بررسی رابطه‌ی پلی مورفیسم ژن سیتوکین‌های پیش‌التهابی (اینترلوکین یک آلفا و بتا) با بیماری پریودنتیت مزمن

دکتر شیرین امینی[1]، دکتر هدایت‌اله گلستانه[1]، دکتر شهرام جلیل‌زاده[*]
دکتر محمدرضا غفاری[2]، دکتر طیب رمیم[3]

چکیده

مقدمه: بیماری‌های پریودنتال بیماری‌های چند علتی هستند که در حضور باکتری‌ها و تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی ایجاد می‌شوند و کنترل عوامل زمینه‌ای می‌تواند در پیشگیری از ابتلا به آن‌ها کمک کننده باشد. هدف از این مطالعه بررسی رابطه پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا و بتا با پریودنتیت مزمن بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه به‌صورت مورد- شاهدی در ۳۶ بیمار پریودنتیت مزمن و ۳۶ فرد سالم از نظر پریودنتالی؛ از جمعیت ایرانی، نژاد آریایی و قومیت اصفهانی در بخش پریودنتولوژی دانشکده‌ی دندان‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان انجام شد. پس از استخراج DNA از خون محیطی افراد، پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا و بتا بررسی شد. آنالیز داده‌ها با آزمون Chi-square و Fisher's exact test انجام شد ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: بین فراوانی ژنوتیپ ۲،۸۸۹/۲- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن و هم‌چنین بین فراوانی آلل۱،۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و سلامت پریودنتال (p value = ۰/۰۳) ارتباط معنی‌داری وجود داشت. بین فراوانی هیچ یک از ژنوتیپ‌های ۳۹۵٤+ اینترلوکین یک بتا و پریودنتیت مزمن (p value = ۰/۱٤) و نیز بین فراوانی هیچ یک از آلل‌های۳۹۵٤+ اینترلوکین یک بتا و بیماری فوق (p value = ۰/۰٦) ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر، وجود ارتباط پلی‌مورفیسم ژن۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن در جامعه‌ی مورد بررسی، وجود این ژن را به‌عنوان یک عامل خطر در ابتلا به بیماری پریودنتیت مزمن مطرح می‌کند. در عین حال عدم ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن ۳۹۵٤+ اینترلوکین یک بتا با پریودنتیت مزمن استفاده از این ژن را به‌عنوان یک نشان‌گر در استعداد ابتلا به بیماری فوق مورد تردید قرار می‌دهد.

کلید واژه‌ها: پریودنتیت مزمن، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، اینترلوکین یک آلفا، اینترلوکین یک بتا، ژنوتیپ

* دستیار تخصصی، گروه پریودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران (مؤلف مسؤول)
slr_1975@yahoo.com

۱: استادیار، گروه پریودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران

۲: دستیار تخصصی، گروه پریودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران

۳: پزشک عمومی، مرکز تحقیقات تروما و جراحی سینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

این مقاله در تاریخ ۹۱/۷/۲۶ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۲/۴/۱۲ اصلاح شده و در تاریخ ۹۲/۵/۱ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۲؛ ۹(۵)؛ ۳۹۳ تا ۴۰۱

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

مقدمه

پریودنتیت مزمن شایع‌ترین فرم پریودنتیت بوده که منجر به آماس در بافت‌های حمایت‌کننده دندان و از دست رفتن چسبندگی (Attachment loss) به‌صورت پیشرونده و تحلیل استخوان می‌شود که هر دو جنس را درگیر می‌کند[۳-۱]. اگرچه وجود باکتری‌ها برای پیشرفت پریودنتیت ضروری می‌باشد، ولی مکانیسمی جهت شناسایی وضعیت بالینی و پیشرفت بیماری موجود نمی‌باشد[۴]. در بررسی دو قلوها نشان داده شده است که فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در تفاوت وضعیت بالینی در پریودنتیت دارند و پلی‌مورفیسم ژنتیکی کیفیت و کمیت پاسخ میزبان را تحت تأثیر قرار داده[۵] و باعث تغییر در پروتئین یا اثر پروتئین‌ها و در نتیجه تغییر در ایمنی ذاتی و تطابقی گردیده که نقش تعیین کننده‌ای در نتیجه‌ی بیماری داشته است[۶]. اگرچه نقش فاکتورهای محیطی مثل سیگار و استرس در پیشرفت بیماری مشخص گردیده است[۷] درک اثر متقابل بین پاسخ میزبان و باکتری‌ها برای فهمیدن پاتوژنز بیماری پریودنتال ضروری می‌باشد[۹، ۸]. پلی مورفیسم ژنتیکی در چندین ژن سایتوکاین یافت می‌شود. این پلی مورفیسم می‌تواند سطح ترشح سایتوکاین‌ها را تحت تأثیر قرار داده که تفاوت‌های فردی در پاسخ سایتوکاین‌ها به تحریک باکتریایی را توجیه می‌کند [۱۱، ۱۰]. مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش التهابی اینترلوکین (Interleukin (IL یک آلفا و یک بتا می‌باشند که سایتوکاین‌های پیش التهابی، سنتز مولکول اتصال به اندوتلیوم بر روی سلول‌های التهابی مانند نوتروفیل، مونوسیت و فیبروبلاست را افزایش داده و باعث وازودیلاتاسیون، کموتاکسی و التهاب در ناحیه می‌گردند[۱۲]. اینترلوکین یک که در قدیم به آن فاکتور فعال کننده استئوکلاست می‌گفتند شامل سه نوع می‌باشد: اینترلوکین یک آلفا، اینترلوکین یک بتا و آنتاگونیست گیرنده IL_1. انواع اینترلوکین یک آلفا و بتا واسطه‌های التهابی سیستم ایمنی هستند. اینترلوکین یک آلفا بیش‌تر توسط کراتینوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک و اینترلوکین یک بتا بیش‌تر توسط مونوسیت‌ها تولید می‌شوند که تحت تاثیر لیپوپلی‌ساکارید و لنفوسیت T افزایش می‌یابند. اینترلوکین یک باعث تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های B و T شده و تولید آنتی‌بادی و سایتوکاین‌ها را افزایش می‌دهد. هم‌چنین با تأثیر بر فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال و کندروسیت‌ها باعث افزایش سنتز پروستاگلاندین E2 و کلاژناز شده و با تحریک سلول‌های مغزی و کبدی باعث ایجاد تب و افزایش پروتئین‌های فاز حاد می‌شود. اینترلوکین یک از طریق تحریک سنتز اسید آراشیدونیک باعث افزایش غلظت پروستاگلاندین E2 و فعال شدن استئوکلاست‌ها شده و در نتیجه در روند تخریب استخوان شرکت دارد. البته قدرت تخریب اینترلوکین یک بتا چند برابر اینترلوکین یک آلفا می‌باشد[۱۳]. اینترلوکین یک با مداخله در تنظیم بیان مولکول‌های آنتی‌ژن لکوسیت انسانی در ارایه آنتی‌ژن و ترشح آنتی‌بادی نیز مؤثر است[۱۴]. پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین یک می‌تواند روی شدت بیماری پریودنتیت مزمن مؤثر باشد و این ارتباط در نژادهای مختلف متفاوت است[۱۵، ۱۴]. اثر مخرب اینترلوکین یک در پریودنتیت به‌وسیله‌ی آزمایش بر روی میمون‌ها ثابت شده است، به این صورت که با کمک لیگاتور، پریودنتیت تجربی ایجاد کرده، سپس در تعداد مشخصی آنتاگونیست‌های اینترلوکین یک را به‌کار بردند و نتیجه گرفتند مهاجرت سلول‌های التهابی به مجاورت استخوان ۸۰ درصد کاهش و تحلیل استخوان ۶۰ درصد کاهش یافت[۱۶]. مقدار اینترلوکین یک در بافت‌های پریودنتیت جوانان بیش‌تر از پریودنتیت بزرگسالان و هم‌چنین بیش‌تر از ژنژیویت و حالت سلامت می‌باشد[۱۷].

بحث استعداد ژنتیکی در بیماری پریودنتیت در حقیقت بر پایه‌ی تفاوت پاسخ‌های ایمنی و التهابی در مواجهه با عوامل محیطی استوار است. به‌عنوان نمونه تولید سایتوکاین‌ها که یکی از بازوان ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند در همه‌ی افراد یکسان نیست و حتی ممکن است سنتز سایتوکاین‌های پیش التهابی در دو جنس تفاوت داشته باشد[۱۸]. سه ژن تولید IL-1 را تنظیم می‌کنند: interleukin-1α (IL-1α)، interleukin-1β (IL-1β) و interleukin-1 receptor antagonist (IL1-RN). این ژن‌ها نزدیک یک‌دیگر، روی بازوی بلند کروموزوم دو (q۲۱۳) و در منطقه 430 kilobase(kb) قرار دارند. ژن‌های IL-1α و IL-1β به ترتیب تولید پروتئین‌های پیش التهابی IL-1α و IL-1β را کنترل می‌کنند. ژن (IL1-*RN*) سنتز یک پروتئین آنتاگوسیت را کنترل می‌کند. این پروتئین مانع از تولید IL-1 و IL-2 می‌شود. سایر ژن‌ها نیز ممکن است سنتز این پروتئین‌ها را کنترل کنند. در هر فرد، شکل خاص (آلل) هر یک از ژن‌های IL-1α و IL-1β می‌تواند

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

فرق داشته باشد. از آن‌جایی که این ژن‌ها به اشکال (مورفیک) متعدد (پلی) وجود دارند، به آن‌ها پلی‌مورفیک گفته می‌شود. واژه‌ی پلی‌مورفیسم ژنتیکی به تغییر در توالی نوکلئوتیدهایی که یک ژن را تشکیل می‌دهند، گفته می‌شود. وقتی واژه‌ای مثل آلل۲ استفاده می‌شود، به دومین شکل شایع یک ژن در یک محل خاص اشاره دارد. واژه‌ای مثل ۳۹۵۴+ نشان می‌دهد که سه هزار و نهصد و پنجاه و چهارمین (۳۹۵۴) نوکلئوتید ژن، تغییر کرده است[۱۹]. پلی مورفیسم ژن سازنده سایتوکاین‌ها بر میزان ترشح آنها تأثیر دارد. برای بررسی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین معمولاً از دو آلل آن با مشخصات (۸۸۹–) و (۳۹۵۴+) استفاده می‌گردد[۲۰–۱۷].

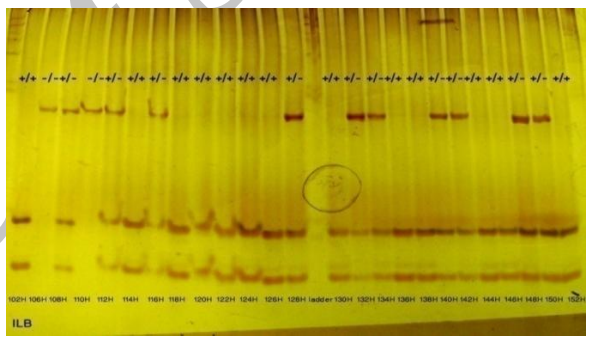
هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی رابطه بین پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا (آلل ۸۸۹–) و اینترلوکین یک بتا (آلل ۳۹۵۴+) با پریودنتیت مزمن می‌باشدکه تا کنون مطالعات اندکی در مورد ارتباط پریودنتیت مزمن با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین یک انجام شده است. در صورت اثبات چنین رابطه‌ای شاید بتوان الگوهای درمانی و پیشگیری کنندگی متفاوتی در بیماران مستعد یا مبتلا طراحی کرده و از این طریق کمک بیش‌تری به بیماران صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

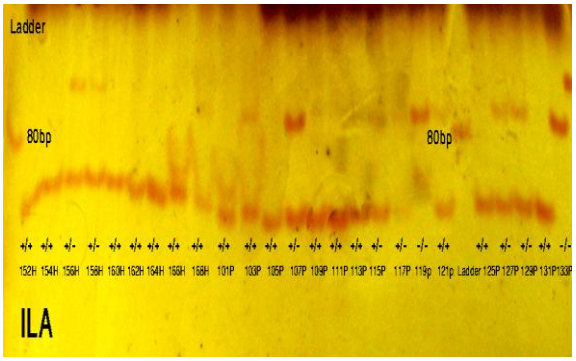
این مطالعه از نوع مورد– شاهدی می‌باشد که در بخش پریودنتیکس تخصصی دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان انجام شده است. نمونه گیری به شکل غیر تصادفی ساده (نمونه در دسترس) انجام گردیده و افراد شرکت کننده در مطالعه از میان افراد مراجعه‌کننده به بخش پریودنتیکس دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان در سال ۱۳۹۰ انتخاب شدند. ۳۶ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۳۶ فرد سالم از نظر پریودنتالی (فاقد هرگونه التهاب یا بیماری پریودنتیت) از جمعیت ایرانی نژاد آریایی قومیت اصفهانی در این مطالعه شرکت کردند. معیارهای ورود به مطالعه برای بیماران شامل سن ۷۰–۲۰ سال، ابتلا به پریودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته ژنرالیزه، از دست رفتن حد چسبندگی ۳ میلی‌متر یا بیش‌تر در بیش از ۳۰ درصد نواحی و برای افراد گروه شاهد سلامت پریودنتال و حد چسبندگی کم‌تر از ۳ میلی‌متر بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل موارد زیر بود: بیماری سیستمیک شامل دیابت، اختلالات قلبی– عروقی، اختلالات هورمونی، مشکلات خونی، سابقه هپاتیت، بارداری ، شمارش پلاکتی غیر نرمال، سایر انواع پریودنتیت به جز پریودنتیت مزمن، افراد سیگاری. پس از انتخاب افراد مورد نظر (مطابق معیارهای ورود) و تکمیل فرم رضایت نامه افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن در گروه مورد و افراد سالم از نظر پریودنتالی در گروه شاهد قرار گرفتند. از همه افراد ده سی‌سی خون گرفته شده و به لوله‌های حاوی ماده ۱۰٪ EDTA منتقل گردید تا از انعقاد خون پیشگیری گردد. در انتقال نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه ژنتیک از محفظه حاوی یخ استفاده شد. در این تحقیق استخراج DNA از خون کامل، به روش غیر آنزیمی و توسط کیت بیوژن (Bio gen, Bio gen company, Mashhad, Iran, under licence of Germany) انجام گرفت. در این روش پس از لیز گلبول‌های قرمز توسط معرف‌هایی با غلظت نمکی متفاوت، از DNA پروتئین‌زدایی شد. سپس DNA توسط اتانول، استخراج شده ، نمک‌زدایی گردیده و نهایتاً به‌صورت محلول نگه‌داری شد. DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر U.V در طول موج ۲۶۰*nm* اندازه‌گیری شد. نمونه‌های DNA بعد از استخراج، به‌وسیله دستگاه ترموسایکلر (Thermocycler; Corbett, Sydney, Australia) تحت واکنش زنجیره‌ای پلی مراز قرار گرفتند و به این ترتیب منطقه‌ای به‌طول ۲۵۰base pairs (bp) در ژن اینترلوکین یک بتا و منطقه‌ای به‌طول ۹۹ (bp) در ژن اینترلوکین آلفا تکثیر شد. محصول اخیر بعد از الکتروفورز بر روی ژل ۱۷ درصد پلی آکریل آمید با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شده و توسط دو آنزیم Taq 1 و Nco 1 که به ترتیب از باکتری Thermus aquaticus و Nocardia corallina گرفته می‌شوند و به‌وسیله‌ی اشعه U.V (Gel-documentation System, nanolytik Co, Germany) برش داده شدند. محصول ایجاد شده توسط Taq 1 شامل دو جزء ۱۱۲ bp و ۱۳۸ bp برای آلل ۱ (وجود سایت برش) و یک جزء ۲۵۰ bp برای آلل۲ (عدم وجود سایت برش) بود. محصول ایجاد شده توسط Nco 1 شامل دو جزء ۸۳ bp و ۱۶ bp برای آلل ۱ (وجود سایت

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

برش) و یک جزء bp ۹۹ برای آلل ۲ (عدم وجود سایت برش) بود. البته جزء bp ۱۶ در مرحله run روی ژل پلی آکریل آمید خارج شده و قابل رویت نیست. در نتیجه وجود یک باند bp ۸۳ نشان‌دهنده وجود سایت برش برای آلل ۱ و یک باند bp ۹۹ نشان دهنده عدم وجود سایت برش برای آلل ۲ است. در هر ژل پلی آکریل آمید، یک ستون شامل ladder بود (ladder در واقع DNA یک باکتری شناخته شده است که با آنزیم‌های برش‌دهنده آن را در قطعاتی برش می‌دهند، به‌طوریکه طول قطعات آن کاملاً مشخص باشد) تعداد بازهای نوکلئوتیدی هر جزء با مقایسه با ladder مشخص می‌شد (شکل‌های ۱ و ۲). برای آنالیز داده‌های مربوط به ارتباط میان وقوع ژنوتیپ ۸۸۹– و ۳۹۵۴+ و وقوع بیماری از آزمون آماری کای اسکویر و Fisher exact test استفاده شد. آستانه معنی‌دار بودن آزمون‌های آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۱ . محصولات polymerase chain reaction (*PCR*) ژن اینترلوکین یک بتا بعد از انجام restriction fragment length polymorphisms(RFLPs)، ژل الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره در نمونه‌های سالم و بیمار



شکل ۲. محصولات polymerase chain reaction (*PCR*) ژن اینترلوکین یک آلفا بعد از انجام restriction fragment length polymorphisms(*RFLPs*)، ژل الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره در نمونه‌های سالم و بیمار

یافته‌ها

۲۲ زن و ۱۴ مرد مبتلا به پریودنتیت مزمن با متوسط سنی ۴۰/۵ سال و ۳۶ فرد سالم از نظر پریودنتال شامل ۲۹ زن و ۷ مرد با متوسط سنی ۳۶/۲ سال شرکت داشتند. ژن اینترلوکین یک بتا و اینترلوکین یک آلفا دارای دو آلل بود: آلل ۱ و آلل ۲. نام‌گذاری این آلل‌ها بر اساس فراوانی نسبی آن‌ها در جامعه است. برحسب قرارداد، آلل یک ، شایع‌ترین شکل آلل است. پلی‌مورفیسم در یک نوکلئوتید در اثر تبدیل باز C→T در محل ژن ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا و ۸۸۹– اینترلوکین یک آلفا ایجاد می‌شود که آنزیم Tag 1 و Nco 1 از همین ناحیه ایجاد برش می‌کند. بر همین اساس برای ژن اینترلوکین یک آلفا، نمونه‌هایی که در ژل پلی‌آکریل آمید دو جزء ۸۳bp و bp ۹۹ داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۲ (هتروزیگوت)، نمونه‌هایی که یک جزء bp ۸۳ داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۱ (هموزیگوت برای آلل ۱) و نمونه‌هایی که یک جزء bp ۹۹ داشتند (هموزیگوت برای آلل ۲) دارای ژنوتیپ ۲/۲ بودند (جدول ۱). توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های اینترلوکین یک آلفا در دو گروه بیمار و سالم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشتند (p value = ۰/۰۳). همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد ژنوتیپ ۱/۱ در گروه بیمار کمتر از گروه سالم ولی ژنوتیپ ۲/۲ در گروه بیمار بیش‌تر از گروه سالم بود.

برای ژن اینترلوکین یک بتا نمونه‌هایی که در ژل پلی‌آکریل آمید دو جزء bp ۱۱۲ و bp ۱۳۸ داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۱ (هموزیگوت برای آلل ۱)، نمونه‌هایی که یک جزء bp ۲۵۰ داشتند دارای ژنوتیپ ۲/۲ (هموزیگوت برای آلل ۲) و نمونه‌هایی که سه جزء bp ۱۱۲ و bp ۱۳۸ و bp ۲۵۰ داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۲ (هتروزیگوت) بودند (جدول ۱). آزمون کای– اسکویر نشان داد که توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های اینترلوکین یک بتا در دو گروه بیمار و سالم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند (p value= ۰/۱۴). ارتباط معنی‌داری بین افراد بیمار و سالم از نظر وقوع آلل‌های ژن ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا یافت نشد. از نظر آلل‌های ژن ۸۸۹– اینترلوکین یک آلفا فراوانی آلل ۱ در گروه بیمار به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه سالم بود (p value =۰/۰۳). فراوانی آلل۲ در گروه بیمار ۴۲/۹٪ و در گروه سالم ۲۹/۴٪ بود، هر چند آزمون کای– اسکوئر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (p value = ۰/۱۲) (جدول ۲).

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

جدول ۱. توزیع فراوانی ژنوتیپ های اینترلوکین یک آلفا (۸۸۹–) و اینتر لوکین یک بتا (۳۹۵۴+) در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن (n = ۳۶) و افراد سالم از نظر پریودنتال (n = ۳۶).

اینترلوکین یک آلفا و بتا		افراد سالم (n = ۳٦) تعداد (%)	افراد بیمار (n = ۳٦) تعداد (%)	*p value
ژنوتیپ‌های	۱/۱	۲۲ (۶۱/۸)	۱۷ (۴۷/۲)	۰/۰۳
اینترلوکین یک آلفا (۸۸۹–)	۱/۲	۱۲ (۳۵/۳)	۱۲ (۳۳/۳)	
	۲/۲	۲ (۲/۹)	۷ (۱۹/۵)	
ژنوتیپ‌های	۱/۱	۱۸ (۵۰)	۱۱ (۳۱/۴)	۰/۱۴
اینترلوکین یک بتا (۳۹۵۴+)	۱/۲	۱۴ (۳۹/۹)	۱۹ (۵۴/۳)	
	۲/۲	۴ (۱۰/۱)	۶ (۱۴/۳)	

* آزمون آماری مورد استفاده کای اسکویر و p value <۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد

جدول ۲ : توزیع فراوانی آلل‌های اینترلوکین یک آلفا (۸۸۹–) و اینتر لوکین یک بتا (۳۹۵۴+) در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن (n = ۳۶) و افراد سالم از نظر پریودنتال (n = ۳۶).

اینترلوکین یک آلفا و بتا		افراد سالم n/N (%)	افراد بیمار n/N (%)	*p value
اینترلوکین یک آلفا، آلل‌های ژن	یک	۳۳/۳۶ (۹۷/۱)	۲۹/۳۶ (۸۰/۶)	۰/۰۳
(۸۸۹–)	دو	۱۰/۳۶ (۲۹/۴)	۱۵/۳۶ (۴۲/۹)	۰/۱۲
اینترلوکین یک بتا، آلل‌های ژن	یک	۳۱/۳۶ (۹۱/۲)	۳۰/۳۶ (۸۵/۴)	۰/۳۷
(۳۹۵۴+)	دو	۱۷/۳۶ (۵۰)	۲۴/۳۶ (۶۸/۶)	۰/۰۶

* آزمون آماری مورد استفاده کای اسکویر و p value < ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد

بحث

بیماری‌های پریودنتال بیماری‌های التهابی هستند که شدت و گسترش ضایعات آن‌ها تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و استعداد ژنتیکی قرار می‌گیرند. تاکنون مطالعات بسیاری انجام شده است که از ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژنی برخی سایتوکاین‌ها و بیماری‌هایی که دارای پاتوژنز التهابی هستند، حمایت می‌کنند[۲۴–۲۱]. به عنوان مثال مطالعه Nikolopoulos و همکاران[۲۲] در سال ۲۰۰۸ و مطالعه Karimbux و همکاران در سال ۲۰۱۱ [۲۴] که در رابطه با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین یک و بروز پریودنتیت مزمن انجام شد. در بررسی رابطه بین پلی‌مورفیسم ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا و ۸۸۹– اینترلوکین یک آلفا با پریودنتیت مزمن بین آلل ۲ و این بیماری ارتباط پیدا شده است، در حالی‌که مطالعاتی که ارتباط بین پریودنتیت مهاجم و ژن مزبور را تحقیق نموده‌اند، آلل ۱ را در ارتباط با این بیماری پیدا کرده‌اند [۲۱–۱۸].

در این مطالعه وقوع آلل ۱ ژن ۸۸۹– اینترلوکین یک آلفا در گروه سالم از نظر پریودنتالی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه بیمار بود (p value = ۰/۰۳). این یافته‌ها بیانگر این است که در افرادی که آلل ۱، ژن ۸۸۹– اینترلوکین یک آلفا

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

وجود دارد استعداد ابتلا به پریودنتیت مزمن کم‌تر می‌باشد در حالی‌که در افرادی که پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا دارند (ژنوتیپ ۲/۲) استعداد بیش‌تری برای ابتلا به پریودنتیت مزمن وجود دارد.

مطالعه Nikolopoulos و همکاران در سال ۲۰۰۸ به صورت مروری و متاآنالیز روی ۵۳ مطالعه در مورد ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن سایتوکاین‌ها و پریودنتیت مزمن انجام شد(گروه مورد ۴۱۷۸ نفر، گروه شاهد ۴۵۹۰ نفر). در این مطالعه ارتباط آماری معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن و فراوانی آلل ۱ ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا در افراد سالم بدست آمد[۲۲].

در مطالعه Tsarev و Nikolaeva در سال ۲۰۱۰ ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن بدست آمد. آنها همچنین متوجه شدند فراوانی آلل ۱ ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا بصورت معنی‌داری در گروه بیماران بیشتر از گروه سالم می‌باشد[۲۳] که البته با نتایج مطالعه حاضر تفاوت داشت که می‌تواند به علت تفاوت‌های نژادی در نمونه‌های مورد مطالعه باشد.

Karimbux و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ در مورد مقالاتی که ارتباط پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- آلفااینترلوکین یک و پریودنتیت مزمن را در جمعیت‌های سفید پوست مورد بررسی قرار داده بودند، یک مرور سیستماتیک و متاآنالیز انجام دادند. نتایج بررسی‌ها نشان داد که پلی‌مورفیسم ژن‌های ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا به‌طور معنی‌داری با پریودنتیت مزمن در این جمعیت ارتباط دارد و هم‌چنین وقوع آلل ۱ در افراد سالم به‌طور معنی‌داری بالاتر از افراد بیمار می‌باشد[۲۴]. ولی در مطالعه Karasneh و همکاران[۲۵] در سال ۲۰۱۱ در یک جمعیت اردنی و هم‌چنین مطالعه Trevilatto و همکاران[۲۶] در سال ۲۰۱۱ در یک جمعیت برزیلی ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن به‌دست نیامد. Rogers و همکاران به منظور تعیین این که آیا پلی‌مورفیسم اینترلوکین یک می‌تواند خطر ایجاد پریودنتیت را پیش‌بینی کند تحقیقی را در ۱۱۹ بیمار نژاد اروپایی و ۶۰ کنترل سالم از نظر پریودنتال انجام دادند. آن‌ها گزارش نمودند که ژنوتیپ ۲/۲، ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه سالم می‌باشد[۲۷]. نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم ژن ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا با پریودنتیت مزمن مشابه مطالعات Tsarev و Nikolaeva [۲۳]، Karasneh و همکاران[۲۵] و Trevilato و همکاران[۲۶] بود. نتایج مطالعه حاضر در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم ژن ۳۹۵۴ + IL-1 β با پریودنتیت مزمن مشابه بعضی از مطالعات ذکر شده بود[۲۶، ۲۵]. در توجیه نتایج متاآنالیز Nikolopoulos و همکاران[۲۲] و Karimbux و همکاران[۲۴] و مطالعه Rogers و همکاران[۲۷] که ارتباط فوق را معنی‌دار به‌دست آوردند می‌توان گفت در این مطالعات به‌منظور ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های اینترلوکین یک و پریودنتیت مزمن از Transmission Disequilibrium Test (TDT) استفاده شده بود. در این آزمون تعداد آلل‌های خاصی که از والدین هتروزیگوت به فرزندان مبتلا انتقال می‌یابد مقایسه می‌گردد. در این روش از اطلاعات خانوادگی بیماران استفاده شده و مشکل مربوط به همسان کردن گروه بیمار و کنترل حذف می‌گردد. هم‌چنین TDT احتمال تجمع بیماری در خانواده را به علت فاکتورهای مشابه مثل رژیم غذایی، بهداشت دهان یا انتقال گونه‌های ویرولانت حذف می‌کند.

برخی از محققین ارزش تشخیصی ژنوتیپ مرکب را در بیماران پریودنتیت مزمن مورد تحقیق قرار داده‌اند. McGuire و Nunn تأثیر پارامترهای کلینیکی و ژنوتیپ اینترلوکین یک را در پیش‌گویی پیش‌آگهی و بقای دندان ۴۲ بیمار نژاد سفیدپوست که به مدت ۱۴ سال تحت درمان نگه‌دارنده بودند ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ مرکب به میزان ۲/۷ برابر، سیگار کشیدن شدید به میزان ۲/۹ برابر و اثر مشترک ژنوتیپ مرکب و سیگار کشیدن شدید به میزان ۷/۷ برابر خطر از دست رفتن دندان را افزایش می‌دهد[۲۸].

در مطالعه Armitage و همکاران[۲۹] (در افراد ۶۹-۲۱ ساله) بین شدت پریودنتیت و ژنوتیپ مرکب، رابطه معنی‌داری بدست نیامد. Kormman و همکاران[۳۰] رابطه‌ی معنی‌داری بین شدت پریودنتیت مزمن و ژنوتیپ

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

مرکب اینترلوکین یک به‌دست آوردند. McDevitt و همکاران[۱۵] بین سن، تاریخچه قبلی سیگار کشیدن و ژنوتیپ مرکب اینترلوکین یک با شدت پریودنتیت مزمن رابطه معنی‌داری به‌دست آوردند.

در مطالعه‌ی حاضر هیچ یک از افراد مورد مطالعه سیگاری نبودند، لذا بررسی هم‌زمانی ژنوتیپ و سیگاری بودن و ارتباط آن با پریودنتیت مزمن میسر نگردید. البته در این مطالعه ارتباط بین ژنوتیپ مرکب (وجود حداقل یک آلل ۲ در ژنوتیپ ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا) و پریودنتیت مزمن مورد بررسی قرار گرفت که ارتباط معنی‌داری بین آن‌ها بدست نیامد (p value = ۰/۱۲) ولی تمایل به وقوع ژنوتیپ مرکب در گروه بیماران بیش‌تر از گروه سالم بود (۴۲/۹٪ در مقایسه با ۲۹/۴٪). با بررسی‌های آماری که انجام شد مشخص گردید اگر تعداد نمونه‌های مورد مطالعه دو برابر می‌شد، رابطه بین ژنوتیپ مرکب و پریودنتیت مزمن معنی‌دار می‌شد. بنابراین شاید یکی از دلایلی که رابطه ژنوتیپ مرکب و پریودنتیت مزمن در این مطالعه معنی‌دار به‌دست نیامد، کم بودن تعداد نمونه‌های مورد مطالعه باشد. تغییرات پلی مورفیک ثبت شده در بیماران پریودنتیت مزمن می تواند بعنوان یک فاکتور پیش بینی‌کننده در نظر گرفته شده و در نتیجه بیماران، سریع‌تر تشخیص داده شده و تحت کنترل و درمان قرار گیرند.

برای تأیید وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن در نژاد آریایی موارد زیر پیشنهاد می‌گردد: انجام مطالعات گسترده‌تر به‌منظور تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های اینترلوکین یک در جمعیت ایرانی، انجام مطالعاتی جامع‌تر با تعداد نمونه‌های بیش‌تر، بررسی اثر چند ژن به‌صورت ترکیبی در بیماری‌های پریودنتال و هم‌چنین لزوم انجام این مطالعه درنژادهای دیگر پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن در جامعه مورد بررسی در این مطالعه، وجود این ژن را به‌عنوان یک عامل خطر در ابتلا به بیماری پریودنتیت مزمن مطرح می‌کند ولی عدم ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا با پریودنتیت مزمن استفاده از این ژن را به‌عنوان یک مارکر در استعداد ابتلا به بیماری فوق مورد تردید قرار می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع دکتری تخصصی دندان‌پزشکی پریودنتیکس در سال ۱۳۹۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شده است.

References

1. Fiebig A, Jepsen S, Loos BG, Scholz C, Schafer C, Ruhliny A, etal. Polymor phisms in the interleukin-1 gene cluster associated with aggressive periodontitis in a large caucasian population. Genomics 2008; 92(5): 309-15.
2. Lindhe J, Lang NP, Karring T. Clinical periodontology and lmplant dentistry. 5th ed. New Jersy: Wiley-Blackwell; 2008. pp. 3, 207-253.
3. Carranza F, Newman M: Text book of clinical periodontology. 10th ed. St.louis: WB: Saunders; 2006. pp. 193-209, 494-500.
4. Baradaran-Rahimi H, Radvar M, Arab HR, Tavakol Afshari J, Ebadian AR: Association of interleukin– 1 receptor antagonist gene polymorphisms with generalized aggressive periodontit an Iranian population. J Peridontol 2010; 81(9): 1342-6.
5. Michalowicz BS. Genetic and heritable risk factors in periodontal disease. J Periodontol 1994; 65(Suppl 5): 479-88.
6. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. Nat Rev Genet 2002; 3(5): 391-7.
7. Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. J Clin Periodontol 2005; 32(Suppl 6): 132-58.
8. Offenbacher S, Barros SP, Beck JD. Rethinking periodontal inflammation. J periodontol 2008; 79 (Suppl 8): 1577-84.
9. Laine ML, Loos B.G., Crielaard W. Gene polymorphism in chronic periodontilis. Int J Dent 2010; 2010: 324719.
10. Jepsens S, Eberhard J, Fricke D, Hedderich J. Inter Leukin- 1 gene poly morphisms and experimentalGingivaitis. J clin priodontitis 2003; 30(2): 102-6.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

11. Kornman KS, Crane A, Wang HY, Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 geno- type as a severity factor in adult periodontal disease. J Clin Periodontol 1997; 24(1): 72-7.

12. Takahashi K, Takingawa M, Takashiba S, Nagai A, Miyamoto M, Kurihara H, et al. Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts. J Periodontol 1994; 65(3): 230-5.

13. Sorensen LK, Havemose-Poulsen A, Bendtzan K, Holmstrup P. Aggressive periodontitis and chronic arthritis: Blood monouclear cell gene expression and plasma protein levels of cytokines and cytokine inhibitors. J Periodontol 2009; 80(2): 282-9.

14. Langdahl BL, Lokke E, Carstens M, Stenkjaer LL, Eriksen EF. Osteoporotic fractures are associated with an 86-base pair repeat polymorphism in the interleukin-1 receptor antagonist gene but not with polymorphisms in the interleukin-1 beta gene. J Bone Miner Res 2000; 15(3): 402-14.

15. McDevitt M.J, Wang H.Y, Knobelman C, Newman M.G, Giovine F.S, Timms J, et al. Interleukin-1 genetic association with period- ontitis in clinical practice. J periodontol 2000; 71(2): 156-63.

16. Teles RP, Sakellari D, Konstantinidis A, Socransky SS, Haffajee AD. Application of the checkerboard immunoblotting technique to the quantification of host biomarkers in gingival crevicular fluid. J Periodontol 2009; 80(3): 447-56.

17. Dutra WO, Moreira PR, Souza PE, Gollob KJ, Gomez RS. Implications of cytokine gene polymorphisms on the orchestration of the immune response:lessons learned from oral diseases.cytokine Growth Factor Rev 2009; 20(3): 223-32.

18. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Tumage AA, Naftel JP, et al. Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. J Periodontal Res 2009; 44(1):133-40.

19. Greenstein G, Hart TC. A Critical assessment of IL-1 genotyping whenused in a genetic susceptibitity test for severe chronic periodontitis. J Periodontol 2002; 73(2):231-47.

20. Loos BG, Van der Velden U, Laine ML. Genetics and periodontitis. Ned Tijdschr Tandheelkd 2008; 115(2): 87-92.

21. Ebadian AR, Radvar M, Arab HR ,.Tavakkol Afshari J ,.Sargolzaei N., Gharegozloo S, etal. Analysis of proinflammatory cytokines gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis (GagP). J Mash Dent Sch. (Persian) 2009: 33(3): 231-40.

22. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene Polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. J Clin Periodontol 2008;35(9):754-67.

23. Tsarev VN, Nikolaeva EN. Polymorphism of IL-1α and IL-1β genes and bacterial invasion in patients with chronic generalized Periodontitis. Stomatologiia (Mosk) 2010; 89(6): 19-23.

24. Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS. Interleukin-1 Gene Polymorphisms and chronic Periodontitis in Adult Caucasians: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Periodontol 2012; 83(11): 1407-19.

25. Karasneh JA, Ababneh KT, Taha AH, Al-Abbadi MS, Ollier WE. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. Arch Oral Biol 2011; 56(3): 269-76.

26. Trevilatto PC, De Souza Pardo AP, Scarel-Caminaga RM, De Brito RB Jr, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. Arch Oral Biol 2011; 56(1): 54-62.

27. Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K, Tan AE, Davies G, Henry PJ, et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? J Periodontol Res 2002; 37(1): 37-41.

28. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. IV the effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. J Periodontol 1999; 70(1): 49-56.

29. Armitage GC, WUY, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. J Periodontol 2000; 71(2): 164-71.

30. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. J Clin Periodontol1997; 24(1): 72-7.

Archive of SID

www.SID.ir

www.mui.ac.ir

Assessment of correlation between pro-inflammatory cytokine (Interleukin-1 *α, β*) gene polymorphisms and chronic periodontitis

Shirin Amini, Hedayatollah Golestaneh, Shahram Jalilzadeh*, Mohammadreza Ghafari, Tayeb Ramim

Abstract

Introduction: *Periodontal diseases are multifactorial conditions that are induced in the presence of bacteria and under the influence of environmental and genetic factors. Management of environmental factors might help prevent such diseases. The aim of this study was to investigate the relationship between interleukin-1α, β gene polymorphism and chronic periodontitis (CP).*
Materials and Methods: *This case-control study included 36 subjects with chronic periodontitis referred to Periodontology Department of Khorasgan Dental School and 36 periodontally healthy controls, with an ethnic origin of Isfahani Iranian race. Extracted DNA from peripheral blood was used to evaluate interleukin-1α, β gene polymorphism. Data were analyzed using chi-squared and Fisher's exact tests (α=0.05).*
Results: *There was a significant association between IL-1α -889, 2/2 genotype and CP and between IL-1α -889 allele and periodontal health (p value = 0.03). There was no significant association between IL-1β +3954 genotype and CP (p value = 0.14). There was no significant association between IL-1β +3954 alleles and CP (p value = 0.06).*
Conclusion: *Based on the results of the present study, association between IL-1α -889 polymorphism in the population presented here confirms this gene as a risk factor for CP. However, the lack of any association between IL-1β +3954 polymorphism and CP makes it dubious to use this gene as a marker of susceptibility to CP.*

Key words: *Chronic periodontitis, Genetic polymorphism, Genotype, IL-1α, IL-1β*

Received: 18 Oct, 2012 **Accepted:** 23 Jul, 2013

Address: Postgraduate Student, Department Of Periodontics, School of Dentistry, Khorasgan branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
Email: slr_1975@yahoo.com

Citation:, Amini SH, Golestaneh H, Jalilzadeh SH, Ghafari M, Ramim T. **Assessment of correlation between pro-inflammatory cytokine (Interleukin-1 *α, β*) gene polymorphisms and chronic periodontitis**. J Isfahan Dent Sch 2013; 9(5): 393-401.

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir