جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / بهار ۱۳۹۰ / دوره ۱۳ / شماره ۱ (پی در پی ۳۷) / صفحات ۶۶ تا ۷۲

تحقیقی

فراوانی پلی‌مورفیسم الل 607A/C- از ژن اینترلوکین ۱۸ در مبتلایان به لیشمانیوز احشایی

احسان احمدپور[۱]، مرحوم دکتر عبدالصمد مظلومی گاوگانی[۲]، احد بازمانی*[۳]، دکتر عبدالحسن کاظمی[۴]، دکتر زهره بابالو[۵]

۱- دانشجوی دکتری انگل شناسی ، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۲- دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ، دانشکده پزشکی ، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۳- کارشناس ارشد انگل شناسی ، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۴- دکتری قارچ شناسی ملکولی ، دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ، دانشکده پزشکی ، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۵- دکتری ایمنی شناسی ، استادیار گروه ایمنی شناسی ، دانشکده پزشکی ، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.

چکیده

زمینه و هدف : *لیشمانیوز احشایی بیماری انگلی است که توسط تک‌یاخته خونی نسجی از خانواده لیشمانیا و در ایران توسط گونه اینفانتوم ایجاد می‌شود. ایمنی محافظت کننده در برابر لیشمانیوز احشایی از نوع ایمنی سلولی Th1 CD4+ می‌باشد که از جمله کموکائین‌های غالب آن می‌توان به IL-12 ، IFN- γ و IL-18 اشاره نمود که موجب پیشبرد عوامل دفاع سلولی و پاسخ سلولی با واسطه Th1 می‌گردند. موتاسیون‌های اتفاق افتاده بر روی نوکلئوتید واحد، در ژن کد کننده اینترلوکین ۱۸ (IL-18) با عملکرد این ژن و نیز میزان غلظت خونی این سیتوکائین در بیماری‌های مختلفی مانند بهجت، توبرکولوزیس و آرتریت روماتوئید مطالعه شده است. لذا با توجه به نقش مهم IL-18 در ایمنی علیه بیماری لیشمانیوز احشایی این مطالعه به منظور تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های موجود در جایگاه 607A/C- در پروموتور IL-18 انجام گرفت.*

روش بررسی : *این مطالعه توصیفی مقطعی روی ۹۱ بیمار با سابقه ابتلا به لیشمانیوز احشایی تایید شده، ۱۰۵ فرد سالم سرم منفی و ۷۸فرد سالم سرم مثبت طی سال‌های ۸۸-۱۳۷۷ انجام گردید. استخراج DNA افراد با روش salting out انجام گرفت. سپس با استفاده از روش ARMS-PCR ژنوتیپ هر فرد در موقعیت 607A/C- تعیین گردید. مقایسه بین گروه‌ها از نظر وجود الل‌های مورد بررسی با آزمون Chi-Square انجام شد.*

یافته‌ها : *بر اساس نتایج به دست آمده؛ الل غالب 607C/C- (۳۵/۸ درصد) تعیین شد. همچنین میزان فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مورد بررسی نزدیک‌به‌هم بود. کمترین ژنوتیپ در افراد سالم سرم مثبت که قبلاً با این بیماری برخورد داشتند؛ ولی به شکل بالینی بیمار نشده‌اند 607A/C- و در گروه بیماران 607A/A- دیده شد. تفاوت معنی‌داری آماری در پراکندگی الل‌ها در بین سه گروه وجود نداشت.*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ غالب در گروه بیمار، سالم سرم منفی و سالم سرم مثبت به ترتیب 607C/C- (۳۸/۵ درصد)، 607A/C- (۳۷/۱ درصد) و 607C/C- (۳۵/۹ درصد) می‌باشد.*

کلید واژه‌ها : *لیشمانیوز احشایی ، اینترلوکین ۱۸ ، پلی مورفیسم ، ARMS-PCR*

---

* نویسنده مسؤول : احد بازمانی ، پست الکترونیکی : bazmany_ahad@yahoo.com
نشانی : تبریز ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری ، تلفن و نمابر ۰۴۱۱-۵۴۲۸۵۹۵

وصول مقاله : ۸۸/۱۲/۱۱، **اصلاح نهایی :** ۸۹/۶/۲، **پذیرش مقاله :** ۸۹/۷/۳

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بیماری لیشمانیوز احشایی توسط انگل تک‌یاخته خونی نسجی از خانواده لیشمانیا و در ایران توسط گونه اینفانتوم ایجاد می‌شود. این انگل سیستم رتیکولواندوتلیال را مورد تهاجم قرار داده و در داخل ماکروفاژها ساکن می‌گردد. اغلب بیماران مبتلا سنین زیر ده سال دارند و در عین حال در مناطق آندمیک کودکان زیادی هستند که دچار این بیماری نمی‌گردند و این ایمنی ذاتی می‌تواند ناشی از زمینه ژنتیکی آنان باشد (۳-۱).

ایمنی محافظت کننده در برابر لیشمانیوز احشایی از نوع ایمنی سلولی Th1 CD4+ می‌باشد و در افراد بیمار پاسخ ایمنی غالب را ایمنی هومورال تشکیل می‌دهد. در پاسخ ایمنی سلولار، از جمله کموکائین‌های غالب، می‌توان به IL-12، IFN-γ و IL-18 اشاره نمود که موجب پیشبرد عوامل دفاع سلولی و پاسخ سلولی با واسطه Th1 می‌گردند (۳و۴).

IL-18 از خانواده IL-1 بوده و در ابتدا با عنوان عامل تحریک کننده INF-γ شناخته می‌شد و به‌عنوان یک سیتوکین پیش‌التهابی بوده و در تنظیم پاسخ‌های هر دو ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش دارد و لذا در تنظیم تعادل پاسخ ایمنی (Th1/Th2) تاثیر می‌گذارد (۵).

Pro-IL 18 به صورت پیش‌ساز غیرفعال بوده و در اثر پاسخ‌های حاد ایمنی توسط منوسیت‌ها، ماکروفاژها و دندریتیک سل‌ها تولید می‌شود. این سیتوکین در داخل سلول‌های ایمنی توسط کاسپاز-۱ (Caspase-1) فعال شده و باعث تحریک ترشح INF-γ و TNF-α می‌شود. همچنین این سیتوکین پس از فعال شدن باعث افزایش سیتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی (NK) و بیان لیگاند Fas می‌شود (۹-۵). IL-18 در حضور IL-12، موجب افزایش آزاد شدن IFN-γ از لنفوسیت‌های T و یا NK cell ها و اسپلنوسیت‌ها می‌گردد و موجب تمایز سلول‌های T به سمت Th1 می‌گردد (۱۱-۹). IL-18 به عنوان یک کوفاکتور قوی برای تولید IFN-γ از سلول‌های لنفوسیتی T محسوب می‌شود (۵و۱۲-۱۰) که خود از عوامل مقاومت ایمنی در برابر بیماری کالاآزار می‌باشد (۳و۴). تزریق IL-18 با IL-12 در موش‌های حساس به انگل لیشمانیا ماژور موجب درمان کامل این موش‌ها می‌گردد (۱۳و۱۴).

نقش IL-18 در درمان عفونت موش‌ها با لیشمانیا ماژور با استفاده از موش‌های ناک اوت شده (IL-18-/-) بیشتر مشخص و محرز گردیده است. موش‌های ناک اوت شده نژاد DBA/1, IL-18-/- نسبت به لیشمانیا ماژور حساس‌تر بودند. در حالی که این نژاد اصولاً به لیشمانیا ماژور مقاوم می‌باشد (۱۳و۱۴). در سیستم ایمنی، تحریک به واسطه IL-12 و IL-18 منجر به افزایش پاسخ ایمنی با واسطه سلول‌های Th1 می‌گردد که در نهایت منجر به فعال شدن ماکروفاژها برای تولید مقادیر زیاد نیتریت اکسید می‌شود. نیتریت اکسید نیز منجر به انهدام انگل‌های لیشمانیا و نهایتاً مقاومت فرد در برابر انگل می‌گردد. در حالی که IL-18 در کنار سیتوکین‌هایی مانند IL-4 و IL-10 موجب پیشرفت بیماری و شیفت پیدا کردن پاسخ ایمنی به سمت Th2 می‌گردد (۱۶-۱۳).

موتاسیون‌های اتفاق افتاده بر روی نوکلئوتید واحد که SNP (single nucleotide polymorphism) نیز گفته می‌شود؛ در ژن کدکننده IL-18 با عملکرد این ژن و نیز میزان غلظت خونی این سیتوکائین در بیماری‌های مختلفی که مکانیسم پاتوژنز در آنها فعالیت سیستم ایمنی با واسطه Th1 می‌باشند؛ بررسی شده و اهمیت و نقش این موتاسیون‌ها در این بیماری‌ها اثبات گردیده است. برای مثال می‌توان از بیماری بهجت نام برد که در آن به ترتیب فعال شدن سیستم ایمنی با واسطه Th1 و نیز پلی‌مورفیسم ژن IL-18 در ایجاد بیماری و شدت آن موثر می‌باشند (۱۷). همچنین مطالعات دیگر حاکی از وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن IL-18 با آرتریت و دیابت نوع یک می‌باشد (۲۱-۱۸).

با توجه به عدم ابتلاء برخی از کودکان به لیشمانیوز احشایی در مناطق اندمیک و احتمال وجود زمینه ژنتیکی، این مطالعه به منظور تعیین پلی‌مرفیسم IL-18 و یکی از آلل‌های آن در ناحیه پروموتور آن در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی مقطعی ۹۱ بیمار با سابقه ابتلا به لیشمانیوز احشایی تایید شده، ۱۰۵ فرد سالم سرم منفی و ۷۸

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فرد سالم سرم مثبت از نظر آنتی‌بادی‌های ضدلیشمانیا طی سال‌های ۸۸-۱۳۷۷ مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص بیماری افراد مبتلا به لیشمانیوز احشایی توسط علایم بالینی، آزمایشات سرولوژی و در صورت نیاز تهیه اسمیر مستقیم در پرونده آنها درج شده بود.

برای نمونه‌برداری از افراد ساکن مناطق اندمیک بیماری در استان آذربایجان شرقی (اهر،کلیبر و اسکو) و پس از اخذ رضایت‌نامه از افراد و یا والدین آنها، ۲-۱ میلی‌لیتر خون در شرایط آسپتیک اخذ شد.

با استفاده از تست IFAT بر روی سرم خون افراد سالم که فاقد سابقه ابتلا به لیشمانیوز احشایی بودند؛ گروه‌بندی آنان از لحاظ وجود آنتی‌بادی‌های ضدلیشمانیا انجام گرفت. برای انجام آزمایش IFAT پس از کشت لیشمانیا و تهیه میزان کافی از پروماستیگوت لیشمانیا، انگل‌های به‌دست آمده را به عنوان آنتی‌ژن روی لام کوت کرده و پس از مجاورت سرم افراد با این آنتی‌ژن‌ها و در نهایت با اضافه نمودن کنژوگه آنتی‌هیومن، زیر میکروسکوپ ایمنوفلورسنت (Olympus, BX 40, Japan) مورد بررسی قرار گرفتند و براساس میزان آنتی‌بادی موجود در سرم در دو گروه سرم مثبت و سرم منفی قرار گرفتند.استخراج DNA افراد با روش salting out انجام گرفت. سپس با استفاده از روش ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System – PCR) که روشی مناسب برای شناسائی موتاسیون‌های اتفاق افتاده بر روی نوکلئوتید واحد می‌باشد؛ ژنوتیپ هر فرد در موقعیت 607A/C- مشخص و معلوم گردید.

واکنش ARMS-PCR در میکروتیوب‌های اپندورف ۰/۲ml دیواره نازک مخصوص PCR و در حجم نهائی ۲۵µl برای بررسی موتاسیون در نوکلئوتید واحد (SNP) در پروموتور اینترلوکین ۱۸ در جایگاه ۶۰۷- به شرح زیر انجام گرفت:

پرایمرهای مشترک:

5'-TAACCTCATTCAGGACTTCC-3' (common reverse 607

و دو پرایمر فوروارد اختصاصی الل:

GTTGCAGAAAGTGTAAAAATTATTAC-3' (Forward 607/C)–5'

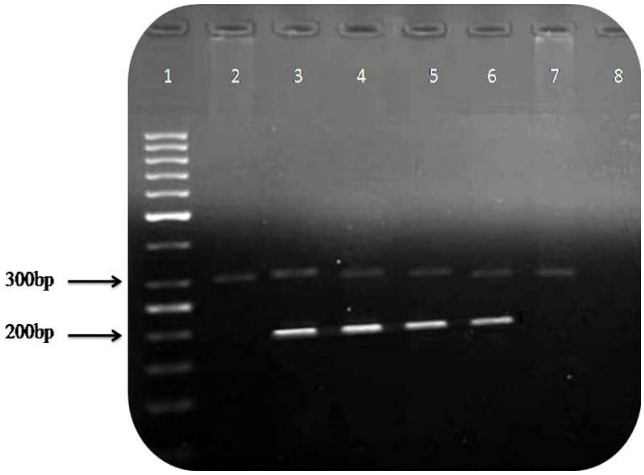
و یا:

GTTGCAGAAAGTGTAAAAATTATTAA-3' (Forward 607/A) –5'

و پرایمر فوروارد کنترل داخلی با توالی:

5'-CTTTGCTATCATTCCAGGAA-3' (control Forward 607)

به ترتیب با غلظت‌های 0.8 Pmol، 0.8 Pmol، 0.3 Pmol، 0.6mM $MgCl_2$، 1U Taq polymerase، 10µl 10X PCR buffer و 0.3µg Template DNA پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه از شرکت بیونیر (Bioneer) کشور کره و آنزیم Taq polymerase نیز از شرکت سیناژن ایران تهیه شد.



تصویر ۱ : ژل الکتروفورزیس مربوط به پلی‌مورفیسم IL18 -607A/C در افراد هموزیگوت یکی از الل‌های C و یا A وجود دارد. لذا در این افراد پس از انجام PCR فقط در یکی از ستون‌ها محصول PCR دیده می‌شود. در حالی که در افراد هتروزیگوت به دلیل وجود هر دو الل، محصول PCR در هر دو ستون مشاهده می‌شود [۱]. ladder [۲و۳] افراد هموزیگوت CC [۴و۵]، افراد هتروزیگوت AC [۶و۷] افراد هموزیگوت AA و کنترل منفی[۸]. طول باندهای کنترل ۳۰۱ bp و محصولات اصلی ۱۹۶ bp می‌باشند.

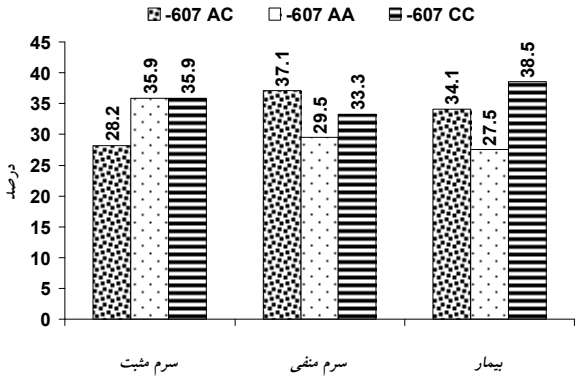
سیکل زمانی به‌کار رفته نیز به شرح زیر بود:

یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه که به دنبال آن ۷ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۶۴ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به ترتیب با زمان‌های ۲۰، ۳۰ و ۸۰ ثانیه و سپس ۲۵ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۵۷ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به ترتیب با زمان‌های ۲۰، ۴۰ و ۵۰ ثانیه و سپس یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر Astec مدل PC818 ساخت کشور ژاپن اعمال گردید. اندازه محصول آمپلیفیکه شده ۱۹۶ bp و اندازه کنترل داخلی تکثیر شده نیز که منطقه

پلی‌مورفیک مورد مطالعه را در برداشت؛ ۳۰۱ bp بود. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲درصد (Sigma, agarose for Molecular biology) محتوی ۱μg/ml اتیدیوم بروماید (Sigma Co.) الکتروفورز گردید و حضور و یا عدم حضور باندهای مربوط به الل‌ها در کنار باندهای مربوط به کنترل داخلی در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ترانس لومیناتور (UV TEC, CB41QB, UK) مورد بررسی قرار گرفت (تصویر یک). داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون کای‌اسکوئر تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده فراوانی الل وحشی -607/C در هر سه گروه مورد مطالعه بیشتر از فراوانی الل موتان -607/A بود.



نمودار ۱ : درصد فراوانی ژنوتیپ‌های 607A/C در گروه‌های مورد مطالعه

نتایج حاکی از آن است که فراوانی ژنوتیپ -607C/C نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود و در بین افراد مورد مطالعه ۹۸ نفر (۳۵/۸ درصد) این ژنوتیپ را داشتند که شامل ۳۵ نفر (۳۸/۵ درصد) از گروه بیمار، ۳۵ نفر (۳۳/۳ درصد) از گروه سرم منفی و ۲۸ نفر (۳۵/۹ درصد) از گروه سرم مثبت بود (نمودار یک). این ژنوتیپ با ۳۸/۵درصد، فراوان‌ترین ژنوتیپ در گروه بیمار می‌باشد. از بین ۲۷۴ نفر که ژنوتیپ آنها مشخص شده بود؛ ۸۴ نفر (۳۰/۷ درصد) دارای ژنوتیپ -607A/A بودند که از این تعداد ۲۵ نفر (۲۷/۵ درصد) متعلق به گروه بیمار، ۳۱ نفر (۲۹/۵ درصد) متعلق به گروه سرم منفی و ۲۸ نفر (۳۵/۹ درصد) متعلق به گروه سرم مثبت بودند. این ژنوتیپ، کمترین ژنوتیپ مشاهده شده در بین افراد مورد مطالعه بود. در دو گروه بیمار و سرم منفی این ژنوتیپ به ترتیب با اختصاص ۲۷/۵درصد و ۲۹/۵درصد کمترین ژنوتیپ مشاهده شده در داخل این دو گروه بود. همچنین ژنوتیپ -607A/C در گروه سرم منفی با ۳۷/۱درصد بیشترین ژنوتیپ در داخل این گروه می‌باشد. در حالی که در گروه سرم مثبت با ۲۸/۲درصد کمترین ژنوتیپ را شامل می‌شود.

بحث

براساس نتایج به‌دست آمده؛ فراوانی ژنوتیپ‌ها در جایگاه مورد مطالعه نزدیک به یکدیگر بود و تفاوت معنی‌داری دیده نشد. ولی با این حال ژنوتیپ -607C/C در افراد سالم و سرم مثبت که قبلاً با این بیماری برخورد داشته‌اند و به شکل بالینی بیمار نشده‌اند؛ بیشتر دیده شد. از این توزیع ژنوتیپ می‌توان چنین استنباط نمود که با توجه به این که در شکل -607C/C بیان ژن بیشتر از شکل -607A/A می‌باشد و در نتیجه انتظار غلظت بالائی از IL-18 را در سرم این افراد داریم؛ لذا در حین عفونت با لیشمانیا، این بیان بالای ژن منجر به غلظت بالای IL-18 و در نتیجه سوق داده شدن پاسخ ایمنی به سمت دفاع سلولی با واسطه Th1 و در نتیجه مهار انگل لیشمانیا و مقاومت در برابر این بیماری و عدم بروز علائم بالینی لیشمانیوز احشایی در چنین افرادی گشته است؛ ولی با توجه به این که این مطالعه روی تعداد محدودی نمونه انجام گرفته است. لذا برای به‌دست آوردن نتایج بهتر نیاز به بررسی نمونه‌های بیشتر و همچنین بررسی سرولوژی همراه بررسی ملکولی نمونه‌ها ضروری است. همچنین با توجه به تاثیر سیتوکین‌ها بر یکدیگر و در نتیجه تنظیم بیان آنها، بهتر است تا مطالعات آینده به‌صورت بررسی‌های همگام و به‌طور هم‌زمان روی چند سیتوکین انجام گیرد تا بتوان به نتایج واضح‌تری دست یافت.

از جمله مطالعات مشابهی که روی بیماری‌های دیگر با مکانیسم دفاع ایمنی مشابه صورت گرفته است؛ می‌توان به مطالعه حق‌شناس و همکاران در سال ۲۰۰۸ اشاره نمود که پلی‌مورفیسم اینترلوکین۱۸ را در بیماران مبتلا به سرطان گوارشی بررسی نمودند (۱۸). در این مطالعه گروه بیماران از

۲۳۲ نفر شامل ۸۹ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۱۴۳ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال و گروه شاهد از ۳۱۲ نفر تشکیل شده بود. در این مطالعه فراوانی الل C جایگاه ۶۰۷- بیشتر از فراوانی الل A بود و نتایج به دست آمده تقریباً با فراوانی این الل در مطالعه ما هم‌خوانی دارد. در این مطالعه بیشترین ژنوتیپ جایگاه ۶۰۷- در هر دو گروه مربوط به ژنوتیپ 607A/C- می‌باشد و کمترین فراوانی در تمامی گروه‌های مورد مطالعه مربوط به فراوانی 607A/A- بود. این در حالی است که ژنوتیپ607A/A- در مطالعه ما در گروه بیمار کمتر از دو ژنوتیپ دیگر بود.

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت؛ پلی‌مورفیسم اینترلوکین ۱۸ روی دو گروه بیماران دارای سقط جنین خودبه‌خودی و زنان با زایمان طبیعی (گروه شاهد) بررسی شد (۱۹) و فراوانی الل C در جایگاه ۶۰۷- برای بیماران ۵۶/۸درصد و در گروه شاهد ۵۷/۳درصد و نیز فراوانی الل A در گروه بیماران۲ /۴۳درصد و در گروه شاهد ۴۲/۷درصد به‌دست آمد که تقریباً با فراوانی این الل در مطالعه حق‌شناس و همکاران (۱۸) و نیز مطالعه ما هم‌خوانی دارد.

در مطالعه Harishankar و همکاران در سال ۲۰۰۷ پلی‌مورفیسم اینترلوکین ۱۸ در بیماری توبرکلوزیس مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). در آن مطالعه از ۱۶۵ بیمار و ۱۷۳ فرد سالم به عنوان گروه شاهد اسفاده شد و بیشترین ژنوتیپ جایگاه ۶۰۷- در هر دو گروه مربوط به ژنوتیپ 607C/C- تعیین شد و کمترین فراوانی مربوط به فراوانی 607A/A- بود. این نتایج با یافته مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت.

بررسی پلی‌مورفیسم اینترلوکین ۱۸ در بیماری بهجت در سال ۲۰۰۶ توسط Lee و همکاران دارای نتایج مشابهی بود (۱۷). در آن مطالعه در بیماران مبتلا به بهجت نیز همانند بیماران لیشمانیایی بیشترین فراوانی به ژنوتیپ 607C/C- و کمترین فراوانی به 607A/A- تعلق داشت. در گروه شاهد آن مطالعه نیز همانند گروه سرم منفی مطالعه ما ژنوتیپ 607A/C- بیشترین فراوانی و ژنوتیپ 607C/C-کمترین فراوانی را داشت.

Lee و همکاران در سال ۲۰۰۵ پلی‌مورفیسم اینترلوکین ۱۸ را در جایگاه ۶۰۷- در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک مورد بررسی قرار دادند (۲۱). تعداد افراد مورد مطالعه در گروه بیماران ۱۶۰ نفر و در گروه شاهد ۱۶۶ نفر بود. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن بود که در گروه شاهد همانند گروه سرم منفی مطالعه ما، فراوانی ژنوتیپ 607A/C- از دو ژنوتیپ دیگر بیشتر است؛ ولی میزان آن در گروه بیماران بسیار بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. در آن مطالعه کمترین فراوانی در گروه بیماران مربوط به ژنوتیپ 607C/C- بود. در حالی که در مطالعه ما، کمترین فراوانی در گروه بیماران به ژنوتیپ - 607A/A اختصاص داشت.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ غالب در گروه بیمار، سالم سرم منفی و سالم سرم مثبت به ترتیب 607C/C- (۳۸/۵ درصد)، 607A/C- (۳۷/۱ درصد) و 607C/C- (۳۵/۹ درصد) می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی آقای احسان احمدپور و طرح مصوب (شماره ۸۷/۰۲۰) مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز بود. این تحقیق با استفاده از امکانات و حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گردید. بدین‌وسیله از حمایت‌های مسؤولین آن مرکز که در فراهم نمودن امکانات این تحقیق مساعدت‌های لازم را به انجام رساندند؛کمال تشکر را داریم.

با توجه به ضایعه اسفبار فقدان دوست، همکار و استاد گرانقدرمان جناب آقای دکتر عبدالصمد مظلومی، یاد و خاطره ایشان را گرامی داشته و از خداوند منان علو درجات را برای ایشان مسألت داریم.

References

1. Dejeux P. Information on the epidemiology and control of the leishmaniasis, by country or territory. Geneva, World Health Organization, 1991 (WHO/LEISH/91.30).

2. Parvizi P, Mazloumi-Gavgani AS, Davies CR, Courtenay O, Ready PD. Two Leishmania species circulating in the Kaleybar focus of infantile visceral leishmaniasis, northwest Iran: implications for deltamethrin dog collar intervention. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008 Sep;102(9):891-7.

3. Scott P. Immunoparasitology. Immunological Reviews. 2004; 201(1):5-8.

4. Vanloubbeeck Y, Jones DE. The Immunology of Leishmania infection and the implications for vaccine development. Annals of the New York Academy of Sciences. 2004; 1026(?): 267-72.

5. Reddy P. Interleukin-18: recent advances. Current Opinion in Hematology. 2004 Nov;11(6):405-10.

6. Izakovicova Holla L. Interleukin-18 in asthma and other allergies. Clin Exp Allergy. 2003 Aug;33(8):1023-5.

7. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. Periodontol 2000. 2004;35:42-52.

8. Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukin-18. Journal of Leukocyte Biology. 2003; 73(2), 213-24.

9. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. Annu Rev Immunol. 2001;19:423-74.

10. Tsutsui H, Nakanishi H, Matsui K, Higashino K, Okamura K, Miyazawa K, et al. IFN-gamma-inducing factor up-regulates Fas ligand-mediated cytotoxic activity of murine natural killer cell clones. The Journal of Immunology. 1996;157(9):3967-73.

11. 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.

12. Gu Y, Kuida K, Tsutsui H, Ku G, Hsiao K, Fleming MA, et al. Activation of interferon-gamma inducing factor mediated by interleukin-1beta converting enzyme. Science. 1997 Jan; 275(5297):206-9.

13. Bryson KJ, Wei XQ, Alexander J. Interleukin-18 enhances a Th2 biased response and susceptibility to Leishmania mexicana in BALB/c mice. Microbes Infect. 2008 Jun;10(7):834-9.

14. Wei XQ, Niedbala W, Xu D, Luo ZX, Pollock KG, Brewer JM. Host genetic background determines whether IL-18 deficiency results in increased susceptibility or resistance to murine Leishmania major infection. Immunol Lett. 2004 Jun;94(1-2):35-7.

15. Evering T, Weiss LM. The immunology of parasite infections in immunocompromised hosts. Parasite Immunol. 2006 Nov; 28(11):549-65.

16. Sugawara I. Interleukin-18 (IL-18) and infectious diseases, with special emphasis on diseases induced by intracellular pathogens. Microbes Infect. 2000 Aug;2(10):1257-63.

17. Lee YJ, Kang SW, Park JJ, Bae YD, Lee EY, Lee EB, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms in patients with Behçet's disease. Hum Immunol. 2006 Oct;67(10):812-8.

18. Haghshenas MR, Hosseini SV, Mahmoudi M, Saberi-Firozi M, Farjadian S, Ghaderi A. IL-18 serum level and IL-18 promoter gene polymorphism in Iranian patients with gastrointestinal cancers. J Gastroenterol Hepatol. 2009 Jun;24(6):1119-22.

19. Naeimi S, Ghiam AF, Mojtahedi Z, Dehaghani AS, Amani D, Ghaderi A. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2006 Sep-Oct;128(1-2):5-9.

20. Harishankar M, Selvaraj P, Rajeswari DN, Anand SP, Narayanan PR. Promoter polymorphism of IL-18 gene in pulmonary tuberculosis in South Indian population. Int J Immunogenet. 2007 Oct;34(5):317-20.

21. Lee HM, Park SA, Chung SW, Woo JS, Chae SW, Lee SH, et al. Interleukin-18/-607 gene polymorphism in allergic rhinitis. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2006 Jun;70(6):1085-8.

Original Paper

Prevalence of IL18 -607A/C polymorphism in patients with visceral leishmaniasis

Ahmadpour E (MSc)[1], Mazloumi-Gavgani AS (PhD)[2]
Bazmani A (MSc)*[3], Kazemi AH (PhD)[4], Babaloo Z (PhD)[5]

[1]PhD Student, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [2]Associate Professor, Department of Parasitology and Mycology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [3]MSc of Parasitology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [4]Associate Professor, Department of Parasitology and Mycology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [5]Assistant Professor, Department of immunology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Abstract

Background and Objective: Visceral leishmaniasis (VL) is a parasitic disease caused by a protozoan of Leishmania genus and in Iran by Leishmania infantum. The protective immune response against VL is cellular immunity through Th1 CD4+, which dominant chemokiens are IL12, IFN- γ and IL18 and lead to Th1 response. Single nucleotide polymorphism (SNP) on IL-18 gene and its relation to IL18 levels in blood and IL18 function have been studied in many inflammatory diseases such as Behcect's disease and tuberculosis. According to the important role of IL-18 in immunity against visceral leishmaniasis, this study was conducted to demonstrate the prevalence of genotypes on -607A/C in promoter region of IL-18 gene.

Materials and Methods: This descriptive and cross-sectional study was done on 91 pateints with confirmed VL, 105 healthy sero-negative controls and 78 seropositive controls during 1999-2009. Salting out method was used to extract DNA and ARMS-PCR was used to determine the genotype of -607A/C allele of individuals. Statistical analysis of genotypes was performed using Chi-Square test.

Results: According to the results, -607C/C was the dominant genotype among the groups (35.8%). Distribution of genotypes among groups had not any significant difference. The lowest genotype among healthy sero-positive and patients were -607A/C and -607A/A, respectively. Statistical analysis of distribution of genotypes, did not reveal any significant difference among groups.

Conclusion: The dominant genotypes of VL patients, healthy sero-negatives and healthy sero-positives were -607C/C (38.5%), -607A/C (37.1%) and -607C/C (35.9%) respectively.

Keywords: Visceral leishmaniasis, Interlukin-18, Polymorphism, ARMS-PCR

*** Corresponding Author:** **Bazmani A (MSc), E-mail: bazmany_ahad@yahoo.com**

Received 2 March 2010 **Revised** 24 August 2010 **Accepted** 25 September 2010

This paper should be cited as: Ahmadpour E, Mazloumi-Gavgani AS, Bazmani A, Kazemi AH, Babaloo Z. [Prevalence of IL18 -607A/C polymorphism in patients with visceral leishmaniasis]. J Gorgan Uni Med Sci. Spring 2010;13(1):66-72. [Article in Persian]