

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن IL-4R با شدت پریدنتیت مزمن

دکتر معصومه خوشحال*، دکتر ژانت مرادی حقگو*، دکتر پرویز ترک زبان*، دکتر سیدرضا عربی*
دکتر فریبرز وفايي**، دکتر مهرداد حاجیلوئی***، دکتر بنفشه پور مرادی****

دریافت: ۸۹/۱۲/۵، پذیرش: ۹۰/۴/۱۲

چکیده:

مقدمه و هدف: پریدنتیت یک بیماری مولتی فاکتوریال است که سیستم ایمنی میزبان و فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در پاتوژنز آن ایفا می کنند. پلی مورفیسم در ژن های سایتوکاین ها و گیرنده های آنها به عنوان یک فاکتور ژنتیکی بالقوه در بیماری های پریدونتال مطرح می باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده IL-4 با پریدنتیت مزمن می باشد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی ۹۰ بیمار غیر سیگاری (۶۱ زن و ۲۹ مرد) با سطوح مختلف پریدنتیت مزمن که بر اساس سطح چسبندگی کلینیکی (CAL) به سه گروه ملایم، متوسط و شدید تقسیم بندی شده اند، مورد آزمایش قرار گرفتند. پلی مورفیسم ژنی IL-4R در محل اسید آمینه (آلانین/گلوتامین) ۳۷۵، اسید آمینه (لوسین/سرین) ۴۱۱، اسید آمینه (سرین/پرولین) ۴۷۸ و اسید آمینه (سیستئین/آرژنین) ۴۰۶ توسط روش PCR-RFLP تعیین و ارتباط آن با شدت بیماری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: پلی مورفیسم ژن IL-4R در جایگاه اسیدآمینه های ۳۷۵، ۴۱۱، ۴۷۸ و ۴۰۶ تفاوت آماری معنی داری را در انواع ملایم متوسط و شدید پریدنتیت مزمن نشان نداد.

نتیجه نهایی: این مطالعه نشان داد که بین پلی مورفیسم ژن IL-4R با پریدنتیت مزمن ارتباطی وجود ندارد.

کلید واژه ها: التهاب بافت اطراف دندان / اینترلوکین - ۴ / پلی مورفیسم / سایتوکاین ها

مقدمه:

سیستم ایمنی میزبان شبکه پیچیده ای از تداخل عمل سلولها و مولکولهای تنظیم کننده است. پس از برخورد با اندوتوکسین باکتری ها، ترشح و آزاد سازی سایتوکاین ها و پروستاگلاندین ها از منوسیت ها، ماکروفاژها و PMN ها به وقوع می پیوندد(۲). پاسخ های التهابی اختصاصی بوده و لیگاند های خاصی را درگیر می سازند. ماکروفاژها و فیروبلات های موجود در بافت لثه ای ملتهب توسط محصولات باکتریایی مانند LPS، که آنتی ژن اصلی باکتری های گرم منفی محسوب می شود، فعال شده و وقایع آبشاری درون سلولی را فعال می کند که منجر به تولید و ترشح مدیاتورهای التهابی مانند PGE و IL-1

بیماری های پریدونتال، گروهی از بیماریهای التهابی می باشند که از تداخل باکتری های پریدونتو پاتوژن و مکانیسم های ایمنی میزبان بر روی بافت های حمایت کننده دندان حاصل می شوند. این بیماری با درگیری التهابی بافت های احاطه کننده ی دندان، مارجین لثه، فیبرهای چسبنده پریدونتال و استخوان آلوئول مشخص میشود و با تشکیل پاکت و تحلیل لثه و یا هر دو همراه می باشد(۱). میکروارگانیزم ها گاهی اثرات خود را به طور مستقیم از طریق تخریب بافت و گاهی به طور غیر مستقیم به واسطه تحریک و تعدیل پاسخ های ایمنی

* استادیار گروه پریدونتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** استادیار گروه پروتزهای دندانی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (fvafaee@yahoo.com)

*** استادیار ایمونولوژی مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

**** دستیار گروه پریدونتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

همسان کردن این ۳ گروه، در هر گروه ۳۰ فرد مورد مطالعه قرار گرفتند، که شامل ۶۱ زن و ۲۹ مرد بودند. رضایت نامه توسط همه تکمیل گردید. DNA به روش Miller's Salting out استخراج گردید. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) به روش PCR-RFLP انجام و محصولات حاصل از PCR تحت الکتروفورز قرار گرفتند و جهت بررسی و مشاهده نتایج بر روی دستگاه UV Trans illuminator انتقال داده شدند. جهت بررسی پلی مورفیسم ژنی حاضر به ترتیب از پرایمر های زیر استفاده شد:

```
IL-4E375ALA.....5'ACTTCCAGGAGGGAAGGGC3'
IL-4E375GLU.....5'ACTTCCAGGAGGGAAGGGA3'
IL-4E375COM.....5'CCCTGCACCTGGGAACACTCAT3'
IL-4C406CYS.....5'CAGGACATGGGGGAGTCAT3'
IL-4C406ARG.....5'AGGACATGGGGGAGTCAC3'
IL-4C406COM.....5'AGTCAGGTTGTCTGGACTCTG3'
IL-4S411SER.....5'TGAGCACTCGTACTTCCCG3'
IL-4S411LUE.....5'TGAGCACTCGTACTTCCCA3'
IL-4S411COM.....5'CGATGTGTGGAGTTGTTTGGAG3'
IL-4S478SER.....5'TTACCGCAGCTTCAGCAACT3'
IL-4S478PRO.....5'TACCGCAGCTTCAGCAACC3'
IL-4S478COM.....5'CCAGGTTTCTGGCTCAGGTT3'
```

جهت استخراج DNA از خون منعقد نشده در لوله های فالکون حاوی ۵۰ mmol EDTA استفاده شد. لوله ها فریز گردید و سپس در دمای ۳۷ °C قرار گرفت تا ذوب شود و پس از آن تا عدد ۲۵cc لوله، محلول Lyse I که حاوی ۱۰۴ gr سوکروز، ۱/۵ gr Tris-HCl، ۱/۰۱ mol/l، ۱۰cc Triton ۱۰۰x، ۱۰cc MgCl₂ در ۱ لیتر آب مقطر بود، جهت لیز گلبولهای قرمز، اضافه گردید. سپس به آرامی لوله سر و ته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ و در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. بعد محلول رویی (حاوی گلبولهای قرمز لیز شده) خارج گردید، یک پلیت قرمز رنگ باقی ماند که حاوی WBC و کمی RBC بود. سپس تا عدد ۲۵cc لوله، PBS حاوی ۱۰ gr بافر فسفات در یک لیتر آب مقطر، به گلبول های سفید باقی مانده اضافه گردید و به شدت تکان داده شد و مجدداً برای ۱۰ دقیقه آن را سانتریفیوژ کرده، سپس محلول رویی را خالی نموده و به رسوب حاصله که یک پلیت ژله ای سفید رنگ بود، ۴/۵ cc Lyse II (حاوی ۴/۴۶ gr EDTA و ۲.۱ gr NaCl با PH=۸) به آن اضافه گردید، در مرحله بعد ۱۰۰۸ SDS (سدیم دی سولفات) و ۱۰٪ و ۱cc سدیم پرکلرات اضافه کرده و محلول به شدت تکان داده شد و سپس ۲cc NaCl اشباع شده اضافه

می شوند، که این مولکول ها واسطه تخریب استخوان آلوئول می باشند (۳). تحقیقات زیادی در خصوص پلی مورفیسم ژن های کدکننده مولکول های سیستم ایمنی مثل سایتوکاین ها با بیماریهای التهابی صورت گرفته است. رسپتورهای IL-4 هم بر روی سلول های هماتوپوئیتیک و هم بر روی سلول های غیرهماتوپوئیتیک مانند اپی تلیال، اندوتلیال، فیبروبلاست بیان می شوند. ژن IL-4R بر روی کروموزوم شماره 16P12 قرار داشته و نام دیگر این رسپتور CD124 می باشد (۴). IL-4R توانایی باند شدن به IL-4 و IL-13 را دارد که هر دوی این سایتوکاین ها در بیماریهای آلرژیک و التهابی درگیر می باشند (۵،۶) از آنجائیکه بیماری پریدونتیت هم یک بیماری مولتی فاکتوریال با ماهیت التهابی می باشد فرضیه تشابه ژنتیکی آن با بسیاری از بیماری های التهابی و اتوایمیون دیگر مانند آسم، آتوپی، لوپوس و آرتریت روماتوئید مطرح گردیده است (۷) و ممکن است موتاسیون در IL-4R در افزایش استعداد به پریدونتیت و یا پیشگیری از آن نیز نقش داشته باشد. بهمین منظور این مطالعه با هدف تعیین ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده IL-4 با پریدونتیت مزمین انجام گردید.

روش کار:

این مطالعه مقطعی بر روی بیماران مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی همدان با تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد، برای همه افراد پرسشنامه ای حاوی اطلاعات پزشکی و دندانپزشکی تکمیل گردید. بیماران مبتلا به دیابت، هپاتیت، بیماری های اتوایمیون نظیر Rheumatoid arthritis، Systemic lupus Erythematosus زنان حامله، شیرده، افراد با سابقه مصرف دخانیات و بالاخره بیمارانی که در سه ماه گذشته آنتی بیوتیک مصرف می کردند، از مطالعه حذف شدند. بررسی دندانپزشکی بیماران شامل تعداد دندانها، پروب عمق پاکت (PPD) سطح چسبندگی کلینیکی (CAL) ثبت کنترل پلاک با شاخص Oleary و ثبت نقاط خونریزی دهنده با شاخص Simplified بود. بر اساس میزان چسبندگی کلینیکی، بیماران به سه گروه پریدونتیت مزمین خفیف (mild) با از دست رفتن چسبندگی کلینیکی ۱-۲ mm، پریدونتیت مزمین متوسط (moderate) با میزان از دست رفتن چسبندگی کلینیکی ۳-۴mm و پریدونتیت مزمین شدید (sever) با از دست رفتن چسبندگی کلینیکی بیش از ۵ mm طبقه بندی شدند. از ۱۰۶ بیمار ۷-۸cc خون گرفته شد که به دلیل

خارج کرده همراه با Tray به تانک الکتروفورز حاوی Loading buffer، (شامل سوکروز و گلیسرول) و 50ml اتیدیوم بروماید منتقل گردید. سپس Ladder اضافه شد. جهت انجام الکتروفورز حفره های حاوی محصولات PCR در جهت قطب منفی دستگاه مولد جریان برق قرار می گرفت. به ازای هر cm، ۱۰ ولتاژ برق زده شد. بعد از وصل جریان، DNA به دلیل داشتن بار منفی، از قطب منفی به طرف قطب مثبت حرکت نمود. ولتاژ مورد استفاده ۱۵۰ ولت بود. برای بررسی و مشاهده نتایج، ژل به روی دستگاه UV Tran illuminator انتقال داده شد.

کلیه داده ها تحت برنامه SPSS ویرایش پانزدهم وارد کامپیوتر شد و تجزیه و تحلیل نتایج توسط آزمون های آماری-Independent Two samples Test, Pearson chi-square One way Anova, معنی داری در آزمون ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج:

در مطالعه حاضر از ۱۰۶ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن نمونه خون تهیه گردید، اما جهت همسان سازی گروه های مورد آزمایش تعداد این افراد به ۹۰ نفر کاهش یافت و در نهایت ۳۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن شدید، ۳۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن متوسط و ۳۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن ملایم مورد بررسی قرار گرفتند، ویژگی های دموگرافیک و شاخص های کلینیکی بیماران در جداول ۱ و ۲ مشاهده می گردد.

جدول ۱: ویژگی های دموگرافیک بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن برحسب شدت بیماری

جنس		سن (سال) Mean±SD	پریودنتیت مزمن شدید (n=۳۰)
مرد	زن		
تعداد(درصد)	تعداد(درصد)		
۱۰ (۳۳/۳)	۲۰ (۶۶/۷)	۳۷/۳۷±۶/۴۵	پریودنتیت مزمن متوسط (n=۳۰)
۹ (۲۹)	۲۱ (۷۱)	۳۶/۹۷±۴/۹	پریودنتیت مزمن خفیف (n=۳۰)
۱۰ (۳۳/۳)	۲۰ (۶۶/۷)	۳۵/۹±۸/۳	ارزش P
۰/۹۵		۰/۲۵	

گردید و مجدداً تکان داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، محلول رویی را داخل لوله آزمایش دیگر نموده و تا عدد ۱۲ الکل پروپانول خنک خالص به آن اضافه گردید و به آرامی سر و ته شد تا رشته DNA ظاهر شد. رشته DNA توسط سمپلر در داخل کاپ ریخته و با الکل اتانول ۷۰٪، ۲ بار شستشو داده شد و به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا اتانول آن تبخیر شود، بعد آب مقطر به آن اضافه نموده به مدت ۳ الی ۴ ساعت در دمای ۳۷ °C قرار داده شد. DNA برای یک هفته در یخچال نگهداری شده و سپس در فریزر در دمای -۸۰ درجه سانتیگراد تا زمان genotyping قرار گرفت.

برای هر نمونه DNA، یک کاپ جداگانه در نظر گرفته شد. در هر لوله حاوی DNA، ۱ μl از زوج پرایمر اصلی را با ۰/۲ μl dNTP، ۰/۹ μl Mgcl2، ۰/۱ μl آنزیم Taq polymerase، ۱ μl PCR buffer اضافه گردید. برای جلوگیری از تبخیر مواد در هنگام انجام PCR مقداری روغن معدنی (Mineral Oil) اضافه گردید. محتویات لوله ها توسط چرخش کوتاه مدت با میکروسانتریفیوژ مخلوط شده و سپس در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. PCR شامل ۳ مرحله بود:

Denaturation ← که دو رشته DNA از هم جدا می گردد ← ۲۰ sec، ۹۶ درجه سانتیگراد
 Annealing ← که پرایمر به قسمت هدف متصل می گردد ← ۳۰ sec، ۶۲ درجه سانتیگراد
 Extention ← که پلیمریزاسیون انجام می گردد ← ۴۰ sec، ۷۲ درجه سانتیگراد

این سیکل ۲۰ بار تکرار می گردید. مدت زمان کلی این مراحل بستگی به دستگاه ترموسایکلر داشت، که در اینجا ۱ ساعت و ۲۰ دقیقه به طول انجامید.

برای انجام الکتروفورز، ابتدا ۲ گرم پودر آگاروز با 100ml بافر TAE (1x) مخلوط گردید. با استفاده از heater آگارز حرارت داده شد تا کاملاً حل شده و شفاف گردد. پس از حل شدن آگارز و سرد شدن ژل، زمانیکه دمای آن حدود ۶۰ درجه رسید، ژل در داخل کاست مخصوصی که دارای شانه مخصوص (comb) ایجاد حفرات در ژل برای load نمودن محصول PCR است، ریخته شد. بعد از سرد شدن و قوام گرفتن ژل، شانه را از ژل

جدول ۲: شاخص های کلینیکی بیماران مبتلا به پریدونتیت

	مزمّن بر حسب شدت بیماری		
	ایندکس پلاک (PI)	ایندکس خونریزی (BI)	سطح چسبندگی کلینیکی (CAL)
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
(۱) پریدونتیت مزمن شدید	۸۰/۶۱±۱۷/۹۸	۵۹/۳۶±۱۷/۴۹	۵/۵۸±۱۲/۲۵
(۲) پریدونتیت مزمن متوسط	۶۶/۳۹±۱۷/۷۷	۴۶/۷۵±۱۹/۶۰	۳/۳۷±۰/۷۵
(۳) پریدونتیت مزمن خفیف	۴۷/۷۸±۱۸/۳۲	۲۴/۵±۱۳/۱۸	۱/۲۵±۰/۹
ارزش P	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
PI →	p(1,2)=0.000	p(1,3)=0.000	p(2,3)=0.008
BI →	p(1,2)=0.000	p(1,3)=0.000	p(2,3)=0.014
CAL →	p(1,2)=0.000	p(1,3)=0.000	p(2,3)=0.000

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می شود در بررسی های ژنتیکی در جایگاه ۳۷۵ از لحاظ اسید آمینه گلوتامین و آلانین در پریدونتیت مزمن شدید ۸۰٪ وجود گلوتامین و عدم وجود آلانین ۱۰٪ وجود گلوتامین و آلانین و ۱۰٪ وجود آلانین و عدم وجود گلوتامین دیده شد. همین مورد در ارتباط با پریدونتیت مزمن متوسط ۹۰٪ وجود گلوتامین و عدم وجود آلانین، ۶/۷٪ وجود گلوتامین و آلانین و ۳/۳٪ وجود آلانین و عدم وجود گلوتامین دیده شد و در افراد پریدونتیت مزمن خفیف ۹۰٪ وجود گلوتامین و عدم وجود آلانین، ۱۰٪ وجود گلوتامین و آلانین و در این گروه وجود آلانین و عدم وجود گلوتامین دیده نشد. همچنین تفاوت موجود در جایگاه ۴۱۱ از لحاظ وجود اسید آمینه لوسین و

سیرین در پریدونتیت مزمن شدید ۷۲/۴٪ وجود سیرین و عدم وجود لوسین و ۲۷/۶٪ وجود سیرین ، لوسین و در گروه پریدونتیت مزمن متوسط ۷۹/۳٪ وجود سیرین و عدم وجود لوسین و ۲۰/۷٪ وجود سیرین و لوسین و در گروه پریدونتیت مزمن خفیف ۹۰٪ وجود سیرین و عدم وجود لوسین و ۱۰٪ وجود سیرین و لوسین دیده شد. در هیچ کدام از گروه ها وجود لوسین و عدم وجود سیرین گزارش نشد و تفاوت موجود در گروه ها معنی دار نبود (P=۰/۲۲). در جایگاه ۴۷۸ از لحاظ وجود سیرین و پرولین در پریدونتیت مزمن شدید ۹۶/۶٪ وجود سیرین و عدم وجود پرولین و ۳/۴٪ وجود سیرین و پرولین، در گروه پریدونتیت مزمن متوسط ۹۰٪ وجود سیرین و عدم وجود پرولین و ۱۰٪ وجود سیرین و پرولین و در گروه پریدونتیت مزمن خفیف ۱۰۰٪ وجود سیرین و عدم پرولین دیده شد. در هیچ کدام از گروه ها وجود پرولین و عدم وجود سیرین گزارش نشد و تفاوت موجود در گروه ها معنی دار نبود (P=۰/۱۷).

در جایگاه ۴۰۶ از لحاظ وجود سیستئین و آرژنین در پریدونتیت مزمن شدید ۹۶/۷٪ وجود سیستئین و عدم وجود آرژنین و ۳/۳٪ وجود سیستئین و آرژنین، در گروه پریدونتیت مزمن متوسط ۹۳/۳٪ وجود سیستئین و عدم وجود آرژنین و ۶/۷٪ وجود سیستئین و آرژنین و در گروه پریدونتیت مزمن خفیف ۹۶/۷٪ وجود سیستئین و عدم وجود آرژنین و ۳/۳٪ وجود سیستئین و آرژنین. در هیچ یک از گروه ها وجود آرژنین و عدم وجود سیستئین گزارش نشد و تفاوت موجود در گروه ها معنی دار نبود (P=۰/۷۷).

جدول ۳: توزیع فراوانی وجود الهای مورد بررسی در بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن

ارزش P	پریدونتیت مزمن شدید			وجود و عدم وجود ال ها	
	تعداد (درصد)	پریدونتیت مزمن متوسط	پریدونتیت مزمن خفیف	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
۰/۴۱	۲۷ (۹۰)	۲۷ (۹۰)	۲۴ (۸۰)	-	+
	۳ (۱۰)	۲ (۶/۷)	۳ (۱۰)	+	+
	۰ (۰)	۱ (۳/۳)	۳ (۱۰)	+	-
۰/۲۲	۲۷ (۹۰)	۲۳ (۷۹/۳)	۲۱ (۷۲/۴)	-	+
	۳ (۱۰)	۶ (۲۰/۷)	۸ (۲۷/۶)	+	+
۰/۱۷	۲۹ (۱۰۰)	۲۷ (۹۰)	۲۸ (۹۶/۶)	-	+
	۰ (۰)	۳ (۱۰)	۲ (۳/۴)	+	+
۰/۷۷	۲۹ (۹۶/۷)	۲۸ (۹۳/۳)	۲۹ (۹۶/۷)	-	+
	۱ (۳/۳)	۲ (۶/۷)	۱ (۳/۳)	+	+

بحث:

مطالعات ژنتیکی بیانگر این مطلب می باشد که وجود پلی مورفیسم در ژن سایتوکاین ها یا گیرنده های آنها، با افزایش ریسک پیشرفت اختلالات مزمن التهابی مانند آرتریت مزمن جوانان، سیستمیک لوپوس اریتماتوز، آسم و پریدونتیت مرتبط است (۵،۸،۹).

از آنجائیکه بیماری پریدونتیت هم یک بیماری مولتی فاکتوریال با ماهیت التهابی می باشد فرضیه تشابه ژنتیکی آن با بسیاری از بیماری های التهابی و اتوایمیون دیگر مانند آسم، لوپوس و آرتریت روماتوئید مطرح گردیده است (۷). از این لحاظ ممکن است موتاسیون در IL-4R که در این اختلالات دیده شده، در افزایش استعداد به پریدونتیت نیز نقش داشته باشد. نتایج حاصل از مطالعات بر روی پلی مورفیسم ژنی IL-4 در بیماران پریدونتال نتایج ضد و نقیضی را بیان نموده اند. بطوریکه بعضی از مطالعات فقدان ارتباط پلی مورفیسم این ژن با بیماریهای پریدونتال و برخی دیگر وجود ارتباط بین آنها را بیان می نمایند (۱۲-۱۰، ۶).

دو مورد موتاسیون در ژن IL-4Rα در بیماران دارای اتوپی شناخته شده است، که یکی از آنها در دنباله داخل سلولی این رسپتور و دیگری در دنباله خارج سلولی آن می باشد. اولین مورد، جانیشینی گوانین به جای آدنین است که باعث جهش در آمینواسید ۵۷۶ و تبدیل گلوتامین به آرژنین می باشد (Glu576→Arg). دومین مورد، شامل جانیشینی ایزولوسین به جای والین در آمینو اسید ۱۵۰ می باشد (Val150→Ile) (۱۳).

مطالعه حاضر به بررسی موتاسیون محصول حاصل از پلی مورفیسم در ژن IL-4R، در جایگاه های ۳۷۵، ۴۱۱ و ۴۷۸ می پردازد. یافته ها در خصوص پلی مورفیسم IL-4R در جمعیت ایرانی تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در فراوانی افراد دارای این موتاسیون در بین سه گروه با شدت های مختلف پریدونتیت نشان ندادند. اگرچه درصد فراوانی بعضی از اسید های آمینه در بعضی از گروه ها بیشتر بود ولی از لحاظ آماری معنی دار نبود. مثلا در ارتباط با جایگاه ۳۷۵ (A/G→+/-) جابجایی آلانین با گوانین یعنی گروهی که در آنها موتاسیون رخ داده در گروه پریدونتیت شدید بیش از متوسط و در گروه متوسط بیش از ملایم می باشد ولی تعداد این نمونه ها در هر گروه در حدی نمی باشد که این تفاوت معنی دار محسوب

گردد و نظیر همین شرایط در گروه های دیگر هم دیده می شود، چه بسا با افزایش تعداد نمونه ها امکان معنی دار شدن تفاوت بین گروه ها وجود داشته باشد. نتایج حاصل از این مطالعه، با بسیاری از مطالعات مشابه یکسان می باشد، مانند مطالعه ای که بر روی جمعیت قفقازی سوئدی در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت، در این مطالعه توزیع فراوانی ژنوتیپ ها در IL-4Rα در دو گروه مورد آزمایش و کنترل تفاوت معنی داری نداشتند (۱۴). در صورتی که مطالعه کالینز و همکارانش، افزایش IL-4R بر روی لنفوسیت های CD3 در بیماران مبتلا به پریدونتیت مهاجم را نشان داد، ولی این تفاوت نیز بین دو گروه بیمار و سالم از لحاظ آماری معنی دار نبود (۱۵). همچنین نتایج حاصل از بررسی پلی مورفیسم ژن IL-4 با پریدونتیت نیز نتایج مشابهی را نشان دادند. به عنوان مثال در مطالعه ای که در جمعیت ژاپنی و قفقازی در سال ۲۰۰۴ انجام شد، فراوانی ژنوتیپ در جمعیت ژاپنی و قفقازی ($P=0/09$ و $P=0/3$) و آلل ها در جمعیت ژاپنی ($P=0/2$) در گروه های بیمار در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت قابل توجهی را نشان نداد (۱۶) همچنین در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۴ در جمعیت برزیلی صورت گرفته بود، از نظر آماری اختلاف معنی داری در میان گروه های مورد مطالعه از نظر فراوانی ژنوتیپ ها ($P=0/21$) و آلل ها ($P=0/98$) آشکار نشد (۱۷) ولی در مطالعه گونزالس در سال ۲۰۰۷، وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در موقعیت های ۵۹۰- و ۳۴- بین گروه مبتلا به پریدونتیت مهاجم و سالم از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان دادند (۶).

در مطالعه حاضر میزان شاخص های کلینیکی مانند ایندکس پلاک و ایندکس خونریزی و سطح چسبندگی کلینیکی در سه گروه مختلف پریدونتیت بر حسب شدت بیماری نیز باهم مقایسه شدند، که این تفاوت ها معنی دار بودند، به این معنی که PI، BI و CAL در گروه شدید بیشتر از متوسط، در گروه متوسط بیشتر از ملایم و در گروه شدید نیز بیشتر از ملایم بود. از آنجایی که بیماری پریدونتیت مزمن بر خلاف پریدونتیت مهاجم با پلاک ایندکس بیمار رابطه مستقیم داشته و کاملا ناشی از پلاک می باشد. افزایش شدت بیماری با افزایش پلاک بیشتر مشاهده می گردد. افزایش پلاک میکروبی به دنبال خود افزایش خونریزی حین پروبینگ و افزایش از دست

در پایان از نظر نحوه کاربردی نمودن تحقیقات ژنتیکی و بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن های مختلف با استعداد ابتلا به بیماری های پریودنتال می توان اظهار داشت که در صورت کامل شدن فهم ارتباط این متغیرها با بیماری های پریودنتال می توان با فراهم کردن یک تست Diagnostic ژنتیکی به اهداف زیر دست یافت:

اول اینکه تشخیص زودرس بیماری که به علت فاکتور ژنتیکی در خطر ابتلا به بیماری می باشند، می تواند منجر به درمان های پیشگیری در این افراد گردد. دوم شناسایی ریسک فاکتورهای ژنتیکی دخیل، که علاوه بر عوامل شناخته شده معمول وجود دارد، می توان از توصیه های درمانی اثرگذار نظیر استفاده از تعداد جلسات Maintenance بیشتر استفاده نمود. در نهایت شناسایی افراد جوانی که بیماری پریودنتیت ندارند ولی به علت فاکتورهای ژنتیکی در خطر ابتلا به پریودنتیت شدید در آینده قرار خواهند گرفت، می توانند سریعتر تحت ملاحظات درمانی قرار گرفته و از سیر پیشرونده بیماری مصون بمانند.

نتیجه نهایی:

بر اساس این مطالعه ارتباطی بین پلی مورفیسم ژن IL-4R با شدت پریودنتیت مزمن مشاهده نگردید.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از حمایت مادی و معنوی معاونت محترم تحقیقات و فن آوری و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان و زحمات بی دریغ پرسنل محترم بخش پریودنتولوژی دانشکده دندانپزشکی همدان صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

منابع:

1. Page RC. Milestones in periodontal research and the remaining critical issues. J Periodontol Res 1999; 34(7): 331-339.
2. Newaman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical periodontal. 9th ed. New York: W.B. Saunders, 2002.
3. Page RC, Offenbahr S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis, Summary of developments, clinical implication and future direction. J Periodontol 2000; 14:216-248.
4. Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor; signaling mechanisms and biologic functions. Ann Rev Immunol 1999; 17:701-738.
5. Blakemore AL, Tarlow JK, Cork MJ, Gordon C,

رفتن چسبندگی کلینیکی را نیز همراه داشت. از اینرو جهت مقایسه شدت این بیماری با پلیمرفیسم ژنی مطابق با روش کار مطالعات مشابه ناگزیر از انتخاب بیماران با شدت های مختلف بیماری می باشیم که دارای پلاک ایندکس متناسب با بیماری می باشند. بیماران در هر سنی حساسیت و استعداد یکسانی نسبت به پریودنتیت مزمن ناشی از پلاک دارند و همچنین پریودنتیت مزمن یک بیماری مرتبط با سن است (age-associated) و وابسته به سن (age-related) نمی باشد، به عبارت دیگر سن فرد عامل افزایش شیوع و شدت بیماری نیست، ژنوتیپ فرد هم با افزایش سن تغییر نمی کند. پس سن عامل مخدوش کننده در این رابطه محسوب نمی گردد.

لازم به ذکر است که روش انجام مطالعه حاضر نسبت به بسیاری از مطالعات مشابه متفاوت می باشد. این تفاوت هم از لحاظ حجم نمونه ها، هم از لحاظ گروه های مورد مقایسه، هم از لحاظ جایگاه ژنی مورد بررسی و هم نوع بررسی انجام شده می باشد. بسیاری از مطالعات از دو گروه سالم و بیمار مبتلا به پریودنتیت مهاجم یا مزمن استفاده کرده اند در صورتی که در این مطالعه از سه گروه بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن ملایم، متوسط و شدید استفاده شده است تا ارتباط موتاسیون ژنی با شدت بیماری بدست آید. جایگاه مورد بررسی در این مطالعه جایگاه آمینو اسید ۳۷۵، ۴۱۱، ۴۷۸ و ۴۰۶ می باشد در صورتی که در مطالعات دیگر جایگاه ژنی در نواحی پروموتور یا کد کننده مانند 590- در ژن IL-4 و یا 551 در ژن IL-4Rα را مورد بررسی قرار داده اند. همچنین جمعیت مورد بررسی ما افراد ایرانی می باشند که تفاوت های نژادی مانند آنچه در مورد نژاد قفقازی، ژاپنی و آفریقایی- امریکایی گفته شد، در استعداد ابتلا به پریودنتیت متفاوت بوده است. توزیع فراوانی آلل ها نیز در بین این نژادها متفاوت می باشد، همین تفاوت بین فراوانی الل ها توجیه کننده لزوم انجام تست های مشابه در جمعیت های مختلف می باشد. از نظر محققین چندین ژن مختلف مانند TNFα، IL-1، IL-6، IL-10، IFN-δ و IL-4 در ریسک ابتلا به پریودنتیت نقش دارند (۲۲-۱۸، ۹). همین امر لزوم انجام تست های ژنتیکی مختلف را برای مشخص نمودن ارتباط شدت بیماری های پریودنتال با ژنوتیپ سایتوکاین های مختلف، توجیه می کند.

- Emery P, Duff GW. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in systemic lupus erythmatosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37(9):1380-1385.
6. Gonzales JR, Mann M, Stelzig J, Bödeker RH, Meyle J. Single-nucleotide polymorphisms in the IL-4 and IL-13 promoter region in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007; 34(6):473-479.
 7. Kinane DF, Hodge P, Eskdale J, Ellis R, Gallagher G. Analysis of genetic polymorphisms at interleukin-10 and tumour necrosis factor loci in early-onset periodontitis. *J Periodontol Res* 1999;34(7):379-386.
 8. McDowell TL, Symons JA, Plotski R, Forrer O, Duff GW. A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1alpha polymorphism. *Arthritis Rheum* 1995; 38(2):221-228.
 9. Rosenwasser LJ. Promoter polymorphisms in the candidate genes, IL-4, IL-9, TGF-1 for atopy and asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118:268-270.
 10. Hooshmand B, Hajilooi M, Rafiei A, Manikashani KH, Ghasemi R. Interleukin-4 (C-590T) and interferon- δ (G5644A) gene polymorphism in patients with periodontitis. *J Periodontol Res* 2008; 43(1):111-115.
 11. Yamamoto M, Kawabata K, Fujihashi K, McGhee JR, Van Dyke TE, Bamberg TV, et al. Absence of exogenous interleukin-4 induced apoptosis of gingival macrophages may contribute to chronic inflammation in periodontal diseases. *Am J Pathol* 1996; 148(1): 331-339.
 12. Kara N, Keles GC, Sumer P, Gunes SO, Baqi H, Koprulo H, et al. Association of polymorphism in promoter and intron region of the interleukin-4 gene with chronic periodontitis in a Turkish population. *Acta Odontol Scand* 2007; 65(5):292-297.
 13. Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl J Med* 1997;11; 337(24):1720-1725.
 14. Donati M, Berglundh T, Hytonen AM, Hahn-Zoric M, Hanson L, Padyukov L. Association of the -159 CD14 gene polymorphisms and lack of association of the -308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol* 2005; 3(5):474-479.
 15. Collins DP, Luebering BJ, Shaut DM. T-lymphocyte functionality assessed by analysis of cytokine receptor expression, intracellular cytokine expression and femtomolar detection of cytokine secretion by quantitative flow cytometry. *Cytometry* 1998; 33(2):249-255.
 16. Gonzales JR, Kobayash T, Michel J, Mann M, Yoshie H, Meyle J. Interleukin-4 gene polymorphisms in Japanese and Caucasian patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31(5): 384-389.
 17. Pontes CC, Gonzales JR, Novaes AB, Taba Junior M, Grisi MF, Michel J, et al. Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage. *J Dent* 2004; 32(3): 241-246.
 18. Gemmell E, Seymour GJ. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal disease. *J Dent Res* 1998; 77(1): 16-26.
 19. Seymour GJ, Gemmell E, Kjeldsen M, Yamazaki K, Nakajima T, Hara K. Cellular immunity and hypersensitivity as components of periodontal destruction. *Oral Dis* 1996; 2(1): 96-101.
 20. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J Periodontol Res* 1993; 28: 478-486.
 21. Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K. IL-4 and IL-6 producing cells in human Periodontal disease tissue. *J Oral Pathol Med* 1994; 23(8): 347-353.
 22. Honig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erad F. Increased interleukin-1beta concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontol Res* 2000; 24(6): 362-367.