Downloaded from journal.fums.ac.ir at 14:28 +0430 on Tuesday July 17th 2018

Original Article

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳(۱۵۱۲-) در بیماران مبتلا به کالازار

الهام معظمیان[۱*]، منوچهر رسولی[۲]، صدف عصایی[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه میکروبیولوژی، فارس، ایران.
۲- بخش ایمونولوژی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت میزبان به عفونت لیشمانیا منجر به فعال شدن ماکروفاژ و از بین رفتن انگل، به واسطه پاسخ ایمن یسلولی می‌گردد. با توجه به اهمیت نقش اینترلوکین-۱۳در دفاع علیه لیشمانیای احشایی و اثرات شناخته شده پلیمورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ بر روی این بیماری، هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳با لیشمانیای احشایی است.

مواد و روش‌ها: گروه مورد مطالعه شامل ۵۲ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی و ۱۰۴ فرد سالم از ناحیه اندمیک جنوب استان فارس می‌باشد. پلیمورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳(موقعیت A/C ۱۵۱۲-) با استفاده از PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده در دو گروه با استفاده از آزمون مجذور کای مقایسه گردیدند.

نتایج: فراوانی ژنوتیپ‌های AC، AA و CC تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه مورد مطالعه نشان ندادند. همچنین تفاوت معنادار آماری در ارتباط با فراوانی آلل‌های A و C در بین دو گروه مورد مطالعه یافت نگردید.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که هیچ گونه تفاوت معنی داری بین آلل ها و ژنوتیپ ها یا اینترلوکین-۱۳ در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی و افراد سالم مشاهده نشد. براساس یافته‌های فوق نمی‌توان پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ در ناحیه ۱۵۱۲- را عامل استعداد به لیشمانیوز احشایی در نظر گرفت.

کلمات کلیدی: اینترلوکین-۱۳، پلی مورفیسم ژنی، لیشمانیوز احشایی، لیشمانیا.

مقدمه

کالازار یک بیماری انگلی مزمن و احشایی مشترک میان انسان و تعدادی از حیوانات از جمله جوندگان و سگ است که توسط پشه خاکی از فرد بیمار، به دیگران انتقال می‌یابد (۱). این بیماری مهم‌ترین عامل تهدید سلامتی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می‌رود. علایم این بیماری از زخم‌های پوستی خفیف تا علایم شدید احشایی متفاوت است و در صورت عدم وجود درمان موثر، فرد دچار سرکوب ایمنی گردیده و ابتلا به عفونت ثانویه مهم‌ترین عامل مرگ ومیر در افراد مبتلا به این بیماری است. علایم بالینی در واقع طیفی از نشانه‌های بالینی است که هم تحت تاثیر گونه‌های لیشمانیا و هم واکنش ایمنی میزبان برای مقابله با انگل است (۲). اگرچه، در اکثر مطالعات نقش پاسخ ایمنی علیه انگل لیشمانیا مورد بررسی قرار گرفته، اما نمی‌توان نقش پاسخ‌های التهابی میانجی‌گری شده توسط سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و سایتوکاین‌ها را در ایجاد لیشمانیوز نادیده گرفت. تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که سایتوکاین‌های سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی در لیشمانیوز بر عهده دارند (۳). بررسی پاسخ ایمنی در افراد مبتلا به لیشمانیوز احشایی، نشان دهنده افزایش سطح سرمی سایتوکاین‌هایی مانند TNF، لنفوتوکسین-α و اینترلوکین-۱۳ می‌باشد (۶-۴).

اینترلوکین-۱۳ توسط سلول‌های Th1 و Th2 و در تنظیم بیان پذیرنده اینترفرون گاما از طریق افزایش رونویسی و ثبات پذیرنده‌ها مورد نیاز است. عملکرد اینترلوکین-۱۳ در تنظیم سیستم ایمنی در نتیجه تعامل بین اینترلوکین-۱۳و سلول‌هایB، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشد (۷).

TGF-β و اینترلوکین-۱۳ القاکننده اثرات خاص سیستم ایمنی بوده و قادر به غیرفعال‌کردن Th1 و یا پاسخ التهابی ماکروفاژ و ترویج عفونت لیشمانیای داخل سلولی می‌باشند (۸). در این ارتباط، مطالعه انجام شده توسط مانسویتو نشان داده است که پیشرفت بیماری لیشمانیا ماژور ممکن است توسط اینترلوکین-۱۰، اینترلوکین-۱۳ و اینترلوکین-۴صورت پذیرد (۹).

از طرفی دیده شده که اگرچه اینترلوکین-۱۳می‌تواند جایگزین اینترلوکین- ۴ در غیاب آن شود، اما بطور مستقل نیز قادر به فعالیت است (۱۰). مطالعه انجام شده توسط مک فرلان نشان می‌دهد که اینترلوکین-۱۳نقش قابل ملاحظه‌ای درکنترل لیشمانیوز احشایی کبدی در زمان عفونت اولیه بازی می‌کند (۱۰).

در افراد با بیماری مشابه، نحوه پاسخ سیستم ایمنی و التهاب به یک عامل مشترک متفاوت است. بسیاری از مطالعات بیان می‌کنند

* نویسنده مسئول: الهام معظمیان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه میکروبیولوژی، فارس، ایران. تلفن: ۰۹۱۷۷۱۱۰۹۹۴
Email: elhammoazamian@gmail.com

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 14:28 +0430 on Tuesday July 17th 2018

که آلل‌های مختلف ژن‌های سیتوکاین‌ها، بیان سیتوکاین‌ها را تحت تاثیر قرار داده و بنابراین نقش مهمی در حساسیت افراد مختلف به یک عامل عفونی مشترک دارند (۱۱).

ژن اینترلوکین-۱۳ انسان به عنوان تنها کپی در ژنوم هاپلوئید است و روی کروموزوم ۵ قراردارد. پلی مورفیسم‌های متعددی در نواحی مختلف کدکننده و غیرکدکننده ژن IL-13 مشخص شده‌اند که از جمله می‌توان به A/C 1512-، 1055C/T- و 2044G/A+ اشاره کرد که با توجه به محل قرارگیری بالقوه می‌توانند بر روی بیان اثرگذار باشند (۱۲). بر اساس اهمیت و نقش این سایتوکاین در لیشمانیوز احشایی و از آن‌جا که بیان این سایتوکاین نیز مانند هر گلیکوپروتئین دیگر بی‌ارتباط به ژن آن نمی‌باشد، در مطالعه حاضر سعی بر این شده تا ارتباط پلی مورفیسم اینترلوکین13- (1512A/C-) با لیشمانیوز احشایی توضیح داده شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و استخراج DNA: گروه مورد مطالعه شامل۵۲ بیمار (در دو جنس زن و مرد با میانگین سنی ± انحراف معیار ۰/۹۶۴± ۱/۷۴۰) مبتلا به لیشمانیوز احشایی و ۱۰۴ فرد سالم (در دو جنس زن و مرد با میانگین سنی ± انحراف معیار ۰/۹۳۰ ± ۱/۶۶) غیرخویشاوند از منطقه مشابه بیماران(منطقه اندمیک جنوب استان فارس) بودند. تمامی بیماران با تشخیص لیشمانیوز احشایی بر اساس علائم بالینی کالاآزار همچون کمخونی، تب، نمونه مثبت از مغز استخوان یا (ایمنوفلورسنت آنتی بادی) IFA≥1.128 و بزرگی کبد و طحال، در بخش عفونی بیمارستان نمازی شیراز بستری گردیده بودند. از تمامی گروه‌های مورد مطالعه (بیمار و کنترل) پس از اخذ رضایت آگاهانه از فرد یا ولی بیمار ۸ میلی لیتر خون سیاهرگی حاوی مواد ضد انعقاد EDTA گرفته و برای مراحل استخراج DNA آماده گردید. این مطالعه تحت نظارت کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ـ پلی مورفیسم با طول قطعه محدود شونده (PCR-RFLP): استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های خون با استفاده از روش استخراج نمکی انجام گردید (۱۳). جهت تجزیه و تحلیل پلی مورفیسم اینترلوکین-۱۳ از روش PCR-RFLP استفاده شد. حجم نهایی هر واکنش PCR ۲۰ میکرولیتر می‌باشد که شامل ۲۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۱ میکرولیتر بافر X PCR10، ۰/۵واحد آنزیم DNA پلیمراز، ۲۰۰ میلی‌مولار dNTPs و ۲/۵ میلی مولار MgCl (تمامی مواد محصول سیناژن ایران) می‌باشد. جفت پرایمرهای اختصاصی رفت و برگشت به غلظت، ۰/۵میکرو مولار با توالی F-5 CAA CCG CCG CGC CAG CGC CTT CTC3 و R-5 CCG CTA CTT GGC CGT GTG ACC GC3 مورد استفاده قرار گرفت. پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، تیوب‌ها سانتریفوژ و سپس به دستگاه ترموسایکلر (MastercyclerE 5530- pendorf, Germany) منتقل گردیدند. شرایط ترموسایکلر پس از بهینه‌سازی عبارت بود از مرحله دناتوراسیون ابتدایی، ۵ دقیقه در دمای ۹۵°C (یک سیکل) و سپس ۳۵ سیکل شامل مراحل دناتوراسیون، ۱ دقیقه در دمای ۹۵°C مرحله اتصال پرایمر، ۱ دقیقه در دمای ۶۵°C، مرحله تکثیر، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲°C انجام گردید. مرحله تکثیر نهایی، ۱دقیقه در دمای ۷۲°C می‌باشد.سپس ۱۰میکرولیتر محصول PCR تحت اثرآنزیم محدودالاثر Bsh1236I (Fermentas, Lithuania) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. در نهایت، محصولات هضم شده در ژل آگاروز ۳٪ الکتروفورز گردیده و توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد. سپس ژل‌ها در زیر دستگاه UV ترانس‌لومینیتور (SYNGENE, USA) مورد مطالعه قرار گرفتند. ژنوتیپ AA با یک باند به اندازه۲۱۴ جفت باز، ژنوتیپ AC با سه باند با اندازه‌های ۲۲، ۱۹۲ و ۲۱۴ جفت باز و ژنوتیپ CC با دو باند با اندازه‌های ۲۲و ۱۹۲ جفت باز بر روی ژل آگاروز مشخص شدند.

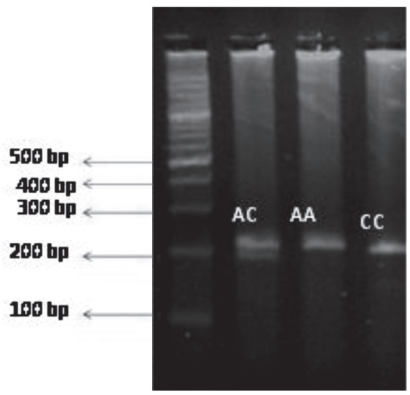
تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS 16 و EPI Info 2000 تجزیه وتحلیل گردید. از آزمون X^2 برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی استفاده گردید و سطح معنی‌دار آماری،۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

دراین مطالعه، پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳(۱۵۱۲-) با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های اینترلوکین-۱۳در موقعیت ذکر شده در ۱۵۶ نفر در دو گروه کنترل و بیمار مورد بررسی قرارگرفت. نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپ‌های اینترلوکین-۱۳(۱۵۱۲-) و فراوانی آللی برای افراد هر دو گروه در جدول ۱ نشان داده شده است.

فراوانی ژنوتیپ‌های AC، AA، و CC تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه مورد مطالعه نشان ندادند (به ترتیب P=0.872 , P=0.958 و P=1.00).

همچنین تفاوت معنادار آماری در ارتباط با فراوانی آلل‌های A و C در بین دو گروه مورد مطالعه یافت نگردید P=0.828 و قدرت مطالعه = ۴).



شکل ۱ـ الگوی الکتروفورز پلی مورفیسم ژن IL-13(-1512)

بحث

تظاهرات بالینی لیشمانیوز در انسان از ضایعات پوستی خود بهبود یابنده تا اشکال مخاطی و احشایی متغیر است (۱۴). در این میان عفونت با

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 14:28 +0430 on Tuesday July 17th 2018

جدول ۱ فراوانی آللی و ژنوتیپی ژن اینترلوکین-۱۳ در بیماران مبتلا به کالازار و کنترل

Genotypes and alleles	Patient group n (%)	Control group n (%)	X^2	P value*	OR (95%CI)	Study power (%)
Genotypes						
AA	۳۲ (۶۱/۵)	۶۶ (۶۱/۱)	۰/۰۰	۰/۹۵۸	(۲/۱۳-۰/۴۹) ۱/۰۲	۳
AC	۱۸ (۳۴/۶)	۳۶ (۳۳/۳)	۰/۰۳	۰/۸۷۲	(۲/۲۵-۰/۵۰) ۱/۰۶	۴
CC	۲ (۹/۳)	۶ (۵/۶)	$۰/۰۱	**۱/۰۰	(۳/۹۲-۰/۰۹) ۰/۶۸	۷
Alleles	۸۲ (۷۸/۸)	۱۶۸ (۷۷/۸)				
A	۲۲ (۲۱/۲)	۴۸ (۲۲/۲)	۰/۰۵	۰/۸۲۸	(۱/۹۶-۰/۵۸) ۱/۰۶	۴
C						

**هرPvalueنشان‌دهنده مقایسه هر ردیف با مجموع دو ردیف دیگر است.
$ به علت وجود تعدد کمتر از ۵ از تست آماری Fisher's exact test استفاده شده است.

لشمانیا اینفانتوم می‌تواند منجر به عفونت بدون علامت تا بیماری کشنده لیشمانیوز احشایی شود.

همیشه یکی از سوال‌های مطرح در بین پزشکان برای مدت‌های طولانی این بوده است که چرا در برخورد افراد با یک عامل عفونی مشابه برخی بدون ابتلا قادر به کنترل آن بوده در حالی که سایر افراد دچار بیماری و یا حتی مرگ می‌شوند؟ فاکتورهای متعددی می‌تواند باعث این تفاوت باشند از جمله وجود حافظه ایمونولوژیک به خاطر تماس قبلی با عامل بیماری، تعداد عامل عفونی که فرد را مورد تهاجم قرار می‌دهند (۱۵، ۱۶) و سایر عوامل دیگر. یکی از فاکتورهای احتمالی مهم که می‌تواند تعیین کننده نتیجه برخورد عامل عفونی با انسان باشد، تفاوت ژنتیکی خصوصا در ارتباط با ژن‌های درگیر در سیستم ایمنی بدن می‌باشند (۱۹-۱۷).

در مطالعه حاضر سعی گردید تا نقش احتمالی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ در ناحیه ۱۵۱۲- در ارتباط با بیماری کالاآزار بررسی گردد. اینترلوکین-۱۳ از این بابت که یکی از سایتوکاین‌های منسوب به تیپ ۲ ایمنی می‌باشد، مورد توجه قرار گرفته است. ایمنی موثر بر علیه انگل لیشمانیا مانند هر انگل درون سلولی ایمنی تیپ ۱ یا همان ایمنی سلولی و سایتوکاین‌های وابسته به آن مانند IFN-γ می‌باشد (۲۰). بنابراین سایتوکاین‌های تیپ ۲ ایمنی مانند IL-4 و یا IL-13 می‌توانند به عنوان فاکتورهای مستعدکننده این بیماری مطرح باشند.

حضور اینترلوکین-۱۳ در سرم بیماری کالاآزار نشان‌دهنده اهمیت آن در ایمونوپاتولوژی بیماری کالاآزار است (۲۱). علی‌رغم آنکه اینترلوکین-۱۳ را به عنوان یک سایتوکاین تیپ ۲ ایمنی شناخته می‌شود و انتظار می‌رود در ایمنی علیه لیشمانیا نقش منفی داشته باشد، پژوهش‌های انجام شده نقش مهمی را برای این سایتوکاین در تنظیم پاسخ‌های ایمنی تیپ ۱ و مقاومت به لیشمانیا دونووانی نشان می‌دهند (۱۱). در ارتباط با نقش احتمالی اینترلوکین-۱۳ در پاسخ ایمنی تیپ ۱ می‌توان به مطالعات انجام شده توسط مرس و تیم تحقیقاتی همکار ایشان اشاره کرد که نشان دادند موش‌های فاقد اینترلوکین-۱۳ دارای نقص در بیان Th1 می‌باشند (۲۲). این گروه پژوهشی همچنین نشان دادند که اینترلوکین-۱۳ باعث تولید IFN-γ و ایجاد و بلوغ گرانولوم (که نشان‌دهنده ایجاد پاسخ ایمنی سلولی است) می‌گردد (۲۲). در هر صورت این مطالعه اثرات ضد لیشمانیایی را بطور مستقیم بیان نمی‌کند و تنها می‌تواند بطور غیرمستقیم به دخالت احتمالی اینترلوکین-۱۳ در ایجاد پاسخ ایمنی تیپ ۱ بپردازد (۲۲).

با توجه به نقش مهم اینترلوکین-۱۳ در بیماری کالاآزار ما نتوانستیم حساسیت و یا مقاومت به این بیماری را به پلی مورفیسم ژن آن در موقعیت ۱۵۱۲- ارتباط دهیم. به نحوی که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار آماری بین گروه‌های بیمار و کنترل در خصوص پراکندگی ژنوتیپی و آللی این پلی مورفیسم مشاهده نگردید. در پاسخ به این سوال احتمالی که آیا ارتباطی بین پلی مورفیسم در ژن اینترلوکین-۱۳ و استعداد ابتلا به کالاآزار وجود دارد یا خیر، تنها می‌توان در این مرحله به پیشنهاد بررسی سایر پلی مورفیسم‌های موجود در ژن این سایتوکاین بسنده کرد؛ چرا که در مطالعه حاضر تنها یک پلی مورفیسم بررسی گردیده است. همچنین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده سطح سرمی این سایتوکاین در کنار سایر پلی مورفیسم‌ها اندازه‌گیری گردد تا بهتر بتوان درباره نقش این سایتوکاین و ژن آن نتیجه‌گیری کرد.

جستجوی ما برای یافتن سایر مطالعات بر روی ارتباط پلی مورفیسم اینترلوکین-۱۳ با کالا آزار و حتی هر نوع لیشمانیوز بی‌نتیجه بود و بنابراین مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات امکان‌پذیر نبود. اما مطالعات متعدد بر روی پلی مورفیسم سایر سایتوکاین‌ها با کالاآزار و سایر اشکال لیشمانیوز انجام گردیده است. مروج و همکارانش سه پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۸ را در بیماران ایرانی مبتلا به کالاآزار بررسی کردند (۲۳). این گروه ارتباط معناداری را بین پلی مورفیسم‌های اینترلوکین-۱۸ در نواحی -137G/C، +105A/C و -656G/T یافتند. رسولی و سایرین در مطالعه‌ای ارتباط موتان‌های ژن TLR-4 را در بیماران دچار لیشمانیوز احشایی بررسی کردند و هیچ‌گونه ارتباطی بین موتاسیون‌های نقطه‌ای در نواحی 896A/G و 196C/T ژن TLR-4 نیافتند (۲۴). همچنین مروج نشان داد که ژنوتیپ 511TT- در ژن اینترلوکین-۱ بتا می‌تواند به عنوان فاکتور مقاومت و ژنوتیپ 511CC- به عنوان فاکتور استعداد ابتلا به کالاآزار مطرح باشد (۱۸). اما ایشان موفق به یافتن ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن LT-α در موقعیت +252A/G نگردید (۱۸). در مورد شکل پوستی لیشمانیوز، کمالی سروستانی ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن‌های IFN-γ (+874A/T) و IL-4 (-590C/T) و سالک پوستی را گزارش نمودند (۲۵).

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 14:28 +0430 on Tuesday July 17th 2018

نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعه حاضر، ارتباط معنادار آماری بین پلی مورفیسم در موقعیت -۱۵۱۲ از ژن IL-13 وجود ندارد. همچنین مطالعه سایر پلی مورفیسم‌ها در ژن این سایتوکاین برای یافتن رابطه احتمالی بین بیماری کالاآزار و این پلی مورفیسم‌ها پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر و قدردانی را از بخش پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس برای حمایت‌های مالی و بخش ایمونولوژی مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی استاد البرزی به منظور حمایت‌های اجرایی دارند.

References

1. Garcia LS. Leishmaniasis In: Diagnostic medical parasitology. 4th ed.Washington DC: ASM press; 2001.P. 205-234.
2. Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet. 1999; 354(9185):1191-1199.
3.Voronov E, Dotan S, Gayvoronsky L, White RM, Cohen I, Krelin Y, et al. IL-1-induced inflammation promotes development of leishmaniasis in susceptible BALB/c mice. IntImmunol. 2010;22(4):245-57.
4. Goto H, PriantiM. Immunoactivation and immunopathogeny during avtive visceral Leishmaniasis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2009; 51(5):241-46.
5. Khoshdel A, Alborzi A, Rosouli M, Taheri E, Kiany S, Javadian MH. Increased levels of IL-10, IL-12, and IFN- in patients with visceral leishmaniasis. Braz J Infect Dis.2009;13(1):44-6.
6. Babaloo Z, Kaye PM, Eslami MB. Interleukin-13 in Iranian patients with visceral leishmaniasis: relationship to other Th2 and Th1 cytokines.Trans R Soc Trop Med Hyg. 2001;95(1):85-8.
7. Alicia LHY. Association studies of genetic polymorphisms found in interleukins 12,13 and CD14 gene with asthma and allergic diseases, A thesis submitted for the degree of master of science. Department of pediatrics national university of Singapore. 2004; 12(2) 41-52.
8. Barral-Netto M, Barral A, Brownell CA, Skeily YA, Ellingsworth LR, Twardzik DR, et al. Transforming growth factor-β in leishmanial infection: a parasite escape mechanism. Science. 1992; 257(5069):545–8.
9. Mansueto P, Giustina V, Aurelio. Advances in leishmaniasisimmunopathogensis, Acta Medica Mediterranea. 2011; 27(7):7-16.
10. Matthews DJ, Emson CL, McKenzie GJ, Jolin HE, Blackwell JM, McKenzie AN. IL-13 is a susceptibility factor for Leishmaniamajorinfection. J Immunol. 2001;164(3):1458–1462.
11. McFarlane E, Carter KC, McKenzie AN, Kaye PM, Brombacher F, Alexander J. EndogenousIL-13plays a crucialrole in liver granuloma maturation during Leishmaniadonovani infection, independent of IL-4Rα-responsive macrophages and neutrophils. J Infect Dis. 2011; 204(1):36-43.
12. Faghih Z, Erfani N, Razmkhah M, Sameni S, Talei A, Ghader A. Interleukin-13 haplotypes and susceptibility of Iranian women to breast cancer. MolBiol Rep. (2009); 36(7):1923-8.
13. Miller SA, Dykess DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.
14. Carvalho EM, Barral-Neto M, Barral A, Broskyn CI, Bacellar O. Immunoregulation in leishmaniasis. Cienc Cult. 1994; 46(42):441-5.
15. Ibrahim ME, Lambson B, Yousif AO, Defalla NS, Alnaiem DA. Kala-azar in a high transmission focus: an ethnic and geographic dimension. Am J Trop Med Hyg. 1999;61(6):941-4.
16. Zijlstra EE, El-Hassan AM, Ismael A, Ghalib HW. Endemic kala-azar in eastern Sudan: a longitudinal study on the incidence of clinical and subclinical infection and post kala-azar dermal leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 1994;51(6):826-36.
17. Rasouli M, Kalani M, Moravej A, Kiany S. Interleukin-18 single nucleotide polymorphisms contribute to the susceptibility to brucellosis in Iranian patients. Cytokine. 2011; 54(3):272-6.
18. Moravej A, Rasouli M, Kalani M, Asaei S, Kiany S, Najafipour S. IL-1β (-511T/C) gene polymorphism not IL-1β (+3953T/C) and LT-α (+252A/G) gene variants confers susceptibility to visceral leishmaniasis. MolBiol Rep. 2012; 39(6):6907-14.
19. Kalani M, Rasouli M, MoravejA,Kiany S, RahimiHR. Association of interleukin-15 single nucleotide polymorphisms with resistance to brucellosis among Iranian patients. Tissue Antigens. 2011; 78(5):352-8.
20. Reed SG, Scott PA. Immunological mechanisms in Leishmania. In: Effects of microbes on the immune system. Philadelphia: LW&W. 2000; 4(5): 537-554.
21. Babaloo Z, Kaye PM, Eslami MB. Interleukin-13 in Iranian patients with visceral leishmaniasis: relationship to other Th2 and Th1 cytokines. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2001; 95(1):85-8.
22. Mohrs M, Ledermann B, Köhler G, Dorfmuller A, Gessner A, BrombacherF. Differences between IL-4- and IL-4 receptor alpha-deficient mice in chronic leishmaniasis reveal a protective role for IL-13 receptor signaling. J Immunol. 1999; 162(12):7302-8.
23. Moravej A, Rasouli M, Asaei S, Kalani M, Mansoori Y. Association of interleukin-18 gene variants with susceptibility to visceral leishmaniasis in Iranian population. MolBiol Rep. DOI 10.1007/s11033-012-2479-x.
24. Rasouli M, Keshavarz M, Kalani M, Moravej A, Kiany S, Badiee P. Toll-like receptor 4 (TLR4) polymorphisms in Iranian patients with visceral leishmaniasis. Mol Biol Rep. 2012;39(12):10795-802.
25. Kamali-Sarvestani E, Rasouli M, Mortazavi H, Gharesi-Fard B. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to cutaneous leishmaniasis in Iranian patients. Cytokine. 2006; 35(3-4):159-65.

Original Article

The association of interleukin-13 gene polymorphism withkala-azar patients

Moazamian E[1*], Rasouli M[2], Asaei S[3]

1- Department of Microbiology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Fars, Iran.
2- Department of Immonology, Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
3- Department of Immonology, Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Received: 13 Feb 2013 Accepted: 20 Jun 2013

Abstract

Background & Objective: Host resistance towards Leishmania infection is mediated by cellular immune responses leading to macrophage activation and parasite killing. According to the important role of IL-13 in the defense against visceral leishmaniasis (VL) and the known effect of the IL-13 gene polymorphisms on its production, the aim of this study was to investigate the probable relationship between IL-13 gene polymorphisms and susceptibility to VL.

Materials & Methods: The patient group included 52 patients who had suffered from VL infection and the control group consisted of 104 non-relative healthy people from the same endemic areas the patients were from (southern part of Fars Province). IL-13 (position -1512 A/C) gene polymorphism was determined by polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Results: There was no significant association between the frequencies of IL-13 (-1512) alleles and genotypes in the patients with VL compared to the thenormal population.

Conclusion: This study indicated that the IL-13 (position -1512 A/C) genotypes cannot be considered as a genetic susceptibility factor for leishmaniasis.

Keywords: **Interleukin-13, Genetic polymorphism, visceral leishmaniasis, Leishmania**

*** Corresponding author:** MoazamianElham,Islamic Azad University, Science and Research Branch, Department of Microbiology, Fars, Iran.
Tel: +98 9177110994
Email:elhammozamian@gmail.com

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 14:28 +0430 on Tuesday July 17th 2018