

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

دکتر شیرین امینی^۱، دکتر هدایت‌اله گلستانه^۱، دکتر شهرام جلیل‌زاده^{*}
دکتر محمدرضا غفاری^۲، دکتر طیب رمیم^۳

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 به صورت 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 ($\alpha = 0/05$).

یافته‌ها: بین فراوانی ژنوتیپ ۲/۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریودنتیت مزمن و همچنین بین فراوانی آلل ۱-۸۸۹ اینترلوکین یک آلفا و سلامت پریودنتال ($p \text{ value} = 0/03$) ارتباط معنی‌داری وجود داشت. بین فراوانی هیچ یک از ژنوتیپ‌های ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا و پریودنتیت مزمن ($p \text{ value} = 0/14$) و نیز بین فراوانی هیچ یک از آلل‌های ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا و بیماری فوق ($p \text{ value} = 0/06$) ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر، وجود ارتباط پلی‌مورفیسم ژن ۸۸۹- 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 ۳۹۵۴+ 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، ۵(۹)، ۳۹۳ تا ۴۰۱

مقدمه

پریدونتیت مزمن شایع‌ترین فرم پریدونتیت بوده که منجر به آماس در بافت‌های حمایت‌کننده دندان و از دست رفتن چسبندگی (Attachment loss) به صورت پیشرونده و تحلیل استخوان می‌شود که هر دو جنس را درگیر می‌کند [۱-۳]. اگرچه وجود باکتری‌ها برای پیشرفت پریدونتیت 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 پریدونتیت 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 تعیین‌کننده‌ای 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 پریدونتال ضروری می‌باشد [۸، ۹]. پلی‌مورفیسم ژنتیکی در چندین ژن سایتوکاین یافت می‌شود. این پلی‌مورفیسم می‌تواند سطح ترشح سایتوکاین‌ها را تحت تأثیر قرار داده که تفاوت‌های فردی در پاسخ سایتوکاین‌ها به تحریک باکتریایی را توجیه می‌کند [۱۰، ۱۱]. مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش التهابی اینترلوکین (IL) 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 واژودیلاتاسیون، 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 IL₁. انواع اینترلوکین یک آلفا و بتا واسطه‌های التهابی سیستم ایمنی هستند. اینترلوکین یک آلفا بیش‌تر توسط کراتینوسیت‌ها و سلول‌های دندرتیک و اینترلوکین یک بتا بیش‌تر توسط مونوسیت‌ها تولید می‌شوند که تحت تأثیر لیپوبلی‌ساکارید و لئفوسیت T افزایش می‌یابند. اینترلوکین یک باعث تکثیر و تمایز لئفوسیت‌های 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 پریدونتیت مزمن مؤثر باشد و این ارتباط در نژادهای مختلف متفاوت است [۱۵، ۱۴]. اثر مخرب اینترلوکین یک در پریدونتیت به‌وسیله‌ی آزمایش بر روی میمون‌ها ثابت شده است، به این صورت که با کمک لیگاتور، پریدونتیت تجربی ایجاد کرده، سپس در تعداد مشخصی آنتاگونیست‌های اینترلوکین یک را به کار 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 پریدونتیت جوانان بیش‌تر از پریدونتیت بزرگسالان و هم‌چنین بیش‌تر از ژن‌زیویت و حالت سلامت می‌باشد [۱۷].

بحث استعداد ژنتیکی در بیماری پریدونتیت در 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-1 α (IL-1 α)، interleukin-1 β (IL-1 β) و interleukin-1 receptor (IL-1-RN) antagonist. این ژن‌ها نزدیک یک‌دیگر، روی بازوی بلند کروموزوم دو (q2۱۳) و در منطقه 430 kilobase(kb) قرار دارند. ژن‌های IL-1 α و IL-1 β به ترتیب تولید پروتئین‌های پیش التهابی IL-1 α و IL-1 β را کنترل می‌کنند. ژن (IL-1-RN) سنتز یک پروتئین آنتاگونیست 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-1 α و IL-1 β می‌تواند

چسبندگی کم تر از ۳ میلی متر 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 پریدونتیت به جز پریدونتیت مزمن، افراد سیگاری. پس از انتخاب افراد مورد نظر (مطابق معیارهای ورود) و تکمیل فرم رضایت نامه افراد مبتلا به پریدونتیت مزمن در گروه مورد و افراد سالم از نظر پریدونتالی در گروه شاهد قرار گرفتند. از همه افراد ده سی سی خون گرفته شده و به لوله های حاوی ماده ۱۰٪ EDTA منتقل گردید تا از انعقاد خون پیشگیری گردد. در انتقال نمونه های جمع آوری 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 گلوله های قرمز توسط معرف هایی با غلظت نمکی متفاوت، از DNA پروتئین زدایی شد. سپس DNA توسط اتانول، استخراج شده، نمک زدایی گردیده و نهایتاً به صورت محلول نگهداری شد. DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر U.V در طول موج ۲۶۰nm اندازه گیری شد. نمونه های DNA بعد از استخراج، به وسیله دستگاه ترموسایکلر (Thermocycler; Corbett, Sydney, Australia) تحت واکنش زنجیره ای پلی مرز قرار گرفتند و به این ترتیب منطقه ای به طول ۲۵۰ base pairs (bp) در ژن اینترلوکین یک بتا و منطقه ای به طول ۹۹ bp در ژن اینترلوکین آلفا تکثیر شد. محصول اخیر بعد از الکتروفورز بر روی ژل ۱۷ درصد پلی آکریل آمید با نیترا ت نقره رنگ آمیزی شده و توسط دو آنزیم Taq 1 و Nco 1 که به ترتیب از باکتری *Thermus aquaticus* و *Nocardia corallina* گرفته می شوند و به وسیله 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 آلل ۲ (عدم وجود سایت برش) بود. محصول ایجاد شده توسط Nco 1 شامل دو جزء ۸۳ bp و ۱۶ bp برای آلل ۱ (وجود سایت

فرق داشته باشد. از آنجایی که این ژن ها به اشکال (مورفیک) متعدد (پلی) وجود دارند، به آن ها پلی مورفیک گفته می شود. واژه ی پلی مورفیسم ژنتیکی به تغییر در توالی نوکلئوتیدهایی که یک ژن را تشکیل می دهند، گفته می شود. وقتی واژه ای مثل آلل ۲ استفاده می شود، به دومین شکل شایع یک ژن در یک محل خاص اشاره دارد. واژه ای مثل ۳۹۵۴+ نشان می دهد که سه هزار و نهصد و پنجاه و چهارمین (۳۹۵۴) نوکلئوتید ژن، تغییر کرده است [۱۹]. پلی مورفیسم ژن سازنده سایتوکاین ها بر میزان ترشح آنها تأثیر دارد. برای بررسی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین معمولاً از دو آلل آن با مشخصات (۸۸۹-) و (۳۹۵۴+) استفاده می گردد [۲۰-۱۷].

هدف از مطالعه ی حاضر بررسی رابطه بین پلی مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا (آلل ۸۸۹-) و اینترلوکین یک بتا (آلل ۳۹۵۴+) با پریدونتیت مزمن می باشد که تا کنون مطالعات اندکی در مورد ارتباط پریدونتیت مزمن با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین یک انجام شده است. در صورت اثبات چنین رابطه ای شاید بتوان الگوهای درمانی و پیشگیری کنندگی متفاوتی در بیماران مستعد یا مبتلا طراحی کرده و از این طریق کمک بیش تری به بیماران صورت گیرد.

مواد و روش ها

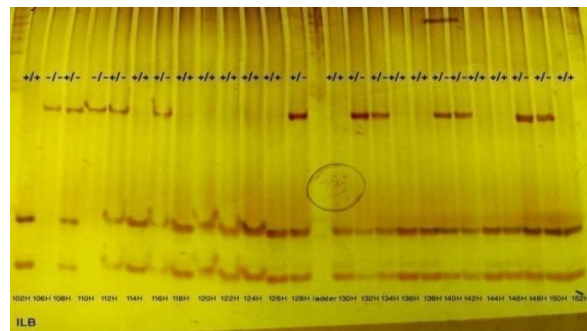
این مطالعه از نوع مورد- شاهدهی می باشد که در بخش پریدونتیکس تخصصی دانشکده دندان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان انجام شده است. نمونه گیری به شکل غیر تصادفی ساده (نمونه در دسترس) انجام گردیده و افراد شرکت کننده در مطالعه از میان افراد مراجعه کننده به بخش پریدونتیکس دانشکده دندان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان در سال ۱۳۹۰ انتخاب شدند. ۳۶ بیمار مبتلا به پریدونتیت مزمن و ۳۶ فرد سالم از نظر پریدونتالی (فاقد هرگونه التهاب یا بیماری پریدونتیت) 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 پریدونتیت مزمن متوسط تا پیشرفته ژنرالیزه، از دست رفتن حد چسبندگی ۳ میلی متر یا بیش تر در بیش از ۳۰ درصد نواحی و برای افراد گروه شاهد سلامت پریدونتال و حد

یافته‌ها

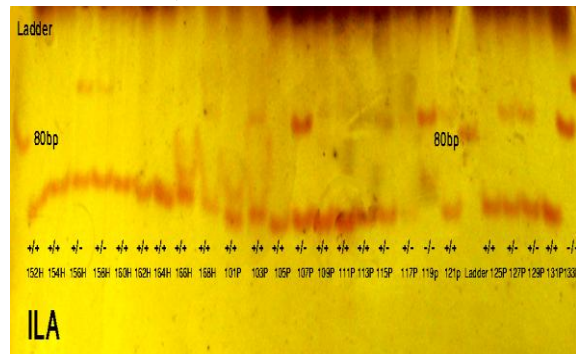
۲۲ زن و ۱۴ مرد مبتلا به پریدونتیت مزمن با متوسط سنی ۴۰/۵ سال و ۳۶ فرد سالم از نظر پریدونتال شامل ۲۹ زن و ۷ مرد با متوسط سنی ۳۶/۲ سال شرکت داشتند. ژن اینترلوکین یک بتا و اینترلوکین یک آلفا دارای دو آلل بود: آلل ۱ و آلل ۲. نام‌گذاری این آلل‌ها بر اساس فراوانی نسبی آن‌ها در جامعه است. برحسب قرارداد، آلل 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 ۹۹bp داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۲ (هتروزیگوت)، نمونه‌هایی که یک جزء ۸۳bp داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۱ (هموزیگوت برای آلل ۱) و نمونه‌هایی که یک جزء ۹۹bp 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 ۱۱۲bp و ۱۳۸bp داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۱ (هموزیگوت برای آلل ۱)، نمونه‌هایی که یک جزء ۲۵۰bp داشتند دارای ژنوتیپ ۲/۲ (هموزیگوت برای آلل ۲) و نمونه‌هایی که سه جزء ۱۱۲bp و ۱۳۸bp و ۲۵۰bp داشتند دارای ژنوتیپ ۱/۲ (هتروزیگوت) بودند (جدول ۱). آزمون کای-اسکوئر 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 آلل ۲ 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).

برش) و یک جزء ۹۹bp برای آلل ۲ (عدم وجود سایت برش) بود. البته جزء ۱۶bp در مرحله run روی ژل پلی‌آکریل آمید خارج شده و قابل رویت نیست. در نتیجه وجود یک باند ۸۳bp نشان‌دهنده وجود سایت برش برای آلل ۱ و یک باند ۹۹bp نشان‌دهنده عدم وجود سایت برش برای آلل ۲ است. در هر ژل پلی‌آکریل 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 اسکوئر و Fisher exact test استفاده شد. آستانه معنی‌دار بودن آزمون‌های آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۱. محصولات (PCR) 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 (PCR) 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

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

*p value	افراد بیمار (n = ۳۶) تعداد (%)	افراد سالم (n = ۳۶) تعداد (%)	اینترلوکین یک آلفا و بتا
۰/۰۳	۱۷ (۴۷/۲)	۲۲ (۶۱/۸)	ژنوتیپ های
	۱۲ (۳۳/۳)	۱۲ (۳۵/۳)	اینترلوکین یک آلفا (-۸۸۹)
	۷ (۱۹/۵)	۲ (۲/۹)	
۰/۱۴	۱۱ (۳۱/۴)	۱۸ (۵۰)	ژنوتیپ های
	۱۹ (۵۴/۳)	۱۴ (۳۹/۹)	اینترلوکین یک بتا (+۳۹۵۴)
	۶ (۱۴/۳)	۴ (۱۰/۱)	

* آزمون آماری مورد استفاده کای اسکویئر و $p \text{ value} < ۰/۰۵$ معنی دار می باشد

جدول ۲. توزیع فراوانی آلل های اینترلوکین یک آلفا (-۸۸۹) و اینتر لوکین یک بتا (+۳۹۵۴) در بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن (n = ۳۶) و افراد سالم از نظر پریدونتال (n = ۳۶).

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

* آزمون آماری مورد استفاده کای اسکویئر و $p \text{ value} < ۰/۰۵$ معنی دار می باشد

بحث

شد. در بررسی رابطه بین پلی مورفیسم +۳۹۵۴ اینترلوکین یک بتا و -۸۸۹ اینترلوکین یک آلفا با پریدونتیت مزمن بین آلل ۲ و این بیماری ارتباط پیدا شده است، در حالی که مطالعاتی که ارتباط بین پریدونتیت مهاجم و ژن مزبور را تحقیق نموده اند، آلل ۱ را در ارتباط با این بیماری پیدا کرده اند [۲۱-۱۸].

در این مطالعه وقوع آلل ۱ ژن -۸۸۹ اینترلوکین یک آلفا در گروه سالم از نظر پریدونتالی به طور معنی داری بیش تر از گروه بیمار بود ($p \text{ value} = ۰/۰۳$). این یافته ها بیانگر این است که در افرادی که آلل ۱، ژن -۸۸۹ اینترلوکین یک آلفا

بیماری های پریدونتال بیماری های التهابی هستند که شدت و گسترش ضایعات آنها تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و استعداد ژنتیکی قرار می گیرند. تاکنون مطالعات بسیاری انجام شده است که از ارتباط بین پلی مورفیسم ژنی برخی سایتوکاین ها و بیماری هایی که دارای پاتوژن التهابی هستند، حمایت می کنند [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 پریدونتیت مزمن انجام

وجود دارد استعداد ابتلا به پریدونتیت مزمن کم تر می باشد در حالی که در افرادی که پلی مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا دارند (ژنوتیپ ۲/۲) استعداد بیش تری برای ابتلا به پریدونتیت مزمن وجود دارد.

مطالعه Nikolopoulos و همکاران در سال ۲۰۰۸ به صورت مروری و متاآنالیز روی ۵۳ مطالعه در مورد ارتباط بین پلی مورفیسم ژن سایتوکاين ها و پریدونتیت مزمن انجام شد (گروه مورد ۴۱۷۸ نفر، گروه شاهد ۴۵۹۰ نفر). در این مطالعه ارتباط آماری معنی داری بین پلی مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریدونتیت 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 معنی داری میان پلی مورفیسم ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و پریدونتیت مزمن بدست آمد. آنها همچنین متوجه شدند فراوانی آلل ۱ ژن ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا بصورت معنی داری در گروه بیماران بیشتر از گروه سالم می باشد [۲۳] که البته با نتایج مطالعه حاضر تفاوت داشت که می تواند به علت تفاوت های نژادی در نمونه های مورد مطالعه باشد.

Karimbux و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ در مورد مقالاتی که ارتباط پلی مورفیسم ژن ۸۸۹- آلفا اینترلوکین یک و پریدونتیت مزمن را در جمعیت های سفید پوست مورد بررسی قرار داده بودند، یک مرور سیستماتیک و متاآنالیز انجام دادند. نتایج بررسی ها نشان داد که پلی مورفیسم ژن های ۸۸۹- اینترلوکین یک آلفا و ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا به طور معنی داری با پریدونتیت مزمن در این جمعیت ارتباط دارد و همچنین وقوع آلل ۱ در افراد سالم به طور معنی داری بالاتر از افراد بیمار می باشد [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 معنی داری بین پلی مورفیسم ژن اینترلوکین یک آلفا و پریدونتیت مزمن به دست نیامد. Rogers و همکاران به منظور تعیین این که آیا پلی مورفیسم اینترلوکین یک می تواند خطر ایجاد پریدونتیت را پیش بینی کند تحقیقی را در ۱۱۹ بیمار نژاد اروپایی و ۶۰ کنترل سالم از نظر پریدونتال انجام دادند. آن ها گزارش نمودند که ژنوتیپ ۲/۲، ۳۹۵۴+

اینترلوکین یک بتا در بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن به طور معنی داری بیش تر از گروه سالم می باشد [۲۷]. نتایج مطالعه ی حاضر در مورد ارتباط پلی مورفیسم ژن ۳۹۵۴+ اینترلوکین یک بتا با پریدونتیت مزمن مشابه مطالعات Tsarev و Nikolaeva [۲۳]، Karasneh و همکاران [۲۵] و Trevilatto و همکاران [۲۶] بود. نتایج مطالعه حاضر در مورد ارتباط پلی مورفیسم ژن ۳۹۵۴ + IL-1 β با پریدونتیت 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 معنی دار به دست آوردند می توان گفت در این مطالعات به منظور ارتباط بین پلی مورفیسم های اینترلوکین یک و پریدونتیت مزمن از (TDT) Transmission Disequilibrium Test استفاده شده بود. در این آزمون تعداد آلل های خاصی که از والدین هتروزیگوت به فرزندان مبتلا انتقال می یابد مقایسه می گردد. در این روش از اطلاعات خانوادگی بیماران استفاده شده و مشکل مربوط به همسان کردن گروه بیمار و کنترل حذف می گردد. همچنین TDT احتمال تجمع بیماری در خانواده را به علت فاکتورهای مشابه مثل رژیم غذایی، بهداشت دهان یا انتقال گونه های ویروالانت حذف می کند.

برخی از محققین ارزش تشخیصی ژنوتیپ مرکب را در بیماران پریدونتیت مزمن مورد تحقیق قرار داده اند. McGuire و Nunn تأثیر پارامترهای کلینیکی و ژنوتیپ اینترلوکین یک را در پیش گویی پیش آگهی و بقای دندان ۴۲ بیمار نژاد سفید پوست که به مدت ۱۴ سال تحت درمان نگه دارنده بودند ارزیابی کردند. نتایج آن ها 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 می دهد [۲۸].

در مطالعه Armitage و همکاران [۲۹] (در افراد ۶۹- ۲۱ ساله) بین شدت پریدونتیت و ژنوتیپ مرکب، رابطه معنی داری بدست نیامد. Kormman و همکاران [۳۰] رابطه ی معنی داری بین شدت پریدونتیت مزمن و ژنوتیپ

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

نتیجه‌گیری

وجود ارتباط بین پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم 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 دندان پزشکی پریودنتیکس در سال ۱۳۹۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شده است.

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 ($p \text{ value} = 0/12$) 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 می‌تواند بعنوان یک فاکتور پیش‌بینی‌کننده در نظر گرفته شده و در نتیجه بیماران، سریع‌تر تشخیص داده شده و تحت کنترل و درمان قرار گیرند.

References

1. Fiebig A, Jepsen S, Loos BG, Scholz C, Schafer C, Ruhliny A, et al. Polymorphisms 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 Implant dentistry*. 5th ed. New Jersey: 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 periodontitis in an Iranian population. *J Periodontol* 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, Papananou 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 periodontitis. *Int J Dent* 2010; 2010: 324719.
10. Jepsens S, Eberhard J, Fricke D, Hedderich J. Inter Leukin- 1 gene polymorphisms and experimental Gingivitis. *J clin periodontitis* 2003; 30(2): 102-6.

11. Kornman KS, Crane A, Wang HY, Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype 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 mononuclear 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 periodontitis 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 Periodontol Res* 2009; 44(1):133-40.
19. Greenstein G, Hart TC. A Critical assessment of IL-1 genotyping when used in a genetic susceptibility 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, et al. 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-1 α and IL-1 β genes and bacterial invasion in patients with chronic generalized Periodontitis. *Stomatologiya (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 Periodontol* 1997; 24(1): 72-7.

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-1 α , 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-1 α , β gene polymorphism. Data were analyzed using chi-squared and Fisher's exact tests ($\alpha=0.05$).

Results: There was a significant association between IL-1 α -889, 2/2 genotype and CP and between IL-1 α -889 allele and periodontal health (p value = 0.03). There was no significant association between IL-1 β +3954 genotype and CP (p value = 0.14). There was no significant association between IL-1 β +3954 alleles and CP (p value = 0.06).

Conclusion: Based on the results of the present study, association between IL-1 α -889 polymorphism in the population presented here confirms this gene as a risk factor for CP. However, the lack of any association between IL-1 β +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-1 α , IL-1 β

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.