مقاله پژوهشی

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

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

دریافت : ۸۹/۱۲/۵ ، پذیرش : ۹۰/۴/۱۲

چکیده:

مقدمه و هدف: پریودنتیت 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 پریودنتال مطرح می باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده IL-4 با پریودنتیت مزمن می باشد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی ۹۰ بیمار غیر سیگاری (۶۱ زن و ۲۹ مرد) با سطوح مختلف پریودنتیت 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)٤١١ ، اسید آمینه (سرین / پرولین) ٤٧٨و اسید آمینه(سیستئین /آرژنین) ٤٠٦ توسط روش PCR-RFLP تعیین و ارتباط آن با شدت بیماری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: پلی مرفیسم ژنIL-4R در جایگاه اسیدامینه های ۳۷۵، ٤١١، ٤٧٨و٤٠٦ تفاوت آماری معنی داری را در انواع ملایم متوسط و شدید پریودنتیت مزمن نشان نداد.

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

کلید واژه ها: التهاب بافت اطراف دندان / اینترلوکین ـ ٤ / پلی مورفیسم / سایتوکاین ها

مقدمه :

بیماری های پریودنتال، گروهی از بیماریهای التهابی می باشند که از تداخل باکتری های پریودنتو 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، فایبرهای چسبنده پریودنتال و استخوان آلوئول مشخص میشود و با تشکیل پاکت و تحلیل لثه و یا هر دو همراه می باشد(۱). میکروارگانیسم 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 سیستم ایمنی میزبان شبکه پیچیده ای از تداخل عمل سلولها و مولکولهای تنظیم کننده است. پس از برخورد با اندوتوکسین باکتری ها، ترشح وآزاد سازی سایتوکاین ها و پروستاگلاندین ها از منوسیت ها، ماکروفاژها و PMN ها به وقوع می پیوندد(۲).پاسخ های التهابی اختصاصی بوده و لیگاندهای خاصی را درگیر می سازند. ماکروفاژها و فیبروبلاست 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

* استادیار گروه پریودنتیکس 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 پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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.

رسپتورهایIL-4 هم بر روی سلول های هماتوپویتیک و هم بر روی سلول های غیرهماتوپویتیک مانند اپی تلیال، اندوتلیال، فیبروبلاست بیان می شوند. ژن IL-4R بر روی کروموزوم شماره 16P12قرار 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 پریودنتیت 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 درIL-4R در افزایش استعداد به پریودنتیت و یا پیشگیری از آن نیز نقش داشته باشد. بهمین منظور این مطالعه با هدف تعیین ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده IL-4 با پریودنتیت مزمن 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 پریودنتیت مزمن خفیف(mild) با از دست رفتن چسبندگی کلینیکیmm ۲-۱، پریودنتیت مزمن متوسط (moderate) بامیزان از دست رفتن چسبندگی کلینیکی ۴mm-۳ و پریودنتیت مزمن شدید(sever) با از دست رفتن چسبندگی کلینیکی بیش ازmm ۵ طبقه بندی شدند.

از ۱۰۶ بیمار ۸cc-۷ خون گرفته شد که به دلیل همسان کردن این ۳ گروه ، در هر گروه۳۰ 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 پلیمراز (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 illuaminator 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'CCCTGCACTTGGGAACTCAT3'
IL-4C406CYS……5'CAGGACATGGGGGAGTCAT3'
IL-4C406ARG……5'AGGACATGGGGGAGTCAC3'
IL-4C406COM….5'AGTCAGGTTGTCTGGACTCTG3'
IL-4S411SER……5'TGAGCACTCGTACTTCCCG3'
IL-4S411LUE……..5'TGAGCACTCGTACTTCCCA3'
IL-4S411COM….5'CGATGTGTGGAGTTGTTTGAG3'
IL-4S478SER…….5'TTACCGCAGCTTCAGCAACT3'
IL-4S478PRO…….5'TACCGCAGCTTCAGCAACC3'
IL-4S478COM……5'CCAGGTTTCTGGCTCAGGTT3'

جهت استخراج DNA از خون منعقد نشده در لوله های فالکون حاوی EDTA ۵۰ mmol استفاده شد. لوله ها فریزگردید و سپس در دمای°C ۳۷ 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 MgCl2 ، ۱۰cc x ۱۰۰ triton 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 سانتریوفوژ با دور ۱۲۰۰۰ و در دمای آزمایشگاه قرارگرفت. بعد محلول رویی (حاوی گلبولهای قرمز لیز شده)خارج گردید، یک پلیت قرمزرنگ باقی ماند که حاوی WBC و کمی RBC بود. سپس تا عدد ۲۵cc لوله ، PBS حاوی ۱۰ gr بافرفسفات 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 سفیدرنگ 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 ۱۰۰λ SDS (سدیم دی‌سولفات ۱۰٪) و ۱cc سدیم پرکلرات اضافه کرده و محلول به شدت تکان داده شد و سپس ۲cc Nacl اشباع شده اضافه

گردیـد و مجـدداً تکـان داده شـد و بـه مـدت ۱۰دقیقـه سانتریوفوژشد ، محلول رویی را داخل لوله آزمـایش دیگـر نموده و تا عدد ۱۲ الکـل پروپـانول خنـک خـالص بـه آن اضافه گردید و به آرامـی سـر و تـه شـد تـا رشـته DNA ظاهرشد. رشته DNA توسط سمپلر در داخل کاپ ریختـه و با الکل اتانول ۷۰٪، ۲ بار شستشو داده شد و به مـدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا اتانول آن تبخیر شود، بعد آب مقطر به آن اضافه نموده به مـدت ۳ الی ۴ ساعت در دمای°C ۳۷ قرار داده شد. DNA برای یـــک هفتـــه در یخچـــال نگهـــداری شـــده و ســـپس در فریـــزر در دمـــای ۸۰- درجـــه ســـانتیگراد تـــا زمـــان genotyping قرار گرفت.

برای هر نمونه DNA ، یک کاپ جداگانه در نظر گرفته شد. در هر لوله حاوی DNA ، ۱ µ l از زوج پرایمر اصلی را با ۰/۲ µ l dNTP ، ۰/۹µ l Mgcl2 ، ۰/۱µ l آنزیم Taq polymerase، ۱µ l PCR buffer اضـافه گردیـد. بـرای جلوگیری از تبخیر مـواد در هنگـام انجـام PCR مقـداری روغن معدنی(Mineral Oil) اضافه گردید. محتویـات لولـه ها توسط چرخش کوتاه مدت با میکروسانتریفیوژ مخلـوط شده و سپس در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شـد. PCR شامل ۳ مرحله بود:

Denaturation ← کـــه دو رشـــته DNA از هـــم جـــدا می گردد ← ۲۰ sec ، ۹۶ درجه سانتیگراد

Annealing ← کـه پرایمـر بـه قـسمت هـدف متـصل می گردد ← ۳۰ sec، ۶۲ درجه سانتیگراد

Extention ← که پلیمریزاسـیون انجـام مـی گـردد ← ۴۰ sec ، ۷۲ درجه سانتیگراد

ایـن سـیکل ۲۰ بـار تکـرار مـی گردیـد. مـدت زمـان کلی این مراحل بستگی بـه دسـتگاه ترموسـایکلر داشـت، کـــه در اینجـــا ۱ ســـاعت و ۲۰ دقیقـــه بـــه طـــول انجامید.

برای انجام الکتروفـورز، ابتـدا ۲ گـرم پـودر آگـاروز بـا 100ml بـافر TAE (1x) مخلـوط گردیـد. بـا اسـتفاده از heater آگارز حرارت داده شد تا کاملاً حل شـده و شـفاف گردد. پس از حل شدن آگارز و سـرد شـدن ژل ، زمانیکـه دمای آن حـدود ۶۰ درجـه رسـید ، ژل در داخـل کاسـت مخصوصی که دارای شانه مخصوص(comb) ایجاد حفـرات در ژل بـرای load نمـودن محـصول PCR اسـت، ریختـه شـــد. بعد از سرد شدن و قوام گرفتن ژل ، شانه را از ژل خـارج کـرده همـراه بـا Tray بـه تانـک الکتروفـورز حـاوی Loading buffer ،(شـامل سـوکروز و گلیـسرول) و 50ml اتیـدیوم بروماید منتقـل گردیـد. سـپس Ladder اضافه شـد. جهـت انجـام الکتروفـورز حفـره هـای حـاوی محصولات PCR در جهت قطب منفی دستگاه مولد جریان برق قرار می گرفت. به ازای هـر cm ، ۱۰ ولتـاژ بـرق زده شد. بعد از وصل جریان، DNA به دلیل داشتن بار منفی، از قطب منفی به طرف قطب مثبـت حرکـت نمـود. ولتـاژ مورد استفاده ۱۵۰ ولت بود. برای بررسی و مشاهده نتایج ، ژل بـه روی دسـتگاه UV Tran illuminator انتقـال داده شد.

کلیه داده ها تحت برنامه SPSS ویرایش پـانزدهم وارد کامپیوتر شد و تجزیه و تحلیل نتایج توسـط آزمـون هـای آماری-Independent Two samples Test , Pearson chi square One way Anova, انجـام گردیـد و سـطح معنی داری در آزمون۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج:

در مطالعه حاضر از ۱۰۶ بیمار مبـتلا بـه پریودنتیـت مزمن نمونه خون تهیه گردید ، اما جهت همـسان سـازی گروه های مورد آزمایش تعداد این افراد به ۹۰ نفر کـاهش یافـت و در نهایـت ۳۰ بیمـار مبـتلا بـه پریودنتیـت مزمن شدید ، ۳۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن متوسط و ۳۰ بیمـار مبـتلا بـه پریودنتیـت مـزمن ملایـم مورد بررسـی قـرار گرفتنـد، ویژگـی هـای دموگرافیـک و شاخص های کلینیکی بیمـاران در جـداول ۱ و۲ مـشاهده می گردد.

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

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

جدول ۲: شاخص های کلینیکی بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن برحسب شدت بیماری

	ایندکس پلاک(PI) Mean±SD	ایندکس خونریزی(BI) Mean±SD	سطح چسبندگی کلینیکی(CAL) Mean±SD
(۱) پریودنتیت مزمن شدید	۸۰/۶۱±۱۷/۹۸	۵۹/۳۶±۱۷/۴۹	۵/۵۸±۱/۲۵
(۲) پریودنتیت مزمن متوسط	۶۶/۳۹±۱۷/۷۷	۴۶/۷۵±۱۹/۶۰	۳/۳۷±۰/۷۵
(۳) پریودنتیت 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 ازلحاظ اسید آمینه گلوتامین و آلانین در پریودنتیت 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 پریودنتیت 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 پریودنتیت 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 گروه ها معنی دار نبود(P=۰/۴۱).

در جایگاه ۴۱۱ از لحاظ وجود اسیدامینه لوسین و سرین در پریودنتیت مزمن شدید ۷۲/۴٪ وجود سرین و عدم وجود لوسین و ۲۷/۶٪ وجود سرین ، لوسین و در گروه پریودنتیت مزمن متوسط ۷۹/۳٪ وجود سرین و عدم وجود لوسین و ۲۰/۷٪ وجود سرین و لوسین و در گروه پریودنتیت مزمن خفیف ۹۰٪ وجود سرین و عدم وجود لوسین و ۱۰٪ وجود سرین و لوسین دیده شد. در هیچ کدام از گروه ها وجود لوسین و عدم وجود سرین گزارش نشد و تفاوت موجود در گروه ها معنی دار نبود (P=۰/۲۲).

در جایگاه۴۷۸ از لحاظ وجود سرین و پرولین در پریودنتیت مزمن شدید ۹۶/۶٪ وجود سرین و عدم وجود پرولین و ۳/۴٪ وجود سرین و پرولین ،در گروه پریودنتیت مزمن متوسط ۹۰٪ وجود سرین و عدم وجود پرولین و ۱۰٪ وجود سرین و پرولین و در گروه پریودنتیت مزمن خفیف ۱۰۰٪ وجود سرین و عدم پرولین دیده شد. در هیچ کدام از گروه ها وجود پرولین و عدم وجود سرین گزارش نشد و تفاوت موجود در گروه ها معنی دار نبود (P=۰/۱۷).

در جایگاه ۴۰۶ از لحاظ وجود سیستئین و آرژنین در پریودنتیت مزمن شدید ۹۶/۷٪ وجود سیستئین و عدم وجود آرژنین و ۳/۳٪ وجود سیستئین و آرژنین، در گروه پریودنتیت مزمن متوسط۹۳/۳٪ وجود سیستئین و عدم وجود آرژنین و ۶/۷٪ وجود سیستئین و آرژنین و در گروه پریودنتیت مزمن خفیف۹۶/۷٪ 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).

جدول۳: توزیع فراوانی وجود اللهای مورد بررسی در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن

	وجود و عدم وجود الل ها	پریودنتیت مزمن شدید تعداد (درصد)	پریودنتیت مزمن متوسط تعداد (درصد)	پریودنتیت مزمن خفیف تعداد (درصد)	ارزش P
ALN/GLU A/G	+ −	۲۴ (۸۰)	۲۷ (۹۰)	۲۷ (۹۰)	۰/۴۱
	+ +	۳ (۱۰)	۲ (۶/۷)	۳ (۱۰)	
	− +	۳ (۱۰)	۱ (۳/۳)	۰ (۰)	
LEU / SER L/S	+ −	۲۱ (۷۲/۴)	۲۳ (۷۹/۳)	۲۷ (۹۰)	۰/۲۲
	+ +	۸ (۲۷/۶)	۶ (۲۰/۷)	۳ (۱۰)	
Pro/ SER P/S	+ −	۲۸ (۹۶/۶)	۲۷ (۹۰)	۲۹ (۱۰۰)	۰/۱۷
	+ +	۲ (۳/۴)	۳ (۱۰)	۰(۰)	
ARG/ CYS A/C	+ −	۲۹ (۹۶/۷)	۲۸ (۹۳/۳)	۲۹ (۹۶/۷)	۰/۷۷
	+ +	۱ (۳/۳)	۲ (۶/۷)	۱ (۳/۳)	

بحث:

مطالعات ژنتیکی بیانگر این مطلب می باشند 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 پریودنتیت مرتبط است(۵،۸،۹).

از آنجائیکه بیماری پریودنتیت 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 درIL-4R که در این اختلالات دیده شده ، در افزایش استعداد به پریودنتیت نیز نقش داشته باشد. نتایج حاصل از مطالعات بر روی پلی مورفیسم ژنی IL-4 در بیماران پریودنتال نتایج ضد و نقیضی را بیان نموده اند. بطوریکه بعضی از مطالعات فقدان ارتباط پلی مورفیسم این ژن با بیماریهای پریودنتال و برخی دیگر وجود ارتباط بین آنها را بیان می نمایند(۱۲-۱۰ ،۶).

دو مورد موتاسیون در ژن IL-4Rα در بیماران دارای آتوپی شناخته شده است ، که یکی از آنها در دنباله داخل سلولی این رسپتور و دیگری در دنباله خارج سلولی آن می باشد. اولین مورد ، جانشینی گوانین به جای آدنین است که باعث جهش در آمینواسید ۵۷۶ و تبدیل گلوتامین به آرژنین می باشد(Glu576→Arg) . دومین مورد ، شامل جانشینی 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 ،۴۷۸و۴۰۶ 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 پریودنتیت نشان ندادند. اگرچه درصد فراوانی بعضی از اسید های آمینه در بعضی از گروه ها بیشتر بود ولی از لحاظ آماری معنی دارنبود.مثلا در ارتباط با جایگاه ۳۷۵(A/G→+/−) جابجایی آلانین با گوانین یعنی گروهی که در آنها موتاسیون رخ داده در گروه پریودنتیت 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 پریودنتیت 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 پریودنتیت نیز نتایج مشابهی را نشان دادند. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که در جمعیت ژاپنی و قفقازی در سال ۲۰۰۴ انجام شد ، فراوانی ژنوتیپ در جمعیت ژاپنی و قفقازی (P=۰/۰۹ و P=۰/۳) و آلل ها در جمعیت ژاپنی (P=۰/۲) در گروه های بیمار در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت قابل توجهی را نشان نداد(۱۶) همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ در جمعیت برزیلی صورت گرفته بود، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در میان گروههای مورد مطالعه از نظر فراوانی ژنوتیپ ها (P=۰/۲۱) و آلل ها (P=۰/۹۸) 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 پریودنتیت 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 پریودنتیت 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 پریودنتیت مزمن بر خلاف پریودنتیت 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

رفتن چسبندگی کلینیکی را نیز همراه خواهد 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 ، ۴۷۸و۴۰۶ 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 تفاوتهای نژادی مانند آنچه در مورد نژاد قفقازی ، ژاپنی و افریقایی- 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.

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 بیمارانی 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 Periodontal 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. Offenbaher S, Schroeder HE, Saymour 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,

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 polynorphisms at interleukin-10 and tumour necrosis factorF loci in early-onset periodontitis. J Periodontal Res 1999;34(7):379-386.
8. McDowell TL, Symons JA. Plotski R, ForrerO, 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 Periodontal 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 Pathol1996; 148(1): 331–339.
12. Kara N, Keles GC, Sumer P, Gunes SO, Baqci 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 sever chronic periodontitis in Swedish Caucasians. J Clin Periodontol 2005; 3(5)2:474-479.
15. Collins DP, Luebering BJ, Shaut DM. T-lymphocyte functionality assessed by analysis of cytokine receptor expresion, intracellular cytokine expresion and femtomolar detection of cytokine secration by quantitive 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, HaraK. Cellular immunity and hypersensivity as components of periodental destruction. Oral Dis 1996; 2(1): 96-101.
20. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcotytt J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. J Periodontal 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 Periodontal Res 2000; 24(6): 362-367.