

تأثیر داروهای ضدقارچ آزول بر تولید سایتوکین‌های التهابی در کراتینوسیت‌های انسانی

*دکتر فرشید سعادت (Ph.D)

* 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 بر نقش برخی از آنها در القا و یا سرکوب پاسخ‌های سیستم ایمنی ارائه شده است. با توجه به نقش سیستم ایمنی در پاسخ به عوامل عفونی هرگونه تغییر در طرح وارده سایتوکینی وضعیت پاسخ‌گویی فرد را تحت تأثیر 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 گریزوفولوین 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. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه One Way ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف فلوکونازول (۱۰، ۳/۳، ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و غلظت پایین کتوکونازول باعث کاهش معنی‌دار ترشح IL-1 شد ($P < 0.001$)، اما گریزوفولوین 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 نسخه‌پردازی 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

ضایعات اگزمایی سر و گردن اولین بار در سال ۱۹۸۳ توسط کلمنسن و هیورث گزارش شد (۳). گرچه در بررسی‌های بعدی کارایی و تأثیر مثبت استفاده از سایر ترکیبات آزول نظیر ایتراکونازول در درمان درماتیت سبورئیک و آتوپیک نشان داده شد (۴ و ۵)، 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 (۶ و ۷). از طرفی با توجه به آنکه درمان با آمفوتریسین و یا فلوکونازول در

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 پس از آن کتوکونازول، فلوکونازول و ایتراکونازول به بازار دارویی عرضه شدند. تأثیر بالینی مناسب و بی‌خطر بودن این داروها در درمان عفونت‌های سطحی و منتشره قارچی، موجب مصرف روزافزون آنها در سرتاسر جهان شد (۱ و ۲).

اثرات درمانی مثبت کتوکونازول خوراکی در درمان

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 گریزئوفولین (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 (ایترلوکین) 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 گریزئوفولین) 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

مدل حیوانی آلوده به کاندیدا آلبیکانس موجب کاهش تولید IL-4 و افزایش IFN- γ می‌شود (۸ و ۹). کتوکونازول از تکثیر وابسته به IL-2 لنفوسیت‌های T جلویی 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 در دفاع 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 سایتوکین‌های التهابی در سلول‌های کراتینوسیت انسانی صورت نگرفته بود، 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 سانتی‌گراد و ۵٪ دی‌اکسید کربن نگهداری شدند. بعد از پاساژ دوم تا چهارم به

(step) صورت گرفت. Master Mix حاوی DNA $1/5 \mu\text{L}$ ، $1/8 \mu\text{L}$ MgCl_2 (25mmol/L)، $1/8 \mu\text{L}$ H_2O و $1/5 \mu\text{L}$ 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'-atcagtagctcacggctgct-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 پرایمرهای (5'-alas-r acctccaacacaaccaag-3') (5'-f) Real Time PCR توسط cactggaagagctgtgtga-3') سنجیده و به صورت نیمه کمی محاسبه شد. آزمون‌های آماری: داده‌ها توسط نرم افزار SPSS 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 گریزئوفولون در نمودار یک نمایش داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، فلوکونازول باعث کاهش معنی‌دار ترشح IL-1 می‌شود ($P < 0.001$)؛ اما گریزئوفولون در غلظت‌های مشابه چنین تاثیری را از خود نشان نداد. کتوکونازول نیز در غلظت پایین باعث کاهش میزان ترشح IL-1 شد در حالی که تیمار سلول‌های کراتینوسیت با غلظت $30 \mu\text{g/ml}$ موجب القای سنتز این سایتوکین شد. در این بررسی میزان ترشح TNF α از سلول‌های کراتینوسیت بسیار پایین بوده و هیچ گونه تغییر معنی‌داری در میزان ترشح این سایتوکین‌ها به دنبال تیمار با غلظت‌های مختلف

ساخت آلمان طبق راهکار دفترچه راهنمای آن اندازه‌گیری شدند. نمونه‌ها و استانداردها به چاهک‌های پوشیده شده توسط آنتی بادی منوکلونال اختصاصی بر علیه سایتوکین 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 اضافه نمودن سوبسترا (حاوی ماده کروموزن 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 سایتوکین مورد بررسی (استاندارد) تعیین شد.

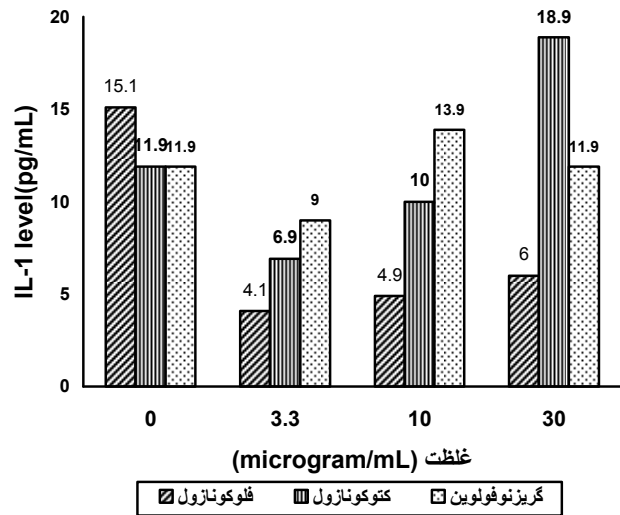
بررسی کمی بیان ژن کدکننده اینترلوکین‌ها: سلول‌های کراتینوسیت با اضافه نمودن محلول تریزول لیز شدند و RNA آزاد و با اضافه نمودن کلروفرم استخراج شد و در ادامه توسط الکل (ایزوپروپانل و اتانل) و سرما رسوب داده شد. رسوب RNA در آب مقطر دیونیزه دوبار تقطیر حل و در -80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. RNA استخراج شده به عنوان الگو برای ساخت DNA مکمل توسط آنزیم Reverse Transcriptase استفاده شد و cDNA با استفاده از کیت Gene Amp RNA (Applied Biosystems, Foster City, CA) با 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

بررسی کمی بیان ژن IL-1 در نمودارهای دو نمایش داده شده است. بر اساس نتایج حاصل از Real Time PCR، میزان نسخه برداری از ژن کدکننده IL-1 به دنبال تیمار سلول‌ها با فلوکونازول به صورت وابسته به دوز کاهش می‌یابد در حالی که کتوکونازول در غلظت‌های پایین باعث کاهش بیان ژن‌های کدکننده IL-1 شده و با افزایش غلظت باعث افزایش نسخه برداری از ژن‌های مذکور شد.

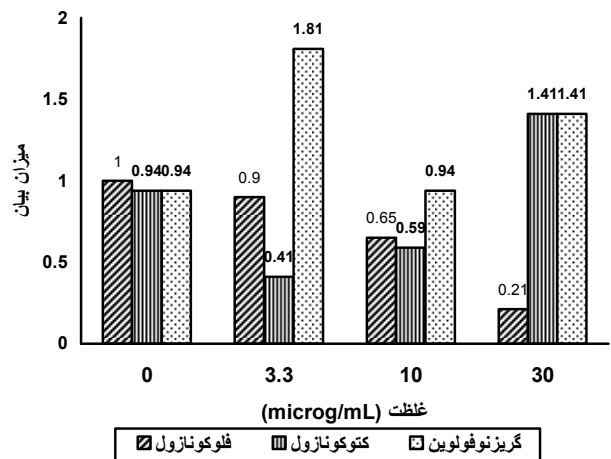
بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌های بالینی نشان می‌دهند که درمان‌های موضعی یا سیستمیک با برخی از داروهای ضدقارچی مانند کتوکونازول در درمان بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک یا سپورئیک موثر است (۴ و ۵). از آنجا که مخمرهای چربی دوست مالاسزیا به عنوان یک ماده حساسیت‌زا برای پاسخ‌های آلرژیک وابسته به IgE عمل می‌نمایند (۱۵)، بخشی از این تاثیر می‌تواند مرتبط با اثر ضد قارچی کتوکونازول بر مخمرهای مذکور باشد (۱۶). برخی از محققین نیز معتقدند که تاثیر داروهای آزول بر تغییرات پاسخ ایمنی، تنها معطوف به آثار ضد قارچی آن نبوده و داروهای مذکور با ایجاد تغییرات مورفولوژیک در ماکروفاژها (۱۷) و همچنین سرکوب تکثیر سلول‌های لنفوسیت قادرند تاثیر درمانی خود را بر درماتیت‌ها بیان نمایند (۱۸). این محققین همچنین پیشنهاد نموده‌اند که ممکن است یکی از مکانیسم‌های اثر این داروها ممانعت از تولید عامل رشد سلول‌های T همانند اینترلوکین ۲ باشد. به علاوه در بررسی کاندا و همکارانش نشان داده شد که ممکن است کتوکونازول با ممانعت از cAMP موجب مهار اثر اینترلوکین ۴ بر سلول‌های B برای تعویض کلاس ایمونوگلوبولین به IgE شود (۱۹).

فلوکونازول، کتوکونازول و گریزوفلووین مشاهده نشد.



نمودار ۱: میزان ترشح اینترلوکین ۱ از سلول‌های کراتینوسیت تیمار شده با غلظت‌های مختلف ترکیبات ضدقارچی فلوکونازول، کتوکونازول و گریزوفلووین (۳/۳، ۱۰، ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به سلول‌های شاهد



نمودار ۲: میزان بیان ژن کدکننده اینترلوکین ۱ در سلول‌های کراتینوسیت تیمار شده با غلظت‌های مختلف ترکیبات ضدقارچی فلوکونازول، کتوکونازول و گریزوفلووین (۳/۳، ۱۰، ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به سلول‌های شاهد

همخوانی دارد و به نظر می‌رسد که ترکیبات آزول قادرند علاوه بر کاهش میزان ارگانسیم‌های 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 پاسخ‌های التهابی شوند (۲۲). از دیگر سازوکارهای احتمالی تاثیر این ترکیبات در توقف چرخه سلولی از طریق مهار اثر لانسترون 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 همورال نقش چندانی را در مواجهه با اکثر آنها ایفا نمی‌کند؛ بر مبنای نتایج حاصل از این مطالعه امکان تضعیف پاسخ‌های تیپ یک محتمل بوده، بنابراین کاربرد داروهای آزول در درمان عفونت‌های 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 در سایر رده‌های سلولی و همچنین مطالعه روی حیوانات آزمایشگاهی پیشنهاد می‌شود.

کراتینوسیت‌ها نیز از سلول‌های موثر در پاسخ ایمنی علیه پاتوژن‌ها هستند. آنها با شناسایی الگوی مولکولی وابسته به پاتوژن (Pathogen Associated Molecular Patherن)، 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 کتوکونازول (یک ایمیدازول) در مقیاسه با فلوکونازول (یک تری آزول) جستجو کرد. در این بررسی تیمار کراتینوسیت‌ها با ترکیبات آزول تغییری در میزان ترشح TNF- α ایجاد نمود که این نتیجه با گزارش فریکسیوس (۱۸) مبنی بر عدم 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 سایتوکین‌های التهابی نظیر اینترلوکین یک می‌شوند و این سایتوکین موجب افزایش بیان مولکول‌های سطحی نظیر لیگاندهای اینترگرین‌ها 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

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 C, 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 J Immunopharmac* 1991; 13:299-304.
11. Pawelec G, Jaschonek K, Ehninger G. The Antifungal 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. Friccus 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- α -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, Guilan 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

¹ 1. Immunology Department, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, IRAN