دانشکده دامپزشکی

پایان نامه

جهت دریافت درجه دکترای عمومی در رشته دامپزشکی(DVM)

شماره ثبت:۴۲۷

بررسی مقایسه‌ای بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر(Terrier) مبتلا به آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative(q)PCR

به کوشش:

روجا ابراهیمی

اساتید راهنما:

دکتر جلیل مهرزاد

دکتر جواد خوش نگاه

شهریور ۱۳۹۱

اظهارنامه

اینجانب روجا ابراهیمی دوره دکتری حرفه‌ای ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، نویسنده پایان‌نامه: بررسی مقایسه‌ای بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر(Terrier) مبتلابه آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative(q)PCR تحت راهنمایی آقای دکتر جلیل مهرزاد و آقای دکتر جواد خوش نگاه متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه فردوسی مشهد» و یا «Ferdowsi University of Mashhad»به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ: ۱۳۹۱/۷/۳۰

امضای
دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوي اين اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌هاي رايانه‌اي، نرم افزارها و تجهيزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسي مشهد مي‌باشد. اين مطلب بايد به نحو مقتضي در توليدات علمي مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتايج موجود در پايان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمي‌باشد.

به نام خدا

گواهی اعضای کمیته ی پایان نامه

بررسی مقایسه‌ای بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر(Terrier) مبتلابه آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative (q)PCR

به کوشش:

روجا ابراهیمی

پایان نامه ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم جهت اخذ درجه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی

در رشته دامپزشکی

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته ی پایان نامه، با درجه: بسیار خوب و نمره :۱۸/۹۴

استاد راهنما دکتر جلیل مهرزاد، استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

استاد مشاور دکتر جواد خوش نگاه، استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

داور دکتر حسام الدین دهقانی، دانشیار گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

داور دکترعلی رضا حق پرست، استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

این پایان نامه را تقدیم می کنم به:

روح پدر عزیزم

و مادر گرمی ام

به پاس عمری که به پایم گذاشتند

و

خواهران عزیزم

به پاس محیط آرامی که برای تحصیلم فراهم کردند

باسپاس فراوان از:

اساتید راهنمای گرامیم:

جناب آقای دکتر مهرزاد، که صبورانه کاستی‌های من طی این تحقیق را با محبت خویش به آموزه‌ها بدل کردند.

و

جناب آقای دکتر خوش نگاه، که همواره راهنما و مشوقم بودند.

همچنین از سرکار خانم دکتر اعظم محمدی و جناب آقای بهاری به پاس زحمات فراوانشان صمیمانه تشکر می نمایم.

در پایان از آقایان دکتر دهقانی و دکتر حق پرست که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

چکیده

بررسی مقایسه‌ای بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر(Terrier) مبتلا به آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative (q)PCR

به کوشش:

روجا ابراهیمی

درماتیت آتوپیک، درماتوزی شایع در سگ‌ها و در واقع دومین دلیل ایجاد خارش در آن هاست. این بیماری به عنوان یک بیماری پوستی خارش‌دار و التهابی با زمینه‌ی ژنتیکی همراه با تظاهرات مشخص بالینی، شناخته می‌شود. نقش کلیدی را در این بیماری، ایمنوگلوبولین‌های E برعهده دارند که اغلب درمقابل آلرژن‌های محیطی تولید می‌شوند. شواهدی روز افزون نشان دهنده ی وجود نقص‌هایی در سیستم ایمنی ذاتی است که مجموعاً می‌توانند بر بروز و شدت درماتیت آتوپیک اثر بگذارند. اختلال در بیان ژن گیرنده‌های شبه تول، می‌تواند یکی از این علل رخداد علایم بالینی خاص در درماتیت آتوپیک باشد. به غیر از درماتیت آتوپیک بسیاری از درماتیت ها با منشا آلرژیک در سگ سانان شناسایی شده اند که علایم این بیماری را تقلید کرده و از تشخیص های تفریقی آن به حساب می آیند.

در مطالعه‌ی حاضر، بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر مبتلا به آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative PCR (qPCR) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از بین سگ‌های مبتلا به بیماری‌های پوست و مو، مراجعه کننده به بیمارستان آموزشی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد (در بازه ی زمانی مهرماه ۱۳۹۰ تا تیرماه ۱۳۹۱)، تعداد ۲۴ قلاده سگ در سه گروه مورد مطالعه قرار گرفتند:۸ سگ مبتلا به درماتیت آتوپیک, ۸ سگ مبتلا به درماتیت‌های آلرژیک غیر آتوپیک, ۸ سگ سالم (فاقد بیماری پوست و مو). پس از اخذ نمونه‌ی خون از سگ‌های مورد مطالعه، در شرایط سترون، سلول‌های تک هسته‌ایی خون محیطی جدا شدند. سپس RNA تام از پلت‌های PBMC خون سگ‌ها استخراج گردید. در ادامه رونوشت برداری معکوس و ساخت cDNA صورت گرفت. محصولات حاصله با پرایمرهای اختصاصی TLR4تحت فرایند PCR معمولی و qPCR قرار گرفتند. محصولات فرایند PCR معمولی تحت انجام الکتروفورز قرار گرفته و باند های اختصاصی ژن TLR4در محل مورد انتظار بر روی ژل مشاهده شدند. همچنین منحنی ذوب حاصل از فرایند qPCR پیک منفرد حاصل از

بیان ژن را در دمای صحیح نشان داد . نتایج حاصل از انجام تجزیه و تحلیل آماری تغییرات بیان ژن به علت ایجاد اختلالات مشاهده شده در استاندارد سازی و تنظیم دقیق آزمون qPCR ،غیر قابل اتکا تلقی شده و بنابراین نیاز به انجام مطالعات بیشتری بر روی جنبه های مولکولی سیستم ایمنی مبتلایان به درماتیت های آلرژیک همچنان وجود دارد.

کلمات کلیدی: درماتیت آتوپیک، سگ، گیرنده شبه تول ۴، سلول‌های تک هسته‌ایی خون محیطی، qPCR

فهرست مطالب

بررسی مقایسه‌ای بیان ژن گیرنده‌ی شبه تول ۴ (TLR4) در سلول‌های تک هسته‌ای خون سگ‌های نژاد تریر(Terrier) مبتلا به آلرژی پوستی ناشی از درماتیت آتوپیک و غیر آتوپیک به روش Real-time quantitative(q)PCR

مقدمه..... ۱

۱-مروری بر تحقیقات انجام شده..... ۵

۱-۱- درماتیتهای سگسانان و میزان شیوع آنها..... ۵

۱-۱-۱- درماتیت آتوپیک سگ‌سانان..... ۶

۱-۱-۱-۱-شیوع درماتیت آتوپیک در سگ‌سانان..... ۶

۱-۱-۱-۲- آلرژن‌های موثر در درماتیت آتوپیک سگ‌سانان..... ۷

۱-۱-۱-۳-بیماری‌زایی درماتیت آتوپیک..... ۸

۱-۱-۱-۳-۱- تفاوت‌های ایمونولوژیک در مبتلایان به درماتیت آتوپیک سگ‌سانان..... ۹

۱-۱-۱-۴- هیستولوژی درماتیت اتوپیک سگ‌سانان..... ۱۰

۱-۱-۱-۵- تظاهرات بالینی درماتیت آتوپیک سگ‌ها..... ۱۱

۱-۱-۱-۵-۱-سن شروع..... ۱۱

۱-۱-۱-۵-۲-استعداد نژادی..... ۱۱

۱-۱-۱-۵-۳-استعداد جنسی..... ۱۲

۱-۱-۱-۵-۴-تاثیر فصل..... ۱۲

۱-۱-۱-۵-۵-موقعیت آناتومیکی خارش..... ۱۲

۱-۱-۱-۵-۶-ضایعات اولیه‌ی درماتیت آتوپیک سگ سانان..... ۱۳

۱-۱-۱-۵-۷-دیگر تظاهرات درماتیت آتوپیک سگ سانان..... ۱۳

۱-۱-۱-۶- تشخیص درماتیت آتوپیک سگ سانان..... ۱۴

۱-۱-۱-۶-۱- تشخیص بالینی درماتیت آتوپیک..... ۱۴

۱-۱-۱-۶-۲- تشخیص آزمایشگاهی درماتیت آتوپیک..... ۱۶

۱-۱-۱-۷-درمان درماتیت آتوپیک..... ۱۷

۱-۱-۱-۷-۱- ایمنی درمانی با آنتی‌ژن اختصاصی..... ۱۷
۱-۱-۲- سایر درماتیت‌های آلرژیک سگ‌سانان..... ۱۸
۱-۱-۲-۱-ازدیاد حساسیت به نیش کک..... ۱۹
۱-۱-۲-۲-آلرژی غذایی و درماتیت آتوپیک در سگ‌ها..... ۲۰
۱-۱-۲-۳- درماتیت باکتریایی در سگ‌سانان..... ۲۲
۱-۱-۲-۳-۱-ارتباط عفونت‌های جلدی با پاتوژنز و دوره‌ی بیماری بالینی درماتیت آتوپیک..... ۲۲
۱-۱-۲-۴- اِسکِیبی سگ سانان یا ابتلا به جرب سارکوپتس..... ۲۳
۱-۱-۲-۵-درماتیت مالاسزیایی در سگ‌سانان..... ۲۴
۱-۲- سیستم ایمنی..... ۲۶
۱-۲-۱- تاریخچه ی کشف گیرنده های شبه تول(TLRS)..... ۲۶
۱-۲-۲-گیرنده‌ی شبه تول چیست؟..... ۲۷
۱-۲-۳- ساختار گیرنده‌های شبه تول..... ۳۰
۱-۲-۴- لیگاندهای گیرنده‌های شبه تول..... ۳۲
۱-۲-۴-۱-لیگاندهای محرک TLR4..... ۳۳
۱-۲-۴-۲- لیگاندهای سایر TLRها..... ۳۳
۱-۲-۴-۳-چگونگی تحریک TLR4 توسط LPS..... ۳۵
۱-۲-۵- سیگنال درون سلولی TLRها..... ۳۵
۱-۲-۶- سلول‌های پوست و TLRهای مرتبط با آن‌ها..... ۳۶
۱-۳- بررسی نقش احتمالی TLRها درپاتوفیزیولوژی درماتیت آتوپیک..... ۳۹
۱-۴- واکنش زنجیره ایی پلی مراز..... ۴۱
۱-۵-REAL-TIME PCR..... ۴۱
۱-۵-۱-تعریف و مفهوم REAL – TIME PCR(Q)PCR..... ۴۱
۱-۵-۲-مزایای روش REAL-TIME PCR..... ۴۲
۱-۵-۳-کاربردهای REAL-TIME PCR:..... ۴۲
۱-۵-۴-روشهای تعیین کمیت با REAL-TIME PCR..... ۴۴
۱-۵-۴- ۱- رسم نمودار استاندارد و تعیین بازده PCR..... ۴۶
۱-۵-۴-۲- منحنی ذوب..... ۴۷
۱-۷-اهداف پژوهش..... ۴۷

۱-۷-۱-هدف کلی..... ۴۷
۱-۸- مروری بر تحقیقات انجام شده..... ۴۷
۱-۸-۱- تحقیقات انجام گرفته در ایران..... ۴۷
۱-۸-۲-تحقیقات انجام گرفته در سایر کشورها..... ۴۸
۲-مواد و روش ها..... ۵۰
۲-۱-انتخاب بیمار..... ۵۱
۲-۱-۱-روش تشخیص بالینی به کار رفته برای تشخیص درماتیت آتوپیک و تمایز آن از سایر درماتیت‌ها..... ۵۱
۲-۲-روش نمونه گیری..... ۵۴
۲-۳- جداسازی سلول های تک هسته ای خون محیطی..... ۵۴
۲-۴-استخراج RNA تام از پلت‌های سلول هاخون محیطی سگها..... ۵۵
۲-۴-۱- تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده..... ۵۷
۲-۴-۲- الکتروفورز RNAهای استخراج شده..... ۵۷
۲-۵-انجام روش رونوشت برداری معکوس و ساخت (cDNA) و بررسی کمی آن..... ۵۸
۲-۵-۱- انجام نانودراپ به منظور تعیین کمیت و کیفیت cDNAتهیه شده..... ۶۰
۲-۶-مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر..... ۶۰
۲-۷- انجامPCR معمولی..... ۶۳
۲-۷-۱- بررسی کیفیت فرایندPCR..... ۶۴
۲-۸- انجام PCR گرادیانت..... ۶۴
۲-۹- REAL- TIME QPCR..... ۶۶
۲-۹-۱- انجام REAL- TIME QPCR به منظور بررسی بازده..... ۶۷
۲-۹-۲-انجام REAL- TIME QPCR به منظور بررسی بیان ژن ها..... ۷۱
۳-نتایج..... ۷۴
۳-۱نتایج کیفیت فرایندQPCR..... ۷۵
۳-۲- نتایج تکثیر ژن ها..... ۷۵
۳-۲-نتایج حاصل از محنی ذوب..... ۷۶
۳-۳-نتایج حاصل ازآنالیز آماری تغییرات بیان ژن ها..... ۷۸
۴- بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها..... ۸۰

۴-۱- بحث و نتیجه گیری ۸۱
۴-۲- پیشنهاد ها ۸۳
منابع فارسی ۸۴
منابع لاتین ۸۴

فهرست جداول

عنوان شماره صفحه

جدول۱- ۱ معیار تشخیصی فاورت (۲۰۱۰) برای درماتیت آتوپیک سگها.....۱۵
جدول۱- ۲ گیرندههای شناسایی الگو (PRRs).....۲۸
جدول۱- ۳ TLRهاو لیگاندهای مرتبط با آن.....۳۴
جدول۲-۱-ترکیبات کیت RT-PCR مورد استفاده در این پایان نامه.....۵۸
جدول۲- ۲ برنامه دستگاهThermocycler به متظور انجام RT-PCR.....۵۹
جدول۲- ۳ مشخصات پرایمرهای طراحی شده.....۶۱
جدول۲-۴ ترکیبات کیت تجاری PCR مورد استفاده.....۶۳
جدول۲- ۵ برنامهی دستگاه Thermocycler جهت انجام PCR معمولی.....۶۴
جدول۲- ۶ برنامه PCR و غالبترین دمای استفاده شده.....۶۵
جدول ۲-۷-ترکیبات کیت اواگرین مورد استفاده در این پایان نامه.....۶۷
جدول۲- ۸ برنامهی چرخه دمایی برای انجام Real- time qPCR ۷۳
جدول۲-۹ برنامه منحنی ذوب برای Real- time qPCR.....۷۳

فهرست تصاویر

عنوان | شماره صفحه

تصویر ۱- ۱ جرب گردو غبارخانه یا درماتوفاگوئیدس..... ۷
تصویر ۱- ۲ بیماری‌زایی درماتیت آتوپیک..... ۹
تصویر ۱- ۳ هیستولوژییک زخم تازه درماتیت‌آتوپیک..... ۱۱
تصویر ۱- ۴ درماتیت آتوپیک حاد..... ۱۳
تصویر ۱- ۵ درماتیت آتوپیک موضعی مزمن..... ۱۳
تصویر ۱- ۶ درماتیت آتوپیک موضعی عمومی منتشر ۱۴
تصویر ۱- ۷ آزمون تزریق داخل جلدی..... ۱۶
تصویر ۱- ۸ ابتلای ناحیه ی ران‌ها و دم یک قلاده سگ به آلرژی ناشی از گزش کک ۲۰
تصویر ۱- ۹ پایودرم در یک قلاده سگ ۲۲
تصویر ۱- ۱۰ اسکیبی شدید منتشر ۲۴
تصویر ۱- ۱۱ سارکوپتس اِسکِیبی سویه‌ی کنیس..... ۲۴
تصویر ۱- ۱۲ سیستم ایمنی اکتسابی و ذاتی..... ۲۹
تصویر ۱- ۱۳ گیرنده‌های شبه تول و گیرنده‌های اینترلوکین ۱ ..... ۳۱
تصویر ۱- ۱۴ جایگاه TLRها روی سلول ۳۲
تصویر ۱- ۱۵ تحریک TLR4باعث راه اندازی مسیرهای وابسته و غیر وابسته به MYD88 می‌شود ۳۶
تصویر ۱- ۱۶ سلول‌های پوست و TLRهای مرتبط با آن‌ها..... ۳۸
تصویر ۱- ۱۷ کراتینوسیت‌ها TLRها ۱،۲، ۳، ۵، ۹ و ۱۰ را بیان می کنند..... ۳۸
تصویر ۱- ۱۸ سلول‌های لانگرهانس مقادیر قابل توجه از TLRها ۲، ۳،۴،۸ و ۱۰ را بیان می‌کند..... ۳۹
تصویر ۱- ۱۹ سلول‌های لانگرهانس..... ۳۹
تصویر ۲- ۱ نمونه‌ی پرسش نامه‌ی اختصاصی بیماری های پوستی..... ۵۲
تصویر ۲- ۲ جداسازی PBMCها به روش فیکول ۵۵
تصویر ۲- ۳ مشاهده باندهای RNAاستخراج شده روی ژل آگارز..... ۵۷
تصویر ۲- ۴ دستگاه ترموسایکلر..... ۵۹

تصویر ۲- ۵ منحنی حاصل از تست نانودراپ cDNA تهیه شده از یکی از نمونه‌ها.....۶۰
تصویر ۲-۶ الف-mRNAs ژن TLR4ومحل قرار گرفتن پرایمر طراحی شده بر روی آن.....۶۲
تصویر ۲-۶ب-mRNAs ژن GAPDHومحل قرار گرفتن پرایمر طراحی شده بر روی آن ۶۲
تصویر ۲- ۷ مشاهده باندژن‌های TLR4و GAPDH روی ژل آگارز ۶۴
تصویر ۲- ۸ باندهای مربوط به ژن یTLR4 درمحل صحیح خود بر روی ژل آگارز. ۶۶
تصویر ۲- ۹ دستگاه آنالیزر Real- time qPCRمورد استفاده در این پایان نامه.....۶۸
تصویر ۲- ۱۰ الف نمونه ای از منحنی تکثیر ژن تارگت.....۶۹
تصویر ۲-۱۰ ب نمونه ای از منحنی تکثیر ژن رفرانس ۶۹
تصویر ۲- ۱۱ الف نمودار استاندارد مربوط به ژن تارگت.....۷۰
تصویر ۲-۱۱ ب نمودار استاندارد هربوط به ژن رفرانس.....۷۰
تصویر ۲- ۱۲ الف منحنی ذوب مربوط به ژن GAPDH.....۷۱
تصویر ۲- ۱۲ ب منحنی ذوب مربوط به ژن TLR4 .....۷۱
تصویر ۲- ۱۳ میکروتیوب های Real- time qPCR.....۷۲
تصویر۳- ۱ باند های مربوط به ژن هایTLR4و GAPDH درمحل صحیح خود بر روی ژل ..۷۵
تصویر۳- ۲نمونه ای از منحنی تکثیر ژن های هدف و رفرانس ارائه شده توسط نرم افزار.....۷۶
تصویر۳- ۳ الف و ب نمودار منحنی ذوب نمونه های مختلف.....۷۷

مقدمه

مقدمه

درماتیت آتوپیک یکی از معمول‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های آلرژیک آماسی پوستی و خارش‌دار مزمن و عودکننده در سگ‌هاست (۱) و میزان شیوع آن در سگ‌ها و انسان در حال افزایش است (۲). در این بیماری ژنتیکی، بیمار به آنتی ژن‌های محیطی (موجود در غذا و هوا) حساس می شود و واکنش‌های مزمن در سطح سلولی- مولکولی رخ می دهند. علت اصلی مراجعه‌ی بیماران دچار درماتیت‌های آتوپیک، خارش است که عمدتاً در نواحی صورت، گوش‌ها، پنجه‌ها، انتهای اندام‌های حرکتی و زیر شکم برزو می کند (۱).در ایران (مشهد)، میزان شیوع درماتیت آلرژیک آتوپیک، ۷/۲ درصد (۸ بیمار از مجموع ۱۱۱ بیمار پوستی) گزارش شده است (۳). سبب شناسی و درمان این بیماری بسته به شرایط مختلف حتی موقعیت جغرافیایی بیمار، بسیار متفاوت و پیچیده است. شدت خارش در سگ‌های مبتلا به آلرژی پوستی مزمن بسیار مهم است و برای درمان و تسکین خارش و جراحات جلدی، مجموعه ای از مداخلات باید صورت پذیرد و حتی از روش‌های ایمنی درمانی با آلرژن‌های خاص بهره گرفته شده است (۴).آلرژن‌های متعددی به عنوان عوامل دخیل در پاتوژنز درماتیت آتوپیک سگ‌ها مطرح شده‌اند شامل (۵)

جرب گرد و غبار خانه[1] (درماتوفاگوئیدس[2])،

گرده‌های گیاهی

درخت‌ها و علف‌های هرز

اسپری‌های ضدکک

آنتی‌ژن‌های اپیدرمی

آنتی‌ژن‌های حشرات.

با وجود روش‌های درمانی متفاوت برای درماتیت آتوپیک ، اکثر آن ها درمان‌هایی موقت، علامتی و ناموفق بوده اند . یکی از علت‌ها شاید مداخله‌ی عوامل سلولی- مولکولی و ژن‌ها و پروتئین‌های متفاوت

[1] House dust mite
[2] *Dermatophagoides*

باشند. در هر حال هنوز ناشناخته‌های فراوانی در این مورد وجود دارد. این موضوع در مبحث مولکولی ایمنی ذاتی بیشتر مشهود است.

آلرژی های پوستی غیر آتوپیک شامل سایر بیماری های هایپرسنستیو پوستی, با بیماری زایی و علایم بالینی نسبتا مشابه با درماتیت آتوپک می باشند که از تشخیص های تفریقی این بیماری به حساب می آیند (۱). آلرژن های مسبب این بیماری ها بسیار متنوع بوده و بسته به نوع آلرژی شامل مواد غذایی حساسیت زا, ترکیبات موجود در بزاق کک و ..... می باشد. تمایز این درماتیت ها با درماتیت آتوپیک از طریق تطابق دادن علایم بالینی بیمار با چک لیست های معتبر و همچنین اقدامات خاصی مانند قرار دادن حیوان تحت رژیم های غذایی حذفی صورت می گیرد (۶).

سیستم ایمنی ذاتی بدن حیوانات به وسیله‌ی بسیاری از ژن‌های کد کننده‌ی مولکول‌های محلول و غیرمحلول، کنترل و فعال می‌شود. یکی از بازوهای مهم مولکولیِ ایمنی ذاتی، گیرنده‌های شناساگر الگو[1] (PRR) هستند (۷, ۸). گیرنده‌های شبه تول[2] (TLRs) به عنوان یکی از مهم ترین دسته ی PRR ها در بسیاری از سلول‌های بدن به ویژه در سلول‌های ایمنی ذاتی حیوانات به وفور بیان می‌شوند، و مجموعه‌ی خاصی از مولکول‌های خارجیِ وابسته به عوامل بیماری‌زا (PAMP[3] یا MAMP[4]) را شناسایی می کنند (۸). تاکنون ۱۱ نوع TLRs در انسان و ۱۲ نوع در موش شناسایی شده است که لیگاند هر یک نیز مشخص شده است (۸). هم اکنون، مطالعات بسیار گسترده ای در خصوص این گیرنده‌ها در حال انجام است و شواهد بیشتری از نقش TLRs در ایجاد کنترل پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی به دست آمده است. پس از شناسایی PAMPs موجود در سطح عوامل بیماری زا توسط TLRs ، تغییراتی در بیان ژن‌ها رخداده و در نتیجه، پاسخ‌های ایمنی مناسب ایجاد می‌شوند. اکثر TLRs باعث فعال شدن فاکتورهای رونوشت برداری نظیر NF-kB و IRF و... شده که منجر به ایجاد التهاب و در نهایت القای پاسخ‌های ایمنی اکتسابی لنفوسیت‌های B و T می شوند (۹).

لیپوپلی ساکارید(LPS)_ یکی از ترکیبات دیواره باکتری های گرم منفی_ به طور معمول در محیط وجود داشته و به خصوص در هوای آلوده به گردوغبار جرب ها رد یابی شده است (۱۰). TLR4که اصلی ترین گیرنده LPS شناخته شده است به صورت معمول بر سطح بسیاری از سلول هل از جمله مونوسیت ها و لنفوسیت ها بیان می شود (۱۱).

[1] Pattern recognition receptors
[2] Toll-like receptors
[3] Pathogen-associated molecular patterns
[4] Microbial-associated molecular patterns

با توجه به توجه به نقش رسپتور های شبه تول دربه راه اندازی تولید سیتوکین های التهابی و با در نظر داشتن این مسئله که التهاب پوستی از اولین علایم بالینی قابل مشاهده دربیماران مبتلا به درماتیت های آلرژیک می باشد, می توان تا حدی نقش این رسپتور را در بیماریزی این بیماری ها محتمل دانست.

بنابراین فرضیه این مطا لعه را در سه قالب زیر می توان گنجاند:

میزان بیان ژن TLR4 در سلول های تک هسته ایی خون محیطی سگ های مبتلا به درماتیت های آلرژیک افزایش می یابد.

میزان بیان ژن TLR4 در سلول های تک هسته ایی خون محیطی سگ های مبتلا به درماتیت های آلرژیک کاهش می یابد.

میزان بیان ژن TLR4 در سلول های تک هسته ایی خون محیطی سگ های مبتلا به درماتیت های آلرژیک تغییری نمی کند.

تحقیقات در این زمینه می‌تواند کلینسین‌ها را در جهت درمان بهتر این بیماری های با اهمیت و پیچیده _در حیوانات و انسان _هدایت کند.

«فصل اول»

مروری بر تحقیقات انجام شده