بررسی بیان ژنهای مقاومت به داروی فلوکونازول در کاندیدا آلبیکنس

تالیف
ناهید آریانا
شبنم خاموشی

www.ketab.ir

انتشارات قانون‌یار
۱۳۹۶

سرشناسه	:	آریانا، ناهید، ۱۳۶۵ -
عنوان و نام پدیدآور	:	بررسی بیان ژنهای مقاومت به داروی فلوکونازول در کاندیدا آلبیکنس/تالیف ناهید آریانا،شبنم خاموشی.
مشخصات نشر	:	تهران: انتشارات قانون‌یار، ۱۳۹۶.
مشخصات ظاهری	:	۱۰۴ص.: مصور،جدول،نمودار.
شابک	:	۹۷۸-۶۰۰-۸۷۹۶-۱۴-۵
وضعیت فهرست نویسی	:	فیپا
موضوع	:	بیان ژن
موضوع	:	Gene expression
موضوع	:	مقاومت دارویی
موضوع	:	Drug resistance
شناسه افزوده	:	خاموشی، شبنم، ۱۳۶۵ -
رده بندی کنگره	:	QH۴۵۰/۴ب۳۷آ ۱۳۹۶
رده بندی دیویی	:	۵۷۲/۶۵
شماره کتابشناسی ملی	:	۵۰۴۲۰۷۷

انتشارات قانون یار

بررسی بیان ژنهای مقاومت به داروی فلوکونازول در کاندیدا آلبیکنس

تألیف: ناهید آریانا - شبنم خاموشی

ناشر: قانون یار

ناظرفنی: محسن فاضلی

نوبت چاپ: اول - ۱۳۹۶

شمارگان: ۱۱۰۰ جلد

قیمت: ۱۱۰۰۰ تومان

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۸۷۹۶-۱۴-۵

مرکز پخش: تهران. میدان انقلاب. خیابان اردیبهشت پلاک ۹۲

۰۲۱۶۶۹۷۹۵۱۹ ۰۲۱۶۶۹۷۹۵۲۶

www.ketab.ir

فهرست مطالب

مقدمه ۷

فصل اول **۱۳**

کلیات ۱۳

فصل دوم **۵۳**

مروری بر مطالعات گذشته ۵۳

فصل سوم **۵۹**

مواد و روشها ۵۹

فصل چهارم **۷۵**

نتایج ۷۵

فصل پنجم **۸۵**

بحث ونتیجه گیری ۸۵

فهرست منابع **۹۳**

www.ketab.ir

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس[1] مخمر[2] پلئومورفیسم[3] است که در دامنه pH وسیعی از کمتر ۲تا حدود ۸ قادر به رشد است و در شرایط کم هوازی و بیهوازی به خوبی رشد می کند.این مخمر شامل ۸ کروموزوم دوتایی است با شماره گذاری ۱تا ۷ و همچنین واحد یک کروموزوم با اندازه بسیار متغیر به نام کروموزومRاست.بیشتر لیپیدهای موجود در *کاندیدا آلبیکنس* فسفولیپیدها و استرول هستند که ارگوسترول[4] مهم ترین استرول غشایی به شمار می رود. کاندیدیازیس[5] بدون شک یکی از مهمترین و شایعترین بیماری های قارچی فرصت طلب در انسان است.عفونت بصورت حاد ، تحت حاد یا مزمن در پوست ، ناخن، مخاط واژن ، برونش ،دستگاه گوارش و ... دیده می شود. گاهی نیز منتشر می گردد و کلیه ، ریه ، کبد ، قلب و ... را گرفتار می کند(۱۷).۱۰

واکنش میزبان در برابر بیماری از یک خارش و التهاب مختصر تا فرم مزمن ، حاد چرکی یا گرانولوماتوز در تغییر است انواع صفات آن بستگی به بیماریزایی[6] قارچ ، فرآورده های توکسیکی[7] *کاندیدا* ، قدرت دفاعی میزبان و محل مورد تهاجم دارد . مهمترین عامل بیماری *کاندیدا آلبیکنس* می باشد که ساکن طبیعی دستگاه گوارش ، مخاط دهان و واژن است . عوامل مختلفی تعداد بیماری *کاندیدا آلبیکنس* را تغییر می دهند مثلاً در بیمارانی که دچار اختلالات اندوکرین[8] هستند بخصوص دیابتیک ها[9] بیشتر دیده می شود. استفاده طولانی مدت از آنتی بیوتیک ها فلور طبیعی را به هم زده و سبب *کاندیدا* رشد می شود همچنین مصرف

---

[1] *Candida albicans*
[2] *yeast.*
[3] *pleomorphism*
[4] *ergosterol*
[5] *Candidiasis*
[6] *virulence*
[7] *toxic*
[8] *endocrine*
[9] *diabetic*

www.ketab.ir

استروئید ها[10] ، آویتامینوزها[11] ، عوامل ایمنو ساپرسیو[12] ، مصرف سایتوتوکسین[13] و سایر داروها می تواند باعث بروز *کاندیدا* شود(۱۳).

کاندیدمی به طور تیپیک در سالمندان ، بیماران بستری در بیمارستان یا بیماران ایمنوساپرسیو و نوزادان تازه متولد شده که در حین عبور از کانال زایمان این قارچ را کسب دیده می شود(۸),(۶۳)،(۶۵) ,(۷).

چندین فاکتور در افزایش عفونت های قارچی در سالهای اخیر نقش دارند در بین آنها، بیماران دچار نقص سیستم ایمنی ، بیماران سرطانی که شیمی درمانی انجام داده و نوتروپنی[14] دارند،اشخاصی که داروهای ایمنوساپرسیو مصرف می کنند و یا تحت درمان با آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و گلوکوکورتیکوئیدها[15] هستند و یا افراد دیالیزی و نیمه دیالیزی بیشتر در معرض آلوده شدن قرار دارند همچنین کاندیدا آلبیکنس چهارمین عامل عفونت خون در ایالت متحده اعلام شده است(۲۵),(۲۸),(۴۹).

رایج ترین داروهای ضدقارچی در سه کلاس:۱_مهارکننده سنتز ارگوسترول ۲_پلی ان ها[16] ۳_FC-۵ ها[17] هستند که آلیلامین ها[18](تیوکربامات ها)و آزول ها[19] درکلاس اول قرارمی گیرند(۹)(۵۶).

برای درمان مناسب بیمارانی که به عفونت های خطرناک قارچی مبتلا هستند ، انجام آزمایش برای تعیین حساسیت عامل بیماری نسبت به داروهای ضدقارچی ضروری است.مطالعه نشان می دهد که درمان ضدقارچی نامناسب و خود درمانی می تواند دلیل اصلی افزایش مقاومت دارویی در انواع *کاندیدا*های غیر *آلبیکنس* باشد . به دلیل پیدایش مقاومت به

---

[10] *stroeides*
[11] *avitaminose*
[12] *immune sopressive*
[13] *cytotoxine*
[14] *notropenia*
[15] *glucocorticoed*
[16] *polyene*
[17] *flucytosine*
[18] *alylamine*
[19] *azole*

www.ketab.ir

عوامل ضدقارچی تعیین طرح استراتژیک برای درمان بیماریهای قارچی یک موضوع مهم در قارچ شناسی بالینی است. یکی از روشهای تعیین حساسیت مخمرها از جمله کاندیدا آلبیکنس به داروهای ضد قارچی استفاده از تکنیک میکرو دایلوشن میباشد.همچنین با تکیه بر تکنیک کمترین غلظت مهارکننده[20] حساسیت به داروهای کلوتریمازول[21]، کتوکونازول[22] و فلوکونازول[23] را می توان بررسی کرد.عوامل ضدقارچی تری آزول (فلوکونازول– ایتراکونازول[24]و...)معمولاً بخاطرشاخص درمانی بالا برای عفونت های کاندیدایی به کارمی رود.اما در موارد مقاوم[25] به درمان یاموارد عود کننده بایداز طریق نیستاتین[26] خوراکی به درمان بسیاری پرداخت(۶۳)،(۲۸)،(۸)،(۳۰).

عود بیماری و همچنین مقاومت دارویی به خصوص به آزولها موضوع مهم و قابل توجهی در رابطه بااین عفونت ها می باشد. تاکنون تحقیقات زیادی صورت گرفته که در آنها مقاومت دارویی آزول ها را نسبت به گونه های مختلف *کاندیدا* بخصوص *کاندیدا آلبیکنس* بایکدیگر مقایسه و بررسی کرده اند و نوع تنوع ژنتیکی را نشان می دهند و از یک تنوع مینور تا جابجایی کامل ژنتیکی را در بر می گیرند.به عنوان مثال مقاومت *کاندیدا تروپیکالیس*[27] و *کاندیدا گلابراتا* نسبت به فلوکونازول ۴ برابر کمتر از *کاندیدا آلبیکنس* است. فلوکونازول یک ترکیب سنتیک تری آزول درمانی است.روی بیوسنتز ارگوسترول که استرول اصلی در غشاء پلاسمایی قارچی است ، بوسیله ی مهار آنزیم استرول α ۱۴ دمتیلاز[28]، یک آنزیم سیتوکروم P-۴۵۰ است اثر دارند. این آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز ارگوسترول ،جابجایی اکسیداتیو گروه های α۱۴ متیل ازلانواسترول[29] را کاتالیز می کند. آزول ها به هم در

---

[20] *MIC*
[21] *klutrimazole*
[22] *ketoconazole*
[23] *fluconazole*
[24] *itraconazole*
[25] *resistance*
[26] *nistatin*
[27] *Candida tropicalis*
[28] *14α demethylase*
[29] *lanoesterole*

www.ketab.ir

جایگاه فعال ۱۴DM متصل می شوند و با سوبستراهای باند شونده رقابت می کنند.تأثیر کلینیکی وایمنی فلوکونازول به طور ویژه در استفاده گسترده ای نتیجه داد(۴۲).

نتایج ناگهانی و حتمی مقاومت به آزول ها تحقیقات برای ترکیبات جدید که در مقابل ارگانیزم های مقاوم فعال هستند را تشدید کرد. سویه های مقاوم تغییراتی در کمیت و کیفیت آنزیم های هدف ،اطلاعات کاهش یافته نسبت به هدف و یا ترکیبی از این دورانشان دادند.به ویژه در بیماران ایدزی که تحت درمان فلوکونازولی طولانی مدت بودند، مقاومت کلینیکی سویه های *کاندیدا آلبیکنس* جدا شده،کاهش در حساسیت به فلوکونازول در آزمایشگاه را نشان داد.برای تغییر اینکه مقاومت فلوکونازول به علت یک سویه مقاوم جدید که جایگزین سویه حساس عفونت زای قبلی شده و یا مقاومت در یک سویه قبلی گسترش یافته ، تشخیص ژنتیکی سویه های *کاندیدا آلبیکنس* غیر مربوطه از دیگر *کاندیدا آلبیکنس* هاامری ضروری است(۲۳).

مکانیسم مولکولی مقاومت فلوکونازول در *کاندیدا آلبیکنس* مثال چندین مکانیسم مختلف است که شامل :

۱- تغییر یا دگرگونی در راههای بیوسنتز استرول ۲- جهش در ژن ERG11 که آنزیم های هدف دارویی را کد می کنند ۳- بیان زیادژنهای ERG11 ۴- افزایش بیان ژن های کدکننده ی افلوکس پمپ ها[30] :ژن های بسیار همولوگ CDR1 CDR (مقاومت دارویی *کاندیدا*) کدکننده انتقال دهنده های کاست های وصل شده به ATP (ABC)که ازآدنوزین تری فسفات[31] به عنوان منبع انرژی استفاده می کنند درحالیکه ژنهای MDR1(مقاومت چنددارویی)وFLU1 (مقاومت فلوکونازولی) اصلی ترین تسهیل کننده ها را کد می کنند که از شیب پروتونی برای عبور از غشاو نیروی حرکتی برای انتقال استفاده می کنند.۵- مکانیسم های چندتایی همکاری کننده با گسترش گام به گام مقاومت به فلوکونازول در *کاندیدا آلبیکنس* که اخیراً مسئول مقاومت دارویی شناخته شده اند که حاصل همکاری چند مکانیسم

[30] *efflux pumps*
[31] *ATP*

www.ketab.ir

مختلف که در بالا ذکر شد با همدیگر است. مقاومت به داروهای ضدقارچی یک مشکل بزرگ و اصلی در ارتباط با درمان این بیماریها است).امروزه برای بررسی بیان ژن از روش مولکولی *REAL TIME PCR* ورنگ فلورسنت استفاده میشودکه دلیل استفاده ازاین روشها توان عملیاتی بسیاربالای آنها درتوالی یابی وهیبریدکردن وحساسیت واختصاصیت بالا درانجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، در تشخیص مولکولی می باشد (۱۵).با توجه به اینکه انتقال فلوکونازول در وزیکول های ترشحی *کاندیدا آلبیکنس* به وسیله ی پروتئینهای غشایی Cdr۱p , Cdr۱p , Mdr۱p یک دلیل اصلی مقاومت به آزول در *کاندیدا آلبیکنس* به وسیله بیان ژن های MDR۱ , CDR۲ , CDR۱ که پروتئینهای غشایی افلوکس پمپ ها را کد می کنند(۵)(۴۰),(۱),(۷),(۵۸),(۶۰),(۴۲)، (۴۳).

هدف این تحقیق بررسی بیان ژنهای MDR۱ , CDR۲ , CDR۱ درگونه های *کاندیدا آلبیکنس* مقاوم وحساس به آزوکونازول با استفاده ازروش RT REALTIME PCR ومقایسه بیان این سه ژن در گونه های حساس ومقاوم با یکدیگر است.

www.ketab.ir