

بررسی سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن از نظر IgG و IgE اختصاصی نسبت به کاندیدا آلبیکانس با روش ایمونوبلاتینگ

محمدتقی هدایتی (Ph.D.) * حمید بدلی (M.Sc) ** فرزانه واشقانی فراهانی (M.D.) ***
سیدرضا عقیلی (M.Sc.) **** رضا علی محمدپور (Ph.D.) *****

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدا آلبیکانس از میکروفلورهای محیط واژن می باشد. نحوه واکنش به اجزاء آنتی ژنی کاندیدا آلبیکانس در بیماران مختلف، متفاوت بوده و احتمالاً در سیر بالینی بیماری می تواند نقش تعیین کننده ای داشته باشد؛ لذا در مطالعه حاضر آنتی بادی های IgG و IgE ایجاد شده بر علیه کاندیدا آلبیکانس در سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن کاندیدایی و غیر کاندیدایی با روش ایمونوبلاتینگ مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: کاندیدا آلبیکانس در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. سلول های مخمری از سطح کشت جمع آوری گردید. پس از شکستن سلول های مخمری، نمونه ها سانتریفوژ گردید (دور ۲۵۰۰۰ به مدت ۱/۵ ساعت). قسمت روی محلول به عنوان عصاره خام جدا گردید. سپس عصاره خام با روش SDS-PAGE از نظر پروتئین تفکیک گردید. پس از انتقال پروتئین های تفکیک شده به صفحه نیتروسلوز، اجزاء پروتئینی با سرم های بیماران مورد مطالعه مجاور شدند و باندهای پاسخ دهنده به IgG و IgE با آنتی بادی های ضد IgG و IgE انسانی که به وسیله آنزیم، نشان دار شده بود در یک سوبسترای رنگی نمایان شد.

یافته ها: در SDS-PAGE تعداد ۱۵ باند پروتئینی مختلف با وزن مولکولی بین ۷۵-۱۳ کیلودالتون شناسایی شد. در ایمونوبلاتینگ، هیچ کدام از باندهای پروتئینی با IgE اختصاصی واکنشی نشان نداد. اما باندهای پروتئینی با وزن های مولکولی ۲۵ و ۵۲ کیلودالتون با IgG سرم های به دست آمده از بیماران مبتلا به واژینیت مزمن کاندیدایی در ۱۰۰ درصد موارد واکنش قوی نشان دادند. در صورتی که ۱۰۰ درصد بیماران مبتلا به واژینیت حاد کاندیدایی تنها با باند پروتئینی ۴۷ کیلودالتون، واکنش قوی نشان دادند و ۵۵ درصد بیماران مبتلا به واژینیت مزمن غیر کاندیدایی تنها با باند ۴۷ کیلودالتون، واکنش ضعیف نشان دادند.

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آنتی بادی IgG ضد کاندیدایی بر علیه باندهای پروتئینی ۲۵ و ۵۲ کیلودالتون می تواند با دوره های مزمن و پاسخ نیرومند با آنتی ژن ۴۷ کیلودالتونی با شکل حاد واژینیت کاندیدایی در ارتباط باشد؛ لذا آشکار ساختن این باندهای پروتئینی در بیماران مبتلا به واژینیت مزمن و حاد می تواند از راه کارهای تشخیصی ولوو واژینیت مزمن و حاد باشد.

واژه های کلیدی: کاندیدا آلبیکانس، واژینیت، IgE، ایمونوبلاتینگ

این تحقیق طی شماره ۴۹-۸۰ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

* دکترای قارج شناسی و انگل شناسی پزشکی عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

✉ ساری: خیابان وصال شیرازی- دانشکده بهداشت

** دانشجوی کارشناسی ارشد قارج شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران *** متخصص زنان و زایمان- عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

**** کارشناسی ارشد قارج شناسی و انگل شناسی پزشکی، عضو هیأت علمی، (مربی) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

***** دکترای آمار حیاتی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۸۲/۶/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/۹/۸ تاریخ تصویب: ۸۳/۲/۲

مقدمه

واژینیت یکی از مسائل شایع در طب بالینی است که باعث ابتلاء سالانه ۵ تا ۱۰ میلیون نفر می شود (۱). یکی از انواع مهم این عارضه، ولو و واژینیت کاندیدایی^۱ است که در برخی از کشورها اولین علت واژینیت های عفونی را تشکیل می دهد (۲). مطالعات نشان داده است که ۷۵ درصد خانم ها حداقل یک بار در طول زندگی به این عارضه مبتلا می شوند (۲). از بغرنج ترین حالات ولو و واژینیت کاندیدایی، اشکال عود کننده آن می باشد که در ۲۰ تا ۲۵ درصد خانم ها بعد از هر دوره درمان مجدداً خود را نشان می دهد (۳).

کاندیدا آلیکانس از میکروفلورهای محیط واژن می باشد که در صورت وجود شرایط مناسب می تواند در ایجاد واژینیت های عود کننده (RVVC)^۲ دخالت داشته باشد. در موارد کمی، عوامل مساعد کننده ای نظیر دیابت، نقص سیستم ایمنی، کاربرد آنتی بیوتیک و کورتیکواستروئید، علت عود بیماری می باشند. متأسفانه، در اکثر مواقع عامل خطر خاصی برای عود بیماری تعیین نشده است (۴). در سالیان اخیر توجه زیادی به نقش احتمالی حساسیت به آنتی ژن های کاندیدا آلیکانس به ویژه IgE ایجاد شده بر علیه آن، در بروز ولو و واژینیت کاندیدایی مزمن شده است (۶،۵). در مطالعه Giraldo و همکاران (۲۰۰۰) مشخص شده است که برخی از بیماران مبتلا به واژینیت های مزمن و عود کننده نسبت به آنتی ژن های کاندیدا آلیکانس، افزایش حساسیت نشان می دهند (۷). در مطالعه Witkin و همکاران (۱۹۸۹) افزایش آنتی ژنوفیل و آنتی بادی IgE در ترشحات واژن زنان مبتلا به RVVC مشخص گردید و همچنین اظهار شده است که آنتی بادی IgE ضد کاندیدا در ترشحات این دسته از بیماران، سبب افزایش حساسیت موضعی می شود (۵). در مطالعه ای دیگر همین محققین (۱۹۸۸)

نشان دادند که واکنش های حساسیتی، علایم را طولانی و ابتلاء به عفونت مجدد را مستعد می نمایند (۶). در مطالعه Ishiguro و همکاران (۱۹۹۲) بر روی سرم بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدایی، IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلیکانس مشاهده نگردید؛ در حالی که آنتی بادی های IgG، IgA و IgM اختصاصی بر علیه کاندیدا آلیکانس تشخیص داده شد (۸). اهمیت واکنش های حساسیتی القاء شده به وسیله کاندیدا آلیکانس به نحو بسیار جالبی در مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده شده است. در این مطالعه با ایمنی درمانی بر علیه کاندیدا آلیکانس در بیماران مبتلا به RVVC که به هیچ گونه درمان دارویی پاسخ نمی دادند، بیش تر از ۹۰ درصد علایم، بهبود یافت (۹).

در مطالعات محققین مختلف با روش ایمونوبلاتینگ مشخص گردید که کاندیدا آلیکانس دارای اجزا آنتی ژنی متعددی می باشد به طوری که در اشکال مختلف کاندیدایاز، آنتی بادی علیه اجزا خاصی از آن آشکار می شود (۱۰ تا ۱۲). لذا در مطالعه حاضر با ایمونوبلاتینگ علاوه بر جست و جوی آنتی بادی های IgE و IgG بر علیه کاندیدا آلیکانس در سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن، نحوه پاسخ اجزاء آنتی ژنی کاندیدا آلیکانس به این آنتی بادی ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

بیماران مورد بررسی در مطالعه حاضر به طریق نمونه برداری مستمر^۳ انتخاب شدند. بیماران مراجعه کننده به درمانگاه زنان بیمارستان فاطمه الزهرا (س) و

3. Sequential sampling

1. Vulvo Vaginal Candidiasis
2. Recurrent Vulvo Vaginal Candidiasis

تهیه عصاره خام از کاندیدا آلبيکانس :

کاندیدا آلبيکانس جدا شده از ترشحات واژینال بیمار مبتلا به واژینیت کاندیدایی، ابتدا در محیط سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (۵۰ میلی گرم در یک لیتر) به صورت انبوه کشت داده شد. سپس سوسپانسیون غلیظی از مخمر در آب مقطر استریل تهیه گردید و برای جداسازی عوامل اضافی، عمل شست و شوی مخمر انجام گردید، بدین ترتیب که سوسپانسیون حاوی سلول‌های مخمری به داخل لوله‌های سانتریفوژ استریل ریخته و با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و پس از جداسازی قسمت رویی مایع، بار دیگر از رسوب مخمری به کمک آب مقطر استریل، سوسپانسیونی تهیه شد. این عمل سه بار تکرار گردید و رسوب مخمری جمع‌آوری گردید. برای شکستن سلول‌های مخمری و تهیه عصاره خام از روش ورتکس با دانه‌های شیشه‌ای استفاده گردید. بدین ترتیب که سوسپانسیونی از رسوب مخمری با PBS^۵ (۰/۰۵ مولار pH=۷/۴) تهیه گردید. سپس مقداری از آن در داخل لوله حاوی تعدادی دانه شیشه‌ای ریخته شد؛ به طوری که سوسپانسیون کمی بالاتر از دانه‌های شیشه‌ای قرار گرفت، سپس درب لوله بسته شد و با دور بالا ورتکس گردید. برای خنک نگه داشتن سوسپانسیون بعد از هر یک دقیقه ورتکس، لوله به مدت ۵ دقیقه در داخل حردده‌های یخ قرار داده شد. این عمل ده بار انجام گردید. پس از اطمینان از شکسته شدن مخمرها، سوسپانسیون مخمری به مدت یک شب در داخل یخچال نگهداری گردید. پس از آن برای جداسازی پس مانده سلولی به مدت ۳۰ دقیقه و در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ گردید. پس از برداشت

درمانگاه شماره ۸ دانشگاه علوم پزشکی مازندران که دارای مشکل واژینیت بودند به وسیله متخصص زنان و زایمان مورد معاینه قرار گرفته و براساس معیار ارائه شده به وسیله جانان برگ و همکاران در دو گروه واژینیت حاد و مزمن قرار گرفتند (۱۳). افراد مبتلا به دیابت و یا در حال مصرف داروهای استروئیدی از مطالعه خارج شدند. سپس با استفاده از سواب مرطوب استریل از ترشحات واژینال نمونه‌برداری به عمل آمد و در آزمایشگاه با روش آزمایش مستقیم و کشت از نظر نوع واژینیت میکروبی مورد مطالعه قرار گرفت. بیمارانی که از نظر تریکوموناس و عوامل باکتریایی در روش‌های آزمایشگاهی مثبت بودند از مطالعه خارج شدند و نمونه‌های مثبت از نظر کاندیدا با روش کشت در محیط کورن-میل آگار+توین ۸۰ و همچنین آزمون لوله زایا از نظر وجود کاندیدا آلبيکانس تأیید شده و نمونه‌های غیر کاندیدا آلبيکانس نیز از مطالعه خارج شدند و براساس نتیجه آزمایشگاهی، بیماران در چهار گروه ۲۰ نفره طبقه‌بندی شدند: الف- بیماران مبتلا به واژینیت حاد کاندیدایی (ACV)^۱ ب- بیماران مبتلا به واژینیت حاد غیر میکروبی (ANV)^۲ ج- بیماران مبتلا به واژینیت مزمن کاندیدایی (CCV)^۳ د- بیماران مبتلا به واژینیت مزمن غیر میکروبی (CNV)^۴. لازم به ذکر می‌باشد که بیماران مبتلا به واژینیت غیر میکروبی افرادی بودند که در روش‌های آزمایشگاهی فاقد هرگونه عامل میکروارگانیسمی بودند. همچنین از تمامی بیماران به میزان ۵^{cc} خون‌گیری به عمل آمد که پس از جداسازی سرم آن‌ها تا زمان اجرای فعالیت‌های بعدی در فریزر ۲۰^{cc}- نگهداری گردید.

5. Phosphate buffered saline

1. Acute candidal vaginitis
2. Acute non-microbial vaginitis
3. Chronic candidal vaginitis
4. Chronic non-microbial vaginitis

نیتروسولوز با جریان الکتریکی ۳۰۰ میلی آمپر به مدت ۳ ساعت و در ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفت. بعد از عمل انتقال برای متوقف ساختن اتصالات غیراختصاصی صفحه نیتروسولوز در ظرف حاوی PBS، BSA^۲ (۱ درصد) و توین ۲۰ (۰/۰۵ درصد) (PBS-BSA-TW) به مدت یک شب و در ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از آن در بافر شستشو (PBS-TW) سه بار و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو شد. سپس کاغذ نیتروسولوز برش داده شد و در چاهک های مخصوص که حاوی سرم بیماران (برای هر بیمار به طور جداگانه) با رقت ۱:۱ در PBS-BSA-TW بود، به مدت ۲ ساعت و در حرارت اتاق قرار داده شد، پس از آن مجدداً سه بار عمل شست و شو انجام گردید. سپس به هر کدام از چاهک ها، آنتی بادی ضد IgE و IgG انسانی کونژوگه با HRP^۳ (به ترتیب با رقت ۱:۱۱ و ۱:۱۰۰۰ با PBS-BSA-TW) اضافه و به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی و در حرارت اتاق قرار داده شد. پس از شست و شو، برای نمایان ساختن اجزاء متصل شونده به IgE یا IgG از سوبسترای مناسب (۶ میلی گرم DAB^۴ در ۹ میلی لیتر تریس ۰/۰۱ مولار با pH=۷/۶ و ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد) استفاده شد. در نهایت با اندازه گیری فاصله طی شده توسط مولکول از مبدأ و تعیین RF^۵ آن و با استفاده از منحنی استاندارد، وزن مولکولی پروتئین های رنگ شده تعیین گردید.

یافته ها

تصویر شماره ۱، اجزاء پروتئینی کاندیدا آلبیکانس را در روش SDS-PAGE نشان می دهد. با این روش مشخص گردید که کاندیدا آلبیکانس از ۱۵ باند

قسمت رویی مایع، مجدداً به مدت ۱/۵ ساعت و با دور ۲۵۰۰ و در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ (SORVALL) گردید. قسمت رویی مایع به آرامی برداشت گردید و در لوله های اپندورف تقسیم گردید و تا مراحل بعدی کار در ۳۰°C نگهداری گردید.

SDS-PAGE^۱

این روش در یک تانک الکتروفوز عمودی (اختریان-تهران) Laemmli (۱۹۷۰) با ژل جداکننده ۱۲/۵ درصد (بافرژل جدا کننده pH=۸/۸، Tris-Hcl 3M) و ژل متراکم کننده ۴ درصد (بافرژل متراکم کننده pH=۶/۸، Tris-Hcl 0.025M، Glycin 0.192M، SDS، pH=۸/۳) (0.1% W/V) با جریان الکتریکی ۲۰۰ ولت و به مدت ۴ ساعت انجام گردید (۱۴). نمونه ها به صورت دوتایی و در دو جهت مختلف به حفره ها اضافه شدند، که یکی از نمونه ها برای انجام ایمونوبلاتینگ و دیگری با CBB^۳ رنگ آمیزی شد. محلول رنگ آمیزی شامل متانول ۴۰ درصد، اسید استیک ۱۰ درصد و CBB ۰/۱ درصد در آب مقطر بود. برای رنگ زدایی ژل از محلول متانول ۳۰ درصد و اسید استیک ۱۰ درصد به مدت ۲ ساعت استفاده شد.

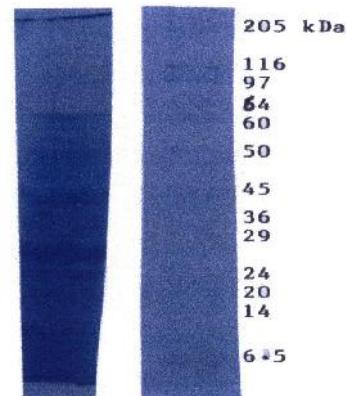
ایمونوبلاتینگ

برای انتقال پروتئین های مجزا شده و پروتئین استاندارد از ژل جدا کننده به صفحه نیتروسولوز ۰/۴۵ میکرومتر (Sorvall, CN 111) از تانک بلاتینگ مرطوب (اختریال-تهران) و با روش Towbin همکاران (۱۹۷۹) استفاده گردید (۱۵). بافر انتقال حاوی گلايسين (192 mmol)، تریس (25 mmol)، SDS (0.03% w/v) و متانول (۲۵% V/V pH=۸/۳) در آب مقطر بود. عمل انتقال پروتئین از ژل به صفحه

2. Bovine serum albumine
3. Anti human IgE or IgG conjugated with horseradish peroxides
4. 3,3 diaminobenzidine tetrahydrochloride (sigma)
5. Relative migration

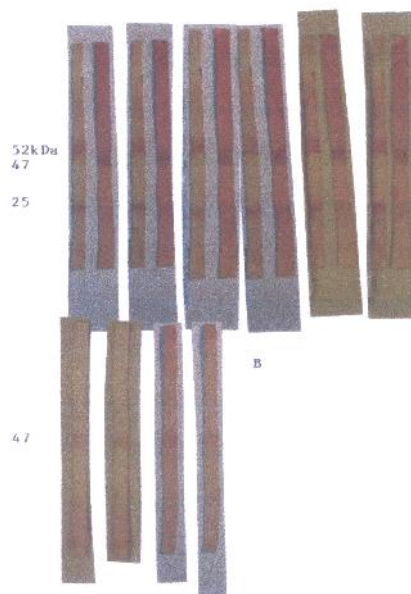
1. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis

پروتئینی با اوزان مولکولی بین ۱۳ تا ۷۵ کیلودالتون تشکیل شده است.



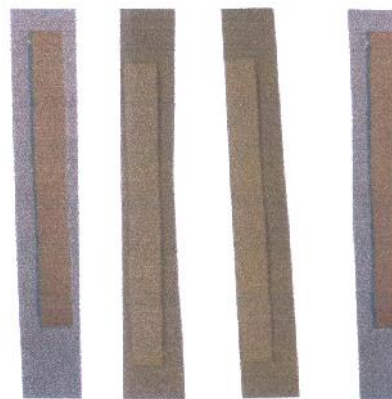
تصویر شماره ۱: نحوه تفکیک اجزاء پروتئینی کاندیدا آلبيکانس با روش SDS-PAGE

تصویر شماره ۳، نحوه پاسخ آنتی ژن‌های پروتئینی کاندیدا آلبيکانس در مواجهه با سرم بیماران مورد مطالعه از نظر IgG اختصاصی نسبت به کاندیدا آلبيکانس را با روش ایمونوبلاتینگ نشان می‌دهد. به طور کلی از مجموع ۸۰ بیمار مورد مطالعه، ۵۱ نفر (۶۳/۷۵ درصد) با IgG اختصاصی نسبت به کاندیدا آلبيکانس واکنش نشان دادند؛ باندهای واکنش دهنده، باندهای پروتئینی با اوزان مولکولی ۲۵، ۴۷ و ۵۲ بودند. بیش‌ترین میزان واکنش، با آنتی ژن ۴۷ کیلو دالتون با نسبت ۴۱/۲۵ درصد بوده است. تمامی بیماران مبتلا به CCV با باندهای پروتئینی ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون، واکنش نیرومند داشتند. تمامی بیماران مبتلا به ACV با باند پروتئینی ۴۷ کیلو دالتون، واکنش قوی نشان دادند. از ۲۰ بیمار مبتلا به CNV، ۱۱ بیمار (۵۵ درصد) با باند پروتئینی ۴۷ کیلو دالتون، واکنش ضعیف داشتند. بیماران مبتلا به ANV به هیچ‌کدام از باندهای پروتئینی کاندیدا آلبيکانس، واکنش نشان ندادند (جدول شماره ۱).



تصویر شماره ۳: نحوه پاسخ پروتئین‌های تفکیک شده کاندیدا آلبيکانس با IgG اختصاصی سرم بیماران مورد مطالعه (A باندهای نیرومند ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون در بیماران مبتلا به ACV و B-CCV باند ضعیف در بیماران مبتلا به CNV)

تصویر شماره ۲، نحوه پاسخ آنتی ژن‌های کاندیدا آلبيکانس در مواجهه با سرم بیماران مورد مطالعه از نظر IgE اختصاصی را با روش ایمونوبلاتینگ نشان می‌دهد. هیچ‌کدام از اجزاء پروتئینی کاندیدا آلبيکانس با سرم بیماران مورد مطالعه از نظر IgE اختصاصی واکنش نشان نداد.



تصویر شماره ۲: نحوه پاسخ پروتئین‌های تفکیک شده کاندیدا آلبيکانس با IgE اختصاصی سرم بیماران مورد مطالعه

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی واکنش آنتی ژن های ۲۵، ۴۷ و ۵۲ کیلو دالتونی کاندیدا آلبیکانس با آنتی بادی IgG سرم بیماران مورد مطالعه.

نوع بیماری	تعداد بیماران	۲۵	۴۷	۵۲ (kDa)
CCV ^۱	۲۰	%۱۰۰	ND	%۱۰۰
ACV ^۳	۲۰	ND ^۲	%۱۰۰	ND
CNV ^۴	۲۰	ND	%۵۵	ND
ANV ^۵	۲۰	ND	ND	ND
جمع	۸۰	%۲۵	%۴۱/۲۵	%۲۵

1. Chronic candidal vaginitis
2. None detected
3. Acute candidal vaginitis
4. Chronic non-Microbial vaginitis
5. Acute non-microbial vaginitis

بحث

در مطالعه حاضر، عصاره آنتی ژنی به دست آمده از کاندیدا آلبیکانس، ۱۵ باند پروتئینی با اوزان مولکولی ۱۳ تا ۷۵ کیلو دالتون را ظاهر ساخت. نتایج بررسی حاضر، تشابهات و اختلافاتی را با مطالعات محققین دیگر نشان می دهد. Shen و همکاران (۱۹۸۹)، ۲۰ باند پروتئینی با وزن های مولکولی ۱۰ تا ۱۵۰ کیلو دالتون را در کاندیدا آلبیکانس نشان دادند. Ishiguro و همکاران (۱۹۹۲) با همین روش ۲۴ باند پروتئینی با اوزان مولکولی ۱۴ تا ۱۵۲ کیلو دالتون را در کاندیدا آلبیکانس نشان دادند (۸). به نظر می رسد عواملی نظیر عصاره گیری از کاندیدا آلبیکانس به دست آمده از منابع مختلف و در مراحل مختلف رشد مخمر، نحوه و میزان شکستن سلول های مخمری، روش عصاره گیری و استفاده از پروتئین های استاندارد تهیه شده از مراکز تجاری مختلف و همچنین نحوه اجرای تکنیک SDS-PAGE در به وجود آوردن این تغییرات دخالت داشته باشند.

نتایج حاصل از روش ایمونوبلاتینگ نشان داد که سرم بیماران مورد مطالعه، حاوی IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکانس نمی باشد؛ لذا هیچ گونه واکنشی بین اجزاء پروتئینی کاندیدا آلبیکانس و IgE اختصاصی بر علیه

آن در مطالعه حاضر مشاهده نشده است. در حالی که اجزاء پروتئینی با اوزان مولکولی ۲۵، ۴۷ و ۵۲ کیلو دالتون کاندیدا آلبیکانس با IgG اختصاصی سرمی بیماران مورد مطالعه واکنش مشخصی نشان دادند، نحوه پاسخ در بین بیماران بسیار متفاوت بود. مقایسه نتایج به دست آمده از گروه های مختلف بیماران نشان داد که در حضور کاندیدا آلبیکانس در محیط واژن در حالت مزمن واژینیت کاندیدایی، پاسخ با IgG اختصاصی نسبت به آنتی ژنی ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون وجود دارد؛ در حالی که در شکل حاد، واکنش نیرومند تنها با باند ۴۷ کیلو دالتونی مشاهده شده است و در عدم حضور کاندیدا آلبیکانس در شکل مزمن، واکنش ضعیفی با باند ۴۷ کیلو دالتونی وجود داشته است؛ شاید این موضوع نشانگر این باشد که اولین آنتی بادی IgG ساخته شده در بدن بر علیه کاندیدا آلبیکانس نسبت به آنتی ژن ۴۷ کیلو دالتون باشد که از دوام بیش تری هم برخوردار می باشد؛ به طوری که در بیماران مبتلا به CNV بسیاری از آن ها (۵۵ درصد) علی رغم منفی شدن محیط واژن از نظر وجود کاندیدا آلبیکانس در ایمونوبلاتینگ، باند ضعیفی بر علیه IgG اختصاصی آشکار نساخند که ضعیف بودن آن شاید ناشی از تحلیل تدریجی این آنتی بادی در سرم این گونه بیماران باشد. همچنین نتایج ایمونوبلاتینگ مشخص نموده است که IgG سرم بیماران مبتلا به واژینیت مزمن کاندیدایی، در مقابل آنتی ژن های ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون کاندیدا آلبیکانس، واکنش نیرومندی دارند که می تواند بیانگر حضور مرتب آنتی ژن در بدن فرد مبتلا باشد. نتایج مطالعه Ishiguro همکاران (۱۹۹۳) که با روش ایمونوبلاتینگ سرم بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدایی و افراد سالم را آنالیز نمودند، با مطالعه حاضر هماهنگی نسبی را نشان می دهد (۸). در مطالعه Ishiguro و همکاران (۱۹۹۲) نظیر مطالعه حاضر، هیچ کدام از باندهای پروتئینی کاندیدا آلبیکانس با IgE اختصاصی

براساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و سایر مطالعات مرتبط، به نظر می‌رسد برخی از آنتی‌ژن‌های کاندیدا آلبیکانس می‌توانند علاوه بر تاثیر در سیر بالینی بیماری جنبه تشخیصی نیز پیدا نمایند. در مطالعه حاضر مشخص شده است که حضور نیرومند آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن ۴۷ کیلودالتونی با شکل حاد و وجود آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های ۲۵ و ۵۲ کیلودالتونی کاندیدا آلبیکانس می‌تواند با سیر مزمن بیماری در ارتباط باشد؛ لذا آشکار ساختن این باندهای پروتئینی در بیماران مبتلا به واژینیت مزمن و حاد می‌تواند از راه کارهای تشخیصی وولو واژینیت کاندیدایی مزمن و حاد باشد. برای دستیابی به نتایج دقیق و کاربردی تحقیقات بیش تری در این زمینه توصیه می‌شود.

سپاسگزارى

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است که بدین وسیله از کلیه همکاران محترم حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. همچنین از کلیه بیماران عزیز که اجازه دادند تا این تحقیق انجام شود نیز قدردانی می‌شود.

سرمی، پاسخ مشخصی را آشکار نساختند در حالی که ۴ باند پروتئینی با اوزان مولکولی ۲۹، ۵۲، ۶۲ و ۶۷ کیلو دالتون با IgG سرمی بیماران مبتلا واکنش دادند.

اگرچه در مطالعه حاضر و همچنین مطالعه Ishiguro و همکاران (۱۹۹۲)، IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکانس در سرم بیماران آشکار نشده است؛ به نظر می‌رسد با توجه به مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۰) نتوان از نقش حساسیتی کاندیدا آلبیکانس در این گونه بیماران به راحتی گذشت (۹). در مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده شد که ایمنی درمانی به وسیله آلرژن کاندیدا آلبیکانس در زنان مبتلا به واژینیت عود کننده می‌تواند به نحو بارزی تعداد و شدت عوارض واژینیت‌های کاندیدایی را کاهش دهد. علاوه بر آن نتایج مطالعات محققین دیگر که توانستند IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکانس را در ترشحات واژینال بیماران مبتلا به واژینیت‌های عود کننده مشخص نمایند، نشان می‌دهد که در چنین بیمارانی در واقع یک نوع واکنش حساسیتی موضعی نسبت به کاندیدا آلبیکانس اتفاق می‌افتد (۶، ۵).

فهرست منابع

1. Quan M. Diagnosis and management of infectious vaginitis. *J Am Board Fam Pract.* 1990 Jul-Sep; 3(3): 195-205.
2. Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factor. *Int J Gynaecol Obstet*, 2000 Dec; 71, Suppl 1: 521-7.
3. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*, 1985; 152: 924.
4. Spinillo A, Pizzoli G, Colona L, Nicola S, De Seta F, Guaschino S. Epidemiologic characteristics of woman with idiopathic

- recurrent vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol* 1993 may; 81: 5(Pt1) 721-70.
5. Witkin SS, Jeremias J. Vaginal eosinophils and IgE antibodies to candida albicans in women with recurrent vaginitis. *J Med Vet Mycol*, 1989; 27: 57-80.
 6. Witkin SS, Jeremias J, Ledger WJ. Localized vaginal allergic response in women with recurrent vaginitis *J Allergy Immunol*, 1988 Feb; 81: 412-60.
 7. Girabdo P, Von Nowaskonski A, Gomes FA, Linhares I, Witkin SS. Vaginal colonization by candida in symptomatic women with and without a history of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol*, 2000 Mar; 95: 413-6.
 8. Ishiguro A, Homma M, Sukai T, Higashide K, Torii S, Tanaka K. Immunoblotting analysis of sera from patients with candidal vaginitis and health females. *J Med Vet Mycol*, 1992; 30: 281-92.
 9. Moraes PS, Goiaba S. Candida albicans allergen immunotherapy analysis recurrent vaginal candidiasis. *J Investig Clin Immunol*, 2000 Sep-Oct; 10: 5305-9.
 10. Matthews RC, Burnie JP, Tabaochali S. Isolation of immunodominant antigens from sera of patients with systemic response to candida albicans from sera of patients with systemic response to candida albicans. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 230-70.
 11. Shen HD, Choo KB, Tang RB, Lee CF, Yeh JY, Han SH. Allergenic components of candida albicans identifies by immunoblot analysis. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 191-60.
 12. Wller BI, Simmons PD, Ivani L. Identification of immunodominant antigens of candida aldicans in patients with superficial candidiosis. *Clin Immunol and Immunopathology* 1990; 54: 374-353.
 ۱۳. برگ جانان. *بیماری‌های زنان نوک*، ترجمه امیرخانی ژیلا، ویرایش سیزدهم، تهران: انتشارات ارجمند، ۱۳۸۱، صفحه ۳۰۱-۲۹۸.
 14. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680-50.
 15. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of protein from polyacrylamide gel to nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. *Proc Nalt Acad Sci*. 1979; 76: 4350-40.