مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و هفتم- تابستان ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی شیوع ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* در سویه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز جدا شده از بیماران مبتلا به پسوریازیس

الهام سیاسی[1] *، ماندانا بیرانوند[2]، مریم علی خانی[1]

۱-گروه میکروبیولوژی- دانشکده علوم زیستی- دانشگاه آزاد اسلامی – واحد تهران شمال – تهران – ایران.
۲- گروه روماتولوژی- دانشکده علوم پزشکی- دانشگاه آزاد اسلامی – واحد تهران پزشکی – تهران – ایران.

چکیده

سابقه و هدف: استرپتوکوکوس پایوژنز با داشتن فاکتورهای ویرولانس از جمله اگزوتوکسین های A، B و C در ایجاد عفونت پوستی هم‌چون پسوریازیس دخالت دارد. هدف از این تحقیق بررسی حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز در نمونه‌های جدا شده از بیماران پسوریازیس بود.

مواد و روش‌ها: از تعداد ۶۰ فرد مبتلا به پسوریازیس باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز با انجام تست‌های بیوشیمیایی جداسازی شد. پس از استخراج DNA از ۴۸ باکتری ایزوله شده، به منظور بررسی حضور ژن‌های اگزوتوکسین‌های A، B و C واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام گرفت.

یافته‌ها: با انجام واکنش PCR در این باکتری‌ها، فراوانی حضور ژن *speA* در ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪)، ژن *speC* در ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و ژن *speB* در همه نمونه‌ها (۱۰۰٪) به‌دست آمد. فراوانی نمونه‌های دارای بیش از یک ژن هم در طی این مطالعه بررسی شد و نتایج به‌دست آمده نشان داد تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepA* و *sepB* ، ۲۸ نمونه (۵۸/۳)، تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepB* و *sepC* ، ۱۶نمونه (۳۳/۳) و تعداد نمونه‌های دارای هر سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC* ، ۱۰ نمونه (۲۸/۸) بودند.

بحث: نتایج نشان داد بین حضور سه ژن *speA*، *speB* و *speC* با ایجاد پسوریازیس ارتباط معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین از بین عوامل عفونی و فاکتورهای فیزیولوژیک و ژنتیک که در ایجاد پسوریازیس مؤثرند، باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز یکی از دلایل مهم بوده که نتایج این تحقیق و سایر مطالعه‌ها مؤید آن است.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس پایوژنز، پسوریازیس، ژن‌های *speA*، *speB* و *speC*، PCR.

مقدمه

پسوریازیس یک بیماری شایع، مزمن و عود کننده است که با پلاک‌های مدور، اریتماتو و پوسته دار مشخص می‌شود (۵). طبق مطالعه‌های انجام شده این بیماری ۷ شکل بالینی مختلف دارد که هر کدام در شدت، دوره بیماری، محل گرفتاری و توزیع روی پوست متفاوت هستند (۵، ۳۵). این اشکال عبارتند از: ۱. پلاک پسوریازیس[1] ۲. پسوریازیس سر[2] ۳. پسوریازیس قطره‌ای[3] ۴. پسوریازیس معکوس[4] ۵. پسوریازیس آرتریت[5] ۶. پسوریازیس اریترودرمیک[6] ۷. پسوریازیس ناخن[7] (۳۴). پسوریازیس شایع‌ترین بیماری خود ایمنی می‌باشد که با توجه به مدت زمان طولانی درگیری، هزینه زیادی برای بیمار در بر خواهد داشت (۲۴). ماهیت ایمونولوژیکی این بیماری و درمان‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی و موتاژن بودن داروها ممکن است باعث افزایش استعداد ابتلاء به سرطان‌های مختلف مانند سرطان پوست و پروستات شود (۳۶). علت دقیق این بیماری شناخته شده نیست، بنابراین هنوز درمان قطعی برای این

نویسنده مسئول :
دانشگاه آزاد اسلامی واحد - دانشکده علوم زیستی-گروه میکروبیولوژی
تهران شمال – تهران – ایران
پست الکترونیکی: emi_biotech2006@yahoo.ca
تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۹/۱۵
تاریخ پذیرش: ۲۷/۲/۱۳۹۵

[1] Plaque Psoriasis
[2] Scalp Psoriasis
[3] Guttate Psoriasis
[4] Invers Psoriasis
[5] Psoriatic arthritis
[6] Erythrodermic Psoriasis
[7] Nail Psoriasis

بیماری وجود ندارد لذا در صورتی که بتوان عامل پاتوفیزیولوژیک اصلی را در این زمینه شناسایی نمود، احتمال درمان طولانی مدت بیماری و جلوگیری از عود آن افزایش خواهد یافت. یکی از فرض‌هایی که امروزه در مورد پاتوژنز این بیماری مطرح شده است، نقش احتمالی عوامل میکروبی و تشکیل آنتی بادی علیه این عوامل می‌باشد (۳۶). نقش عوامل میکروبی در شروع پسوریازیس حدود یک قرن پیش مطرح شد. عوامل میکروبی متعددی در ایجاد یا پیشرفت این بیماری مؤثر می‌باشند، که قارچهایی مانند مالاسزیا وکاندیدا، باکتری‌هایی مانند استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، انتروکوکوس و سودوموناس از عوامل میکروبی مهم در ایجاد این بیماری شناخته شده اند (۴،۱، ۳۵، ۴۷، ۴۸).

از بین باکتری‌های بیماری‌زای موثر در ایجاد پسوریازیس، استرپتوکوکوس پایوژنز یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های انسانی می‌باشد (۵۰). این میکروارگانیسم فاکتورهای ویرولانس متعددی دارد که می‌توان به پروتئین M (مهار کننده فاگوسیتوز)، پروتئین متصل شونده به فیبرونکتین (اتصال باکتری)، لیپوتکوئیک اسید(اتصال باکتری)، کپسول (مهار کننده فاگوسیتوز)، استرپتوکیناز، استرپتودورناز، هیالورونیداز، استرپتولیزین و اگزوتوکسین‌هایی مانند توکسین پایروژنیک اشاره کرد (۱۴، ۴۳ ،۴۶، ۵۰). استرپتوکوکوس گروه A (استرپتوکوکوس پایوژنز) دارای ضمائم فیمبریه است که برروی آن لیپوتئیکوئیک اسید[8]، پروتئین F و پروتئین M دیده می شوند. لیپوتئیکوئیک اسید و پروتئین F باعث اتصال استرپتوکوکوس ها به سلول های اپیتلیال دهان می شوند. این اتصال از طریق فیبرونکتین که به عنوان مولکول گیرنده سلول میزبان عمل می‌کند، صورت می‌گیرد. پروتئین M به عنوان یک مولکول ضد فاگوسیتی عمل نموده و فاکتور بیماری‌زای مهمی است. آنتی‌بادی‌هایی که علیه لیگاندهای اختصاصی باکتریایی که پیش برنده اتصال هستند عمل می‌کنند، می توانند اتصال به سلول میزبان را مهار نموده و میزبان را از عفونت حفاظت نمایند و از فعال شدن سیستم کمپلمان جلوگیری می‌کنند (۳۲، ۴۳). اگزوتوکسین‌های استرپتوکوکوس پایوژنز (که توسط ژن‌های *speA* و*sepB* و *sepC* کد می‌شوند) به عنوان سوپر آنتی ژن‌هایی عمل می‌کنند که به مولکول‌های تیپ II کمپلکس سازگاری بافتی و گیرنده‌های سلول‌های T متصل می‌شوند (۴۰). این اتصال روند فعال شدن سلول‌های T را تحریک کرده که این خود سبب ترشح سیتوکاین‌ها می‌شود که ممکن است موجب کاهش فشار خون و نقص در عملکرد ارگان‌ها به‌واسطه سندرم شوک سمی استرپتوکوکی شود (۶، ۲۵، ۲۹). استرپتوکوکوس پایوژنز (استرپتوکوکوس‌های گروه A) توانایی ایجاد عفونت‌های پوستی و مخاطی خفیف تا بیماری‌های شدید سیستمیک را دارا می‌باشد (۱۴). استرپتوکوکوس پایوژنز انواع اگزوتوکسین از جمله اگزوتوکسن‌های تب زای استرپتوکوکی[9] (SPEs) را تولید می‌کنند که در بیماری‌های استرپتوکوکی شدید تهاجمی دخیل هستند. SPEs سوپرآنتی ژن‌هایی هستند که توسط این باکتری تولید می‌شوند و سلول‌های T را توسط ترکیب نواحی ثابت روی مولکول‌های کمپلکس سازگاری بافتی اصلی کلاس II (MHC II) و زنجیره Vβ از گیرنده سلول T ، فعال می‌نماید (۲۹). اگزوتوکسین تب زای استرپتوکوکی محصول ژن‌های *sepA*، *sepB* و *sepC* هستند که همراه میتوژن لنفوسیت T بوده و قادرند حساسیت نسبت به شوک اندوتوکسین را در افراد مبتلا به تب استرپتوکوکی گروه A، افزایش دهند (۲۰، ۲۲، ۵۱). هر چند پسوریازیس بیش‌تر یک بیماری خودایمنی در نظر گرفته می‌شود، ولی به‌تازگی شواهد قوی مبنی بر القای پسوریازیس قطره‌ای به دنبال عفونت گلو با استرپتوکوکوس پایوژنز وجود دارد (۱۵). باکتری‌ها در پوست، وضعیت‌های بالینی مشخصی را سبب می‌شوند که امروزه با درمان آنتی‌بیوتیکی مناسب به سادگی قابل کنترل هستند (۳۴). چنین به نظر می‌رسد که سوپرآنتی ژن‌ها و توکسین‌های پروتئولایتیک، هم از طریق آسیب فیزیکی مستقیم به سد حفاظتی پوست و هم از طریق تحریک مستقیم لنفوسیت های فعال شده ساکن پوست، می‌توانند سبب القای التهاب پوستی شوند. به هر حال سوپرآنتی ژن‌ها به احتمال یکی از عوامل مؤثر بر پیشرفت بیماری هستند (۲۵، ۲۶). توکسین‌های اریتروژنیک استرپتوکوکی A، B و C که تحت عنوان اگزوتوکسین‌های استرپتوکوکی پایوژنیک هم شناخته می‌شوند، ممکن است درجه‌های شدیدی از عفونت را القاء کنند (۱۱). بعد از مطالعه‌های متعددی که انجام

[8] Lipoteichoic Acid

[9] scarlet fever toxins

شد حضور ژن‌های *speA* و *speC* در نمونه‌های کلینیکی مشخص شد (۱۶). به طورکلی نتایج مطالعه‌ها نشان داد که فراوانی بالایی از ژن *speA* در بین نمونه‌های مربوط به بیماران مبتلا به عفونت استرپتوکوکی غیر تهاجمی وجود دارد (۱۲، ۳۲). هم‌چنین مشخص گردید ژن *speB* در همه نمونه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز وجود دارد. *speB* اولین بار به روش ایمونولوژیکی و به همراه پروتئیناز تشخیص داده شد (۱۰، ۱۸). اگرچه استرپتوکوکوس پایوژنز پاتوژن خارج سلولی می‌باشد ولی امروزه مشخص شده است که بعضی از گونه‌های این میکروارگانیسم می‌توانند به سلول های اپیتلیال متصل و وارد آن‌ها شوند. در پروسه اتصال، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی میزبان به عنوان اولین هدف عمل می‌کنند. استرپتوکوکوس پایوژنز مولکول‌های سطحی مختلفی بیان می‌کند که پروتئین‌های ماتریکس، فیبرونکتین و کلاژن را شناسایی می‌کنند. از جمله این مولکول‌های سطحی می‌توان به پروتئین F1 و پروتئین F2 اشاره کرد که به فیبرونکتین متصل می‌شوند. بنابراین می‌توانند نقش مهمی در اتصال میکروارگانیسم و ورود آن به سلول‌های اپیتلیال ایفا کند (۳۴). استرپتوکوکوس پایوژنز می‌تواند وارد سلول‌های اپیتلیال لوزه‌ها شود (۳۰) هم‌چنین در چندین مطالعه سطح بالای IgA اختصاصی علیه استرپتوکوکوس پایوژنز در افراد مبتلا به پسوریازیس گزارش شد و نشان داده شده است که ضایعات پوستی در افراد مبتلا به پسوریازیس بعد از برداشتن لوزه بهبود پیدا می‌کند (۲۷، ۳۵). سوپر آنتی ژن ها و توکسین‌های مترشحه از استرپتوکوکوس پایوژنز از طریق اتصال به زنجبره بتا رسپتورهای سلول‌های T می توانند باعث القاء بیان رسپتورهای مورد نیاز سلول‌های T جهت سکنی گزیدن این سلول در سلول‌های پوست شود. سوپر آنتی ژن‌های رها شده توسط استرپتوکوکوس پایوژنز در لوزها می‌تواند سلول‌هایT درون غدد لنفاوی گلو را تحریک کنند، در نتیجه سلول‌هایT می‌توانند در پوست یعنی جایی که فعالیت بیش‌تری دارند ساکن شوند و واکنش خود ایمنی را تحریک نمایند (۲۵). هدف این مطالعه بررسی ارتباط اگزوتوکسین تب‌زای استرپتوکوکی A (نقش حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC*) در بروز بیماری پسوریازیس می‌باشد.

روش کار

نمونه برداری- تحقیق حاضر، مطالعه پژوهشی می‌باشد. جامعه آماری از بین تمام بیماران پسوریازیس مراجعه کننده به درمانگاه‌های پوست بیمارستان‌های دولتی تهران انتخاب شد. دامنه سنی مبتلایان از۳۵ تا ۵۴ سال بود. تعداد ۶۰ نفر بیمار به‌طور تصادفی، پس از معاینه توسط پزشک متخصص پوست و دارا بودن بیماری پسوریازیس با اخذ رضایت نامه کتبی انتخاب شدند که طی دو هفته منتهی به مطالعه حاضر آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند. نمونه برداری از محل عفونت موجود در سطح پوست بیماران انجام شد.

آزمون‌های تشخیصی- به جهت نمونه برداری با استفاده از یک سواپ استریل نمونه بلافاصله به محیط کشت اولیه یا محیط کشت پایه (مرک آلمان) حاوی خون گوسفند[10] (SBA) انتقال داده شد. محیط کشت حاوی خون گوسفند به این دلیل مورد استفاده قرار گرفت که محیط کشت حاوی خون انسان دارای مواد ضد میکروبی می‌باشد و باعث از بین رفتن سریع باکتری‌ها می‌شود. محیط کشت به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد در حضور ۱۰-۵٪ دی اکسید کربن جهت مشاهده هاله شفاف اطراف کلنی که نشان دهنده همولیز بتا می‌باشد نگهداری شد. در مرحله بعد از کلنی‌های رشد یافته ابتدا رنگ آمیزی گرم و پس از اطمینان از نوع رنگ آمیزی و شکل باکتری (کوکسی گرم مثبت) از کلنی‌های مورد نظر پاساژ ثانویه انجام شد. سپس آزمایش کاتالاز روی کلنی‌های خالص صورت گرفت و کلنی‌های کوکسی گرم مثبت و کاتالاز منفی جداسازی شدند.

کشت باکتری جهت استخراج DNA کروموزومی- برای این کار از محیط کشت Cooked Meat استفاده شد. پس از کشت باکتری، محیط کشت به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و تحت فشار ۱۵ درصدی دی اکسید کربن قرار گرفت. پس از تهیه لام و مشاهده باکتری در زیر میکروسکپ و اطمینان از عدم آلودگی کشت به باکتری‌های دیگر، سوسپانسیون جهت استخراج DNA کروموزومی استفاده شد.

استخراج DNA کروموزوم- با استفاده از روش استاندارد برای استخراج ژنوم باکتری‌های گرم مثبت

[10] Sheep blood agar

(استرپتوکوکوس پایوژنز) DNA کروموزومی نمونه باکتری‌های ایزوله شده استخراج گردید (۸).

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* – پس از استخراج DNA ازاسترپتوکوکوس‌های ایزوله شده با استفاده از مواد لازم و برنامه مناسب، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای بررسی حضور هر یک از ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* با پرایمرهای اختصاصی برای هر ژن در خصوص هر یک از نمونه باکتری‌های استرپتوکوکی ایزوله شده انجام گردید (مواد لازم، برنامه مناسب و پرایمرهای اختصاصی به‌ترتیب در جداول ۱ تا ۳ آورده شده است). برای تکثیر ژن‌های *speA*، *speB* و*speC* واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر بر اساس روش مورد استفاده توسط Borek و همکاران انجام شد (۹). مخلوط واکنش به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ و لوله‌های واکنش به دستگاه ترمال سایکلر انتقال داده شد.

سویه استاندارد- استرپتوکوکوس بتاهمولیتیک گروه A با شماره PTCC: 1447 و ATCC: 8668 در مقایسه با تمام نمونه‌های مورد آزمایش به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت و در لوله‌های کنترل منفی به جای DNA الگو همان حجم آب دو بار تقطیر اضافه گردید.

جدول۱- مواد لازم برای انجام عمل PCR

مواد	مقدار
بافر 10X PCR	۵ میکرولیتر
dNTPs Mix (10 Mm)	۱ میکرولیتر
$MgCl_2$ (50 mM)	۴ میکرولیتر
پرایمر بالادست ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر	۲ میکرولیتر
پرایمر پایین دست ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر	۲ میکرولیتر
آنزیم Taq DNA پلیمراز	۰/۵ میکرولیتر
DNA ژنومیک	۲ میکرولیتر
آب مقطر (تزریقی)	۳۳/۵ میکرولیتر
حجم نهایی	۵۰ میکرولیتر

جدول ۲- نحوه اجرای سیکل‌های PCR

مرحله	مراحل واکنش	درجه حرارت	زمان	تعداد سیکل ها
۱	دناتوره کردن اولیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه	۱ سیکل
۲	دناتوره کردن	۹۴ درجه ۵۶ درجه	۴۵ ثانیه ۴۵ ثانیه	۳۰ سیکل
	اتصال تکثیر	۷۲ درجه	۱ دقیقه	
۳	تکثیر نهایی	۷۲ درجه	۷ دقیقه	۱ سیکل

جدول ۳- پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ژن‌های *speA*، *speB* و *spec*

نام ژن	توالی پرایمرها `5 → 3`	طول قطعه تکثیر شده
speA	F-AGGTAGACTTCAATTTGGCTTGTGT R-GGGTGACCCTGTTACTCACG	۵۰۰ bp
speB	F-AGACGGAAGAAGCCGTCAGA R-TCAAAGCAGGTGCACGAAGC	۶۱۲ bp
speC	F-GCCAATTTCGATTCTGCCGC R-TGCAGGGTAAATTTTTCAACGACA	۶۵۴ bp

الکتروفورز با ژل آگارز- پس از انجام واکنش PCR برای مشاهده باندهای حاصل از تکثیر ژن‌های مورد مطالعه از ژل آگاروز با غلظت ۱٪ و سپس رنگ آمیزی با اتیدیوم برامید اسفاده شد.

یافته‌ها

باکتری ایزوله شده از نمونه‌های بیماران- مطالعه حاضر بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به پسوریازیس انجام شد که در مجموع ۴۸ (۸۰٪) گونه استرپتوکوکوس گروه A پس از انجام تست‌های تشخیصی جدا سازی و شناسایی شد. کوکسی‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس پایوژنز به صورت منفرد و زنجیروار در محیط کشت با رنگ آمیزی گرم به رنگ صورتی- قرمز مشاهده شدند. هم‌چنین نتیجه تست کاتالاز در مورد استرپتوکوکوس پایوژنز منفی و تست همولیز به صورت هاله روشن اطراف کلنی باکتری به‌صورت همولیز بتا مشخص شد.

فراوانی حضور ژن‌های *sepA*، *sepB* و *sepC*- با انجام واکنش PCR در این باکتری‌ها، فراوانی حضور ژن *speA* در ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪) ، ژن *speC* در ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و ژن *speB* در همه نمونه ها (۱۰۰٪) به‌دست آمد (جدول ۴ و شکل‌های ۳-۱).

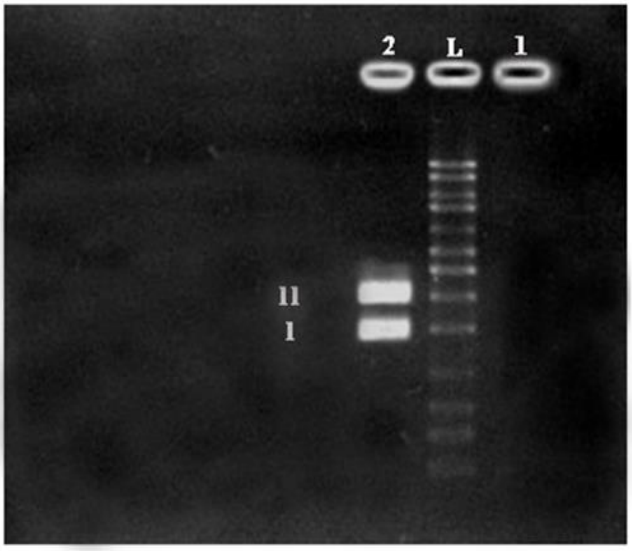
جدول۴- فراوانی حضور ژن‌های *sepA*، *sepB* و *sepC* در نمونه‌های مورد مطالعه

نام ژن	تعداد حضور	درصد فراوانی حضور
sepA	۲۸	۵۸/۳
sepC	۱۶	۳۳/۳
sepB	۴۸	۱۰۰

فراوانی نمونه‌های دارای بیش از یک ژن هم در طی این مطالعه بررسی شد و نتایج به‌دست آمده نشان داد تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepA* و *sepB*، ۲۸ نمونه (۵۸/۳)، تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepB* و*sepC*، ۱۶ نمونه (۳۳/۳) و تعداد نمونه‌های دارای هر سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC*، ۱۰ نمونه (۲۸/۸) بودند (جدول ۵ و شکل‌های ۳-۱).

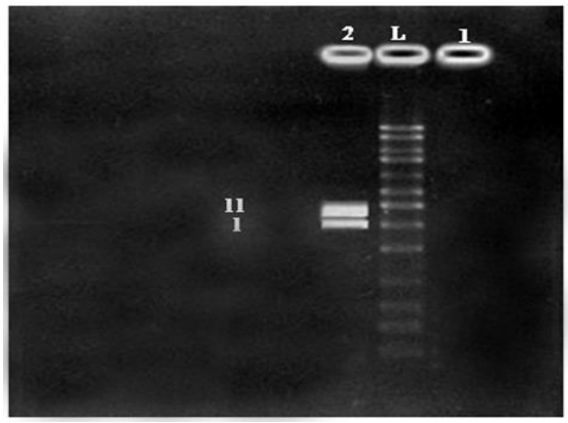
جدول ۵ - فراوانی نمونه‌های دارای بیش از یک ژن در باکتری‌های ایزوله شده

نام ژن	تعداد حضور	درصد فراوانی حضور
sepA	۲۸	۵۸/۳
sepC	۱۶	۳۳/۳
sepB	۴۸	۱۰۰



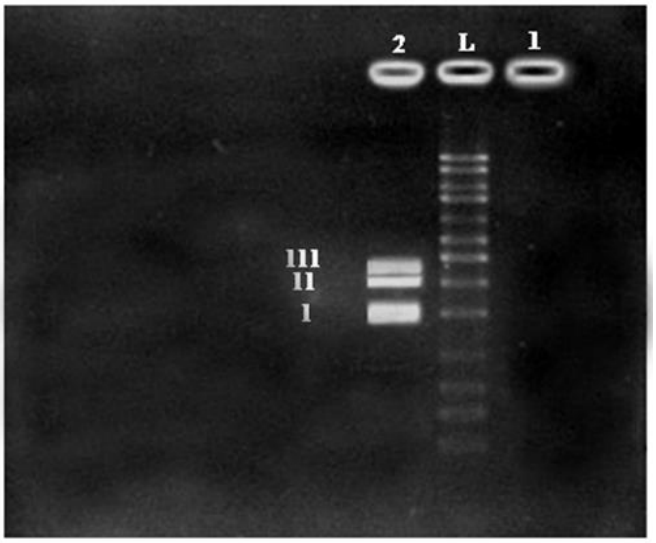
شکل ۱ - محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepA* و *sepB* در نمونه‌های ایزوله شده.

خانه ۱: کنترل منفی (بدون DNA)، خانه L: مارکرمولکولی bp ۱۰۰ ، خانه ۲: ستون نمونه مورد نظر، I: قطعه bp ۵۰۰ مربوط به ژن *spe A* و II: قطعه bp ۶۱۲ مربوط به ژن *spe B* باندهای تشکیل شده با مقایسه با مارکر ژنتیکی به طور کامل مطابق با نمونه محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepA* و *sepB* در نمونه استاندارد (شکل ۳) می باشد.



شکل ۲ - محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepB* و *sepC* در نمونه های ایزوله شده.

خانه ۱: کنترل منفی (بدون DNA)، خانه L: مارکرمولکولی bp ۱۰۰، خانه ۲: ستون نمونه مورد نظر، I: قطعه bp ۶۱۲ مربوط به ژن *speB* و II: قطعه bp ۶۵۴ مربوط به ژن *spec* . (باندهای تشکیل شده با مقایسه با مارکر ژنتیکی به طور کامل مطابق با نمونه محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepB* و *sepC* در نمونه استاندارد (شکل ۳) می باشد.)



شکل ۳ - محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC* در نمونه استاندارد.

خانه ۱: کنترل منفی (بدون DNA)، خانه L: مارکرمولکولی bp ۱۰۰، خانه ۲ : ستون نمونه مورد نظر، I: قطعه bp ۵۰۰ مربوط به ژن *speA*، II: قطعه bp ۶۱۲ مربوط به ژن *speB* و III: قطعه bp ۶۵۴ مربوط به ژن *speC*. (حضور قطعات حاصل از محصول PCR برای سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC* در نمونه استاندارد در مقایسه با مارکر ژنتیکی به‌صورت کنترل مثبت تأئید شد و در سایر نمونه‌های ایزوله شده با طول باند مقابل مارکر ژنتیکی سنجیده شد.)

بحث

پسوریازیس یک بیماری التهابی و حاد پوستی می‌باشد که مشخصه آن بافت‌هایی پوشیده از خراش‌های سفید نقره‌ای به‌صورت پوست مرده می‌باشد. شیوع پسوریازیس در جهان کمابیش بین ۰/۵ تا ۴ درصد می‌باشد که به منطقه زندگی فرد بستگی دارد. افراد مبتلا به این بیماری وقوع بیش‌تری افسردگی، چاقی، دیابت، فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان را تجربه می‌نمایند. علت دقیق این بیماری شناخته شده نیست، بنابراین هنوز درمان قطعی برای این بیماری وجود نداشته و تنها از درمان علامتی برای افراد مبتلا استفاده می‌شود. لذا در صورتی‌که بتوان عامل پاتوفیزیولوژیک اصلی را در این زمینه شناسایی نمود، احتمال درمان طولانی مدت بیماری و جلوگیری از عود آن افزایش خواهد یافت. یکی از فرض‌هایی که امروزه در مورد پاتوژنزاین بیماری مطرح شده است، نقش احتمالی عوامل میکروبی و تشکیل آنتی بادی علیه این عوامل می‌باشد (۳۶). ژنتیکی بودن این بیماری به وسیله مطالعه‌های اپیدمیولوژیکی اثبات شده است. شاخص بیماری در دوقلوهای مونوزیگوت بسیار بیش‌تر از دو قلوهای دی زیگوت می‌باشد. این شاخص در شمال اروپا و استرالیا ۷۲ درصد در مونوزیگوت‌ها و ۱۵ تا ۲۳ درصد در دی زیگوت‌ها گزارش شده است. بنابراین ژنتیک نقش مهمی در ایجاد این بیماری ایفا می‌کند (۳). اهمیت فاکتورهای ژنتیکی در نوع یک این بیماری بیش‌تر شناخته شده است. تاکنون ۲۰ لوسی ژنتیکی در ارتباط با این بیماری شناخته شده است. اما تنها PSORS1 که روی کروموزوم 6p21 قرار دارد بیش‌ترین اهمیت را دارد (۳). هم‌چنین مشخص شده است که تفاوت در منطقه ژن پروموتور فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در ایجاد پسوریازیس مؤثر است (۳۸). ژن‌های تولید کننده سیتوکین‌ها به‌خصوص IL-12 و IL-23 نیز در ایجاد پسوریازیس نقش دارند (۲۲، ۲۵). فاکتورهای ژنتیکی باعث ایجاد واکنش های التهابی خفیف در جلد افراد حساس می‌شوند که بعد به یک التهاب مزمن ایمونولوژیکی تبدیل می‌شود (۵). علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی عوامل محیطی نیز در ایجاد این بیماری دخیل هستند. از جمله این عوامل می‌توان به کشیدن سیگار، مصرف الکل، داروهایی مانند لیتیوم، بتا- بلوکرها و داروهای ضد مالاریا اشاره کرد (۱۹). این عوامل سبب ایجاد یا بدتر شدن پسوریازیس می‌شوند که در این میان داروها و عفونت‌ها اهمیت بیش‌تری دارند. از عوامل محیطی که در ایجاد یا پیشرفت پسوریازیس نقش دارند، عفونت با میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (۴۷، ۴۸). نقش عوامل میکروبی در شروع پسوریازیس حدود یک قرن پیش مطرح شد. عوامل میکروبی متعددی در ایجاد یا پیشرفت این بیماری مؤثر می‌باشند که قارچ‌هایی مانند مالاسزیا وکاندیدا، باکتری‌هایی مانند استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، انتروکوکوس و سودوموناس از عوامل میکروبی مهم هستند (۱، ۴، ۴۵، ۴۸). شواهد قوی مبنی بر القای پسوریازیس قطره‌ای به دنبال عفونت گلو با استرپتوکوکوس پایوژنز وجود دارد (۱۵). باکتری‌ها در پوست، وضعیت‌های بالینی مشخصی را سبب می‌شوند که امروزه با درمان آنتی بیوتیکی مناسب به سادگی قابل کنترل هستند. چنین به نظر می رسد که سوپر آنتی‌ژن‌ها و توکسین‌های پروتئولایتیک، هم از طریق آسیب فیزیکی مستقیم به سد حفاظتی پوست و هم از طریق تحریک مستقیم لنفوسیت‌های فعال شده ساکن پوست، می توانند سبب القای التهاب پوستی شوند. نقش سوپر آنتی‌ژن‌ها حداقل در دو مورد در بیماری پسوریازیس مشخص شده است. فرم guttate بیماری و مواردی که بدتر شدن بیماری مثل عفونت‌های ثانوی دیده می‌شود. به هر حال سوپر آنتی‌ژن‌ها به احتمال یکی از عوامل مؤثر بر پیشرفت بیماری هستند (۲۶). توکسین‌های اریتروژنیک استرپتوکوکی A، B و C که تحت عنوان اگزوتوکسین های استرپتوکوکوس پایوژنزیک هم شناخته می‌شوند، دسته‌ای از محصول‌های خارج سلولی‌اند که توسط استرپتوکوکس پایوژنز ساخته شده و ممکن است درجه-های شدیدی از عفونت را القاء کنند (۱۱). بعد از اولین مطالعه که در سال ۱۹۸۹ انجام شد، مطالعه‌های متعدد دیگری هم وجود ژن‌های *spe A* و *spe C* را در نمونه-های کلینیکی نشان دادند (۱۶، ۳۹). به طورکلی نتایج مطالعه‌ها نشان داد که فراوانی بالایی از ژن *spe A* در بین نمونه‌های مربوط به بیماران مبتلا به عفونت استرپتوکوکی غیر تهاجمی وجود دارد (۱۲، ۳۲). در مقابل، نمونه‌های زیادی هم فاقد ژن بودند (۳۲، ۳۹، ۴۴). برخلاف ژن‌های *spe A* و *spe C*، ژن *spe B* در همه نمونه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز وجود دارد (۳۹). *spe B* اولین بار

به روش ایمونولوژیکی و به همراه پروتئیناز تشخیص داده شد (۱۰، ۱۸). فعالیت عفونت‌زایی استرپتوکوکوس پایوژنز بیشتر مربوط به ژن های *spe A* و *spe B* می‌باشد، به‌طوری‌که شواهد و نتایج موجود به‌طور غیرمستقیم این فرض را پیشنهاد می‌کنند که هر کدام از اگزوتوکسین‌های *spe A* و *spe B* می‌توانند سبب بیماری‌زایی استرپتوکوکوس پایوژنز شوند (۱۱). اگر چه استرپتوکوکوس پایوژنز پاتوژن خارج سلولی می‌باشد ولی امروزه مشخص شده است که بعضی از گونه‌های این میکروارگانیسم می‌توانند به سلول‌های اپیتلیال متصل و وارد آن‌ها شوند. در پروسه اتصال، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی میزبان به عنوان اولین هدف عمل می‌کنند. استرپتوکوکوس پایوژنز مولکول‌های سطحی مختلفی بیان می کند که پروتئین‌های ماتریکس، فیبرونکتین و کلاژن را شناسایی می‌کنند. از جمله این مولکول‌های سطحی می‌توان به پروتئین F1 و پروتئین F2 اشاره کرد که به فیبرونکتین متصل می‌شوند. بنابراین می‌توانند نقش مهمی در اتصال میکروارگانیسم و ورود آن به سلول‌های اپیتلیال ایفا کند (۳۴). ثابت شده است که استرپتوکوکوس پایوژنز می‌تواند وارد سلول‌های اپیتلیال لوزه‌ها شود و لوزه‌ها به عنوان یک مخزن آنتی‌ژن‌های این میکروارگانیسم را مرتب در اختیار سیستم ایمنی قرار دهند (۳۰). چندین مطالعه سطح بالای IgA اختصاصی علیه استرپتوکوکوس پایوژنز را در افراد مبتلا به پسوریازیس گزارش کردند و نشان دادند که ضایعات پوستی در افراد مبتلا به پسوریازیس بعد از برداشتن لوزه بهبود پیدا می‌کند. این نتایج ورود استرپتوکوکوس پایوژنز را به سلو ل‌های اپیتلیال و لوزه به خوبی اثبات می‌کند (۳۵). سوپر آنتی‌ژن‌ها و توکسین‌های مترشحه از استرپتوکوکوس پایوژنز از طریق اتصال به زنجیره بتا رسپتورهای سلول‌های T می‌توانند باعث القاء بیان رسپتورهای مورد نیاز سلول‌های T جهت سکنی گزیدن این سلول در سلول‌های پوست شود. سوپر آنتی‌ژن‌های رها شده توسط استرپتوکوکوس پایوژنز در لوزه‌ها می‌تواند سلول‌هایT درون غدد لنفاوی گلو را تحریک کنند، در نتیجه سلول‌هایT می‌توانند در پوست یعنی جایی که فعالیت بیش‌تری دارند ساکن شوند (۲۵).

نتایج این مطالعه نشان داد ۴۸ نمونه باکتری استرپتوکوکوس از ۶۰ بیمار مبتلا به پسوریازیس جدا شد (۸۰٪) و فراوانی حضور ژن *speA* در ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪) ، ژن *speC* در ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و ژن *speB* در همه نمونه‌های استرپتوکوکی (۱۰۰٪) به‌دست آمد. هم‌چنین فراوانی نمونه‌های دارای بیش از یک ژن هم در طی این مطالعه بررسی شد و نتایج به‌دست آمده نشان داد تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepA* و *sepB* ، ۲۸ نمونه (۵۸/۳)، تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepB* و *sepC* ، ۱۶ نمونه (۳۳/۳) و تعداد نمونه‌های دارای هر سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC* ، ۱۰ نمونه (۲۸/۸) بود.

بارتنجیو و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مطالعه ای که طی سال‌های ۱۹۹۶ تا ۱۹۹۸ روی ۱۱۷ نفر انجام دادند، عفونت را در ۸۹ بیمار (۷۶٪) گزارش کردند که از این بین عفونت در ۳۳ بیمار (۲۸٪) توسط یک عامل پاتوژن و در ۵۶ بیمار (۴۸٪) توسط چند عامل پاتوژن ایجاد شده بود. طبق این گزارش، در ۸۰ بیمار (۶۸٪) عفونت توسط استرپتوکوکوس‌های گروه A یا استافیلوکوکوس‌ها ایجاد شده بود که در این بین ۴۲/۶٪ عفونت‌ها مربوط به استرپتوکوکوس‌های گروه A بود (۴). در مطالعه حاضر نیز بر اساس روش‌های تشخیصی از بین ۶۰ بیمار مبتلا به پسوریازیس، ۴۸ نفر (۸۰٪) افراد مبتلا به استرپتوکوکوس های گروه A بودند که با نتایج به‌دست آمده توسط بارتنجیو و همکاران در سال ۲۰۰۰ مشابه بود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و تحقیق‌های مشابه انجام شده، می‌توان گفت که عفونت‌های میکروبی در بیماران مبتلا به پسوریازیس نقش مهمی دارند. این نتایج این فرض ایمونولوژیکی را که عفونت باکتریایی یک فاکتور مهم در بروز پسوریازیس است، تقویت می‌کند (۴). برخی محققین نیز روی جنبه خود ایمنی بودن بیماری جایی که سیستم ایمنی واکنش مناسبی را علیه پاتن‌های بدن بیمار نشان می‌دهد تأکید دارند (۲۳). برخی دیگر نیز احتمال سازمان یافتن یک کمپلکس ایمنی در پاسخ به آنتی‌ژن‌های میکروبی در بافت را مطرح می‌کنند (۴۲). در سال‌های اخیر نیز دانشمندان زیادی به نقش سوپر آنتی‌ژن‌ها به عنوان یکی از عوامل مهم در بروز پسوریازیس اشاره کرده اند (۲۵، ۲۶، ۳۹).

چاوسی و همکاران در سال ۱۹۹۶ در بررسی ۱۱۲ بیمار دارای علائم پلاک‌های نکروزه و سندرم شوک سمی در مجموع ۱۱۷ استرپتوکوکوس پایوژنز را جداسازی و سپس وجود ژن‌های *speA* و *speC* را مورد مطالعه قر ار دادند.

آن‌ها فراوانی ژن‌های مذکور به ترتیب ۴۴ و ۳۴ درصد گزارش کردند. یعنی از مجموع ۱۱۲ نفر، ۴۹ نفر دارای ژن *speA* و ۳۸ نفر دارای ژن *speC* بودند (۱۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از بین نمونه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز جدا شده از ۶۰ مبتلا به پسوریازیس، ۵۸/۳٪ دارای ژن *speA* و ۳۳/۳٪ دارای ژن *speC* بودند. نتایج به‌دست آمده به‌خصوص در مورد ژن *speC* در تحقیق حاضر و مطالعه چاوسی و همکاران تا حدود زیادی به هم مشابه بود. هم‌چنین نتایج چندین مطالعه در آمریکا و اروپا شباهت زیادی با نتایج مطالعه حاضر داشته‌اند که نقش حضور این ژن را در بروز بیماری‌های میکروبی مشخص نموده‌اند (۱۸، ۳۳، ۴۴). یکی از این مطالعه‌ها در سال ۱۹۹۵ توسط موسر و همکاران انجام شد که در این تحقیق تنوع و خویشاوندی کروموزومی بین ۱۲۶ گونه استرپتوکوکوس پایوژنز ایزوله شده از ۱۳ کشور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنها نشان داد در بین ایزوله‌ها، ژن *speA* در ۹۴ گونه وجود دارد که یک عامل مهم در عود علائم بیماری محسوب می‌گردد (۳۲). در مطالعه دیگری ۶۲ گونه استرپتوکوکوس پایوژنز از مبتلایان به سندرم شوک سمی استرپتوکوکی[11] (STSS)، توسط تاکینگتون و همکاران در سال ۱۹۹۵ مورد بررسی قرار گرفت که در بین نمونه‌ها ژن *speA* را در ۵۶٪ ایزوله‌ها مشاهده کردند. هم‌چنین ژن *speB* در همه ایزوله‌ها و ژن *speC* در ۲۷٪ ایزوله‌ها گزارش شد (۴۴). در بسیاری از مطالعه‌ها روی نقش اگزوتوکسین‌های کد شده با ژن‌های *spe* و به‌ویژه *speA* در ارتباط با ایجاد شوک و اختلال‌های اندام‌ها تمرکز شده است که هر دوی این علام‌های کلینیکی می‌توانند توسط فعالیت بیولوژیکی *speA* توجیه شوند. بنابه تحقیق‌های تاکینگتون و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان ژن *speB* تا حد زیادی می‌تواند توسط شرایط آزمایشگاهی و نیز pH متأثر شود (۴۴). بنابراین تمام گونه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز می‌توانند پتانسیل این‌که تحت شرایط خاص *speB* را تولید کنند، داشته باشند. هایسر و همکاران نیز در سال ۱۹۹۱، ۳۴ گونه استرپتوکوکوس پایوژنز را از مبتلایان به سندرم سمی شبه شوکی[12] (TSLS) جدا و مورد بررسی قرار دادند که نتایج آن‌ها مانند مطالعه‌های شرح داده شده تا حد زیادی مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. هایسر و همکاران اظهار داشتند که ۵۳٪ ایزوله‌ها حاوی ژن کد کننده *speA*، ۲۱٪ حاوی ژن کد کننده *speC* و ژن کد کننده *speB* در همه ایزوله‌ها وجود داشت (۳۲). نتایج مطالعه حاضر در مورد ژن *speA* و *speB* تا حدود زیادی در مورد ژن *speC*، منطبق بر نتایج هایسر و همکاران بود. ریچارد و همکاران در سال ۱۹۹۲ در بررسی گونه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز مرتبط با بیماری سندرم سمی شبه شوکی بیان کردند که در ۵۳ نمونه جدا شده از بیماران، ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* به ترتیب با فراوانی ۵۸/۵٪، ۱۹/۹٪ و ۲۲/۶٪ حضور داشتند (۳۹).

فراوانی حضور ژن *speB* را در این مطالعه و سایر تحقیق ها می‌توان چنین توجیه نمود که اگزوتوکسین *speB* یک سیستئین پروتئاز خارج سلولی است که به منظور تبدیل فیبرونکتین و ویترونکتین (۲۱) پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و اینترلوکین β1 انسانی به فرم فعال مولکول استفاده می‌شود (۲۲). بنابراین پروتئاز ممکن است در التهاب، شوک و تخریب بافتی ضروری باشد و افراد با دامنه وسیعی از بیماری‌های تهاجمی، همگی مقادیر بالایی از آنتی‌بادی را علیه اگزوتوکسین نوع B متعاقب عفونت تولید می‌کنند (۱۷). هم‌چنین عوامل مختلفی می‌توانند در بروز حالات پاتولوژیک پسوریازیس مؤثر باشند. برخی از این عوامل عبارتند از: تکثیر کراتینوسیت‌ها، فعال شدن سلول‌های اندوتلیوم عروقی، فعال شدن لنفوسیت‌های T، نفوذ نوتروفیل‌ها و فعال شدن ماکروفاژهای پوست (۲۵، ۲۶) و داروهای سرکوب گر سیستم ایمنی مانند سیکلوسپورین[13] و FK506 که تولید سیتوکین‌ها را به‌واسطه فعال کردن سلول‌های T مهار می کنند، در مهار پسوریازیس مؤثرند (۱۳). اگرچه فاکتورهای متعددی سبب افزایش شدت پسوریازیس می‌شوند مانند ژنتیک و عوامل محیطی مانند مصرف الکل، مصرف سیگار، تنش‌های روحی (۱۹)، اما عفونت باکتریایی می‌تواند اثرهای محرک مؤثرتری در این رابطه داشته باشند (۳۷، ۴۱). ارتباط بین عفونت باکتریایی و افزایش بروز پسوریازیس در بیماران پسوریازیس قطره‌ای به‌خوبی به اثبات رسیده است. گزارش‌های متعددی افزایش پسوریازیس قطره‌ای حاد را در اکثریت مبتلایان به‌واسطه

[11] Streptococcal Toxic Shock Syndrome (STSS)
[12] Toxic Shock-Like Syndrome (TSLS)
[13] Cyclosporin

حضور استرپتوکوکوس‌های گروه A به اثبات رسانده‌اند (۳۱، ۴۹). هر دو گروه بیماران پسوریازیس قطره‌ای و پسوریازیس با پلاک‌های مزمن، نسبت به آنتی‌ژن‌های استرپتوکوکی گروه A پاسخ نشان داداند (۲). با مقایسه نتایج این تحقیق با سایر تحقیق‌هایی که در خصوص ارتباط بیماری پسوریازیس و عوامل میکروبی انجام گرفته است، چنین به نظر می‌رسد که اگزوتوکسین‌های باکتریایی جدا شده از استرپتوکوکوس پایوژنز می‌تواند به عنوان سوپر آنتی‌ژن عمل کرده و به افزایش قدرت نفوذ سلول‌های T و مونوسیت‌ها در مبتلایان به پسوریازیس کمک کنند و در ایجاد بیماری مؤثر باشند که در این میان نقش ژن‌های بیماری‌زا و کد کننده سوپر آنتی‌ژن-های باکتریایی حائز اهمیت بیش‌تر می‌باشند (۲۸). بنابراین شایسته است در آینده تحقیق‌های گسترده‌تری در این خصوص صورت پذیرد.

نتیجه‌گیری

بررسی نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که در بیماران مبتلا به پسوریازیس باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز در محل زخم یا عفونت ناشی از این بیماری وجود دارد. بر طبق این نتایج ۸۰٪ از مبتلایان به بیماری مذکور به استرپتوکوکوس پایوژنز هم ابتلا داشتند، که این خود بیانگر تأثیر این باکتری در بروز درجه‌های عفونت بیماری می‌باشد. هر چند بنابر نتایج مطالعه‌های مشابه از پسوریازیس به عنوان یک بیماری چند عاملی یاد شده است و بر پایه نتایج حاصل از آن تحقیق‌های انجام شده می‌توان چنین اظهار کرد که علاوه بر عامل باکتریایی، عوامل دیگری مانند ژنتیک و عوامل محیطی مانند مصرف الکل، مصرف سیگار، تنش‌های روحی می‌تواند در کنار سایر عوامل در بروز درجه‌های متفاوتی از این بیماری دخیل باشند. بر اساس مطالعه‌های انجام شده، از میان عوامل مختلف که سبب این بیماری می‌شوند، می‌توان نقش عوامل باکتریایی به خصوص ژن‌های اگزوتوکسین استرپتوکوکوس پایوژنز که به‌عنوان سوپر آنتی‌ژن در فعال کردن سلول‌های T مؤثرند (ژن‌های *speA* و *sepB* و *sepC*) را در بروز این بیماری برجسته دانست که تحقیق های بیش‌تر در این زمینه به خصوص میزان بیان ژن‌های مذکور در بیماران پسوریازیسی، می تواند راهگشایی برای درمان مؤثرتر بیماری در آینده محسوب گردد.

سپاسگزاری

از کلیه مسئولین محترم در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال به خصوص دانشکده علوم زیستی و آزمایشگاه دانشکده علوم زیستی (محمودیه) و مسئولین مراکز درمانی که در انجام کارهای آزمایشگاهی و تهیه نمونه‌های این تحقیق کمال همکاری و مساعدت لازم را مبذول فرموده اند، سپاسگزاری فراوان می‌گردد.

منابع

1.Amaya M, Tajima M, Okubo Y, Sugita T, Nishikawa A, Tsuboi R. Molecular analysis of Malassezia microflora in

the lesional skin of psoriasis patients. *J Dermatol*, 2007; 34(9): 619-24.

2.Baker BS, Bokth S, Powles A, Garioch JJ, Lewis H, Valdimarsson H, Fry L. Group A streptococcal antigen-

Specific T lymphocytes in guttate psoriatic lesions. *Br J Dermatol*. 1993; 128: 439-499.

3.Barker JN. Genetic aspects of psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2001; 26(4): 321-325.

4.Bartenjev M, Butina R, Potocnik M. Subclinical Micribial Infection in Patients with Chronic Plaque Psoriasis.

Acta Derm Venereol. 2000; 211: 17-8.

5.Berth-Jones J. Psoriasis. *Medicine*. 2009; 37(5): 235-41.

6.Bisno AL, Stevens D L. Streptococcal infections of skin and soft tissues. *N Engl J Med*. 1996; 334: 240–45.

7.Bisno AL, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. *Lancet Infect Dis*. 2003; 3:

191–200.

8.Bollet C, Gevaudan MJ, de Lamballerie X, Zandotti C, de Micco P. A simple method for the isolation of

chromosomal DNA from gram positive or acid-fast bacteria. *Nucl Acid Res*. 1991; 19(8): 1955.

9.Borek AL, Obszanska K, Hryniewicz W, Sitkiewicz I. Detection of *Streptococcus pyogenes* virulence factors by

multiplex PCR. *Virulence*. 2012; 3(6): 529-33.

10.Chaussee MS, Gerlach D, Yu CE, Ferretti JJ. Inactivation of the streptococcal erythrogenic toxin B gene (*speB*)

In *Streptococcus pyogenes. Infect Immun*. 1993; 6: 3719-23.

11.Chaussee M S, Liu J, Stevens DL, Ferretti J J. Genetic and Phenotypic Diversity among Isolates of *Streptococcus*

pyogenes from Invasive Infections. *J Infe Dis*. 1996; 173: 901-8.

12.Cleary PP, Kaplan EL, Handley JP. Clonal basis for resurgence of serious *Streptococcus pyogenes* disease in the

1980s. *Lancet*. 1992; 339: 518-21.

13.Ellis CN, Gorsulowsky DC, Hamilton TA, Billings J, Brown M, Headington J, Cooper K, Baadsgaard ED,

Annesley T. Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. *J Am Med Assoc*. 1986; 256: 3110-6.

14.Fiedler T, Sugareva V, Patenge N, Kreikemeyer B. Insights into *Streptococcus pyogenes* pathogenesis from

transcriptome studies. *Future Microbiol*. 2010; 5(11): 1675-94.

15.Fry L, Baker BS. Triggering psoriasis: the role of infections and medications. *Clin Dermatol*. 2007; 25: 606-15.

16.Goshorn SC, Schlievert PM. Nucleotide sequence of streptococcal pyrogenic exotoxin type C. *Infect Immun*.

1988; 56: 2518-20.

17.Gubba S, Low DE, Musser JM. Expression and characterization of group A streptococcus extracellular cysteine

protease recombinant mutant proteins and documentation of seroconversion during human invasive disease

episodes. *Infect Immun*. 1998; 66: 765–70.

18.Hauser AR, Stevens DL, Kaplan EL, Schlievert PM. Molecular analysis of pyrogenic exotoxins from

Streptococcus pyogenes isolates associated with toxic shock-like syndrome. *J Clin Microbiol*. 1991; 29: 1562-7.

19.Higgins E. Alcohol, smoking and psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2000; 25(2): 107-10.

20.Hung CH, Taso N, Zeng YF, Lu ShL, Chiang-Ni Ch, Lin YSh, Wu JJ, Kuo ChF. Synergistic effects of

streptolysin S and streptococcal pyrogenic exotoxin B on the mouse model of group A streptococcal infection. *Med*

Microbiol Immunol. 2012; 201(3): 357-69.

21.Kapur V, Topouzis S, Majesky MW, Li LL, Hamrick MR, Hamill RJ, Patti JM, Musser JM. A conserved

Streptococcus pyogenes extracellular cyteine protease cleaves human fibronectin and degrades vitronectin. *Microb*

Pathog. 1993; 15: 327–46.(a)

22.Kapur V, Majesky MW, Li LL, Black RA, Musser JM. Cleavage of interleukin 1b precursor to produce active

IL-1b by a conserved extracellular cysteine protease from *Streptococcus pyogenes. Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993; 90:

7676–80.(b)

23.Kruegger GG. Psoriasis therapy-observational or rational? *N Engl J Med*. 1991; 328: 1845- 6.

24.Langley RG, Krueger GG, Griffiths CE. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann*

Rheum Dis. 2005; 64 (2): 18-23.

25.Leung DY, Gately M, Trumble A, Ferguson DB, Schlievert P M, Picker LJ. Bacterial superantigens induce T

cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte associated antigen, via stimulation

of interleukin-12 production. *J Exp Med*. 1995; 181(2): 747-53.(a)

26.Leung DY, Travers JB, Giorno R, Norris DA, Skinner R, Aelion J. Evidence for a streptococcal superantigen-

driven process in acute guttate psoriasis. *J Clin Invest*. 1995; 96(5): 2106-12.(b)

27.Liang YS, Wen HQ, Xiao R. Serum levels of antibodies for IgG, IgA, and IgM against the fungi antigen in

psoriasis vulgaris. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2003; 28(6): 638-40.

28.Lintges M, Liden M, Hilgres RD, Arlt S, Al-laham A, Reinert RR, Plucken S, Rink L. Superantigen Genes are

more important than the *emm* type for Invasiveness of Group A Streptococcus infection. *J I D* . 2010; 202(1): 20-8.

29.McCormick JK, Pragman AA, Stolpa JC, Leung DYM, Schlievert PM. Functional characterization of

Streptococcal pyrogenic exotoxin J, a novel superantigen. *Infect Immune*. 2001; 69(3): 1381-8.

30.Molinari G, Chhatwal GS. Streptococcal invasion. *Curr Opin Microbiol*. 1999; 2(1): 56-61.

31.Munz OH, Sela S, Baker BS, Griffiths CE, Powles AV, Fry L. Evidence for the presence of bacteria in the blood

of psoriasis patients. *Arch Dermatol Res*. 2010; 302(7): 495-598.

32.Musser LM, Kapur V, Szeto J, Pan X, Swanson DS, Martin DR. Genetic diversity and relationships among

Streptococcus pyogenes strains expressing serotype M1 protein: recent intercontinental spread of a subclone causing

episodes of invasive disease. *Infect Immun*. 1995; 63: 994- 1003.

33.Norgren M, Norrby A, Holm SE. Genetic diversity in TIM1 group A streptococci in relation to clinical outcome

of infection. *J Infect Dis*. 1992; 166:1014-20.

34.Passali D, Lauriello M, Passali GC, Passali FM, Bellussi L. Group A streptococcus and its antibiotic resistance.

Acta Otorhinolaryngol Ital. 2007; 27(1): 27-32.

35.Rantakokko K, Rimpilainen M, Uksila J, Jansen C, Luukkainen R, Toivanen P. Antibodies to streptococcal cell

wall in psoriatic arthritis and cutaneous psoriasis. *Clin Exp Rheumatol*. 1997; 15(4): 399-404.

36.Raychaudhury SP. Recent advances in psoriasis: bench to bedside. *Ind J Dermatol*. 2010; 55 (2): 150.

37.Reglinski M, Sriskandan Sh. The contribution of group A streptococcal virulence determinats to the pathogenesis

of sepsis. *Virolence*. 2013; 5(1): 127-36.

38.Reich K, Huffmeier U, Konig IR, Lascorz J, Lohmann J, Wendler J, et al. TNF polymorphisms in

psoriasis: association of psoriatic arthritis with the promoter polymorphism TNF-875 independent of the

PSORS1 risk allele. *Arthritis Rheum*. 2007; 56(6): 2056-2064.

39.Reichardt WH, Mtiller-Alouf H, Alouf JF, Kohler W. Erythrogenic toxins A, B, and C: occurrence of the genes

and exotoxin formation from clinical *Streptococcus pyogenes* strains associated with streptococcal toxic shock-like

syndrome. *FEMS Microbiol Lett*. 1992; 100: 313 - 22.

40.Rosen H. Superantigens. *Int J Dermatol*. 1997; 36: 14 -6.

41.Sriskandan Sh, Ferguson M, Elliot V, Faulkner L, Cohen J. Human intravenous immunoglobulin for

Experimental streptococcal toxic shock: bacterial clearance and modulation of inflammation. J Antimic Chem.

2006; 58: 117-24.

42.Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF. Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the

Diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. *Clin Infect Dis*. 2005; 41:1373–1406.

43.Talanin NY, Shelley WB, Raeder R, Shelley D, Boyle MDP. Detection of streptococcal class1 M protein in

psoriasis by confocal immune-uorescent microscopy. *Acta Derm Venereol*. 1997; 77: 175 -80.

44.Talkington DF, Schwartz B, Black CM. Association of phenotypic and genotypic characteristics of invasive

Streptococcus pyogenes isolates with clinical components of streptococcal toxic shock syndrome. *Infect Immun*.

1993, 61: 3369-74.

45.Templer SJ, Brito MO. Bacterial Skin and Soft Tissue Infections. *Hospital Physician*. 2009; 26: 9-16.

46.Tomi NS, Kranke B, Aberer E. Staphylococcal toxins in patients with psoriasis, atopic dermatitis, and

erythroderma, and in healthy control subjects. *J Am Acad Dermatol*. 2005; 53(1): 67-72.

47.Traub, M. and Marshall, K. Psoriasis- Pathophysiology, Conventional and Alternative Approaches to Treatment.

Altern Med Rev. 2007; 12(4): 319-30.

48.Waldman A, Gilhar A, Duek L, Berdicevsky I. Incidence of Candida in psoriasis - a study on the fungal flora of

psoriatic patients. *Mycoses*. 2002; 44(3-4): 77-81.

49.Whyte JH, Baughman RD. Acute guttate psoriasis and streptococcal infection. *Arch Dermatol*. 1964; 89: 350-

356.

50.Wozniak A, Rojas P, Rodríguez C, Undabarrena A, Garate C, Riedel I. M protein gene-type distribution and hyaluronic acid capsule in group A Streptococcus clinical isolates in Chile: association of *emm* gene markers with csrR alleles. *Epidemiol Infect*. 2012, 140(7): 1286-95.

51.Yutsudo T, Murai H, Gonzalez J. A new type of mitogenic factor produced by *Streptococcus pyogenes. FEBS Lett*. 1992; 308: 31-4.