

# بررسی سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن از نظر IgE و IgG

## اختصاصی نسبت به کاندیدا آلبیکانس با روش ایمونوبلاتینگ

محمد تقی هدایتی<sup>\*\*\*(Ph.D.)</sup> حمید بدی<sup>\*\*\*(M.Sc.)</sup> فرزانه واشقانی فراهانی<sup>(M.D.)</sup>  
سید رضا عقیلی<sup>\*\*\*\*\*(Ph.D.)</sup> رضا علی محمد پور<sup>\*\*\*\*(M.Sc.)</sup>

### چکیده

سابقه و هدف: کاندیدا آلبیکانس از میکروفلورهای محیط واژن می‌باشد. نحوه واکنش به اجزاء آنتی‌ژنی کاندیدا آلبیکانس در بیماران مختلف، متفاوت بوده و احتمالاً در سیر بالینی بیماری می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای داشته باشد؛ لذا در مطالعه حاضر آنتی‌بادی‌های IgE و IgG ایجاد شده بر اعلیه کاندیدا آلبیکانس در سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن کاندیدایی و غیرکاندیدایی با روش ایمونوبلاتینگ مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: کاندیدا آلبیکانس در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. سلول‌های مخمری از سطح کشت جمع‌آوری گردید. پس از شکستن سلول‌های مخمری، نمونه‌ها سانتریفیوژ گردید (دور ۲۵۰۰ به مدت ۱/۵ ساعت). قسمت روی محلول به عنوان عصاره خام جدا گردید. سپس عصاره خام را روش SDS-PAGE از نظر پروتئین تفکیک گردید. پس از انتقال پروتئین‌های تفکیک شده به صفحه نیتروسلوز، اجزاء پروتئینی با سرم‌های بیماران مورد مطالعه مجاور شدند و باندهای پاسخ‌دهنده به IgE و IgG با آنتی‌بادی‌های ضد IgE و IgG انسانی که به وسیله آنزیم، نشان دار شده بود در یک سوبسترای رنگی نمایان شد.

یافته‌ها: در تعداد ۱۵ باند پروتئینی مختلف با وزن مولکولی بین ۷۵-۱۳ کیلو دالتون شناسایی شد. در ایمونوبلاتینگ، هیچ کدام از باندهای پروتئینی با IgE اختصاصی واکنشی نشان نداد. اما باندهای پروتئینی با وزن‌های مولکولی ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون با IgG سرم‌های 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 تها با باند پروتئینی ۴۷ کیلو دالتون، واکنش قوی نشان دادند و ۵۵ درصد بیماران مبتلا به واژینیت مزمن غیرکاندیدایی تنها به باند ۴۷ کیلو دالتون، واکنش ضعیف نشان دادند.

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آنتی‌بادی IgG ضد کاندیدایی بر اعلیه باندهای پروتئینی ۵۲ و ۴۷ کیلو دالتون می‌تواند با دوره‌های مزمن و پاسخ نیرمند با آنتی‌ژن ۴۷ کیلو دالتونی با شکل حاد واژینیت کاندیدایی در ارتباط باشد؛ لذا آشکار ساختن این باندهای پروتئینی در بیماران مبتلا به واژینیت مزمن و حاد می‌تواند از راه کارهای تشخیصی ولو و واژینیت مزمن و حاد باشد.

**واژه‌های کلیدی:** کاندیدا آلبیکانس، واژینیت، IgE، IgG، 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 فارج شناسی و انگل شناسی پزشکی عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران ساری: خیابان وصال شیرازی-دانشکده بهداشت

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

\*\*\*\* کارشناسی ارشد فارج شناسی و انگل شناسی پزشکی، عضو هیأت علمی، (مری) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

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

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

## مقدمه

نشان دادند که واکنش‌های حساسیتی، عالیم را طولانی و ابتلاء به عفونت مجدد را مستعد می‌نمایند<sup>(۶)</sup>. در مطالعه Ishiguro و همکاران<sup>(۱۹۹۲)</sup> بر روی سرم بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدایی، IgE اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکانس مشاهده نگردید؛ درحالی که آنتی‌بادی‌های IgG، IgA و IgM اختصاصی بر علیه کاندیدا آلبیکانس تشخیص داده شد<sup>(۸)</sup>. اهمیت واکنش‌های حساسیتی القاء شده به وسیله کاندیدا آلبیکانس به نحو بسیار جالبی در مطالعه Moraes و همکاران<sup>(۲۰۰۰)</sup> نشان داده شده است. در این مطالعه با اینمی درمانی بر علیه کاندیدا آلبیکانس در بیماران مبتلا به RVVC که به هیچ گونه درمان دارویی پاسخ نمی‌دادند، بیش تر از ۹۰ درصد عالیم، بهبود یافت<sup>(۹)</sup>. در مطالعات محققین مختلف با روش ایمونوبلاتینگ مشخص گردید که کاندیدا آلبیکانس دارای اجزا آنتی‌ژنی متعددی می‌باشد<sup>(۱۰)</sup> به طوری که در اشکال مختلف کاندیدیاز، آنتی‌بادی علیه اجزا خاصی از آن آشکار می‌شود<sup>(۱۱)</sup>. لذا در مطالعه حاضر با ایمونوبلاتینگ عالوه بر جست و جوی آنتی‌بادی‌های IgE و IgG بر علیه کاندیدا آلبیکانس در سرم بیماران مبتلا به واژینیت حاد و مزمن، نحوه پاسخ اجزاء آنتی‌ژنی کاندیدا آلبیکانس به این آنتی‌بادی‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

بیماران مورد بررسی در مطالعه حاضر به طریق نمونه‌برداری مستمر<sup>۳</sup> انتخاب شدند. بیماران مراجعه کننده به درمانگاه زنان بیمارستان فاطمه‌الزهرا(س) و

واژینیت یکی از مسائل شایع در طب بالینی است که باعث ابتلاء سالانه ۵ تا ۱۰ میلیون نفر می‌شود<sup>(۱)</sup>. یکی از انواع مهم این عارضه، ولوو واژینیت کاندیدایی<sup>۱</sup> است که در برخی از کشورها اولین علت واژینیت‌های عفونی را تشکیل می‌دهد<sup>(۲)</sup>. مطالعات نشان داده است که ۷۵ درصد خانم‌ها حداقل یک بار در طول زندگی به این عارضه مبتلا می‌شوند<sup>(۲)</sup>. از بغرنج ترین حالات ولوو واژینیت کاندیدایی، اشکال عود کننده آن می‌باشد که در ۲۰ تا ۲۵ درصد خانم‌ها بعد از هر دوره درمان مجدداً خود را نشان می‌دهد<sup>(۳)</sup>.

کاندیدا آلبیکانس از میکروفلورهای محیط واژن می‌باشد که در صورت وجود شرایط مناسب می‌تواند در ایجاد واژینیت‌های عود کننده (RVVC)<sup>۲</sup> دخالت داشته باشد. در موارد کمی، عوامل مساعد کننده‌ای نظری دیابت، نقص سیستم ایمنی، کاربرد آنتی‌بیوتیک و کورتیکواستروئید، علت عود بیماری می‌باشند. متأسفانه، در اکثر مواقع عامل خطر خاصی برای عود بیماری تعیین نشده است<sup>(۴)</sup>. در سالیان اخیر توجه زیادی به نقش احتمالی حساسیت به آنتی‌ژن‌های کاندیدا آلبیکانس به ویژه IgE ایجاد شده بر علیه آن، در بروز ولوواژینیت کاندیدایی مزمن شده است<sup>(۶,۵)</sup>. در مطالعه Giraldo و همکاران<sup>(۲۰۰۰)</sup> مشخص شده است که برخی از بیماران مبتلا به واژینیت‌های مزمن و عود کننده نسبت به آنتی‌ژن‌های کاندیدا آلبیکانس، افزایش حساسیت نشان می‌دهند<sup>(۷)</sup>. در مطالعه Witkin و همکاران<sup>(۱۹۸۹)</sup> افزایش ائوزینوفیل و آنتی‌بادی IgE در ترشحات واژن زنان مبتلا به RVVC مشخص گردید و همچنین اظهار شده است که آنتی‌بادی IgE ضد کاندیدا در ترشحات این دسته از بیماران، سبب افزایش حساسیت موضعی می‌شود<sup>(۵)</sup>. در مطالعه‌ای دیگر همین محققین<sup>(۱۹۸۸)</sup>

3. Sequential sampling

1. Vulvo Vaginal Candidasis  
2. Recurrent Vulvo Vaginal Candidiasis

تهیه عصاره خام از کاندیدا آلبیکانس :

کاندیدا آلبیکانس جدا شده از ترشحات واژینال بیمار مبتلا به واژینیت کاندیدایی، ابتدا در محیط سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفینیکل (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 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 شیشه‌ای استفاده گردید. بدین ترتیب که سوسپانسیون از رسوب مخمری با PBS<sup>۰/۰۵</sup> 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 و روتکس گرفت. برای خنک نگه داشتن سوسپانسیون بعد از گردید. برای خنک نگه داشتن سوسپانسیون بعد از هر یک دقیقه و روتکس، لوله به مدت ۵ دقیقه در داخل حرده‌های 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.<sup>(۱۳)</sup> افراد مبتلا به دیابت و یا در حال مصرف داروهای استروئیدی از مطالعه خارج شدند. سپس با استفاده از سوپ مرطوب استریل از ترشحات واژینال نمونه‌برداری به عمل آمد و در آزمایشگاه با روش آزمایش مستقیم و کشت از نظر نوع واژینیت میکربی 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 آلبیکانس تأیید شده و نمونه‌های غیر کاندیدا آلبیکانس 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)<sup>۱</sup> ب- بیماران مبتلا به واژینیت حاد غیر میکروبی (ANV)<sup>۲</sup> ج- بیماران مبتلا به واژینیت مزمن کاندیدایی (CCV)<sup>۳</sup> د- بیماران مبتلا به واژینیت مزمن غیر میکروبی (CNV)<sup>۴</sup>. لازم به ذکر می‌باشد که بیماران مبتلا به واژینیت غیرمیکروبی افرادی بودند که در روش‌های آزمایشگاهی فاقد هرگونه عامل میکروارگانیسمی بودند. همچنین از تمامی بیماران به میزان ۵۰۰ خون‌گیری به عمل آمد که پس از جداسازی سرم آن‌ها تا زمان اجرای فعالیت‌های بعدی در فریزر ۲۰<sup>۰</sup>- نگهداری گردید.

##### 5. Phosphate buffered saline

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

نیتروسلولز 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 نیتروسلولز در ظرف حاوی PBS ، BSA<sup>۱</sup> (درصد) و توین (۲۰/۰۵ درصد) (PBS-BSA-TW) (ادرصد) و توین (۰/۰۵ درصد) (PBS-TW) به مدت یک شب و در ۴ درجه سانتی گراد 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 نیتروسلولز برش داده شد و در چاهک های مخصوص که حاوی سرم بیماران (برای هر بیمار به طور جداگانه) با رفت 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 کوژنزو گه با HRP<sup>۲</sup> (به ترتیب با رفت ۱:۱۱ و ۱:۱۰۰۰ با W/V) 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 و یا IgG از سوبسترای مناسب (۶ میلی گرم DAB در ۹ میلی لیتر تریس ۰/۰۱ مولار با pH=۷/۶ و ۱۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد) استفاده شد. در نهایت با اندازه گیری فاصله طی شده توسط مولکول از مبدأ و تعیین RF<sup>۳</sup> 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 ۲۵۰۰۰ و در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوز (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.

## ۱ SDS-PAGE

این روش دریک تانک الکتروفورز عمومی (اختربان - تهران) Laemmli (۱۹۷۰) با ژل جدا کننده ۱۲/۵ درصد (بافر ژل جدا کننده ۴ درصد (بافر ژل متراکم کننده pH=۸/۸)، pH=۶/۸)، متراکم کننده ۴ درصد (بافر ژل متراکم کننده Tris-HCl 0/۰۵M، Glycin 0.192M، SDS، pH=۸/۳) در یک سیستم بافری غیرپیوسته (Tris 0.025M، Glycin 0.192M، SDS، pH=۸/۳) در ۰.۱% 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 ایمونو بلاتینگ<sup>۴</sup> و دیگری با CBB<sup>۵</sup> رنگ آمیزی شد. محلول رنگ آمیزی شامل متانول ۴۰ درصد، اسید استیک ۱۰ درصد و ۰/۱ CBB در 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.

ایمونو بلاتینگ برای انتقال پروتئین های مجزا شده و پروتئین استاندارد از ژل جدا کننده به صفحه نیتروسلولز میکرومتر (Sorvall, CN 111) از تانک بلاستینگ Towbin و مرطوب (اختربان - تهران) و با روش همکاران (۱۹۷۹) استفاده گردید (۱۵). بافر انتقال حاوی گلاسین (۱۹۲ mmol)، تریس (25 mmol)، SDS (0.03% w/v) و متانول (۰/۰۳% w/v) در آب مقطر بود. عمل انتقال پروتئین از ژل به صفحه

2. Bovine serum albumine

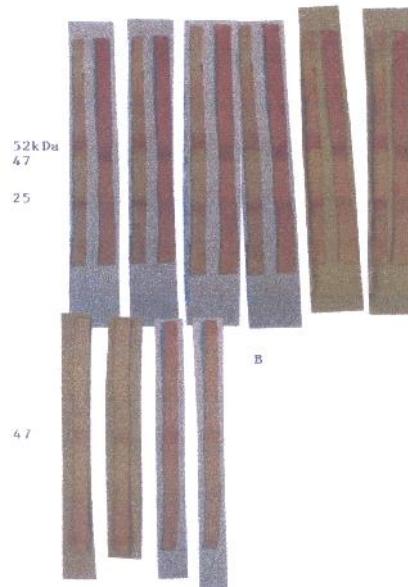
3. Anti human IgE or IgG conjugated with horseradish peroxides

4. 3.3 diaminobenzidine tetrahydrochloride (sigma)

5. Relative migration

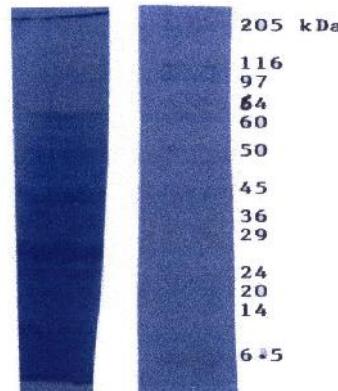
1. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis

تصویر شماره ۳، نحوه پاسخ آنتی ژن‌های پروتئینی کاندیدا آلبیکانس در مواجهه با سرم بیماران مورد مطالعه از نظر IgG اختصاصی نسبت به کاندیدا آلبیکانس 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 آلبیکانس 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 داشتند. 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 هیچ کدام از باندهای پروتئینی کاندیدا آلبیکانس، واکنش نشان ندادند (جدول شماره ۱).



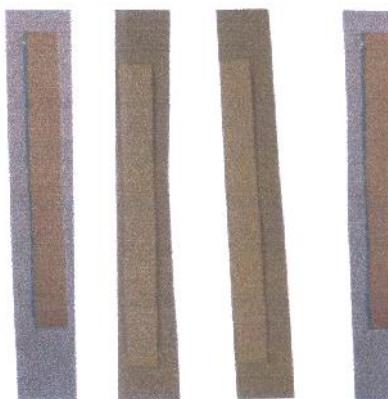
تصویر شماره ۳ : نحوه پاسخ پروتئین‌های تفکیک شده کاندیدا آلبیکانس با IgG اختصاصی سرم بیماران مورد مطالعه (A) باندهای نیرومند ۲۵ و ۵۲ کیلو دالتون در بیماران مبتلا به CCV و ACV و B-CCV باشد. ضعیف در بیماران مبتلا به CNV.

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



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

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



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

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 گروههای 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 بیشتری هم برخوردار می باشد؛ به طوری که در بیماران مبتلا به CNV بسیاری از آنها (۵۵ درصد) علی رغم منفی شدن محیط واژن از نظر وجود کاندیدا آلبیکانس در ایمونوبلاتینگ، باند ضعیفی بر علیه IgG اختصاصی آشکار نساختند 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 ژن‌های 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.<sup>(۸)</sup> در مطالعه Ishiguro و همکاران (۱۹۹۲) نظریه مطالعه حاضر، هیچ کدام از باندهای پروتئینی کاندیدا آلبیکانس با IgE اختصاصی

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

نوع بیماری	تعداد بیماران	۴۷	۲۵	۵۲
CCV <sup>۱</sup>	۲۰	% ۱۰۰	ND	% ۱۰۰
ACV <sup>۲</sup>	۲۰	ND	% ۱۰۰	ND
CNV <sup>۳</sup>	۲۰	ND	% ۵۰	ND
ANV <sup>۴</sup>	۲۰	ND	ND	ND
جمع	۸۰	% ۲۵	% ۴۱/۷۵	% 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 وزن‌های 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.<sup>(۸)</sup> به نظر می رسد عواملی نظیر عصاره گیری از کاندیدا آلبیکانس به دست آمده از متابолیت مختلف و در مراحل مختلف رشد مخمر، نحوه و میزان شکستن سلول‌های مخمری، روش عصاره گیری و استفاده از پروتئین‌های استاندارد تهیه شده از مراکز تجاری مختلف و همچنین نحوه اجرای تکنیک SDS-PAGE در به وجود آوردن این تغییرات دخالت داشته باشد.

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

براساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و سایر مطالعات مرتبط، به نظر می رسد برخی از آنتی زن های کاندیدا آلیکانس می توانند علاوه بر تاثیر در سیر بالینی بیماری جنبه تشخیصی نیز پیدا نمایند. در مطالعه حاضر مشخص شده است که حضور نیرومند آنتی بادی برعلیه آنتی زن ۴۷ کیلو الدتونی با شکل حاد و وجود آنتی بادی برعلیه آنتی زن های ۲۵ و ۵۲ کیلو الدتونی کاندیدا آلیکانس می تواند با سیر مزمن بیماری 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 کاندیدایی مزمن و حاد باشد. برای دست یابی به نتایج دقیق و کاربردی تحقیقات بیشتری در این زمینه توصیه می شود.

### سپاسگزاری

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 می آید. همچنین از کلیه بیماران عزیز که اجازه دادند تا این تحقیق انجام شود نیز قدردانی می شود.

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 برعلیه کاندیدا آلیکانس در سرم بیماران آشکار نشده است؛ به نظر می رسد با توجه به مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۰) نتوان از نقش حساسیتی کاندیدا آلیکانس در این گونه بیماران به راحتی گذشت(۹). در مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده شد که اینمی درمانی به وسیله آرژن کاندیدا آلیکانس در زنان مبتلا به واژینیت عود کننده می تواند به نحو بارزی تعداد و شدت عوارض واژینیت های کاندیدایی را کاهش دهد. علاوه بر آن نتایج مطالعات محققین دیگر که توانستند IgE اختصاصی برعلیه کاندیدا آلیکانس را در ترشحات واژینال بیماران مبتلا به واژینیت های عود کننده مشخص نمایند، نشان می دهد که در چنین بیمارانی در واقع یک نوع واکنش حساسیتی موضعی نسبت به کاندیدا آلیکانس اتفاق می افتد(۶،۵).

### فهرست منابع

- Quan M. Diagnosis and management of infectious vaginitis. *J Am Board Fam Pract.* 1990 Jul-Sep; 3(3): 195-205.
- Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factor. *Int J Gynaecol Obstet*, 2000 Dec; 71, Suppl 1: 521-7.
- Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*, 1985; 152: 924.
- 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 candidosis. *Clin Immunol and Immunopathology* 1990; 54: 374-353.
۱۳. برگ جانان. بیماری‌های زنان نوادگان، ترجمه امیرخانی ژیلا، ویرایش سیزدهم، تهران: انتشارات ارجمند، ۱۳۸۱، صفحه ۲۹۸-۳۰۱.
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.