Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

تاثیر داروهای ضدقارچ آزول بر تولید سایتوکین‌های التهابی در کراتینوسیت‌های انسانی

*دکتر فرشید سعادت (Ph.D)[1]

* نویسنده مسئول: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی‌شناسی

پست الکترونیک: fsaadat@razi.tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۸

چکیده

مقدمه: اگر چه داروهای ضد قارچ به صورت موفقیت‌آمیزی در درمان عفونت‌های قارچی به کار می‌روند، لیکن اخیراً گزارش‌هایی مبنی برنقش برخی از آنها در القا و یا سرکوب پاسخ های سیستم ایمنی ارایه شده است. با توجه به نقش سیستم ایمنی در پاسخ به عوامل عفونی هرگونه تغییر در طرح واره سایتوکینی وضعیت پاسخ‌گویی فرد را تحت تاثیر قرار خواهد داد.

هدف: بررسی اثر داروهای ضد قارچ آزول بر تولید سایتوکین‌های التهابی از کراتینوسیت‌های انسانی.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه آزمایشگاهی (In vitro)، سلول‌های اولیه کراتینوسیت کشت داده شده و با غلظت‌های مختلف کتوکونازول، فلوکونازول و گریزئوفولوین تیمار شدند. سپس میزان IL-1 و TNF-α ترشح شده توسط سلول‌های کراتینوسیت در محیط کشت توسط روش Quantitative Enzyme Immunoassay و میزان بیان ژن‌های کدکننده سایتوکین‌های التهابی با روش Real-Time PCR سنجیده شد. دادها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه One Way ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف فلوکونازول(۳/۳، ۱۰ و ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و غلظت پایین کتوکونازول باعث کاهش معنی دار ترشح IL-1 شد ($P<0.001$)، اما گریزئوفولوین در غلظت‌های مشابه چنین تاثیری را از خود نشان نداد. همچنین غلظت‌های مختلف ترکیبات مذکور در ترشح TNF-α تاثیری نداشت. بررسی کمی بیان ژن کدکننده IL-1 نشان داد که نسخه‌برداری از ژن‌های مذکور به دنبال تیمار سلول‌ها با فلوکونازول و کتوکونازول کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: ترکیبات ضد قارچ آزول ممکن است با سازوکارهای مختلف موجب تعدیل بیان و ترشح سایتوکین‌ها شده و بدین ترتیب آثار خود را در جهت‌دهی پاسخ‌های ایمنی توسط سلول‌های کراتینوسیت اعمال نمایند.

کلید واژه‌ها: التهاب/ داروهای ضدقارچ/ سایتوکین‌ها

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره هفدهم شماره ۶۶ ، صفحات: ۷-۱

مقدمه

در میان داروهای ضدقارچ، ترکیبات آزول از طریق متیلاسیون لانسترول موجب اختلال در سنتز ارگوسترول می‌شوند(۱). اولین گزارش از فعالیت ضدقارچی این گروه از ترکیبات در خصوص ایمیدازول در اواخر دهه شصت منتشر شد. سپس از این مجموعه، مایکونازول و پس‌ازآن کتوکونازول، فلوکونازول و ایتراکونازول به بازار دارویی عرضه شدند. تاثیربالینی مناسب و بی‌خطربودن این داروها در درمان عفونت‌های سطحی و منتشره قارچی، موجب مصرف روزافزون آنها در سرتاسر جهان شد(۱و۲).

اثرات درمانی مثبت کتوکونازول خوراکی در درمان ضایعات اگزمایی سر و گردن اولین بار در سال ۱۹۸۳ توسط کلمنسن و هیورث گزارش شد (۳). گرچه در بررسی‌های بعدی کارایی و تاثیر مثبت استفاده از سایر ترکیبات آزول نظیر ایتراکونازول در درمان درماتیت سبورئیک و آتوپیک نشان داده شد(۴و۵)، لیکن سازوکار دقیق عملکرد این ترکیبات مشخص نشد. در این رابطه برخی از محققین معتقدند که با توجه به اهمیت مخمرهای مالاسزیا در پاتوژنز بیماری‌هایی نظیر درماتیت سبورئیک و آتوپیک، داروهای آزول با کشتن این مخمرها، نقش خود را در بهبودی ضایعات ایفا می‌نمایند(۶و۷). از طرفی با توجه به آنکه درمان با آمفوتریسین و یا فلوکونازول در

۱. دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی‌شناسی

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

مدل حیوانی آلوده به کاندیداآلبیکانس موجب کاهش تولید IL-4 و افزایش IFN-γ می‌شود(۸ و ۹)، کتوکنازول از تکثیر وابسته به IL-2 لنفوسیت‌های Tجلوگیری کرده و مانع از تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای در کشت مختلط لمفوسیتی می‌شود(۱۰) و ایتراکونازول، یک ترکیب آزول دیگر، سازوکار کشتن سلول توسط لنفوسیت را مختل می‌نماید(۱۱)؛ این فرض مطرح شد که ترکیبات آزول تولید سایتوکین‌های Th2 نظیر IL-4 را کاهش یا میزان سایتوکین‌های Th1 را افزایش می‌دهند(۱۲).

نظر به اینکه دردفاع علیه عفونت‌های قارچی پاسخ ایمنی وابسته به Th1 از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۳)، در صورتی که یک ترکیب آزول موجب تغییر طرح واره سایتوکینی شود این احتمال وجود دارد که با تغییرات در پاسخ‌های ایمنی میزبان به طور ناخواسته موجبات تضعیف سیستم ایمنی شود. از آنجایی که مطالعه‌ای در زمینه تاثیر داروهای ضد قارچ آزول شامل فلوکونازول و کتوکونازول بر تولید سیتوکین‌های التهابی در سلول‌های کراتینوسیت انسانی صورت نگرفته‌بود، بررسی مذکور با هدف تعیین تاثیر این ترکیبات بر پاسخ ایمنی کراتینوسیت‌ها به عنوان یکی از عمده‌ترین سلول‌های پوست، طراحی شد تا اطلاعات بیشتری برای درک عملکرد داروهای ضد قارچ به دست آید.

مواد و روش‌ها

کشت و تیمار سلول‌های کراتینوسیت: سلول‌های اولیه کراتینوسیت انسانی(تهیه شده از کمپانی Clonetics) در بطری‌های کشت سلولی حاوی محیط پایه کراتینوسیت(KC basal medium, KBM) با موفقیت کشت داده و در ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ دی اکسید کربن نگهداری شدند. بعد از پاساژ دوم تا چهارم به پلیت‌های ۶ خانه‌ای (برای بررسی پروتئین‌ها) و ۱۲ خانه‌ای(برای جداسازی RNA) منتقل شده و بعد از رسیدن به پوشش حدود ۹۰٪ استفاده شدند. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف فلوکونازول، کتوکونازول و گریزئوفولوین (۳/۳ ، ۱۰ و ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) برای بررسی میزان بیان ژن سایتوکین‌های التهابی (میزان نسخه‌برداری mRNA) به مدت ۸ ساعت و برای بررسی پروتئین تولید شده (اینترلوکین) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. برای بررسی تاثیر مداخله، از گروه کنترل (سلول‌های تیمار نشده و فاقد دارو) و برای حذف تاثیر حلال مورد استفاده، از کنترل حلال با اضافه نمودن حجم برابر حداکثر میزان حلال اضافه شده (اتانل برای کتوکونازول و گریزئوفولوین) استفاده شد. با توجه به این که فلوکونازول در آب محلول است، کنترل فلوکونازول تنها حاوی محیط کشت و فاقد هر گونه دارو یا حلال بود. تمامی آزمایش‌ها به صورت سه تایی (Triplicate) انجام گرفت.

جمع‌آوری و جداسازی سلول تیمار شده و کنترل: سلول‌های تیمار شده و کنترل، برای بررسی RNA جمع‌آوری شدند. بدین منظور بعد از خارج نمودن محیط کشت، سلول‌ها توسط بافر PBS شسته و با اضافه نمودن یک میلی‌لیتر محلول تریزول لیز و تا زمان استخراج RNA در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. محیط کشت رویی پلیت‌های ۶ خانه‌ای که حاوی پروتئین‌های ترشحی سلول هستند، برای بررسی پروتئینی جمع‌آوری شدند.

بررسی میزان سایتوکین‌های ترشحی: میزان IL-1 و TNF-α ترشح شده توسط سلول‌های کراتینوسیت در محیط کشت توسط روش Quantitative Enzyme Immunoassay به کمک کیت الیزای شرکت Roche Applied Sciences

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

ساخت آلمان طبق راهکار دفترچه راهنمای آن اندازه‌گیری شدند. نمونه‌ها و استانداردها به چاهک‌های پوشیده شده توسط آنتی بادی منوکلونال اختصاصی بر علیه سیتوکین مورد نظر اضافه شدند. در صورت وجود سایتوکین در نمونه‌ها، این سایتوکین به آنتی‌بادی متصل به کف چاهک متصل می‌شود. در مرحله بعد با شستشوی چاهک‌ها مواد اضافی و غیرمتصل حذف شده و آنتی‌بادی پلی‌کلونال متصل به آنزیم (پراکسیداز) علیه سایتوکین به چاهک‌ها اضافه شد. سپس کمپلکس‌های آنتی‌بادی- آنزیم غیرمتصل با شستشوی مجدد حذف شده و با اضافه‌نمودن سوبسترا(حاوی ماده کروموژن تترامتیل بنزیدین و پراکسید هیدروژن) به چاهک‌ها، واکنش رنگی به وسیله دستگاه الیزا ریدر(OpSys MR – Dyner technologies) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد. میزان سایتوکین‌های ترشح شده با مقایسه میزان رنگ تولید شده در واکنش شیمیایی با میزان رنگ تولید شده توسط غلظت‌های مشخص سیتوکین مورد بررسی(استاندارد) تعیین شد.

بررسی کمی بیان ژن کدکننده اینترلوکین‌ها: سلول‌های کراتینوسیت با اضافه نمودن محلول تریزول لیز شدند و RNA آزاد و با اضافه نمودن کلروفرم استخراج شد و در ادامه توسط الکل (ایزوپروپانل و اتانل) و سرما رسوب داده‌شد. رسوب RNA در آب مقطر دیونیزه دوبار تقطیر حل و در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. RNA استخراج شده به عنوان الگو برای ساخت DNA مکمل توسط آنزیم Reverse Transcriptase استفاده شد وcDNA با استفاده از کیت Gene Amp RNA (Applied Biosystems, Foster City, CA) تهیه شد. PCR کمی با استفاده از برنامه استاندارد (10' denaturing step; 55 cycles of 5" at 95°C, 5" at 65°C, and 15" at 72°C; melting point analysis in 0.1°C steps; final cooling step) صورت گرفت. Master Mix حاوی ۱/۵µL DNA، ۱/۸ $MgCl_2$ (25mmol/L) µL، ۱۰/۱ µL H_2O و۰/۵ µL از هر پرایمر پر شد. سنجش نیمه کمی ژن هدف توسط مدل ریاضی توصیف شده توسط Pfaffl صورت گرفت (۱۴). در تمامی آزمایشها میزان بیان ژن هدف با استفاده از پرایمرهای (5'-atcagtacctcacggctgct-3') IL1-f و (5'-IL1-r tgggtatctcaggcatctcc-3') نسبت به بیان ژن 5-aminolevulinic acid synthase به عنوان ژن دارای بیان ثابت و با استفاده از پرایمر های (5'-alas-r accctccaacacaaccaaag-3') و alas-f(5'-ccactggaagagctgtgtga-3') توسط Real Time PCR سنجیده و به صورت نیمه کمی محاسبه شد.

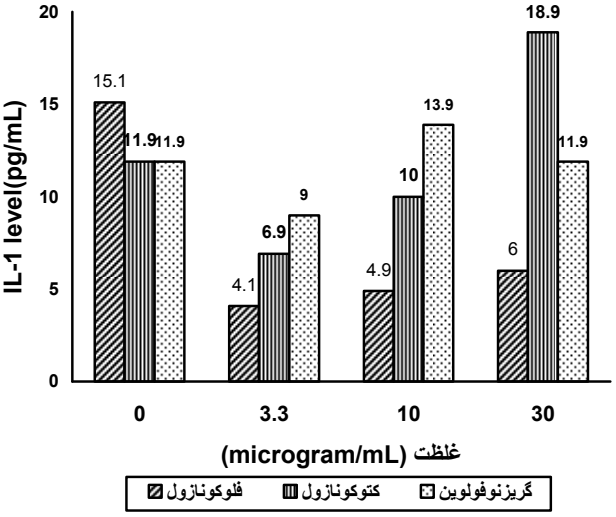
آزمون‌های آماری: دادها توسط نرم افزارSPSS 11.5 با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ONE WAY ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

نتایج

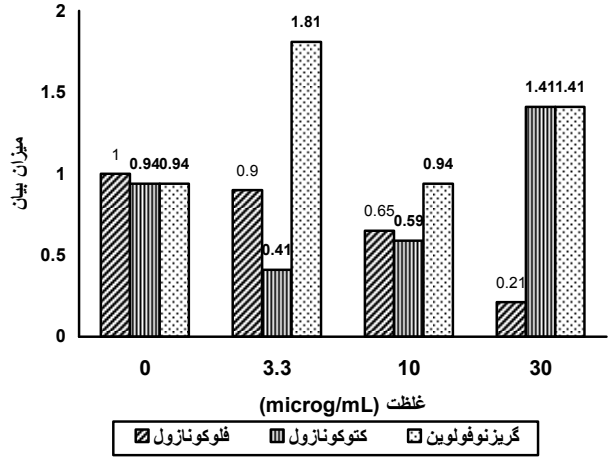
میزان IL-1 ترشح شده توسط سلول‌های کراتینوسیت بدنبال تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف فلوکونازول، کتوکونازول و گریزئوفولوین در نمودار یک نمایش داده شده‌است. بر اساس نتایج به دست آمده، فلوکونازول باعث کاهش معنی‌دار ترشح IL-1 می‌شود ($p<0.001$)؛ اما گریزئوفولوین در غلظت‌های مشابه چنین تا ثیری را از خود نشان نداند. کتوکونازول نیز در غلظت پایین باعث کاهش میزان ترشح IL-1 شد در حالی که تیمار سلول‌های کراتینوسیت با غلظت ۳۰µ g/ml موجب القای سنتز این سایتوکین شد. در این بررسی میزان ترشح TNFα از سلول‌های کراتینوسیت بسیار پایین بوده و هیچ گونه تغییر معنی‌داری در میزان ترشح این سایتوکین‌ها به دنبال تیمار با غلظت‌های مختلف

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

فلوکونازول، کتوکونـازول و گریـــزئوفولوین مـشاهده نشد.



نمودار۱: میزان ترشح اینترلوکین۱ از سلول‌های کراتینوسیت تیمار شده با غلظت‌های مختلف ترکیبات ضدقارچ فلوکونازول، کتوکونازول و گریزئوفولوین(۳/۳، ۱۰ و ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به‌سلول‌های‌شاهد



نمودار۲: میزان بیان ژن کدکننده اینترلوکین۱ در سلول‌های کراتینوسیت تیمارشده با غلظت‌های مختلف ترکیبات ضدقارچ فلوکونازول، کتوکونازول و گریزئوفولوین (۳/۳، ۱۰ و۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به سلول های شاهد

بررسی کمی بیان ژن IL-1 در نمودارهای دو نمایش داده شده‌است. بر اساس نتـایج حاصـل از Real Time PCR ، میزان نسخه‌برداری از ژن کدکننده IL-1 به دنبـال تیمـار سلول‌ها با فلوکونازول به صورت وابسته بـه دوز کـاهش می‌یابد در حالی که کتوکونازول در غلظـت‌هـای پـایین باعث کاهش بیان ژن‌های کدکننده IL-1 شده و با افزایش غلظت باعث افزایش نسخـه‌بـرداری از ژن‌هـای مـذکور شد.

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌های بالینی نشان می‌دهند که درمان‌های موضعی یا سیـستمیک بـا برخـی از داروهـای ضـدقارچی ماننـد کتوکونازول در درمان بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک یا سبورئیک مـوثر اسـت (۴ و۵). از آنجـا کـه مخمرهـای چربی‌دوست مالاسزیا به عنوان یک ماده حساسیت‌زا برای پاسخ‌های آلرژیک وابسته به IgE عمـل مـی‌نماینـد(۱۵)، بخشی از این تاثیر می‌تواند مرتبط بـا اثـر ضـد قـارچی کتوکونازول بر مخمرهای مـذکور باشـد (۱۶). برخـی از محققین نیز معتقدند که تاثیر داروهای آزول بـر تغییـرات پاسخ ایمنی، تنها معطوف به آثار ضد قارچی آن نبـوده و داروهای مـذکور بـا ایجـاد تغییـرات مورفولوژیـک در ماکروفاژها (۱۷) و همچنین سرکوب تکثیـر سـلول‌هـای لنفوسیت قادرند تاثیر درمانی خود را بر درماتیت‌ها بیـان نمایند (۱۸). این محققین همچنین پیشنهاد نموده‌انـد کـه ممکن است یکی از مکانیسم‌های اثر این داروها ممانعت از تولید عامل رشد سلول‌هـای T هماننـد اینترلـوکین ۲ باشد. به عـلاوه در بررسـی کانـدا و همکـارانش نـشان داده‌شد که ممکن است کتوکونازول با ممانعت از cAMP موجب مهار اثراینترلوکین ۴ برسلول‌های B برای تعویض کلاس ایمونوگلوبولین به IgE شود (۱۹).

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

کراتینوسیت‌ها نیز از سلول‌های موثر در پاسخ ایمنی علیه پاتوژن‌ها هستند. آنها با شناسایی الگوی مولکولی وابسته به پاتوژن (Pathogen Associated Molecular Pathern)، واسطه‌های التهابی از جمله سایتوکین‌های متعددی را ترشح می‌نمایند(۲۰). در این بررسی تیمار سلول‌های کراتینوسیت با غلظت‌های مختلف فلوکونازول باعث کاهش بیان ژن‌های IL-1 و در نتیجه کاهش سنتز اینترلوکین مربوط شد. همچنین اثر مشابهی به دنبال تیمار این سلول‌ها با غلظت‌های پایین کتوکونازول نیز مشاهده شد، این در حالی است که در غلظت بالای کتوکونازول، سلول‌های کراتینوسیت تحریک شده و سنتز اینترلوکین یک القا می‌شود. علت این امر را می‌توان در تفاوت ساختاری مولکول کتوکنازول (یک ایمیدازول) در مقایسه با فلوکونازول (یک تری ازول) جستجو کرد. در این بررسی تیمارکراتینوسیت ها با ترکیبات آزول تغییری در میزان ترشح TNF-α ایجاد ننمود که این نتیجه با گزارش فریکسیوس(۱۸) مبنی برعدم تغییر در بیان ژن سنتزکننده TNF-α به دنبال تیمار سلول‌های کراتینوسیت با ترکیبات آزول به روش نورتن بلات مشابهت دارد.

با توجه به اینکه کتوکونازول و فلوکونازول موجب کاهش سیتوکین‌های التهابی نظیر اینترلوکین یک می‌شوند و این سایتوکین موجب افزایش بیان مولکول‌های سطحی نظیر لیگاندهای اینتگرین‌ها در سطح سلول‌های اندوتلیال و افزایش کموکاین‌ها می‌شود(۲۱)، به نظر می‌رسد که ترکیبات ضد قارچ آزولی با کاهش ترشح کموکاین‌های مختلف توسط کراتینوسیت‌ها بر بازگردش سلول‌ها اثر گذارند. نتایج به دست آمده با بسیاری از مطالعات بالینی در زمینه استفاده از ترکیبات آزول در درمان درماتیت‌های سبورئیک و آتوپیک نیز همخوانی دارد و به نظر می‌رسد که ترکیبات آزول قادرند علاوه بر کاهش میزان ارگانیسم‌های قارچی در پوست، به صورت غیرمستقیم توسط کاهش سنتز اینترلوکین‌های التهابی، توقف سنتز لکوترین‌ها در گلبول‌های سفید چند هسته‌ای و رادیکال‌های فعال نیتریک اکسید در ماکروفاژها، تاثیر درمانی خود را بر درماتیت آتوپیک بیان نموده و موجب کاهش پاسخ های التهابی شوند (۲۲). از دیگر سازوکارهای احتمالی تاثیر این ترکیبات در توقف چرخه سلولی از طریق مهار اثر لانسترول ۱۴ آلفادی‌متیلاز است (۲۳).

نظر به اینکه در بسیاری از عفونت‌های قارچی پاسخ‌های Th1 نقش اصلی را در حذف و مقابله با عفونت داشته و سیستم ایمنی هومورال نقش چندانی را در مواجه با اکثر آنها ایفا نمی‌کند؛ برمبنای نتایج حاصل از این مطالعه امکان تضعیف پاسخ‌های تیپ یک محتمل بوده ، بنابراین کاربرد داروهای آزول در درمان عفونت های قارچی به خصوص در افراد دچار اختلالات سیستم ایمنی نیازمند توجه بیشتری خواهد بود. گرچه در این بررسی تیمار سلول‌های کراتینوسیت با فلوکونازول و کتوکونازول باعث کاهش در تولید و بیان سایتوکین شد لیکن مطالعات جامع و گسترده تری نظیر بررسی تاثیر ترکیبات آزول بر ترشح سایتوکین‌ها درسایر رده‌های سلولی و همچنین مطالعه روی حیوانات آزمایشگاهی پیشنهاد می شود.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

منابع

1.Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibly CM. Current And Emerging Azole Antifungal Agents. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 40-79.

2.Warnock SW. Itraconazole And Fluconazole: New Drugs For Deep Fungal Infection. J Antimicrob Chemother 1989; 24: 275-7.

3.Clemmensen OJ, Hjorth N. Treatment Of Dermatitis Of The Head And Neck With Ketoconazole In Patients With Type I Sensitivity To Pityrosporum Orbiculare. Semin Dermatol 1983; 2: 26–29.

4.Baysal V, Yildirim M, Ozcanli C. Itraconazole In The Treatment Of Seborrheic Dermatitis: A New Treatment Modality. Int J Dermatol 2004; 43: 63-6.

5.Ikezawa Z, Kondo M, Okajima M. Clinical Usefulness Of Oral Itraconazole, An Antimycotic Drug, For Refractory Atopic Dermatitis. Eur J Dermatol 2004; 14: 400-6.

6.Pierard-Franchimont Ç Arrese JE, Durupt G. Correlation Between Malassezia Spp. Load And Dandruff Severity. J Mycol Med 1998 ; 8: 83–86.

7.Saint-Leger D, Kligman AM, Stoudemayer JJ. The Role Of The Resident Microflora In The Pathogenesis Of Dandruff. J Soc Cosmet Chem 1989; 40: 109–119.

8. Cenci E, Mencacci A, Del Sero G, Bistoni F, Romani L. Induction Of Protective Th1 Responses To Candida Albicans By Antifungal Therapy Alone Or In Combination With An Interleukin-4 Antagonist. J Infect Dis 1997; 176:217-226.

9. Mencacci A, Cenci E, Bacci A, Bistoni F, Romani L. Host Immune Reactivity Determines The Efficacy Of Combination Immunotherapy And Antifungal Chemotherapy In Candidiasis. J Infect Dis 2000; 181:686-694,

10. Pawelec G, Ehninger G, Rehbein A, Schaudt K, Jaschonek K. Comparison Of The

Immunosuppressive Activities Of The Antimycotic Agents Itraconazole, Fluconazole, Ketoconazole And Miconazole On Human T-Cells. Int Jimmunopharmac 1991; 13:299-304.

11. Pawelec G, Jaschonek K, Ehninger G. The Anti-Fungal Agent Itraconazole Exerts

Immunosuppressive Effects On Alloreactivity But Not On Natural Immunity In Vitro. Int J Immunopharmacol 1991; 13:875-879.

12. Back O, Scheynius A, Hohansson SG. Ketoconazole In Atopic Dermatitis: Therapeutic

Response Is Correlated With Decrease In Serum Ige. Arch Dermatol Res 1995; 287:448-451.

13.Antachopoulos C, Roilides E. Cytokines And Fungal Infections. Br J Haematol 2005; 129: 583-96.

14.Pfaffl MW. A New Mathematical Model For Relative Quantification In Real-Time RT-PCR. Nucleic Acids Res 2001; 29: 45.

15.Young E, Koers WJ, Berrens L. Intracutaneous Test With Pityrosporum Extract In Atopic Dermatitis. Acta Dermato-Venereol 1989; 144: 122–125.

16.Van Der Wyk RW, Hechemy KE. A Comparison Of The Bacterial And Yeast Flora Of The Human Scalp And Their Effect Upon Dandruff Production. J Soc Cosmet Chem 1967; 18: 629–639.

17. Ochi H, Ishijima SA, Abe S. Morphological Effects Of Itraconazole On Murine Macrophage.FEMS Immunol Med Microbiol 1998; 20: 181-9.

18.Friccius H, Pohla H, Adibzadeh M. The Effects Of The Antifungal Azoles Itraconazole, Fluconazole, Ketoconazole And Miconazole On Cytokine Gene Expression In Human Lymphoid Cells. Int J Immunopharmacol 1992; 14: 791-9.

19.Kanada N, Watanabe S. Ketoconazole Suppresses Interleukin-4 Plus Anti-CD40-Induced Ige Class Switching In Surface Ige Negative B Cells From Patients With Atopic Dermatitis. J Invest Dermatol 2002; 119: 590-9.

20. Pivarcsi A, Kemeny L, Dobozy A. Innate Immune Functions Of The Keratinocytes. A Review. Acta Microbiol Immunol Hung 2004; 51: 303-10.

21. Kanda N, Watanabe S. Suppressive Effects Of Antimycotics On Tumor Necrosis Factor-A-Induced CCL27, CCL2, And CCL5 Production In Human Keratinocytes. Biochemical Pharmacology 2006; 72:463-473.

22. Nordvall SL, Johansson S. Ige Antibodies To *Pityrosporum Orbiculare* In Children With Atopic Diseases. Acta Paediatr Scand 1990; 79: 343–349.

23. Chong CR, Xu J, Lu J, Bhat S, Sullivan DJ Jr, Liu JO. Inhibition Of Angiogenesis By The Antifungal Drug Itraconazole. ACS Chem Biol. 2007; 24:263-70.

The Effects of Azoles Antifungal Derivatives on Inflammatory Cytokine Production in Human Keratinocyte

*Saadat F.(Ph. D) [1]
***Corresponding Author:** Immunology Department, School of Medicine, Giulan University of Medical Sciences, Rasht, IRAN
E-mail: fsaadat@razi.tums.ac.ir
Received: 21/ Oct/ 2007 Accepted: 27/Jan/2008

Abstract

Introduction: Antifungal drugs have been successfully used in treatment of fungal infections. Recently, immunomodulatory effects of some of these agents have been reported. Base on immune system role in the treatment of various infection, alteration in cytokine pattern would be influenced the immune responsiveness.

Objective: Study the expression and secretion of the inflammatory cytokines in human keratinocyte.

Materials and Methods: In this invitro study,cultured keratinocytes were treated with different concentrations of Fluconazole, Ketoconazole and Griseofulvin. The level of IL-1 and TNF-α by keratinocytes in cultured supernatant were measured by Quantitative Enzyme Immunoassay technique and their expression were evaluated by using real time PCR. Data was analysed with one way ANOVA test(Varyance).

Results: Treatment of keratinocytes with different concentrations of Fluconazole (3.3,10,30 μ/ml) and low concentration of ketoconazole caused to decrease of IL-1 secretion ($P<0.001$), but Griseofulvin did not show this effect at the same concentrations. In addition, the examined drugs had no effect on TNF-α secretion. Quantitative analysis of IL-1 encoding genes revealed that transcription on these genes might be suppressed following treatment with Fluconazole or ketoconazole.

Conclusion: Antifungal azoles might be modulated cytokines expression and secretion as well as affect the direction of immune response induced by keratinocytes.

Key words: Antifungal Agents/ Cytokines/ Inflammation

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 66, Pages 1-7

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 10:52 IRDT on Saturday July 20th 2019

1. Immonology Department, School of Medicine, Giulan University of Medical Sciences, Rasht, IRAN