

## Original Article

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

الهام معظمیان<sup>۱\*</sup>، منوچهر رسولی<sup>۲</sup>، صدف عصایی<sup>۲</sup>

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

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۳۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۱/۲۵

## چکیده

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

**مواد و روش‌ها:** گروه مورد مطالعه شامل ۵۲ بیمار مبتلا به لیشرمانیوز احشایی و ۱۰۴ فرد سالم از ناحیه اندمیک جنوب استان فارس می‌باشد. پلی مورفیسم 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.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه حاضر نشان داد که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها با اینترلوکین-۱۳ در بیماران مبتلا به لیشرمانیوز احشایی و افراد سالم مشاهده نشد. براساس یافته‌های فوق نمی‌توان پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ در ناحیه ۱۵۱۲- را عامل استعداد به لیشرمانیوز احشایی در نظر گرفت.

**کلمات کلیدی:** اینترلوکین-۱۳، پلی مورفیسم ژنی، لیشرمانیوز احشایی، لیشرمانیا.

## مقدمه

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-۱۳ و سلول‌های B، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشد (۷).

TGF- $\beta$  و اینترلوکین-۱۳ القاکننده اثرات خاص سیستم ایمنی بوده و قادر به غیرفعال کردن Th1 و یا پاسخ التهابی ماکروفاژ و ترویج عفونت لیشرمانیای داخل سلولی می‌باشند (۸). در این ارتباط، مطالعه انجام شده توسط مانسویتو نشان داده است که پیشرفت بیماری لیشرمانیا مازور ممکن است توسط اینترلوکین-۱۰، اینترلوکین-۱۳ و اینترلوکین-۴ صورت پذیرد (۹).

از طرفی دیده شده که اگرچه اینترلوکین-۱۳ می‌تواند جایگزین اینترلوکین-۴ در غیاب آن شود، اما بطور مستقل نیز قادر به فعالیت است (۱۰). مطالعه انجام شده توسط مک فران نشان می‌دهد که اینترلوکین-۱۳ نقش قابل ملاحظه‌ای در کنترل لیشرمانیوز احشایی کبیدی 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

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. علائم این بیماری از زخم‌های پوستی خفیف تا علائم شدید احشایی متفاوت است و در صورت عدم وجود درمان موثر، فرد دچار سرکوب ایمنی گردیده و ابتلا به عفونت ثانویه مهم‌ترین عامل مرگ و میر در افراد مبتلا به این بیماری است. علائم بالینی در واقع طیفی از نشانه‌های بالینی است که هم تحت تاثیر گونه‌های لیشرمانیا و هم واکنش ایمنی میزبان برای مقابله با انگل است (۲). اگرچه، در اکثر مطالعات نقش پاسخ ایمنی علیه انگل لیشرمانیا مورد بررسی قرار گرفته، اما نمی‌توان نقش پاسخ‌های التهابی میانجی‌گری شده توسط سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و سایتوکاین‌ها را در ایجاد لیشرمانیوز نادیده گرفت. تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که سایتوکاین‌های سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی در لیشرمانیوز بر عهده دارند (۳). بررسی پاسخ ایمنی در افراد مبتلا به لیشرمانیوز احشایی، نشان دهنده افزایش سطح سرمی سایتوکاین‌هایی مانند TNF، لنفوتوکسین- $\alpha$  و اینترلوکین-۱۳ می‌باشد (۴-۶).

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

۶۵°C، مرحله تکثیر، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲°C انجام گردید. مرحله تکثیر نهایی، ۱ دقیقه در دمای ۷۲°C می‌باشد. سپس ۱۰ میکرولیتر محصول PCR تحت اثر آنزیم محدودالتر (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 ترانس لومینیتور (SYNGENE, USA) مورد مطالعه قرار گرفتند. ژنوتیپ AA با یک باند به اندازه ۲۱۴ جفت باز، ژنوتیپ AC با سه باند با اندازه‌های ۲۲، ۱۹۲ و ۲۱۴ جفت باز و ژنوتیپ CC با دو باند با اندازه‌های ۲۲ و ۱۹۲ جفت باز بر روی ژل آگاروز مشخص شدند.

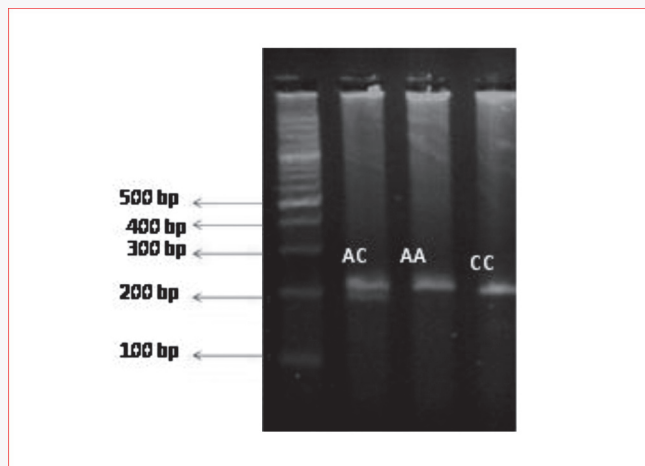
**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS 16 و EPI Info 2000 تجزیه و تحلیل گردید. از آزمون  $X^2$  برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی استفاده گردید و سطح معنی‌دار آماری، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

در این 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-۱۳ در موقعیت ذکر شده در ۱۵۶ نفر در دو گروه کنترل و بیمار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپ‌های اینترلوکین-۱۳ (۱۵۱۲-) و فراوانی آلی 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 = ۰.۴).



شکل ۱- 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

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

### مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری نمونه و استخراج DNA:** گروه مورد مطالعه شامل ۵۲ بیمار (در دو جنس زن و مرد با میانگین سنی  $\pm 0.964/0964$  (۱/۷۴۰) مبتلا به لیشمانیوز احشایی و ۱۰۴ فرد سالم (در دو جنس زن و مرد با میانگین سنی  $\pm 0.930/0930$  (۱/۶۶) غیرخویشاوند از منطقه مشابه بیماران (منطقه اندمیک جنوب استان فارس) بودند. تمامی بیماران با تشخیص لیشمانیوز احشایی بر اساس علائم بالینی کالآزار همچون کمخونی، تب، نمونه مثبت از مغز استخوان یا (ایمنوفلورسنت آنتی بادی)  $IFA \geq 1.128$  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 پلیمرز - 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 PCR10 X، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلیمرز، ۲۰۰ میلی‌مولار dNTPs و ۲/۵ میلی مولار MgCl (تمامی مواد محصول سیناژن ایران) می‌باشد. جفت پرایمرهای اختصاصی رفت و برگشت به غلظت، ۰/۵ میکرو مولار با توالی 3' CTC CTT CGC CAG CGC CCG CCA F-5 و 3' ACC GTG CCG CTA CTT GGC CCG R-5 مورد استفاده قرار گرفت. پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، تیوب‌ها سانتریفوژ و سپس به دستگاه ترموسایکلر (MastecyclerE 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

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

Genotypes and alleles	Patient group n (%)	Control group n (%)	X <sup>2</sup>	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)	۵۰/۰۱	**۱/۰۰	(۳/۹۲-۰/۰۹) ۰/۶۸	۷
Alleles						
A	۲۲ (۲۱/۲)	۴۸ (۲۲/۲)	۰/۰۵	۰/۸۲۸	(۱/۹۶-۰/۵۸) ۱/۰۶	۴
C						

\*\* هر Pvalue نشان دهنده 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.

بطور مستقیم بیان نمی کند و تنها می تواند بطور غیرمستقیم به دخالت احتمالی اینترلوکین-۱۳ در ایجاد پاسخ ایمنی تیپ ۱ بپردازد (۲۲).

با توجه به نقش مهم اینترلوکین-۱۳ در بیماری کالازار ما نتوانستیم حساسیت و یا مقاومت به این بیماری را به پلی مورفیسم ژن آن در موقعیت ۱۵۱۲- ارتباط دهیم. به نحوی که هیچ گونه تفاوت معنی دار آماری بین گروه های بیمار و کنترل در خصوص پراکندگی ژنوتیپی و آلی 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 کالازار وجود دارد یا خیر، تنها می توان در این مرحله به پیشنهاد بررسی سایر پلی مورفیسم های موجود در ژن این سایتوکاین بسنده کرد؛ چرا که در مطالعه حاضر تنها یک پلی مورفیسم بررسی گردیده است. همچنین پیشنهاد می گردد در مطالعات آینده سطح سرمی این سایتوکاین در کنار سایر پلی مورفیسم ها اندازه گیری گردد تا بهتر بتوان درباره نقش این سایتوکاین و ژن آن نتیجه گیری کرد.

جستجوی ما برای یافتن سایر مطالعات بر روی ارتباط پلی مورفیسم اینترلوکین-۱۳ با کالازار و حتی هر نوع لیشمانیوز بی نتیجه بود و بنابراین مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات امکان پذیر نبود. اما مطالعات متعدد بر روی پلی مورفیسم سایر سایتوکاین ها با کالازار و سایر اشکال لیشمانیوز انجام گردیده است. مروج و همکارانش سه پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ را در بیماران ایرانی مبتلا به کالازار بررسی کردند (۲۳). این گروه ارتباط معناداری را بین پلی مورفیسم های اینترلوکین-۱۳ در نواحی 137G/C- +105A/C و 656G/T- یافتند. رسولی و سایرین در مطالعه ای ارتباط موتان های ژن TLR-4 را در بیماران دچار لیشمانیوز احشایی بررسی کردند و هیچ گونه ارتباطی بین موتاسیون های نقطه ای در نواحی 896A/G و 196C/T ژن TLR-4 نیافتند (۲۴). همچنین مروج نشان داد که ژنوتیپ 511TT در ژن اینترلوکین-۱۳ بتا می تواند به عنوان فاکتور مقاومت و ژنوتیپ 511CC به عنوان فاکتور استعداد ابتلا به کالازار مطرح باشد (۱۸). اما ایشان موفق به یافتن ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن LT- $\alpha$  +252A/G موفق نگردید (۱۸). در مورد شکل پوستی لیشمانیوز، کمالی سروستانی ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن های IFN- $\gamma$  (+874A/T) و IL-4 (-590C/T) و IL-4 و سالک پوستی را گزارش نمودند (۲۵).

لیشمانیا اینفانتوم می تواند منجر به عفونت بدون علامت تا بیماری کشنده لیشمانیوز احشایی شود.

همیشه یکی از سوال های مطرح در بین پزشکان برای مدت های 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 می شوند؟ فاکتورهای متعددی می تواند باعث این تفاوت باشند از جمله وجود حافظه ایمنولوژیک به خاطر تماس قبلی با عامل بیماری، تعداد عامل عفونی که فرد را مورد تهاجم قرار می دهند (۱۵، ۱۶) و سایر عوامل دیگر. یکی از فاکتورهای احتمالی مهم که می تواند تعیین کننده نتیجه برخورد عامل عفونی با انسان باشد، تفاوت ژنتیکی خصوصا در ارتباط با ژن های درگیر در سیستم ایمنی بدن می باشند (۱۹-۱۷).

در مطالعه حاضر سعی گردید تا نقش احتمالی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۱۳ در ناحیه ۱۵۱۲- در ارتباط با بیماری کالازار بررسی گردد. اینترلوکین-۱۳ از این بابت که یکی از سایتوکاین های منسوب به تیپ ۲ ایمنی می باشد، مورد توجه قرار گرفته است. ایمنی موثر بر علیه انگل لیشمانیا مانند هر انگل درون سلولی ایمنی تیپ ۱ یا همان ایمنی سلولی و سایتوکاین های وابسته به آن مانند IFN- $\gamma$  می باشد (۲۰). بنابراین سایتوکاین های تیپ ۲ ایمنی مانند IL-4 و IL-13 می توانند به عنوان فاکتورهای مستعد کننده این بیماری مطرح باشند.

حضور اینترلوکین-۱۳ در سرم بیماری کالازار نشان دهنده اهمیت آن در ایمنوپاتولوژی بیماری کالازار است (۲۱). علی رغم آنکه اینترلوکین-۱۳ را به عنوان یک سایتوکاین تیپ ۲ ایمنی شناخته می شود و انتظار می رود در ایمنی علیه لیشمانیا نقش منفی داشته باشد، پژوهش های انجام شده نقش مهمی را برای این سایتوکاین در تنظیم پاسخ های ایمنی تیپ ۱ و مقاومت به لیشمانیا دونووانی نشان می دهند (۱۱). در ارتباط با نقش احتمالی اینترلوکین-۱۳ در پاسخ ایمنی تیپ ۱ می توان به مطالعات انجام شده توسط مرس و تیم تحقیقاتی همکار ایشان اشاره کرد که نشان دادند موش های فاقد اینترلوکین-۱۳ دارای نقص در بیان Th1 می باشند (۲۲). این گروه پژوهشی همچنین نشان دادند که اینترلوکین-۱۳ باعث تولید IFN- $\gamma$  و ایجاد و بلوغ گرانولوم (که نشان دهنده ایجاد پاسخ ایمنی سلولی است) می گردد (۲۲). در هر صورت این مطالعه اثرات ضد لیشمانیایی را



## 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 کالآزار و این پلی مورفیسم‌ها پیشنهاد می‌گردد.

## 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 میکروبی‌شناسی استاد البرزی به منظور حمایت‌های اجرایی دارند.

## References

- Garcia LS. Leishmaniasis In: Diagnostic medical parasitology. 4<sup>th</sup> ed. Washington DC: ASM press; 2001.P. 205-234.
- Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet. 1999; 354(9185):1191-1199.
- 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. *Int Immunol*. 2010;22(4):245-57.
- Goto H, Prianti M. Immunoactivation and immunopathogeny during active visceral Leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2009; 51(5):241-46.
- 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.
- 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.
- 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.
- Barral-Netto M, Barral A, Brownell CA, Skeily YA, Ellingsworth LR, Twardzik DR, et al. Transforming growth factor- $\beta$  in leishmanial infection: a parasite escape mechanism. *Science*. 1992; 257(5069):545-8.
- Mansueto P, Giustina V, Aurelio. Advances in leishmaniasis immunopathogenesis, *Acta Medica Mediterranea*. 2011; 27(7):7-16.
- 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.
- McFarlane E, Carter KC, McKenzie AN, Kaye PM, Brombacher F, Alexander J. Endogenous IL-13 plays a crucial role in liver granuloma maturation during Leishmaniadonovani infection, independent of IL-4 $\alpha$ -responsive macrophages and neutrophils. *J Infect Dis*. 2011; 204(1):36-43.
- Faghih Z, Erfani N, Razmkhah M, Sameni S, Talei A, Ghader A. Interleukin-13 haplotypes and susceptibility of Iranian women to breast cancer. *Mol Biol Rep*. (2009); 36(7):1923-8.
- 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.
- Carvalho EM, Barral-Neto M, Barral A, Broskyn CI, Bacellar O. Immunoregulation in leishmaniasis. *Cienc Cult*. 1994; 46(42):441-5.
- 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.
- 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.
- 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.
- Moravej A, Rasouli M, Kalani M, Asaei S, Kiany S, Najafipour S. IL-1 $\beta$  (-511T/C) gene polymorphism not IL-1 $\beta$  (+3953T/C) and LT- $\alpha$  (+252A/G) gene variants confers susceptibility to visceral leishmaniasis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39(6):6907-14.
- Kalani M, Rasouli M, Moravej A, Kiany S, Rahimi HR. Association of interleukin-15 single nucleotide polymorphisms with resistance to brucellosis among Iranian patients. *Tissue Antigens*. 2011; 78(5):352-8.
- Reed SG, Scott PA. Immunological mechanisms in Leishmania. In: Effects of microbes on the immune system. Philadelphia: LW&W. 2000; 4(5): 537-554.
- 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.
- Mohrs M, Ledermann B, Köhler G, Dorfmueller A, Gessner A, Brombacher F. 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.
- Moravej A, Rasouli M, Asaei S, Kalani M, Mansoori Y. Association of interleukin-18 gene variants with susceptibility to visceral leishmaniasis in Iranian population. *Mol Biol Rep*. DOI 10.1007/s11033-012-2479-x.
- Rasouli M, Keshavarz M, Kalani M, Moravej A, Kiany S, Badiiee P. Toll-like receptor 4 (TLR4) polymorphisms in Iranian patients with visceral leishmaniasis. *Mol Biol Rep*. 2012;39(12):10795-802.
- Kamali-Sarvestani E, Rasouli M, Mortazavi H, Ghareisfard 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 with kala-azar patients

Moazamian E<sup>1\*</sup>, Rasouli M<sup>2</sup>, Asaei S<sup>3</sup>

1- Department of Microbiology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Fars, Iran.

2- Department of Immunology, Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

3- Department of Immunology, 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: elhammoazamian@gmail.com