همراه با رنیت آلرژیک + آلرژی به مواد غذایی و درماتیت آتوپیک بودند. از بیماران مبتلا به آسم ۲۷ نفر (۵۶/۱ درصد) و از بیماران دارای آسم + رنیت آلرژیک + آلرژی به مواد غذایی، ۹ نفر (۴۷/۴ درصد) با آنتی ژن کانیدیدا آلپیکنس پاسخ داشتند. با آزمون مجذور کای اختلاف معنی داری بین دو گروه در هیچ کدام از بیماریهای درماتیت آتوپیک و آسم مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از تعیین اجزای پروتئینی عصاره خام کانیدیدا آلپیکنس با روش الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در تصاویر ۱ و ۲ مشهود است. با استفاده از نحوه حرکت پروتئینهای استاندارد در ژل، منحنی استاندارد رسم گردید و براساس این منحنی اوزان ملکولی اجزای تشکیل دهنده عصاره تعیین شد. وزن ملکولی باندهای عصاره الکتروفورز شده از ۱۳ تا ۱۲۵ کیلوالتون بود که باندهای قوی و باندهای ۱۶ و ۱۶/۹، ۱۸/۷، ۲۰/۷، ۲۳/۸، ۳۰/۳، ۳۰/۳، ۳۲/۵، ۳۶/۷، ۳۷/۴، ۳۷/۴، ۴۰، ۴۱/۴، ۴۳/۹، ۴۶، ۵۹/۵، ۶۳/۷، ۷۱/۹ کیلوالتون قوی و باندهای ۱۶ و ۱۶/۹، ۱۸/۷، ۲۰/۷، ۲۳/۸، ۳۰/۳، ۳۰/۳، ۳۲/۵، ۳۶/۷، ۳۷/۴، ۳۷/۴، ۴۰، ۴۱/۴، ۴۳/۹، ۴۶، ۵۹/۵، ۶۳/۷، ۷۱/۹ کیلوالتون نسبتاً ضعیف بودند.

بحث

حدود یک قرن است که Richet و همکارانش در کنار تحقیقات خود با واکنشی که امروزه حساسیت نامیده می شود مواجه شدند. واکنشهای ازدیاد حساسیت از نظر ایمونولوژیکی براساس تظاهرات بالینی و مکانیسمهای زمینه‌ای به چهار نوع تقسیم می گردند که تأکید ما در اینجا بیشتر بر روی واکنشهای نوع ۱ می باشد. ازدیاد حساسیت نوع ۱ یا فوری (آلرژی) به وسیله تداخل آنتی ژنهای مختص IgE که آرزن نامیده می شوند، با IgE در سطح ماست سل ها یا بازوفیل ها ایجاد می شود. اصطلاح آلرژی در سال ۱۹۰۶ به وسیله Von pirquet برای توصیف یک واکنش تغییر یافته در موجودات زنده که به وسیله یک ماده خارجی به وجود می آید عنوان شد. بنابراین آلرژنها بخشی از آنتی ژنها هستند که پاسخ با واسطه IgE را تحریک می نمایند. واکنشهای آلرژیک نوع ۱ نسبت به آلرژنهای قارچی اساساً به صورت رنیت، آسم و یا درماتیت آتوپیک و ... ظاهر می شوند. این واکنشها ممکن است طی دو فاز صورت گیرند: واکنشهای فاز فوری (زودرس) که در طی چند دقیقه ظاهر می شوند و پاسخهای فاز تأخیری که ۴-۳ ساعت بعد از تماس با آلرژن به وجود می آیند. برای بررسی چنین واکنشهایی می توان از تستهای In vitro و In vivo بهره جست که در این میان تست خراش جلدی روشی سالم، سریع و حساس برای نشان دادن IgE تولید شده بر علیه یک آلرژن اختصاصی است. نتایج تستهای پوستی نشان می دهد که حداقل ۳ تا ۱۰ درصد از افراد بزرگسال و بچه ها در سراسر جهان از آلرژنهای قارچی متأثر می شوند. شیوع واقعی آلرژنهای قارچی مشخص نشده است چرا که گزارشهای واکنشهای جلدی نسبت به قارچها بسته به جمعیت مورد مطالعه، عصاره مورد استفاده و گونه تست شده متغیر می باشد و شیوع واکنشها به منبع تهیه آلرژن و معیارهای انتخابی برای افراد مورد تست بستگی دارد (۲).

بخش قابل توجه از افراد آتوپیک حساسیتهای زمینه‌ای به آلرژنهای قارچی دارند که یکی از قارچهای مطرح در این مورد کانیدیدا آلپیکنس می باشد به طوری که میزان بالایی از تستهای پوستی فوری مثبت نسبت به کانیدیدا آلپیکنس در این افراد مشاهده شده است (۲). کانیدیدا آلپیکنس مخمر فرصت طلبی است که در سطوح مخاطی بسیاری از افراد وجود دارد. این مخمر در شرایط خاص و افراد دارای زمینه مناسب بخصوص نقص سیستم ایمنی بیماری ایجاد می نماید. کانیدیدا آلپیکنس نه تنها باعث عفونتهای فرصت طلب

از ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۵۲/۶ درصد و ۸۵ بیمار مبتلا به آسم ۵۴/۱ درصد نسبت به آنتی ژن کانیدیدا آلپیکنس دارای واکنش ازدیاد حساسیت جلدی فوری بودند و در مجموع ۵۲/۳ درصد از بیماران تست پوستی مثبت داشتند، در حالی که در گروه شاهد تنها ۴/۳ درصد افراد واکنش مثبت داشتند. آزمون آماری مجذور کای نشان داد که اختلاف مشاهده شده بین این دو گروه کاملاً معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (نمودار ۲). نتایج تست پوستی بر حسب سن و جنس در جدول ۱، نشان داده شده است. براساس این جدول بیشترین درصد موارد واکنش مثبت در گروههای سنی ۲۹-۲۰ و ۵۰ و بالاتر و یا مساوی ۵۰ سال مشاهده شد. آزمون مجذور کای نشان داد که اختلاف مشاهده شده بین گروههای سنی معنی دار نمی باشد.

در جنس مؤنث از مجموع ۷۳ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک، ۴۰ نفر (۵۴/۸ درصد) و از ۴۵ بیمار مبتلا به آسم ۲۲ نفر (۴۸/۸ درصد) در تست پوستی با آنتی ژن کانیدیدا آلپیکنس واکنش مثبت داشتند. در بین جنس مذکر از مجموع ۲۲ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۱۰ نفر (۴۵/۵ درصد) و از ۴۰ بیمار مبتلا به آسم ۲۴ نفر (۶۰ درصد) با آنتی ژن مورد نظر واکنش داشتند و به طور کلی از ۱۱۸ بیمار مؤنث مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم ۶۲ نفر (۵۲/۵ درصد) و از ۶۲ بیمار مذکر ۳۳ نفر (۵۳/۲۲ درصد) واکنش مثبت نشان دادند (نمودار ۳). آزمون مجذور کای نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو جنس از نظر میزان موارد واکنش مثبت به آنتی ژن کانیدیدا آلپیکنس وجود ندارد.

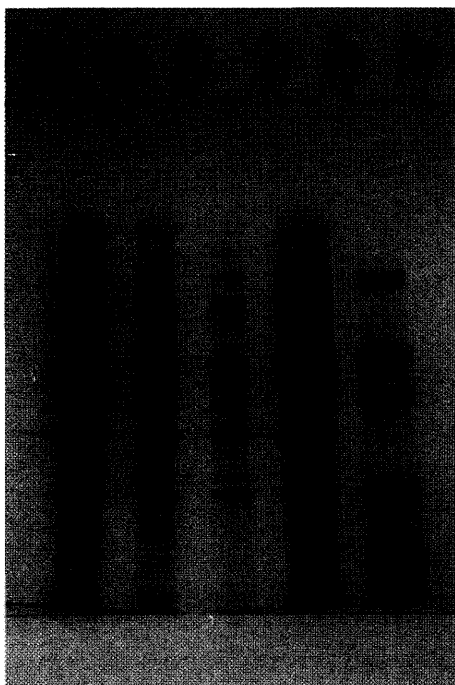
نتایج تست پوستی بر حسب وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی: از مجموع ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک، ۷۰ نفر (۷۳/۷ درصد) دارای سابقه خانوادگی بیماری درماتیت آتوپیک بودند و ۲۵ نفر (۲۶/۳ درصد) فاقد هر گونه سابقه بودند. در بین افرادی که سابقه فامیلی داشتند، ۳۷ نفر (۵۲/۸ درصد) و در بین بیماران بدون سابقه فامیلی ۱۳ نفر (۵۲ درصد) به آنتی ژن کانیدیدا آلپیکنس پاسخ دادند. در بیماران مبتلا به آسم از ۸۵ بیمار، ۵۵ نفر (۶۴/۷ درصد) دارای سابقه فامیلی و ۳۰ نفر (۳۵/۳ درصد) فاقد سابقه فامیلی از بیماری آسم بودند. در بین افرادی که سابقه فامیلی داشتند، ۳۰ نفر (۵۴/۵ درصد) و در بین بیماران بدون سابقه فامیلی ۱۶ نفر (۵۲/۳ درصد) تست پوستی مثبت داشتند. آزمون مجذور کای نشان داد که در هیچ کدام از دو بیماری فوق اختلاف معنی دار نمی باشد.

نتایج تست پوستی بر حسب نوع بیماری: براساس نوع بیماری آتوپیک از ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۳۵ نفر (۳۶/۸ درصد) مبتلا به اگزما آتوپیک و ۶۰ نفر (۶۳/۲ درصد) حالت اگزما را همراه با رنیت آلرژیک و آلرژی به مواد غذایی نشان دادند. از بیماران مبتلا به اگزما ۲۱ نفر (۶۰ درصد) و از بیماران مبتلا به اگزما - رنیت آلرژیک - آلرژی به مواد غذایی، ۲۹ نفر (۴۸/۳ درصد) در تست پوستی واکنش مثبت نشان دادند.

جدول ۱ - فراوانی پاسخ بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم بر حسب سن و جنس

گروه سنی	جنس	مؤنث		مذکر	
		مثبت	منفی	مثبت	منفی
۰-۹		۳(۵۰)	۲(۳۲/۳)	-	۱(۱۶/۷)
۱۰-۱۹		۵(۱۹/۲)	۴(۱۵/۴)	۹(۳۴/۶)	۸(۳۰/۷۷)
۲۰-۲۹		۴(۱۲/۱)	۶(۱۸/۱۸)	۱۵(۴۵/۴۵)	۸(۲۴/۲۴)
۳۰-۳۹		۵(۹/۴۳)	۱۰(۱۸/۱۸)	۲۲(۴۱/۵۰)	۱۶(۳۰/۱۸)
۴۰-۴۹		۵(۱۳/۱۵)	۵(۱۳/۱۵)	۱۱(۲۸/۹۴)	۱۷(۴۴/۷۳)
بزرگتر از ۵۰ سال		۱۱(۴۵/۸)	۲(۸/۳)	۵(۲۰/۸۳)	۶(۲۵)
جمع		۳۳(۱۸/۳۳)	۲۹(۱۶/۱)	۶۲(۳۴/۴)	۵۶(۳۱/۱)

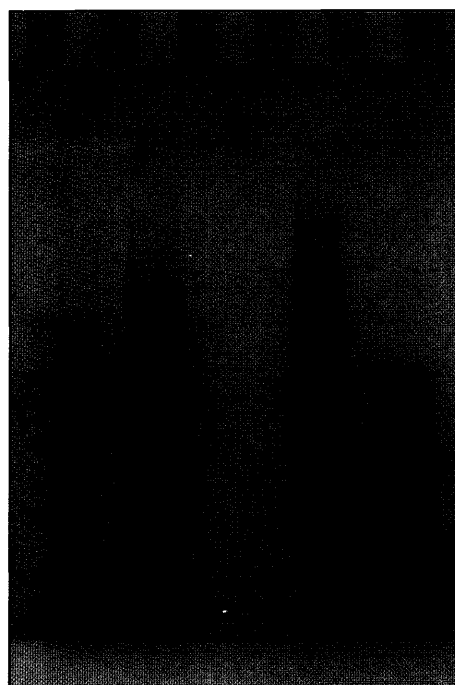




تصویر ۲ - تفکیک اجزای پروتئینی عصاره خام کاندیدا آلبیکنس به روش SDS-PAGE با استفاده از ژل ۱۱ درصد. ستون سمت راست استانداردهای وزن ملکولی است که از بالا به پایین شامل: ۶۶، ۴۵، ۳۴/۷، ۲۴ و ۱۴/۳ کیلوالتون می باشد و بقیه غلظتهای متفاوتی از عصاره اند.

در این مطالعه اختلاف بین دو جنس مذکر و مؤنث از نظر میزان موارد واکنش معنی دار نبوده است. Lindgren و همکاران نیز عدم تأخیر جنس را بر روی شدت درمانیت آتوپیک، آسم و رنیت آلرژیک و نیز نتایج تست جلدی گزارش نموده اند. نتایج این مطالعه نشان داد که گرچه در تست پوستی با آنتی ژن کاندیدا آلبیکنس وجود سابقه خانوادگی یا شخصی از بیماری درمانیت آتوپیک یا آسم و نوع بیماری آتوپیک سبب تفاوتی در میزان موارد واکنش مثبت به آنتی ژن مورد نظر گردید، اما با آزمون آماری این اختلاف معنی دار نبود. در مطالعه Lindgren و همکاران نیز ۷۰ درصد بچه های مبتلا به درمانیت آتوپیک سابقه فامیلی از این بیماری داشته اند (۸). همچنین براساس مطالعات این محققین ۵۱ درصد افراد مبتلا به درمانیت آتوپیک بیماریشان همراه با آسم و رنیت آلرژیک بوده است.

براساس نتایج مطالعه حاضر میزان واکنشهای مثبت جلدی در سنین بالا بیشتر بوده است هر چند این اختلاف معنی دار نیست اما به نظر می رسد در سنین بالا به دلایل مختل از جمله اختلال در سیستم ایمنی، مصرف داروهای که تعادل فلور مخاطی را بر هم می زند و ... کلینیزاسیون کاندیدا آلبیکنس در سطوح مخاطی بیشتر خواهد بود و از آنجا که رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس در سطوح مخاطی با پاسخهای جلدی فوری نسبت به این عامل ارتباط مثبتی دارد، این نکته می تواند توجه کننده موارد بیشتر پاسخهای مثبت در این سنین باشد. یافته های تحقیق حاضر در تأیید نتایج دیگر مطالعات نشان می دهد که درصد بالایی از بیماران مبتلا به درمانیت آتوپیک و آسم دارای واکنش مثبت به آنتی ژنهای کاندیدا آلبیکنس می باشند. از آنجا که این مخمر در سطوح مخاطی بسیاری از افراد حضور دارد لذا کنترل کلینیزاسیون آن در سطوح مخاطی در چنین مواردی اثرات سودمندی خواهد داشت و احتمالاً با درمان ضدقارچی می توان به بهبودی بیماری کمک نمود. پیشنهاد می گردد در کلینیکهای پوست و آسم استفاده از تست پوستی با آنتی ژن کاندیدا آلبیکنس به عنوان قسمتی از ارزیابیهای بیماران مبتلا به درمانیت آتوپیک و آسم محسوب شود.



تصویر ۱ - تفکیک اجزای پروتئینی عصاره خام کاندیدا آلبیکنس به روش SDS-PAGE با استفاده از ژل گرادینت ۵-۱۷/۵ درصد. ستونهای سمت چپ و راست استانداردهای وزن ملکولی است.

در بیماران سرکوب شده ایمنی می گردد، بلکه واکنشهای آلرژیک در افراد حساس شده به این عامل را نیز سبب می شود. در دهه های اخیر توجهات خاصی به سمت نقش این مخمر به عنوان یک عامل مهم آسم برونشیل، رنیت آلرژیک، درمانیت آتوپیک، خارش ژنرالیزه، کهیر مزمن و سندرم کولون تحریک پذیر، پیدا شده است (۴، ۵، ۶).

در مطالعه حاضر در تست پوستی با آنتی ژن کاندیدا آلبیکنس ۵۲/۶ درصد بیماران مبتلا به درمانیت آتوپیک و ۵۴/۱ درصد بیماران مبتلا به آسم پاسخ مثبت نشان دادند و به طور کلی نتیجه این تست در ۵۲/۳ درصد بیماران مثبت بود. در مطالعه Koivikko و همکاران ۵۶/۷ درصد از بیماران مبتلا به آسم برونشیل و درمانیت آتوپیک تست خراش جلدی مثبت به عصاره آنتی ژنی کاندیدا آلبیکنس نشان دادند (۷). همچنین در بررسی Savolainen در فنلاند ۵۱/۳ درصد بیماران مبتلا به درمانیت آتوپیک در تست خراش جلدی واکنش مثبت نشان دادند (۱۴). در مطالعه دیگری که توسط Akiyama و همکاران بر روی افراد آسمی صورت گرفت ۷۱ نفر از ۱۴۹ نفر تست پوستی مثبت به آنتی ژنهای کاندیدا آلبیکنس داشتند که نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعات فوق هماهنگی دارد (۱).

در بیماران آتوپیک پاسخهای ایمنی سلولی ضعیف می باشد. از طرفی در دفاع بر علیه کاندیدا آلبیکنس سیستم ایمنی سلولی نقش اولیه را بازی می کند (۱۱). بنابراین هر نقضی در این سیستم به طور اولیه می تواند سبب رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس و القای تولید IgE اختصاصی گردد. در نتیجه حضور کاندیدا آلبیکنس پاسخهای آنتی بادی را جهت حذف این مخمر تحریک می نماید. Koivikko و همکاران بین حضور کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی با حساسیت پوستی فوری ارتباط مثبت و با ازدیاد حساسیت تأخیری ارتباط منفی مشاهده نمودند (۷). همچنین Savolainen و همکاران بین پاسخ IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکنس و علائم درمانیت آتوپیک با حمل این مخمر در دستگاه گوارش ارتباط مثبتی را نشان دادند (۱۱).



References

1. Akiyama, K.Y., Shida, T. and Miyamoto, T. (1981): Relationship between the results of skin, conuancival and bronchial tests and RAST with *Candida albicans*. *Clinical, Allergy*, 11: 343-351.
2. Horner, W.E., Helbling, A. and Solvaggio, J.E. (1995): Fungal Allergens. *Clin. Microbiol. Rev.* 8(2): 161-176.
3. Axelsen, N.H. (1973): Quantitative immuno electrophoretic Methods as tools for a poly valent approach to standardization in the immuno chemistry of *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 7(6): 949-960.
4. Itkin, I.H. and Dennis, M. (1966): Bronchial hypersensitivity to extract of *Candida albicans*. *J. Allergy*, 37: 187-194.
5. James, J. and Warin, P. (1971): An assessment of the role of *Candida albicans* and food yeasts in chronic urticaria. *Br. J. Dermatol.* 84: 227-237.
6. Keeney, E.L. (1951): *Candida* asthma. *Ann. Intern. Med.*, 34: 233-6.
7. Koivikko, K. (1988): Relationship of immediate and delayed hypersensitivity to nasopharyn geal and intestinal growth of *Candida albicans* in allergic Subjects. *Allergy*, 43: 201-205.
8. Lindgren, L. (1995): Occurrence and clinical features of sensitization to *Pityrosporum ovale* and other allergens in children with atopic dermatitis. *Acta. Derm. Venerol.*, 75: 300-304.
9. Longbottom, J. and Brighton, W. (1976): Antibody mediating type I skin reactions to polysaccharide and protein antigens of *Candida albicans*. *Clin. Allergy*, 6: 41-49.
10. Odds, F.C. (1988): *Candida* and candidosis, 2nd Ed. London, Bailliere Tindall.
11. Savolainen, J. (1990): IgE, IgA and IgG antibodies and delayed skin response towards *Candida albicans* antigens in atopic with and without Saprophytic growth. *Clin. Exp. Aller.*, 20: 549-554.
12. Savolainen, J. (1995): A standardised densitometric immunoblotting analysis of *Candida albicans* allergens. *Clin. Exp. Aller.*, 25: 357-63.
13. Savolainen, J. and Kalimo, K. (1998): In house refrence (IHR) preparation of *Candida albicans* allergen extract. *Allergy*, 53: 359-360.
14. Savolainen, J. (1993): *Candida albicans* and atopic dermatitis. *Clin. Exp. Aller.*, 23: 332-339.
15. Tanaka, M. and Setsuya, A. (1994): IgE Mediated hypersensitivity and contact sensitivity to multiple environmental allergens in atopic dermatitis. *Arch. Dermatol.*, 130: 1393-1401.
16. Vickers, G.F.H. (1980): The natural history of atopic eczema. *Acta. Derm. Venerol.*, 92 (Supp. 1): 113.
17. Vijaya Kumar, B., Medoff, G., Kobayashi, G.S. and Leo Sieling, W. (1985): Cross-reacting human and rabbit antibodies to antigens of *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans* and *Saccharomyces cervisiae*. *Infect. Immun.* 48: 806-812.
18. Yssel, H., Abbal, C. and Pene, J. (1998): The role of IgE in asthma. *Clin. Exp. Aller.*, 28, Supp., 5: 104-109.

Evaluation of the skin hypersensitivity reactions to candida albicans antigens in patients with atopic dermatitis and asthma

Nasari Bandgharai, A.¹, Khosravi, A.R.^{2*}, Moazzeni, S.M.³ Mansouri, P.⁴

¹Department of Microbiology, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran. ²Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran. ³Department of Immunology, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran. ⁴Department of Dermatology, Imam Khomeni Hospital, Tehran - Iran. *Correspondence and Reprint Request.

In order to evaluate of skin reactions to *C. albicans* antigens, a study was carried out during 12 months period. A total of 180 patients (95 cases of Atopic dermatitis and 85 Asthmatic patients), from outpatient Clinics of Dermatology, Imam Khomeni Hospital and Tehran Allergy Clinic were selected. From these patients 62 (34.4%) were male and 118 (65.6%) were female. After preparation of the antigens, the skin prick test was performed for all the patients. The positive results were obtained in 53.3% of patients and 4.3% of healthy controls. In this study, the same positive results in atopic dermatitis and asthmatic patients were 52.6% and 54.1%, respectively. The most common positive responses age group, were 20-29 and >50 years old.

Key words : *Candida albicans*, Atopic dermatitis, Asthma, Allergy.

