ارزیابی واکنشهای ازدیاد حساسیت جلدی نسبت به آنتی‌ژنهای کاندیدا آلبیکنس

دکتر علی ناصری‌بندقرایی[1] دکتر علیرضا خسروی[2*] دکتر سیدمحمد مؤذنی[3] دکتر پروین منصوری[4]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۸۱-۷۷، (۱۳۸۰)

به‌منظور ارزیابی واکنشهای جلدی نسبت به آنتی‌ژنهای کاندیدا آلبیکنس، مطالعه‌ای به مدت یک سال روی ۱۸۰ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم (۹۵ نفر مبتلا به درماتیت آتوپیک و ۸۵ بیمار دارای آسم) مراجعه‌کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی و کلینیک آلرژی تهران، انجام گرفت. ۶۲ نفر (۳۴/۴ درصد) از این بیماران مذکر و ۱۱۸ نفر (۶۵/۶ درصد) آنان مؤنث بودند. پس از تهیه آنتی‌ژن مناسب در مورد همه بیماران تست خراش جلدی انجام شد. نتیجه این تست در ۵۳/۳ درصد از بیماران و ۴/۳ درصد از افراد گروه شاهد مثبت بود. در این مطالعه، نتایج مثبت تست جلدی در مبتلایان به درماتیت آتوپیک ۵۲/۶ درصد و در بیماران دارای آسم ۵۴/۱ درصد بود. بیشترین موارد واکنشهای مثبت فوری در گروه سنی ۲۹-۲۰ و ۵۰≤ سال مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی : کاندیدا آلبیکنس، درماتیت آتوپیک، آسم، آلرژی.

آلرژی نسبت به قارچها از زمانهای بسیار دور مورد توجه بوده است و بتدریج مطالعات دقیقتر جهت شناسایی ترکیبات آنتی‌ژنیک قارچها و نقش آنها در پاتوژنز بیماریهای آلرژیک مورد توجه محققین قرار گرفته است. درماتیت آتوپیک یک بیماری اگزمایی مزمن پوستی است که معمولاً در افراد با زمینه آتوپی اتفاق می‌افتد (۱۵). پاتوفیزیولوژی این اختلال نشان می‌دهد که آلرژنها نقش مهمی در پاتوژنز درماتیت آتوپیک دارند (۱۶). آسم نیز یک بیماری چند فاکتوری و پیچیده است که در آن فاکتورهای آلرژیک و غیرآلرژیک دخالت دارند. حساسیت ناشی از آلرژنها در توسعه آسم حایز اهمیت می‌باشد (۱۸).

کاندیدا آلبیکنس فلور معمول مخاط دهان، واژن، دستگاه تنفس و مجرای گوارشی در انسان می‌باشد (۱۰). این عامل در انسان و طیف وسیعی از حیوانات به‌صورت فلور یا بیماریزا حضور دارد. این مخمر نه تنها باعث عفونتهای فرصت‌طلب در بیماران سرکوب‌شده ایمنی می‌گردد، بلکه واکنشهای آلرژیک را نیز در افراد حساس‌شده به آن سبب می‌شود. ازدیاد حساسیت ناشی از این عامل در بیماریهایی چون آسم، رنیت آلرژیک، درماتیت آتوپیک و کهیر گزارش گردیده است (۱۲).

رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی به‌عنوان یک منبع آلرژن از نظر ایجاد علایم آلرژی در افراد حساس مورد تأکید قرار گرفته است (۷) به‌طوری که بین حضور کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی با واکنشهای جلدی فوری و نیز نشانه‌های درماتیت آتوپیک و آسم ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۱۱ و ۷). بیشتر آنتی‌ژنهای تهیه‌شده از کاندیدا آلبیکنس که در حال حاضر در تستهای پوستی، سرولوژیک و ... به‌کار می‌رود، عصاره‌های خام حاوی پلی‌ساکارید (مانان) و پروتئین هستند.

Longbottom و همکاران حضور فعالیت آلرژنی را در هر دو بخش نشان داده و پیشنهاد نموده‌اند که بخش پروتئینی حاوی اجزای آلرژنی مهمتری است و مانان دارای نواحی باندشدن اختصاصی برای IgG است. تحقیقاتی که در زمینه آلرژی به‌عمل آمده است خودگویای این واقعیت است که آلرژی تحت تأثیر فاکتورهایی از قبیل وراثت، جغرافیا و مسایل اقتصادی است. بنابراین برای هر منطقه جغرافیایی لازم به‌نظر می‌رسد که برخی تحقیقات با در نظر گرفتن این موارد انجام گیرد. به‌علاوه قدرت و تأثیر عصاره‌های قارچی که به‌طور داخلی در کشورها برای کارهای تحقیقاتی تهیه می‌شوند به مقدار قابل توجهی بالاتر از عصاره‌های تجارتی است (۲). مطالعه حاضر به‌منظور تهیه آنتی‌ژن پروتئینی مناسب از کاندیدا آلبیکنس و ارزیابی واکنشهای جلدی فوری نسبت به آن انجام گرفته است.

مواد و روش کار

جهت انجام این مطالعه مراحل زیر طی شد :

الف) تهیه سوش کاندیدا آلبیکنس : سوش مورد نظر از مواد بالینی جدا شده، پس از کشت برروی محیط مناسب، با استفاده از آزمایشاتی مانند توانایی ایجاد لوله زایا، ایجاد کلامید و کونیدی در محیط کورن‌میل آگار حاوی توئین ۸۰ و استفاده از کیتهای API تشخیص آن، تأیید گردید.

ب) تولید انبوه : برای کشت انبوه کاندیدا آلبیکنس از محیط کشت YPD broth استفاده شد. محیط کشت به ارلن‌های یک لیتری (هر ارلن حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر) اضافه گردیده و استریل شد. سپس سوسپانسیون غلیظی از مخمر در آب مقطر استریل تهیه شده و میزان مناسبی از آن به هر ارلن اضافه گردید به‌طوری که غلظت اولیه مخمر 5×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر باشد و در نهایت محیطهای کشت به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۶ درجه سانتیگراد و در یک انکوباتور چرخان قرار داده شد. هر روز محیطها از نظر رشد قارچی و آلودگیهای احتمالی مورد بازبینی قرار گرفتند. پس از رشد لازم، سلولهای مخمری جمع‌آوری گردیده و سه بار شستشو با بی‌کربنات آمونیم ۱۲۵ درصد مولار انجام شد. مرحله اول در ۱۴۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه بود. مایع رویی دور ریخته شد و رسوب در بافر بالا دوباره سوسپانسیون گردیده و مرحله اول تکرار شد. سومین سانتریفوژ در ۴۰۰۰g و به مدت ۱۵ دقیقه بود. پس از شستشو، سلولهای مخمری در برابر بی‌کربنات آمونیوم ۰/۰۰۵ مولار دیالیز شده و فریز گردیدند.

ج) شکستن مخمر و تهیه عصاره کاندیدا آلبیکنس : این کار براساس روش Axelsen، Savolainen و Kumar با تغییراتی انجام شد که به اختصار بیان می‌شود (۱۷، ۱۳، ۳). برای شکستن سلولهای مخمری از دو روش سونیکاسیون و نیز Glass bead همراه با ورتکس استفاده شد. به رسوب مخمری به‌دست آمده در مرحله قبل PBS اضافه گردید به‌طوری که یک سوسپانسیون ۵۵ درصد (W/V) به‌دست آید. سپس به این سوسپانسیون آنتی‌پروتئاز PMSF افزوده شد و با استفاده از دستگاه سونیکاتور، سونیکاسیون انجام شد. شکستن سلولها قبل و بعد از انجام سونیکاسیون با استفاده از روش شمارش سلولی مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. در روش دوم نیز سوسپانسیون مورد نظر به لوله‌های شیشه‌ای استریل مناسب اضافه گردید و بعد به این سوسپانسیون، گلوله‌های شیشه‌ای به قطر ۱ میلیمتر به مقدار حدود ۲ برابر وزن سوسپانسیون اضافه شد. درب لوله‌ها محکم بسته شد و با دور بالا ورتکس گردید. این عمل تا زمانی که حدود ۹۰-۸۰ درصد سلولها بشکنند ادامه یافت و مثل مرحله قبل متناوباً شکستن سلولهای مخمری ارزیابی شد. به‌منظور تهیه عصاره کاندیدا آلبیکنس، سوسپانسیون حاوی سلولهای مخمری شکسته شده طی سه مرحله در ۴ درجه سانتیگراد در دورهای ۶۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه، ۲۶۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه و ۱۵۰۰۰۰g به مدت ۱ ساعت سانتریفوژ گردید و در نهایت یک مایع رویی شفاف به‌دست آمد. عصاره خام (Crude extract) به‌دست آمده پس از اندازه‌گیری مقدار پروتئین آن با روش برادفورد با استفاده از فیلترهای ۰/۲ میکرون، فیلتر گردید و پس از استریل‌کردن تا زمان استفاده فریز شد.

د) سدیم دودسیل سولفات پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز

۱) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران - ایران.
۲) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه آموزشی ایمنی‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران - ایران.
۴) دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران - ایران.
*) مکاتبات و تقاضای کپی مقاله.

(SDS-PAGE) عصاره : به‌منظور تعیین الگوی الکتروفورتیک و تفکیک اجزای عصاره مورد نظر، این عصاره با استفاده از ژل گرادیانت ۱۷/۵-۵ درصد و نیز ژل ۱۱ درصد براساس روش Iaemmli الکتروفورز گردید. پروتئینهای استاندارد مورد استفاده در ژل گرادیانت شامل موارد زیر بود : ۹۴ کیلودالتون (فسفوریلاز b)، ۶۶ کیلودالتون (BSA)، ۴۳ کیلودالتون (آلبومین)، ۳۰ کیلودالتون (کربنیک انهیدراز)، ۲۰/۱ کیلودالتون (تریپسین) و ۱۴/۴ کیلودالتون (آلفالاکتوآلبومین).

پس از انجام الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژل با رنگ کوماسی آبی R-۲۵۰ منحنی استاندارد رسم شد و با تعیین RF هر یک از باندها و استفاده از منحنی استاندارد که خطی بود، وزن ملکولی آنها تعیین گردید.

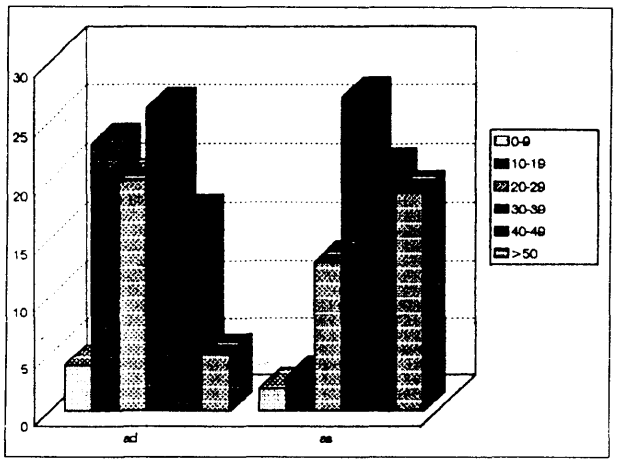
ه) آماده‌سازی عصاره کاندیدا آلبیکنس جهت تست پوستی : قبل از تهیه عصاره برای تست پوستی آزمایشات لازم از نظر استریل‌بودن و آلودگی احتمالی به باکتری و قارچ انجام شد. عصاره پروتئینی کاندیدا آلبیکنس با PBS حاوی ۵۰ درصد گلیسرین رقیق گردید به‌طوری که نمونه حاوی مقدار پروتئین مناسب جهت تست پوستی باشد. سپس با فیلترهای ۰/۲ میکرون استریل شد و به داخل ظرفهای اپندورف استریل منتقل گردید. به‌عنوان کنترل مثبت از محلول هیستامین هیدروکلراید ۱ میلیگرم/میلی‌لیتر و جهت کنترل منفی از PBS حاوی ۵۰ درصد گلیسرین که آنتی‌ژنها به کمک آن رقیق شده بودند استفاده شد.

و) انتخاب بیماران و گروه شاهد : بیماران مورد بررسی به طریق نمونه‌برداری مستمر و تصادفی انتخاب شدند، بدین‌ترتیب که بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی (ره) و کلینیک آلرژی تهران ابتدا توسط پزشک متخصص پوست و ریه معاینه می‌شدند و از بین این افراد بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم جهت آزمایشات بعدی در گروه بیماران قرار می‌گرفتند. گروه شاهد نیز شامل افرادی بودند که سابقه بیماریهای آلرژیک نداشتند (سالم - غیرآتوپیک). قبل از انجام تست جلدی از بیماران خونگیری شده و همچنین پرسشنامه‌ای حاوی اطلاعات لازم تکمیل گردید.

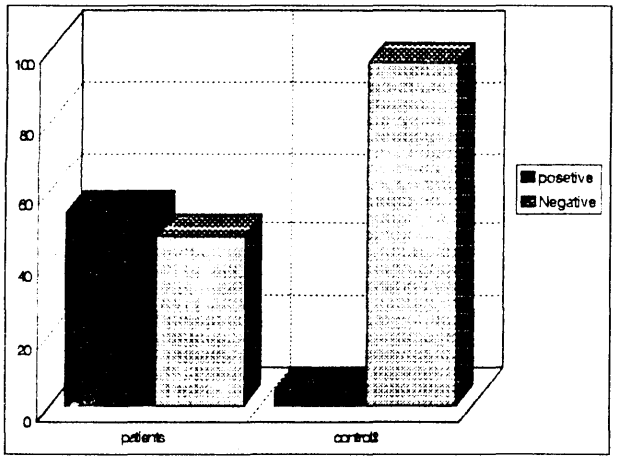
ز) انجام تست : ابتدا ناحیه مورد آزمایش (قسمت جلویی ساعد دست) با آب و صابون شسته شد و در مجاورت هوا خشک گردید. سپس با الکل محل تزریق تمیز گردید و با خودکار برروی پوست دایره‌های کوچکی به فاصله حداقل ۵ سانتیمتر کشیده شد و با علامتی نوع ماده تست شده مشخص گردید. سپس قطره کوچکی در وسط هر دایره مشخص روی پوست قرار داده شد. بعد سوزن (سوزن یکبار مصرف شماره ۲۷) با یک زاویه ۴۵ درجه به وسط قطره روی پوست به‌طور ملایم فشار داده شد، سپس نوک سوزن بالا آورده شد به‌طوری که خراش ایجاد گردد. خراش پوست نباید طوری عمیق شود که ایجاد خونریزی شود. بعد از یک دقیقه با دستمال کاغذی قطرات آلرژن از روی پوست پاک شد تا ایجاد واکنش بیش از حد معمول ننماید. بعد از ۱۵ دقیقه واکنش پوستی با کمک یک خط‌کش میلیمتری شفاف اندازه‌گیری شد و نتایج ثبت گردید. تستی به‌عنوان مثبت تلقی گردید که برآمدگی با قطر متوسط ۳ میلیمتر بزرگتر از برآمدگی ایجادشده به‌وسیله کنترل منفی ایجاد کند و علاوه‌بر آن پیرامون برآمدگی نیز قرمز باشد.

نتایج

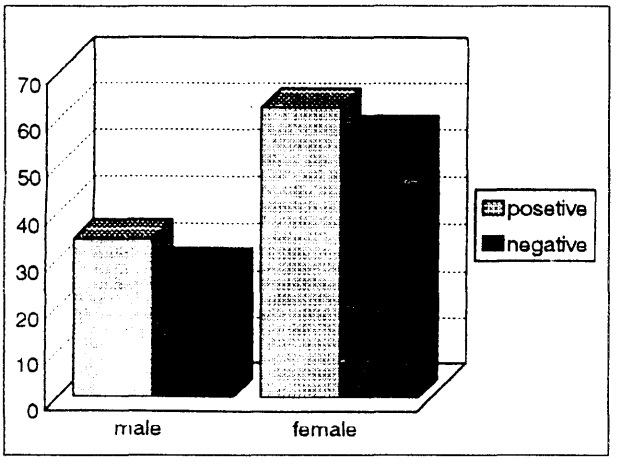
در این مطالعه ۱۸۰ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم (۹۵ نفر مبتلا به درماتیت آتوپیک و ۸۵ نفر بیمار دارای آسم) مورد مطالعه قرار گرفتند که ۶۲ نفر (۳۴/۴ درصد) مذکر و ۱۱۸ نفر (۶۵/۶ درصد) مؤنث بودند. بیماران طیف سنی ۸۰-۷ داشتند و میانگین سنی آنها ۳۴/۲ سال بود. بیشترین تعداد بیماران در گروه سنی ۳۹-۳۰ سال بود (نمودار ۱). ۷۰ نفر سالم، غیرآتوپیک به‌عنوان شاهد انتخاب گردیدند که بیشترین آنها نیز در گروه سنی ۳۹-۳۰ سال بودند و میانگین سنی آنها ۳۲/۳ سال بود.



نمودار ۱ - فراوانی بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم برحسب گروه سنی.



نمودار ۲ - فراوانی پاسخ جلدی نسبت به آنتی‌ژنهای کاندیدا آلبیکنس در دو گروه بیمار و شاهد.



نمودار ۳ - فراوانی پاسخ جلدی بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم برحسب جنس.

از ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۵۲/۶ درصد و ۸۵ بیمار مبتلا به آسم ۵۴/۱ درصد نسبت به آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس دارای واکنش ازدیاد حساسیت جلدی فوری بودند و در مجموع ۵۳/۳ درصد از بیماران تست پوستی مثبت داشتند، در حالی‌که در گروه شاهد تنها ۴/۳ درصد افراد واکنش مثبت داشتند. آزمون آماری مجذور کای نشان داد که اختلاف مشاهده‌شده بین این دو گروه کاملاً معنی‌دار می‌باشد ($P<0/0001$) (نمودار ۲). نتایج تست پوستی برحسب سن و جنس در جدول ۱، نشان داده شده است. براساس این جدول بیشترین درصد موارد واکنش مثبت در گروههای سنی ۲۹-۲۰ و ۵۰ و بالاتر و یا مساوی ۵۰ سال مشاهده شد. آزمون مجذور کای نشان داد که اختلاف مشاهده شده بین گروههای سنی معنی‌دار نمی‌باشد.

در جنس مؤنث از مجموع ۷۳ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک، ۴۰ نفر (۵۴/۸ درصد) و از ۴۵ بیمار مبتلا به آسم ۲۲ نفر (۴۸/۸ درصد) در تست پوستی با آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس واکنش مثبت داشتند. در بین جنس مذکر از مجموع ۲۲ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۱۰ نفر (۴۵/۵ درصد) و از ۴۰ بیمار مبتلا به آسم ۲۴ نفر (۶۰ درصد) با آنتی‌ژن مورد نظر واکنش داشتند و به‌طور کلی از ۱۱۸ بیمار مؤنث مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم ۶۲ نفر (۵۲/۵ درصد) و از ۶۲ بیمار مذکر ۳۳ نفر (۵۳/۲۲ درصد) واکنش مثبت نشان دادند (نمودار ۳).

آزمون مجذور کای نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو جنس از نظر میزان موارد واکنش مثبت به آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس وجود ندارد.

نتایج تست پوستی برحسب وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی : از مجموع ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک، ۷۰ نفر (۷۳/۷ درصد) دارای سابقه خانوادگی بیماری درماتیت آتوپیک بودند و ۲۵ نفر (۲۶/۳ درصد) فاقد هر گونه سابقه بودند. در بین افرادی که سابقه فامیلی داشتند، ۳۷ نفر (۵۲/۸ درصد) و در بین بیماران بدون سابقه فامیلی ۱۳ نفر (۵۲ درصد) به آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس پاسخ دادند.

در بیماران مبتلا به آسم از ۸۵ بیمار، ۵۵ نفر (۶۴/۷ درصد) دارای سابقه فامیلی و ۳۰ نفر (۳۵/۳ درصد) فاقد سابقه فامیلی از بیماری آسم بودند. در بین افرادی که سابقه فامیلی داشتند، ۳۰ نفر (۵۴/۵ درصد) و در بین بیماران بدون سابقه فامیلی ۱۶ نفر (۵۳/۳ درصد) تست پوستی مثبت داشتند. آزمون مجذور کای نشان داد که در هیچ کدام از دو بیماری فوق اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

نتایج تست پوستی برحسب نوع بیماری آتوپیک : براساس نوع بیماری آتوپیک از ۹۵ بیمار مبتلا به درماتیت آتوپیک ۳۵ نفر (۳۶/۸ درصد) مبتلا به اگزمای آتوپیک و ۶۰ نفر (۶۳/۲ درصد) حالت اگزما را همراه با رنیت آلرژیک و آلرژی به مواد غذایی نشان دادند. از بیماران مبتلا به اگزما ۲۱ نفر (۶۰ درصد) و از بیماران مبتلا به اگزما - رنیت آلرژیک - آلرژی به مواد غذایی، ۲۹ نفر (۴۸/۳ درصد) در تست پوستی واکنش مثبت نشان دادند.

جدول ۱ - فراوانی پاسخ بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم برحسب سن و جنس

جنس / نتیجه / گروه سنی	مذکر		مؤنث		جمع
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	
۹-۰	۳(۵۰)	۲(۳۳/۳)	-	۱(۱۶/۷)	۶(۳/۳)
۱۹-۱۰	۵(۱۹/۲)	۴(۱۵/۴)	۹(۳۴/۶)	۸(۳۰/۷۷)	۲۶(۱۴/۴)
۲۹-۲۰	۴(۱۲/۱)	۶(۱۸/۱۸)	۱۵(۴۵/۴۵)	۸(۲۴/۲۴)	۳۳(۱۸/۳)
۳۹-۳۰	۵(۹/۴۳)	۱۰(۱۸/۸۶)	۲۲(۴۱/۵۰)	۱۶(۳۰/۱۸)	۵۳(۲۹/۴)
۴۹-۴۰	۵(۱۳/۱۵)	۵(۱۳/۱۵)	۱۱(۲۸/۹۴)	۱۷(۴۴/۷۳)	۳۸(۲۱/۱)
بزرگتر از ۵۰ سال	۱۱(۴۵/۸)	۲(۸/۳)	۵(۲۰/۸۳)	۶(۲۵)	۲۴(۱۳/۳)
جمع	۳۳(۱۸/۳۳)	۲۹(۱۶/۱)	۶۲(۳۴/۴)	۵۶(۳۱/۱)	۱۸۰(۱۰۰)

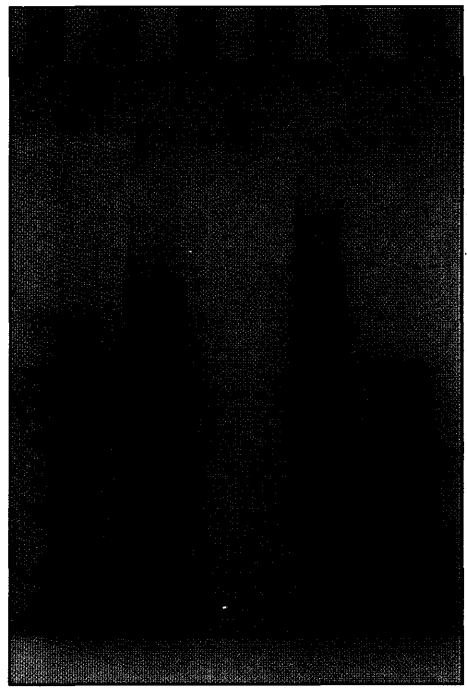
همچنین از ۸۵ بیمار مبتلا به آسم ۱۹ نفر (۲۲/۴ درصد) فقط دارای آسم بودند و ۶۶ نفر (۷۷/۶ درصد) مبتلا به آسم همراه با رنیت آلرژیک + آلرژی به مواد غذایی و درماتیت آتوپیک بودند. از بیماران مبتلا به آسم ۳۷ نفر (۵۶/۱ درصد) و از بیماران دارای آسم + رنیت آلرژیک + آلرژی به مواد غذایی، ۹ نفر (۴۷/۴ درصد) با آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس پاسخ داشتند. با آزمون مجذور کای اختلاف معنی‌داری بین دو گروه در هیچ کدام از بیماریهای درماتیت آتوپیک و آسم مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از تعیین اجزای پروتئینی عصاره خام کاندیدا آلبیکنس با روش الکتروفورز ژل پلی‌آکریل آمید در تصاویر ۱ و ۲ مشهود است. با استفاده از نحوه حرکت پروتئینهای استاندارد در ژل، منحنی استاندارد رسم گردید و براساس این منحنی اوزان ملکولی اجزای تشکیل‌دهنده عصاره تعیین شد. وزن ملکولی باندهای عصاره الکتروفورز شده از ۱۳ تا ۱۲۵ کیلودالتون بود که باندهای ۲۷/۴، ۳۳/۶، ۳۷/۹، ۴۰، ۴۱/۴، ۴۳/۹، ۴۶، ۵۹/۵، ۶۳/۷، ۷۱/۹ کیلودالتون قوی و باندهای ۱۶ و ۱۶/۹، ۱۸/۷، ۲۰/۷، ۲۳/۸، ۳۰/۳، ۵۰، ۷۷ و ۸۵/۴ کیلودالتون متوسط و بقیه باندها یعنی باندهای ۱۳/۷، ۲۹/۳، ۳۲/۵، ۳۶/۷، ۵۳/۲، ۵۶/۵، ۵۷/۴، ۸۱/۳، ۸۹/۹، ۹۴/۷، ۹۸، ۱۰۸/۸، ۱۱۸/۶، ۱۲۵ کیلودالتون نسبتاً ضعیف بودند.

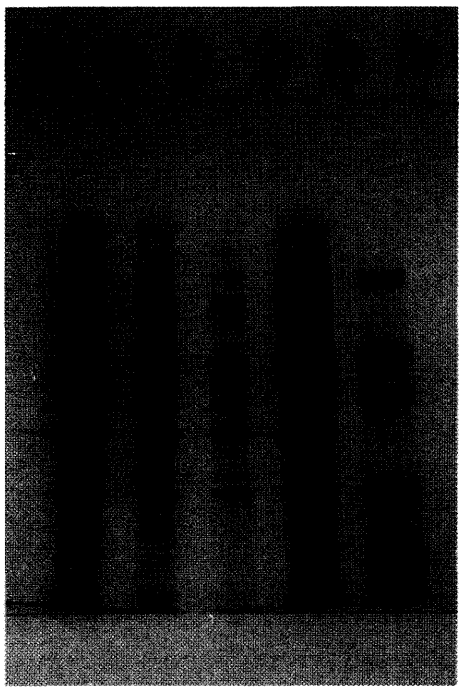
بحث

حدود یک قرن است که Richet و همکارانش در کنار تحقیقات خود با واکنشی که امروزه حساسیت نامیده می‌شود مواجه شدند. واکنشهای ازدیاد حساسیت از نظر ایمونولوژیکی براساس تظاهرات بالینی و مکانیسمهای زمینه‌ای به چهار نوع تقسیم می‌گردند که تأکید ما در اینجا بیشتر بر روی واکنشهای نوع ۱ می‌باشد. ازدیاد حساسیت نوع ۱ یا فوری (آلرژی) به‌وسیله تداخل آنتی‌ژنهای مختص IgE که آلرژن نامیده می‌شوند، با IgE در سطح ماستسل‌ها یا بازوفیل‌ها ایجاد می‌شود. اصطلاح آلرژی در سال ۱۹۰۶ به‌وسیله Von pir quet برای توصیف یک واکنش تغییر یافته در موجودات زنده که به‌وسیله یک ماده خارجی به‌وجود می‌آید عنوان شد. بنابراین آلرژنها بخشی از آنتی‌ژنها هستند که پاسخ با واسطه IgE را تحریک می‌نمایند. واکنشهای آلرژیک نوع ۱ نسبت به آلرژنهای قارچی اساساً به‌صورت رنیت، آسم و یا درماتیت آتوپیک و ... ظاهر می‌شوند. این واکنشها ممکن است طی دو فاز صورت گیرند : واکنشهای فاز فوری (زودرس) که در طی چند دقیقه ظاهر می‌شوند و پاسخهای فاز تأخیری که ۴-۳ ساعت بعد از تماس با آلرژن به‌وجود می‌آیند. برای بررسی چنین واکنشهایی می‌توان از تستهای in vitro و in vivo بهره جست که در این میان تست خراش جلدی روشی سالم، سریع و حساس برای نشان‌دادن IgE تولیدشده برعلیه یک آلرژن اختصاصی است. نتایج تستهای پوستی نشان می‌دهد که حداقل ۳ تا ۱۰ درصد از افراد بزرگسال و بچه‌ها در سراسر جهان از آلرژنهای قارچی متأثر می‌شوند. شیوع واقعی آلرژیهای قارچی مشخص نشده است چرا که گزارشهای واکنشهای جلدی نسبت به قارچها بسته به جمعیت مورد مطالعه، عصاره مورد استفاده و گونه تست شده متغیر می‌باشد و شیوع واکنشها به منبع تهیه آلرژن و معیارهای انتخابی برای افراد مورد تست بستگی دارد (۲).

بخش قابل توجه از افراد آتوپیک حساسیتهای زمینه‌ای به آلرژنهای قارچی دارند که یکی از قارچهای مطرح در این مورد کاندیدا آلبیکنس می‌باشد به‌طوری که میزان بالایی از تستهای پوستی فوری مثبت نسبت به کاندیدا آلبیکنس در این افراد مشاهده شده است (۲). کاندیدا آلبیکنس مخمر فرصت‌طلبی است که در سطوح مخاطی بسیاری از افراد وجود دارد. این مخمر در شرایط خاص و افراد دارای زمینه مناسب بخصوص نقص سیستم ایمنی بیماری ایجاد می‌نماید. کاندیدا آلبیکنس نه تنها باعث عفونتهای فرصت‌طلب



تصویر ۱ – تفکیک اجزای پروتئینی عصاره خام کاندیدا آلبیکنس به روش SDS-PAGA با استفاده از ژل گرادیانت ۱۷/۵-۵ درصد. ستونهای سمت چپ و راست استانداردهای وزن ملکولی است.



تصویر ۲ – تفکیک اجزای پروتئینی عصاره خام کاندیدا آلبیکنس به روش SDS-PAGA با استفاده از ژل ۱۱ درصد. ستون سمت راست استانداردهای وزن ملکولی است که از بالا به پایین شامل: ۶۶، ۴۵، ۳۴/۷، ۲۴ و ۱۴/۳ کیلودالتون می‌باشد و بقیه غلظتهای متفاوتی از عصاره‌اند.

در بیماران سرکوب شده ایمنی می‌گردد، بلکه واکنشهای آلرژیک در افراد حساس شده به این عامل را نیز سبب می‌شود. در دهه‌های اخیر توجهات خاصی به سمت نقش این مخمر به‌عنوان یک عامل مهم آسم برونشیال، رنیت آلرژیک، درماتیت آتوپیک، خارش ژنرالیزه، کهیر مزمن و سندرم کولون تحریک‌پذیر، پیدا شده است (۶، ۵، ۴).

در مطالعه حاضر در تست پوستی با آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس ۵۲/۶ درصد بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و ۵۴/۱ درصد بیماران مبتلا به آسم پاسخ مثبت نشان دادند و به‌طور کلی نتیجه این تست در ۵۳/۳ درصد بیماران مثبت بود. در مطالعه Koivikko و همکاران ۵۶/۷ درصد از بیماران مبتلا به آسم برونشیال و درماتیت آتوپیک تست خراش جلدی مثبت به عصاره آنتی‌ژنی کاندیدا آلبیکنس نشان دادند (۷). همچنین در بررسی Savolainen در فنلاند ۵۱/۳ درصد بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک در تست خراش جلدی واکنش مثبت نشان دادند (۱۴). در مطالعه دیگری که توسط Akiyama و همکاران برروی افراد آسمی صورت گرفت ۷۱ نفر از ۱۴۹ نفر تست پوستی مثبت به آنتی‌ژنهای کاندیدا آلبیکنس داشتند که نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعات فوق هماهنگی دارد (۱).

در بیماران آتوپیک پاسخهای ایمنی سلولی ضعیف می‌باشد. از طرفی در دفاع برعلیه کاندیدا آلبیکنس سیستم ایمنی سلولی نقش اولیه را بازی می‌کند (۱۱). بنابراین هر نقصی در این سیستم به‌طور اولیه می‌تواند سبب رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس و القای تولید IgE اختصاصی گردد. در نتیجه حضور کاندیدا آلبیکنس پاسخهای آنتی‌بادی را جهت حذف این مخمر تحریک می‌نماید. Koivikko و همکاران بین حضور کاندیدا آلبیکنس در نازوفارنکس و مجرای گوارشی با حساسیت پوستی فوری ارتباط مثبت و با ازدیاد حساسیت تأخیری ارتباط منفی مشاهده نمودند (۷). همچنین Savolainen و همکاران بین پاسخ IgE اختصاصی برعلیه کاندیدا آلبیکنس و علایم درماتیت آتوپیک با حمل این مخمر در دستگاه گوارش ارتباط مثبتی را نشان دادند (۱۱).

در این مطالعه اختلاف بین دو جنس مذکر و مؤنث از نظر میزان موارد واکنش معنی‌دار نبوده است. Lindgren و همکاران نیز عدم تأخیر جنس را برروی شدت درماتیت آتوپیک، آسم و رنیت آلرژیک و نیز نتایج تست جلدی گزارش نموده‌اند.

نتایج این مطالعه نشان داد که گرچه در تست پوستی با آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس وجود سابقه خانوادگی یا شخصی از بیماری درماتیت آتوپیک یا آسم و نوع بیماری آتوپیک سبب تفاوتهایی در میزان موارد واکنش مثبت به آنتی‌ژن مورد نظر گردید، اما با آزمون آماری این اختلاف معنی‌دار نبود. در مطالعه Lindgren و همکاران نیز ۷۰ درصد بچه‌های مبتلا به درماتیت آتوپیک سابقه فامیلی از این بیماری داشته‌اند (۸). همچنین براساس مطالعات این محققین ۵۱ درصد افراد مبتلا به درماتیت آتوپیک بیماریشان همراه با آسم و رنیت آلرژیک بوده است.

براساس نتایج مطالعه حاضر میزان واکنشهای مثبت جلدی در سنین بالا بیشتر بوده است هر چند این اختلاف معنی‌دار نیست اما به‌نظر می‌رسد در سنین بالا به دلایل مختل از جمله اختلال در سیستم ایمنی، مصرف داروهایی که تعادل فلور مخاطی را بر هم می‌زند و ... کلنیزاسیون کاندیدا آلبیکنس در سطوح مخاطی بیشتر خواهد بود و از آنجا که رشد ساپروفیتی کاندیدا آلبیکنس در سطوح مخاطی با پاسخهای جلدی فوری نسبت به این عامل ارتباط مثبتی دارد، این نکته می‌تواند توجیه‌کننده موارد بیشتر پاسخهای مثبت در این سنین باشد. یافته‌های تحقیق حاضر در تأیید نتایج دیگر مطالعات نشان می‌دهد که درصد بالایی از بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم دارای واکنش مثبت به آنتی‌ژنهای کاندیدا آلبیکنس می‌باشند. از آنجا که این مخمر در سطوح مخاطی بسیاری از افراد حضور دارد لذا کنترل کلنیزاسیون آن در سطوح مخاطی در چنین مواردی اثرات سودمندی خواهد داشت و احتمالاً با درمان ضدقارچی می‌توان به بهبودی بیماری کمک نمود. پیشنهاد می‌گردد در کلینیکهای پوست و آسم استفاده از تست پوستی با آنتی‌ژن کاندیدا آلبیکنس به‌عنوان قسمتی از ارزیابیهای بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک و آسم محسوب شود.

References

1. Akiyama, K.Y., Shida, T. and Miyamoto, T. (1981): Relationship between the results of skin, conuanctival and bronchial tests and RAST with Candida albicans. Clinical, Allergy, 11: 343-351.
2. Horner, W.E., Helbling, A. and Solvaggio, J.E. (1995): Fungal Allergens. Clin. Microbiol. Revi. 8(2): 161-176.
3. Axelsen, N.H. (1973): Ouantitative immuno electrophoretic Methods as tools for a poly valent approach to standardization in the immuno chemistry of Candida albicans. Infect. Immun., 7(6): 949-960.
4. Itkin, I.H. and Dennis, M. (1966): Bronchial hypersensitivity to extract of Candida albicans. J. Allergy, 37: 187-194.
5. James, J. and Warin, P. (1971): An assessment of the role of Candida albicans and food yeasts in chronic urticaria. Br. J. Dermatol: 84: 227-237.
6. Keeney, E.L. (1951): Candida asthma Ann. Intern. Med., 34: 233-6.
7. Koivikko, K. (1988): Relationship of immediate and delayed hypersensitivity to nasopharyn geal and intestinal growth of Candida albicans in allergic Subjects Allergy, 43: 201-205.
8. Lindgren, L. (1995): Occurrence and clinical features of sensitization to pityrosporum ovale and other allergens in children with atopic dermatitis. Acta. Derm. Venerol., 75: 300-304.
9. Longbottom, J. and Brighton, W. (1976): Antibody mediating type I skin reactions to polysaccharide and protein antigens of Candida albicans. Clin. Allergy, 6: 41-49.
10. Odds, F.C. (1988): Candida and candidosis, 2nd Ed. London, Bailliere Tindall.
11. Savolainen, J. (1990): IgE, IgA and IgG antibodies and delayed skin response towards Candida albicans antigens in atopic with and without Saprophytic growth. Clin. Exp. Aller., 20: 549-554.
12. Savolainen, J. (1995): A standardised densitometric immunobloting analysis of Candida albicans allergens. Clin. Exp. Aller, 25: 357-63.
13. Savolainen, J. and Kalimo, K. (1998): In house refrence (IHR) preparation of Candida albicans allergen extract. Allergy, 53: 359-360.
14. Savolainen, J. (1993): Candida albicans and atopic dermatitis. Clin. Exp. Aller., 23: 332-339.
15. Tanaka, M. and Setsuya, A. (1994): IgE Mediated hypersensitivity and contact sensitivity to multiple environmental allergens in atopic dermatitis. Arch. Dermatol, 130: 1393-1401.
16. Vickers, G.F.H. (1980): The natural history of atopic eczema. Acta. Derm. Venerol., 92 (Supp. 1): 113.
17. Vijaya Kumar, B., Medoff, G., Kobayashi, G.S. and Leo Sieling, W. (1985): Cross-reacting human and rabbit antibodies to antigens of Histoplasma copsulatum, Candida albicans and Saccharomyces cervisiae. Infect. Immun; 48: 806-812.
18. Yssel, H., Abbal, C. and Pene, J. (1998): The role of IgE in asthma. Clin. Exp. Aller., 28, Supp., 5: 104-109.

Evaluation of the skin hypersensitivity reactions to candida albicans antigens in patients with atopic dermatitis and asthma

Naseri Bandgharai, A.[1], Khosravi, A.R.[2*], Moazzeni, S.M.[3] Mansouri, P.[4]

[1]*Department of Microbiology, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran.* [2]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [3]*Department of Immunology, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran.* [4]*Department of Dermatology, Imam Khomeni Hospital, Tehran - Iran.* [*]*Correspondence and Reprint Request.*

In order to evaluate of skin reactions to C. albicans antigens, a study was caried out during 12 months period. A total of 180 patients (95 cases of Atopic dermatitis and 85 Asthmatic patients), from outpatient Clinics of Dermatology, Imam Khomeni Hospital and Tehran Allergy Clinic were selected. From these patients 62 (34.4%) were male and 118 (65.6%) were female. After preparation of the antigens, the skin prick test was performed for all the patients. The positive results were obtained in 53.3% of patients and 4.3% of healthy controls. In this study, the same positive results in atopic dermatitis and asthmatic patients were 52.6% and 54.1%, respectively. The most common positive responses age group, were 20-29 and >50 years old.

Key words : Candida albicans, Atopic dermatitis, Asthma, Allergy.