

بررسی شیوع ژن های *speA*، *speB* و *speC* در سویه های استرپتوکوکوس پایوژنز

جدا شده از بیماران مبتلا به پسوریازیس

الهام سیاسی^{۱*}، ماندانا بیرانوند^۲، مریم علی خانی^۱

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 ویروانس از جمله اگزوتوکسین های A، B و C در ایجاد عفونت پوستی هم چون پسوریازیس دخالت دارد. هدف از این تحقیق بررسی حضور ژن های *speA*، *speB* و *speC* باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز در نمونه های جدا شده از بیماران پسوریازیس بود.

مواد و روش ها: از تعداد ۶۰ فرد مبتلا به پسوریازیس باکتری استرپتوکوکوس پایوژنز با انجام تست های بیوشیمیایی جداسازی شد. پس از استخراج DNA از ۴۸ باکتری ایزوله شده، به منظور بررسی حضور ژن های اگزوتوکسین های A، B و C واکنش زنجیره ای پلیمرز انجام گرفت.

یافته ها: با انجام واکنش PCR در این باکتری ها، فراوانی حضور ژن *speA* در ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪)، ژن *speC* در ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و ژن *speB* در همه نمونه ها (۱۰۰٪) به دست آمد. فراوانی نمونه های دارای بیش از یک ژن هم در طی این مطالعه بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان داد تعداد نمونه های دارای ژن های *sepA* و *sepB*، ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪)، تعداد نمونه های دارای ژن های *sepB* و *sepC*، ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و تعداد نمونه های 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 معنی داری وجود دارد. هم چنین 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 مطالعه ها مؤید آن است.

واژه های کلیدی: استرپتوکوکوس پایوژنز، پسوریازیس، ژن های *speA*، *speB* و *speC* PCR.

مقدمه

پسوریازیس یک بیماری شایع، مزمن و عود کننده است که با پلاک های مدور، اریتماتو و پوسته دار مشخص می شود (۵). طبق مطالعه های 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^۱، ۲. پسوریازیس سر^۲

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

^۱ Plaque Psoriasis

^۲ Scalp Psoriasis

۳. پسوریازیس قطره ای^۳
۴. پسوریازیس معکوس^۴
۵. پسوریازیس آرتریت^۵
۶. پسوریازیس اریترودرمیک^۶
۷. پسوریازیس ناخن^۷ (۳۴). پسوریازیس شایع ترین بیماری خود ایمنی می باشد که با توجه به مدت زمان طولانی درگیری، هزینه زیادی برای بیمار در بر خواهد داشت (۲۴). ماهیت ایمونولوژیکی این بیماری و درمان های سرکوب کننده سیستم ایمنی و موتاژن بودن داروها ممکن است باعث افزایش استعداد ابتلاء به سرطان های مختلف مانند سرطان پوست و پروستات شود (۳۶). علت دقیق این بیماری شناخته شده نیست، بنابراین هنوز درمان قطعی برای این

^۳ Guttate Psoriasis

^۴ Invers Psoriasis

^۵ Psoriatic arthritis

^۶ Erythrodermic Psoriasis

^۷ 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 پاتوژن 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 فارچ‌هایی مانند مالاسزیا وکاندیدا، باکتری‌هایی مانند استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، انتروکوکوس و سودوموناس از عوامل میکروبی مهم در ایجاد این بیماری شناخته شده اند (۴۱، ۴۸، ۴۷، ۳۵).

از بین باکتری‌های بیماری‌زای مؤثر در ایجاد پسوریازیس، استرپتوکوکوس پایوژنز یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های انسانی می‌باشد (۵۰). این میکروارگانیسم فاکتورهای ویبرولانس متعددی دارد که می‌توان به پروتئین M (مهار کننده فاگوسیتوز)، پروتئین متصل شونده به فیبرونکتین (اتصال باکتری)، لیپوتئیک اسید (اتصال باکتری)، کپسول (مهار کننده فاگوسیتوز)، استرپتوکیناز، استرپتودورناز، هیالورونیداز، استرپتولیزین و اگزوتوکسین‌هایی مانند توکسین پاپروژنیک اشاره کرد (۱۴، ۴۳، ۴۶، ۵۰). استرپتوکوکوس گروه A (استرپتوکوکوس پایوژنز) دارای ضمامم فیمبریه است که بر روی آن لیپوتئیک اسید^۸، پروتئین F و پروتئین M دیده می‌شوند. لیپوتئیک اسید و پروتئین F باعث اتصال استرپتوکوکوس‌ها به سلول‌های اپیتلیال دهان می‌شوند. 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، می‌توانند 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 به-واسطه 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 اگزوتوکسین‌های تب‌زای استرپتوکوکی^۹ (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 $V\beta$ از گیرنده سلول T، فعال می‌نماید (۲۹). اگزوتوکسین تب‌زای 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 پروتئولیتیک، هم از طریق آسیب فیزیکی مستقیم به سد حفاظتی پوست و هم از طریق تحریک مستقیم لنفوسیت‌های 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

⁹ scarlet fever toxins

⁸ Lipoteichoic Acid

روش کار

نمونه برداری - تحقیق حاضر، مطالعه پژوهشی می باشد. جامعه آماری از بین تمام بیماران پسوریازیس مراجعه کننده به درمانگاه های پوست بیمارستان های دولتی تهران انتخاب شد. دامنه سنی مبتلایان از ۳۵ تا ۵۴ سال بود. تعداد ۶۰ نفر بیمار به طور 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 آنتی بیوتیک مصرف نکرده بودند. نمونه برداری از محل عفونت موجود در سطح پوست بیماران انجام شد.

آزمون های تشخیصی - به جهت نمونه برداری با استفاده از یک سوپ استریل نمونه بلافاصله به محیط کشت اولیه یا محیط کشت پایه (مرک آلمان) حاوی خون گوسفند^{۱۰} (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 می باشد و باعث از بین رفتن سریع باکتری ها می شود. محیط کشت به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی گراد در حضور ۱۰-۵٪ دی اکسید کربن جهت مشاهده هاله شفاف اطراف کلنی که نشان دهنده همولیز بتا می باشد نگهداری شد. در مرحله بعد از کلنی های رشد یافته ابتدا رنگ آمیزی گرم و پس از اطمینان از نوع رنگ آمیزی و شکل باکتری (کوکسی گرم مثبت) از کلنی های مورد نظر پاساژ ثانویه انجام شد. سپس آزمایش کاتالاز روی کلنی های خالص صورت گرفت و کلنی های 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 سانتی گراد 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 باکتری های دیگر، سوسپانسیون جهت استخراج DNA کروموزومی استفاده شد.

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

شد حضور ژن های *speA* و *speC* در نمونه های کلینیکی مشخص شد (۱۶). به طور کلی نتایج مطالعه ها نشان داد که فراوانی بالای از ژن *speA* در بین نمونه های مربوط به بیماران مبتلا به عفونت استرپتوکوکی غیر تهاجمی وجود دارد (۱۲، ۳۲). هم چنین مشخص گردید ژن *speB* در همه نمونه های 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 می باشد ولی امروزه مشخص شده است که بعضی از گونه های این میکروارگانیسم می توانند به سلول های اپیتلیال متصل و وارد آنها شوند. در پروسه اتصال، پروتئین های ماتریکس خارج سلولی میزبان به عنوان اولین هدف عمل می کنند. استرپتوکوکوس پایوژنز مولکول های سطحی مختلفی بیان می کند که پروتئین های ماتریکس، فیبرونکتین و کلاژن را شناسایی می کنند. از جمله این مولکول های سطحی می توان به پروتئین F1 و پروتئین F2 اشاره کرد که به فیبرونکتین متصل می شوند. بنابراین می توانند نقش مهمی در اتصال میکروارگانیسم و ورود آن به سلول های اپیتلیال ایفا کند (۳۴). استرپتوکوکوس پایوژنز می تواند وارد سلول های اپیتلیال لوزه ها شود (۳۰) هم چنین 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 می کند (۲۷، ۳۵). سوپر آنتی ژن ها و توکسین های مترشحه از استرپتوکوکوس پایوژنز از طریق اتصال به زنجیره بتا رسپتورهای سلول های T می توانند باعث القاء بیان رسپتورهای مورد نیاز سلول های T جهت سکنی گزیدن این سلول در سلول های پوست شود. سوپر آنتی ژن های رها شده توسط استرپتوکوکوس پایوژنز در لوزها می تواند سلول های T درون غدد لنفاوی گلو را تحریک کنند، در نتیجه سلول های T می توانند در پوست یعنی جایی که فعالیت بیش تری دارند ساکن شوند و واکنش خود ایمنی را تحریک نمایند (۲۵). هدف این مطالعه بررسی ارتباط اگزوتوکسین تبزای استرپتوکوکی A (نقش حضور ژن های *speA*، *speB* و *speC*) در بروز بیماری پسوریازیس می باشد.

¹⁰ Sheen blood agar

	۱ دقیقه	۷۲ درجه	اتصال تکثیر	
۳	۷ دقیقه	۷۲ درجه	تکثیر نهایی	۱ سیکل

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

نام ژن	توالی پرایمرها 5'→3'	تکثیر شده طول قطعه
<i>speA</i>	F- AGGTAGACTTCAATTTGGCTTGT GT R-GGGTGACCCTGTTACTCACG	۵۰۰ bp
<i>speB</i>	F-AGACGGAAGAAGCCGTCAGA R-TCAAAGCAGGTGCACGAAGC	۶۱۲ bp
<i>speC</i>	F-GCCAATTTTCGATTCTGCCGC R- TGCAGGGTAAATTTTCAACGAC A	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 استفاده شد.

یافته‌ها

باکتری ایزوله شده از نمونه‌های بیماران - مطالعه حاضر بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به پسروریازیس 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 پایونز 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 پایونز منفی و تست همولیز به صورت هاله روشن اطراف کلنی باکتری به- صورت 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 نمونه‌ها (۱۰۰٪) به دست آمد (جدول ۴ و شکل‌های ۳-۱).

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

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای حضور ژنهای *speA*، *speB* و *speC* - پس از استخراج DNA از استرپتوکوکوس‌های ایزوله شده با استفاده از مواد لازم و برنامه مناسب، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای بررسی حضور هر یک از ژنهای *speA*، *speB* و *speC* با پرایمرهای اختصاصی برای هر ژن در خصوص هر یک از نمونه باکتری‌های استرپتوکوکوسی ایزوله شده انجام گردید (مواد لازم، برنامه مناسب و پرایمرهای اختصاصی به ترتیب 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.

جدول ۱- مواد لازم برای انجام عمل PCR

مقدار	مواد
۵ میکرولیتر	بافر 10X PCR
۱ میکرولیتر	dNTPs Mix (10 Mm)
۴ میکرولیتر	MgCl ₂ (50 mM)
۲ میکرولیتر	پرایمر بالادست ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر
۲ میکرولیتر	پرایمر پایین دست ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر
۰/۵ میکرولیتر	آنزیم Taq DNA پلیمرز
۲ میکرولیتر	DNA ژنومیک
۳۳/۵ میکرولیتر	آب مقطر (تزریقی)
۵۰ میکرولیتر	حجم نهایی

جدول ۲- نحوه اجرای سیکل‌های PCR

مرحله	مراحل واکنش	درجه حرارت	زمان	تعداد سیکل‌ها
۱	دنا توره کردن اولیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه	۱ سیکل
۲	دنا توره کردن	۹۴ درجه ۵۶ درجه	۴۵ ثانیه ۴۵ ثانیه	۳۰ سیکل

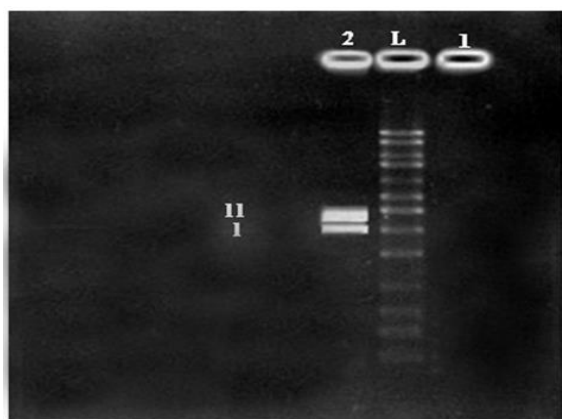
جدول ۴- فراوانی حضور ژن های *sepA*، *sepB* و *sepC* در نمونه های مورد مطالعه

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

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

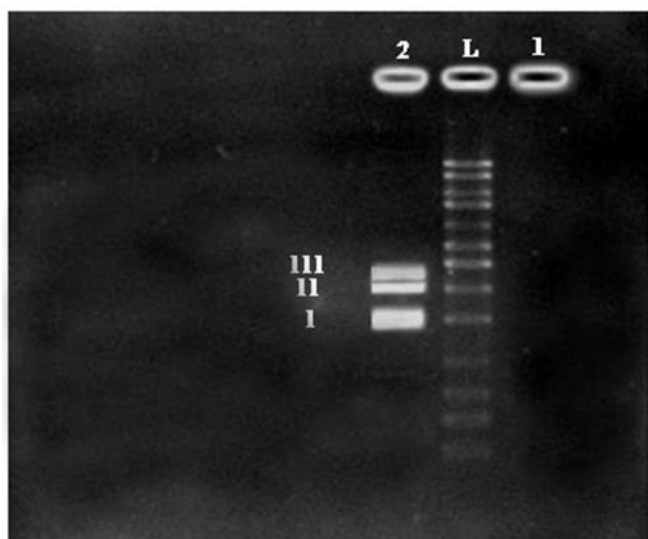
جدول ۵- فراوانی نمونه های دارای بیش از یک ژن در باکتری های ایزوله شده

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



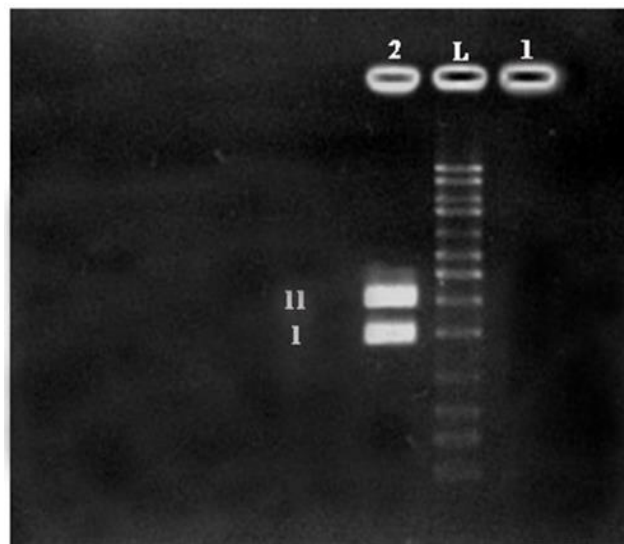
شکل ۲- محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepC* و *sepB* در نمونه های ایزوله شده.

خانه ۱: کنترل منفی (بدون DNA)، خانه L: خانه ۲: ستون نمونه مورد نظر، I: مارکرمولکولی ۱۰۰ bp، خانه ۱: قطعۀ ۶۱۲ bp مربوط به ژن *sepB* و II: قطعۀ ۶۵۴ bp مربوط به ژن *sepC*. (باندهای تشکیل شده با مقایسه با مارکر ژنتیکی به طور کامل مطابق با نمونه محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *sepC* و *sepB* 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 ۱۰۰ bp، خانه ۲: ستون نمونه مورد نظر، I: قطعۀ ۵۰۰ bp مربوط به ژن *sepA*، II: قطعۀ ۶۱۲ bp مربوط به ژن *sepB* و III: قطعۀ ۶۵۴ bp مربوط به ژن *sepC* (حضور قطعات حاصل از محصول PCR برای سه ژن *sepA*، *sepB* و *sepC* در نمونه استاندارد در مقایسه با مارکر ژنتیکی به صورت کنترل مثبت تأیید شد و در سایر نمونه های ایزوله شده با طول باند مقابل مارکر ژنتیکی سنجیده شد).



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

خانه ۱: کنترل منفی (بدون DNA)، خانه L: مارکرمولکولی ۱۰۰ bp، خانه ۲: ستون نمونه مورد نظر، I: قطعۀ ۵۰۰ bp مربوط به ژن *sepA* و II: قطعۀ ۶۱۲ bp مربوط به ژن *sepB*. (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).

بحث

پسوریازیس یک بیماری التهابی و حاد پوستی می باشد که مشخصه آن بافت‌هایی پوشیده از خراش‌های سفید نقره‌ای به صورت پوست مرده می باشد. شیوع پسوریازیس در جهان کمابیش بین ۵/۰ تا ۴ درصد می باشد که به منطقه زندگی فرد بستگی دارد. افراد مبتلا به این بیماری وقوع بیش تری افسردگی، چاقی، دیابت، فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان را تجربه می نمایند. 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 می شود. 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 پاتوژن‌زاین بیماری مطرح شده است، نقش احتمالی عوامل میکروبی و تشکیل آنتی بادی علیه این عوامل می باشد (۳۶). ژنتیکی بودن این بیماری به وسیله مطالعه‌های اپیدمیولوژیکی اثبات شده است. شاخص بیماری در دو قلوهای مونوزیگوت بسیار بیش تر از دو قلوهای دی زیگوت می باشد. 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 می کند (۳). اهمیت فاکتورهای ژنتیکی در نوع یک این بیماری بیش تر شناخته شده است. تاکنون ۲۰ لوسی ژنتیکی در ارتباط با این بیماری شناخته شده است. اما تنها PSORS1 که روی کروموزوم 6p21 قرار دارد بیش ترین اهمیت را دارد (۳). هم چنین مشخص شده است که تفاوت در منطقه ژن پروموتور فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در ایجاد پسوریازیس مؤثر است (۳۸). ژن‌های تولید کننده سیتوکین‌ها به خصوص IL-12 و IL-23 نیز در ایجاد پسوریازیس نقش دارند (۲۲، ۲۵). فاکتورهای ژنتیکی باعث ایجاد واکنش‌های التهابی خفیف در جلد افراد حساس می شوند که بعد به یک التهاب مزمن ایمونولوژیکی تبدیل می شود (۵). علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی عوامل محیطی نیز در ایجاد این بیماری دخیل هستند. از جمله این عوامل می توان 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 می شوند که در این میان داروها و عفونت‌ها اهمیت بیشتری دارند. از عوامل محیطی که در ایجاد یا پیشرفت پسوریازیس نقش دارند، عفونت با میکروارگانیسم‌ها می باشند (۴۷، ۴۸). نقش عوامل میکروبی در شروع پسوریازیس حدود یک قرن پیش مطرح شد. عوامل میکروبی متعددی در ایجاد یا پیشرفت این بیماری مؤثر می باشند که قارچ‌هایی مانند مالاسزیا و کاندیدا، 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 می شوند که امروزه با درمان آنتی بیوتیکی مناسب به سادگی قابل کنترل هستند. چنین به نظر می رسد که سوپر آنتی‌ژن‌ها و توکسین‌های پروتئولیتیک، 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 می شود. 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 اگزوتوکسین‌های استرپتوکوکوس پایوژنیک هم شناخته می شوند، دسته‌ای از محصول‌های خارج سلولی‌اند که توسط استرپتوکوکوس پایوژنز ساخته شده و ممکن است درجه‌های 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 نمونه‌های کلینیکی نشان دادند (۱۶، ۳۹). به طور کلی 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

(/۸۰) و فراوانی حضور ژن *speA* در ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪)، ژن *speC* در ۱۶ نمونه (۳۳/۳٪) و ژن *speB* در همه نمونه‌های استرپتوکوکوی (۱۰۰٪) به دست آمد. همچنین فراوانی نمونه‌های دارای بیش از یک ژن هم در طی این مطالعه بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان داد تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepA* و *sepB*، ۲۸ نمونه (۵۸/۳٪)، تعداد نمونه‌های دارای ژن‌های *sepC* و *sepB*، 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 استرپتوکوکوس‌های گروه A بودند که با نتایج به دست 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 ایمنولوژیکی 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 پاتوژن را جداسازی و سپس وجود ژن‌های *speA* و *speC* را مورد مطالعه قرار دادند.

به روش ایمنولوژیکی و به همراه پروتئیناز تشخیص داده شد (۱۰، ۱۸). فعالیت عفونت‌زایی استرپتوکوکوس پاتوژن بیشتر مربوط به ژن‌های *spe A* و *spe B* می‌باشد، به طوری که شواهد و نتایج موجود به طور غیرمستقیم این فرض را پیشنهاد می‌کنند که هر کدام از آگزوتوکسین‌های *spe A* و *spe B* می‌توانند سبب بیماری‌زایی استرپتوکوکوس پاتوژن شوند (۱۱). اگر چه استرپتوکوکوس پاتوژن 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 پاتوژن 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). ثابت شده است که استرپتوکوکوس پاتوژن 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 پاتوژن 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 پاتوژن را به سلول‌های اپیتلیال و لوزه به خوبی اثبات می‌کند (۳۵). سوپر آنتی‌ژن‌ها و توکسین‌های مترشحه از استرپتوکوکوس پاتوژن 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 پاتوژن در لوزه‌ها می‌تواند سلول‌های T درون غدد لنفاوی گلو را تحریک کنند، در نتیجه سلول‌های T 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

حد زیادی مشابه نتایج تحقیق حاضر می باشد. هایسر و همکاران اظهار داشتند که ۵۳٪ ایزوله ها حاوی ژن کد کننده *speA* ۲۱٪ حاوی ژن کد کننده *speC* و ژن کد کننده *speB* در همه ایزوله ها 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 گونه های استرپتوکوکوس پایوژنز مرتبط با بیماری سندرم سمی شبه شوکی بیان کردند که در ۵۳ نمونه جدا شده از بیماران، ژن های *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 می توان چنین توجیه نمود که اگزوتوکسین *speB* یک سیستمین پروتئاز خارج سلولی است که به منظور تبدیل فیبرونکتین و ویترونکتین (۲۱) پروتئین های ماتریکس خارج سلولی و اینترلوکین $\beta 1$ انسانی به فرم فعال مولکول استفاده می شود (۲۲). بنابراین پروتئاز ممکن است در التهاب، شوک و تخریب بافتی ضروری باشد و افراد با دامنه وسیعی از بیماری های تهاجمی، همگی مقادیر بالایی از آنتی بادی را علیه اگزوتوکسین نوع B متعاقب عفونت تولید می کنند (۱۷). هم چنین عوامل مختلفی می توانند در بروز حالات پاتولوژیک پسروریازیس مؤثر باشند. برخی از این عوامل عبارتند از: تکثیر کراتینوسیت ها، فعال شدن سلول های اندوتلیوم عروقی، فعال شدن لنفوسیت های T، نفوذ نوتروفیل ها و فعال شدن ماکروفاژهای پوست (۲۵، ۲۶) و داروهای سرکوب گر سیستم ایمنی مانند سیکلوسپورین^{۱۳} و FK506 که تولید سیتوکین ها را به واسطه فعال کردن سلول های T مهار می کنند، در مهار پسروریازیس مؤثرند (۱۳). اگرچه فاکتورهای متعددی سبب افزایش شدت پسروریازیس می شوند مانند ژنتیک و عوامل محیطی مانند مصرف الکل، مصرف سیگار، تنش های روحی (۱۹)، اما عفونت باکتریایی می تواند اثرهای محرک مؤثرتری در این رابطه داشته باشند (۳۷، ۴۱). ارتباط بین عفونت باکتریایی و افزایش بروز پسروریازیس در بیماران پسروریازیس قطره ای به خوبی به اثبات رسیده است. گزارش های متعددی افزایش پسروریازیس قطره ای حاد را در اکثریت مبتلایان به واسطه

آن ها فراوانی ژن های 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 نمونه های استرپتوکوکوس پایوژنز جدا شده از ۶۰ مبتلا به پسروریازیس، ۵۸/۳٪ دارای ژن *speA* و ۳۳/۳٪ دارای ژن *speC* بودند. نتایج به دست آمده به خصوص در مورد ژن *speC* در تحقیق حاضر و مطالعه چاوسی و همکاران تا حدود زیادی به هم مشابه بود. هم چنین نتایج چندین مطالعه در آمریکا و اروپا شباهت زیادی با نتایج مطالعه حاضر داشته اند که نقش حضور این ژن را در بروز بیماری های میکروبی مشخص نموده اند (۱۸، ۳۳، ۴۴). یکی از این مطالعه ها 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 ایزوله ها، ژن *speA* در ۹۴ گونه وجود دارد که یک عامل مهم در عود علائم بیماری محسوب می گردد (۳۲). در مطالعه دیگری ۶۲ گونه استرپتوکوکوس پایوژنز از مبتلایان به سندرم شوک سمی استرپتوکوکی^{۱۱} (STSS)، توسط تاکینگتون و همکاران در سال ۱۹۹۵ مورد بررسی قرار گرفت که در بین نمونه ها ژن *speA* را در ۵۶٪ ایزوله ها مشاهده کردند. هم چنین ژن *speB* در همه ایزوله ها و ژن *speC* در ۲۷٪ ایزوله ها گزارش شد (۴۴). در بسیاری از مطالعه ها روی نقش اگزوتوکسین های کد شده با ژن های *spe* و به ویژه *speA* در ارتباط با ایجاد شوک و اختلال های اندام ها تمرکز شده است که هر دوی این علامت های کلینیکی می توانند توسط فعالیت بیولوژیکی *speA* توجیه شوند. بنابه تحقیق های تاکینگتون و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان ژن *speB* تا حد زیادی می تواند توسط شرایط آزمایشگاهی و نیز pH متأثر شود (۴۴). بنابراین تمام گونه های استرپتوکوکوس پایوژنز می توانند پتانسیل این که 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^{۱۲} (TSLs) جدا و مورد بررسی قرار دادند که نتایج آن ها مانند مطالعه های شرح داده شده تا

¹¹ Streptococcal Toxic Shock Syndrome (STSS)

¹² Toxic Shock-Like Syndrome (TSLs)

¹³ Cyclosporin

مذکور در بیماران پسوریازیس، 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 نمونه های این تحقیق کمال همکاری و مساعدت لازم را مبذول فرموده اند، سپاسگزاری فراوان می گردد.

حضور استرپتوکوکوس های گروه A به اثبات رسانده اند (۳۱، ۴۹). هر دو گروه بیماران پسوریازیس قطره ای و پسوریازیس با پلاک های مزمن، نسبت به آنتی ژن های استرپتوکوکی گروه A پاسخ نشان دادند (۲). با مقایسه نتایج این تحقیق با سایر تحقیق هایی که در خصوص ارتباط بیماری پسوریازیس و عوامل میکروبی انجام گرفته است، چنین به نظر می رسد که اگر توکسین های باکتریایی جدا شده از استرپتوکوکوس پایوژنز می تواند به عنوان سوپر آنتی ژن عمل کرده و به افزایش قدرت نفوذ سلول های T و مونوسیت ها در مبتلایان به پسوریازیس کمک کنند و در ایجاد بیماری مؤثر باشند که در این میان نقش ژن های بیماری زا و کد کننده سوپر آنتی ژن - های باکتریایی حائز اهمیت بیش تر می باشند (۲۸). بنابراین شایسته است در آینده تحقیق های گسترده تری در این خصوص صورت پذیرد.

نتیجه گیری

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 مبتلا داشتند، که این خود بیانگر تأثیر این باکتری در بروز درجه های عفونت بیماری می باشد. هر چند بنابر نتایج مطالعه های مشابه از پسوریازیس به عنوان یک بیماری چند عاملی یاد شده است و بر پایه نتایج حاصل از آن تحقیق های انجام شده می توان چنین اظهار کرد که علاوه بر عامل باکتریایی، عوامل دیگری مانند ژنتیک و عوامل محیطی مانند مصرف الکل، مصرف سیگار، تنش های روحی می تواند در کنار سایر عوامل در بروز درجه های متفاوتی از این بیماری دخیل باشند. بر اساس مطالعه های انجام شده، از میان عوامل مختلف که سبب این بیماری می شوند، می توان نقش عوامل باکتریایی به خصوص ژن های *agz* توکسین استرپتوکوکوس پایوژنز که به عنوان سوپر آنتی ژن در فعال کردن سلول های T مؤثرند (ژن های *speA* و *sepB* و *sepC*) را در بروز این بیماری برجسته دانست که تحقیق های بیش تر در این زمینه به خصوص میزان بیان ژن های

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 Microbial 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, Hilgrees 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 determinants 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 Antimicrob 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. Talanian NY, Shelley WB, Raeder R, Shelley D, Boyle MDP. Detection of streptococcal class1 M protein in psoriasis by confocal immune-fluorescent 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.

