

تحقیقی

فراوانی پلی مورفیسم الل 607A/C- از ژن ایتروکین 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، 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 $IL-12$ ، $IFN-\gamma$ 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 ایتروکین 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 ۷۸ فرد 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 نزدیک‌به هم 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، ایتروکین 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 ۵۴۲۸۵۹۵-۰۴۱۱ و وصول مقاله: ۸۸/۱۲/۱۱، اصلاح نهایی: ۸۹/۶/۲، پذیرش مقاله: ۸۹/۷/۳

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 (۱۳ و ۱۴). 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 نیتريت اکسید می‌شود. نیتريت 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 (۱۳-۱۶).

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 سیتوکاین 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 آرتريت 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 پلی‌مورفیسم 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

بیماری لیشمانیوز احشایی توسط انگل تک‌یاخته خونی نسجی از خانواده لیشمانیا و در ایران توسط گونه اینفانتوم ایجاد می‌شود. این انگل سیستم رتیکولاندوتلیال 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 CD4⁺ Th1 می‌باشد و در افراد بیمار پاسخ ایمنی غالب را ایمنی همورال تشکیل می‌دهد. در پاسخ ایمنی سلولار، از جمله کموکاین‌های 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 (۳ و ۴).

IL-18 از خانواده IL-1 بوده و در ابتدا با عنوان عامل تحریک کننده INF- γ شناخته می‌شد و به عنوان یک سیتوکین پیش‌تهابی 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).

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 سیتوتوکسیسیته سلول‌های کشنده طبیعی (NK) و بیان لیگاند Fas می‌شود (۹-۵). IL-18 در حضور IL-12، موجب افزایش آزاد شدن INF- γ از لنفوسیت‌های T و یا NK cell ها و اسپلنوسیت‌ها می‌گردد و موجب تمایز سلول‌های T به سمت Th1 می‌گردد (۹-۱۱). IL-18 به عنوان یک کوفاکتور قوی برای تولید INF- γ از سلول‌های لنفوسیتی T محسوب می‌شود (۱۲ و ۱۰) که خود از عوامل مقاومت ایمنی در برابر بیماری کالاآزار می‌باشد (۳ و ۴). تزریق IL-18 با IL-12 در موش‌های حساس به انگل لیشمانیا ماژور موجب درمان کامل این موش‌ها

GTTGCAGAAAGTGTA AAAAATTATTAA-3'
(Forward 607/A) -5'

و پرایمر فرورارد کنترل داخلی با توالی:

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

به ترتیب با غلظت‌های 0.3 Pmol، 0.8 Pmol، 0.8 Pmol،

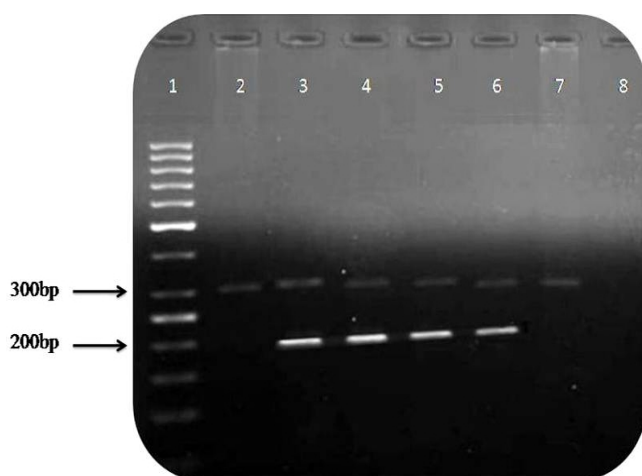
Taq polymerase 1U، MgCl₂ 0.6mM

Template DNA 0.3µg و 10X PCR buffer 10µl

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 پلی مورفیسم 607A/C-IL18 در افراد هموزیگوت یکی از ال‌های 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 ال، محصول PCR در هر دو ستون مشاهده می‌شود [۱]. ladder [۲] و [۳] افراد هموزیگوت CC [۴] و [۵] افراد هتروزیگوت AC [۶] و [۷] افراد هموزیگوت AA و کنترل منفی [۸]. طول باندهای کنترل ۳۰۱ bp و محصولات اصلی ۱۹۶ bp می‌باشند.

سیکل زمانی به کار رفته نیز به شرح زیر بود:

یک سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه که به

دنبال آن ۷ سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد، ۶۴ درجه سانتی گراد

و ۷۲ درجه سانتی گراد به ترتیب با زمان‌های ۲۰، ۳۰ و ۸۰ ثانیه

و سپس ۲۵ سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد، ۵۷ درجه سانتی گراد

و ۷۲ درجه سانتی گراد به ترتیب با زمان‌های ۲۰، ۴۰ و ۵۰ ثانیه

و سپس یک سیکل ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه با

استفاده از دستگاه ترمال سایکلر Astec مدل PC818 ساخت

کشور ژاپن اعمال گردید. اندازه محصول آملیفیکه شده

۱۹۶ bp و اندازه کنترل داخلی تکثیر شده نیز که منطقه

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، کلیسر و اسکو) و پس از اخذ رضایت‌نامه از افراد و یا والدین آنها، ۱-۲ 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 ایمونوفلورسنت (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 شناسایی 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'-TAACCTCATTCCAGGACTTCC-3' (common
reverse 607)

و دو پرایمر فرورارد اختصاصی ال:

GTTGCAGAAAGTGTA AAAAATTATTAC-3'
(Forward 607/C)-5'

و یا:

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 ۲۷/۵ درصد و ۲۹/۵ درصد کمترین ژنوتیپ مشاهده شده در داخل این دو گروه بود. همچنین ژنوتیپ -607A/C در گروه سرم منفی با ۳۷/۱ درصد بیشترین ژنوتیپ در داخل این گروه می‌باشد. در حالی که در گروه سرم مثبت با ۲۸/۲ درصد کمترین ژنوتیپ را شامل می‌شود.

بحث

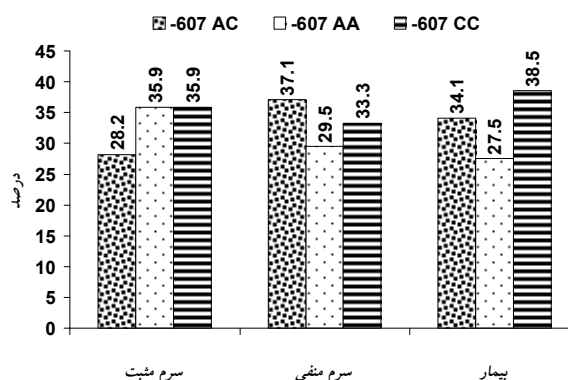
بر اساس نتایج به دست آمده؛ فراوانی ژنوتیپ‌ها در جایگاه مورد مطالعه نزدیک به یکدیگر بود و تفاوت معنی‌داری دیده نشد. ولی با این حال ژنوتیپ -607C/C در افراد سالم و سرم مثبت که قبلاً با این بیماری برخورد داشته‌اند و به شکل بالینی بیمار نشده‌اند؛ بیشتر دیده شد. از این توزیع ژنوتیپ می‌توان چنین استنباط نمود که با توجه به این که در شکل -607C/C بیان ژن بیشتر از شکل -607A/A می‌باشد و در نتیجه انتظار غلظت بالایی از IL-18 را در سرم این افراد داریم؛ لذا در حین عفونت با لیشرمانیا، 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 لیشرمانیا و مقاومت در برابر این بیماری و عدم بروز علائم بالینی لیشرمانیوز احشایی در چنین افرادی گشته است؛ ولی با توجه به این که این مطالعه روی تعداد محدودی نمونه انجام گرفته است. لذا برای به دست 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 به صورت بررسی‌های همگام و به طور 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 اینترلوکین ۱۸ را در بیماران مبتلا به سرطان گوارشی بررسی نمودند (۱۸). در این مطالعه گروه بیماران از

پلی‌مورفیک مورد مطالعه را در برداشت؛ ۳۰۱ bp بود. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد (Sigma, agarose for Molecular biology) محتوی ۱ μg/ml اتیدیوم پروماید (Sigma Co.) الکتروفورز گردید و حضور و یا عدم حضور باندهای مربوط به ال‌ها 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 به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون کای اسکوئر تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده فراوانی ال‌ وحشی -607/C در هر سه گروه مورد مطالعه بیشتر از فراوانی ال 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 ۳۸/۵ درصد، 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

بیشترین فراوانی و ژنوتیپ 607C/C - کمترین فراوانی را داشت.

Lee و همکاران در سال ۲۰۰۵ پلی مورفیسم 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 به دست 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 می باشد. 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.

نتیجه گیری

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) می باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی آقای احسان احمدپور و طرح مصوب (شماره ۸۷/۰۲۰) مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز بود. این تحقیق با استفاده از امکانات و حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گردید. بدین وسیله از حمایت های مسئولین آن مرکز که در فراهم نمودن امکانات این تحقیق مساعدت های 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,

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 ال C جایگاه ۶۰۷- بیشتر از فراوانی ال A بود و نتایج به دست آمده تقریباً با فراوانی این ال در مطالعه ما هم خوانی دارد. در این مطالعه بیشترین ژنوتیپ جایگاه ۶۰۷- در هر دو گروه مربوط به ژنوتیپ 607A/C - می باشد و کمترین فراوانی در تمامی گروه های مورد مطالعه مربوط به فراوانی 607A/A - بود. این در حالی است که ژنوتیپ 607A/A - در مطالعه ما در گروه بیمار کمتر از دو ژنوتیپ دیگر بود.

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت؛ پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۸ روی دو گروه بیماران دارای سقط جنین خودبه خودی و زنان با زایمان طبیعی (گروه شاهد) بررسی شد (۱۹) و فراوانی ال C در جایگاه ۶۰۷- برای بیماران ۵۶/۸ درصد و در گروه شاهد ۵۷/۳ درصد و نیز فراوانی ال A در گروه بیماران ۴۳/۲ درصد و در گروه شاهد ۴۲/۷ درصد به دست آمد که تقریباً با فراوانی این ال در مطالعه حق شناس و همکاران (۱۸) و نیز مطالعه ما هم خوانی دارد.

در مطالعه Harishankar و همکاران در سال ۲۰۰۷ پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۸ در بیماری توبرکلوزیس مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). در آن مطالعه از ۱۶۵ بیمار و ۱۷۳ فرد سالم به عنوان گروه شاهد استفاده 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 هم خوانی داشت.

بررسی پلی مورفیسم 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 -

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-Gavvani AS (PhD)²
Bazmani A (MSc)^{*3}, Kazemi AH (PhD)⁴, Babaloo Z (PhD)⁵**¹PhD Student, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.²Associate Professor, Department of Parasitology and Mycology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.³MSc of Parasitology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.⁴Associate Professor, Department of Parasitology and Mycology, Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.⁵Assistant 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 chemokines 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 Behcet'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 patients 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