Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 53, No. 3, P. 133- 137
Autumn 2010

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۵۳، شماره ۳
پاییز ۸۹، صفحه ۱۳۳- ۱۳۷

مقاله اصلی

بررسی نقش سایتوکاین ها در عفونت بروسلوز، آرتریت و کمردرد بروسلائی

مرکز تحقیقات روماتولوژی و ایمونولوژی

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۱۲ – تاریخ بازنگری: ۸۸/۷/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۲۶

[۱] **نیره سعادتی** *
[۲] **رضا فرید حسینی**
[۳] **جلیل توکل افشاری**
[۴] **امیر رضا خلیقی**
[۵] **بهرام نقیب زاده**

۱- استادیار روماتولوژی، مرکز تحقیقات روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳- دانشیار ایمونولوژی ، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، پژوهشکده بوعلی، مشهد، ایران
۴--متخصص عفونی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵-اینترن، بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*مشهد- بیمارستان قائم، دفتر گروه داخلی
تلفن: ۹۱۵۵۰۹۰۴۰۸- ۹۸+
email:nsaadatimd@gmail.com

خلاصه

مقدمه

سایتوکاین‌ها موادی هستند که در سلول‌های مختلفی به‌ویژه لنفوسیت‌های T تولید و ترشح می‌شوند و در روند پاسخ ایمنی دخالت دارند. با توجه به اینکه بیماری بروسلوز ناشی از باکتری‌های درون‌سلولی است، ایمنی سلولی در این بیماری نقش مهمی در پاسخ‌های ایمنی به هنگام عفونت ناشی از این باکتریها برعهده دارد و بررسی تغییرات سایتوکاین‌ها در این بیماری اطلاعات مفیدی در ارتباط با فعالیت سیستم ایمنی سلولی به‌دست می دهد.

روش کار

این مطالعه مورد شاهدی در سال‌های ۸۵- ۸۷ در دو مرکز، بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا(ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است. ۴۰ بیمار مبتلا به کمردرد آرتریت بروسلائی و ۴۰ فرد طبیعی در این مطالعه شرکت داده شدند. تشخیص بیماری با توجه به سابقه بیماری، معاینات بالینی و آزمونهای سرولوژی انجام پذیرفت. پس از استخراج اطلاعات مورد نظر ارزیابی های آماری با آزمون آماری کولموگرف اسمیرنت و کورسکال والیس و آزمون تی انجام شد.

نتایج

میزان سایتوکاین‌های انترفرون گاما، اینترلوکین ۲، اینترلوکین ۴، اینترلوکین ۱۰ و فاکتور نکروز تومور آلفا در سرم بیماران به روش الیزا سنجیده شد (سطح معنی داری $p < ۰/۰۵$) آزمون کولموگرف اسمیرنف حاکی از طبیعی بودن توزیع متغیرهای میزان IL-2 وIL-10 می باشد. بقیه متغیرها شامل، IL4 وانترفرون گاما و TNF آلفا در سرم بیماران غیر طبیعی بودند. آزمون آماری t حاکی از تفاوت معنی دار در میزان IL-10 در دو گروه می باشد ($p < ۰/۰۰۲$). سطح IL-2 ، IL-4 و TNF-α در دو گروه تفاوت معنی داری نداشت ($p > ۰/۱$). اما آزمون آماری کورسکال والیس حاکی از تفاوت معنی دار انترفرون گاما در گروه بیماران و شاهد است($p < ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

این نتایج حاکی از آن است که انترفرون گاما و اینترلوکین ۱۰ در سرم بیماران مبتلا به آرتریت و کمردرد بروسلائی نقش تائید کننده ای دارد.

کلمات کلیدی: بروسلوز، آرتریت و کمردرد بروسلائی، سایتوکاین

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

مقدمه

گونه های بروسلا، باکتری های گرم منفی و داخل سلولی اختیاری هستند که موجب بیماری جدی در حیوانات و انسان می شوند(۱) بیماری بروسلوز در اکثر کشورهای در حال توسعه باعث زیان های فراوان در تولیدات دامی و سلامت جوامع انسانی می گردد (۳،۲). تا کنون مطالعات زیادی در ارتباط با تولید آنتی‌بادی در بدن بر ضد این باکتریها در هنگام ابتلا به بروسلوز انجام شده است. ولی چون باکتریهای مسبب این بیماری درون سلولی هستند، ایمنی سلولی نهایتا نقش انهدام باکتری در درون سلولها و بهبودی را برعهده دارد. مطالعات مربوط به ایمنی سلولی تا کنون عمدتا در حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است، در اینگونه مطالعات محققین نشان داده‌اند که سایتوکاین‌های فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF[1]) و اینترلوکین ۱۲ نقش مهمی در مقاومت علیه بروسلا آبورتوس دارند (۴) در هنگام ابتلا به عفونت بروسلائی در مدل‌های حیوانی و در افراد مبتلا به بروسلوز، میزان اینترفرون گاما[2] به‌شدت افزایش می یابد. اگر بیماران نتوانند به میزان کافی اینترفرون گاما تولید نمایند، عفونت در بدن بیماران ادامه می یابد (۵). مطالعات انجام شده در ارتباط با تولید سایتوکاین‌ها در انسان‌های مبتلا به بروسلوز بسیار محدود بوده است. در بررسی های برخی از محققین میزان انترفرون گاما و اینترلوکین ۱۰ در بیماران در مقایسه با اشخاص طبیعی افزایش نشان می دهد ولی آنها در گزارش خود مشخص ننموده‌اند که آیا بیماران مورد مطالعه مبتلا به آرتریت و کمردرد بروسلائی بوده اند یا خیر (۵). هدف از مطالعه حاضر این است که تولید سایتوکاین‌ها در بیماران مبتلا به کمردرد و آرتریت بروسلائی مورد بررسی قرار گیرد و تغییرات اینترفرون گاما ، TNF آلفا، اینترلوکین های ۲، ۴، ۱۰ در سرم بیماران مبتلا به آرتریت و کمر بروسلائی مورد سنجش قرار گیرد.

روش کار

در این مطالعه مورد شاهدی طی سال‌های ۱۳۸۵– ۱۳۸۷ تعداد ۴۰ بیمار مبتلا به کمردرد آرتریت بروسلائی از دو مرکز بیمارستان قائم (عج) و امام رضا (ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد در این مطالعه مشارکت داده شدند. از این تعداد، ۲۳ نفر مرد و ۱۷ نفر زن بودند، سن بیماران ۲۳/۲±۳۹/۶ سال بود. پس از بررسی بالینی توسط متخصصین عفونی نمونه خون وریدی از بیماران تهیه و نمونه های سرم جدا شده از خون بیماران تا زمان سنجش آنتی بادیها و سایتوکاین ها در فریز ۷۰ – درجه سانتی گراد نگاهداری شدند و در هر یک از سرم ها میزان آنتی‌بادی و سایتوکاین‌ها تعیین گردید. در این تحقیق سنجش آنتی بادی‌ها به‌عنوان یک هدف منظور محققین نبوده بلکه صرفا به عنوان یک معیار برای کمک به تشخیص آرتریت و کمردرد بروسلائی انجام شد. تشخیص کمردرد و آرتریت بروسلائی با توجه به سابقه ابتلا به این بیماری، معاینات بالینی و نتایج آزمون های سرولوژی انجام گرفت، تیتراسیون آنتی بادی‌ها در سرم به روش رایت باکتریال، آگلوتیناسیون و 2-ME انجام گرفت. سنجش میزان سایتوکاین‌ها در سرم با استفاده از کیت های IL-2، IL-4، IL-10 و انترفرون گاما وTNF آلفا با R&D System (ازکشور کانادا) و به روش الیزا انجام گرفت. تعداد ۴۰ نفر از هر دو جنس (۲۲ مرد و ۱۸زن) که سن آنها ۱۷/۸± ۳۰/۶ بود از بین اهداء کنندگان خون در شهر مشهد و دانشجویان دانشگاه مشهد که سابقه بیماری بروسلوز نداشتند، افرادی سالم، تقریبا همسن گروه بیمار بودند ، به عنوان شاهد انتخاب شدند. این افراد هیچ دارویی مصرف نمی کردند، سیگاری و حامله نبودند. در صورت نداشتن هریک از این شرایط، بویژه قرارنگرفتن در رده سنی همسان بیماران، در مجموعه شاهد قرار نمی گرفتند. به دنبال استخراج اطلاعات مورد نظر ارزیابی های آماری بر متغیرهای فوق الذکر با آزمون آماری کولموگرف اسمیرنف وکورسکال والیس انجام شد و آزمون آماری تی برای تجزیه و تحلیل یافته ها استفاده گردید. به علت رعایت اخلاق پزشکی هیچگونه تغییر یا مداخله ای در روش درمان بیماران انجام نگرفت. بیماران بعد از تشخیص، طبق برنامه سازمان بهداشت جهانی (WHO) تحت درمان قرار گرفتند (۶).

نتایج

در این مطالعه ۴۰ بیمار مبتلا به کمردرد آرتریت بروسلائی از دو مرکز بیمارستان قائم (عج) و امام رضا(ع) وابسته به دانشگاه

[1]Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF-α)
[2]Interleukin 2- 4--10

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

علوم پزشکی مشهد و۴۰ فرد طبیعی نیز از بین دانشجویان پزشکی و اهداء کنندگان خون که تست رایت و کومبس رایت آنها منفی بود، به عنوان شاهد در این تحقیق شرکت داده شدند. تشخیص بیماری با توجه به سابقه کوتاه این بیماری، معاینات بالینی و آزمون های سرولوژی انجام پذیرفت. میزان سایتوکاین ها IL-2، IL-4، IL –10 ، TNF آلفا و انترفرون گاما در سرم بیماران به روش الیزا سنجیده شد. آزمون کولموگرف اسمیرنف حاکی از طبیعی بودن توزیع متغیرهای میزان IL-2 و IL-10 می باشد. بقیه متغیرها شامل IL-4 و انترفرون گاما و TNF آلفا در سرم بیماران طبیعی نبودند. آزمون آماری تی حاکی از تفاوت معنی دار در میزان IL-10 در دو گروه می باشد($p<$ ۰/۰۰۱). میزان IL-2 در دو گروه تفاوت معنی داری نداشت ($p<$ ۰/۱) آزمون آماری کورسکال والیس حاکی از تفاوت معنی دار انترفرون گاما در گروه بیماران و شاهد است ($p<$۰/۰۵). ولی میزان TNF آلفا و IL-4 در دو گروه تفاوت معنی دار ندارد($p<$ ۰/۱).این نتایج حاکی از یک پاسخ ایمنی سلولی از نوع Th1 بیماران مبتلا به کمردرد و آرتریت بروسلائی می باشد عیار رایت در ۹۰٪ بیماران مبتلا به کمردرد آرتریت بروسلائی ۱/۱۶۰ تا ۱/۱۲۸۰ بود و تیتر آزمون 2ME در۹۰٪ در همین بیماران از ۱/۸۰ تا ۱/۳۲۰ را تشکیل می داد.

جدول ۱ – میانگین سایتوکاین (پیکوگرم در میلی لیتر) در اشخاص نرمال و مبتلا به آرتریت کمردرد بروسلائی

سایتوکاین	میانگین (M±SD)		P-Value
	بیماران آرتریت و کمردرد بروسلائی	نرمال کنترل	
TNF-α	۲۷۰/۳۶-۱۰۶۹/۵۰	۶۶۷/۶۵-۸۶۲/۱۱	>۰/۱
IL-2	۳۳۴/۰۳-۵۴۴/۸۷	۲۸۱/۰۲-۲۵۴/۵۶	>۰/۱
IFN -γ	۴۹/۷۲-۲۴۳/۳۲	۱۱۹/۴۴-۱۵۵/۷۳	<۰/۰۵
IL-4	۴۲/۴۱-۲۶/۰۴	۸/۴۶- ۷/۲۱	>۰/۱
IL-10	۱۵۴/۷۲-۵۲۲/۹۷	۶۹/۲۹-۱۱۹/۱۲	<۰/۰۰۱

نتایج سنجش میزان سایتوکاین های IL-2، IL-4، IL-10 و TNF آلفا و انترفرون های γ در بیماران مبتلا به آرتریت و کمردرد بروسلائی و افراد طبیعی در جدول ۱ منعکس شده است. این اطلاعات حاکی از تفاوت معنی دار انترفرون γ در گروه مورد و شاهد است ($p<$ ۰/۰۵). آزمون آماری تی حاکی از تفاوت معنی دار در میزان IL-10 در دو گروه می باشد($p<$ ۰/۰۰۱).

این نتایج حاکی از آن است که اینترفرون گاما و سایتوکاین IL-10 در پاتوژنز آرتریت و کمردرد بروسلائی نقش تائید کننده ای دارد و مشاهده شده که این تناوب لازم نیست که با وسعت فعالیت بیماری همراه باشد.

بحث

از نتایج مهم این تحقیق افزایش سایتوکاین ها و INF-γ در بیماران مبتلا به آرتریت و کمردرد بروسلائی می باشد. که این سایتوکاین عمدتا از لنفوسیتهای Th1 ترشح و این سلولها نقش مهمی در ایمنی سلولی دارند. سایتوکاین ها مواد محلولی هستند که عمدتا از لنفوسیت ها و بخصوص لنفوسیت های T پس از تحریک آنتی ژنی تولید و ترشح می شوند و با اثر بر سلولهائی نظیر ماکروفاژها، سلول NK[1] و سلولهای دیگر در تنظیم پاسخ ایمنی مشارکت دارند (۷) انتر لوکین ۱۲عمدتا بوسیله ماکروفاژها در پاسخ به برخی آنتی ژنها نظیر پاتوژنهای داخلی سلولی تولید می شود و عامل مهمی برای لنفوسیتهای T و سلولهای NK در تولید انترفرون گاما می باشد(۸). محققین متعددی از نقش مرکزی انترلوکین ۱۲ در مقاومت به عفونت بروسلا را از طریق تحریک تولید انتر فرون گاما و تقویت فعالیت سلولهای NK گزارش کرده اند (۴، ۹). افزایش سطح انترلوکین ۲ در بروسلوز انسانی گزارش شده است (۵). با اینحال در بررسی حاضر افزایش انترلوکین ۲و۴ در بیماران با آرتریت کمردرد بروسلائی با کنترل طبیعی تفاوت معنی دار نداشت. احمد و همکاران انترلوکین های ۲ را در بیماران بروسلوزی نیافتند (۵). اسکندروس[2] و همکاران نیز انترلوکین ۲ را در سرم بیماران بروسلوزی نیافتند(۱۰). ژان[3] و همکاران دریافتند که سلولهای طحال موشهای آلوده به بروسلا آبورتوس سطح پائینی از انترلوکین ۲ را تولید می کنند. انتر فرون گاما سایتوکاینی است که علاوه بر لنفوسیت های Th1 از سلولهای NK و لنفوسیت های CD 8 تولید می شود و

[1] Natural Killer
[2] Skendros
[3] Zhan

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

ماکروفاژها را در انهدام درون سلولی باکتریها فعال می نماید، وهر دو سلولهای ماکروفاژ و NK را فعال می کند و نقش مهمی در ایمنی برعلیه پاتوژنهای داخل سلولی دارد (۱۱،۱۲). دربررسی حاضر میزان انترفرون گاما در مقایسه با سایر سایتوکین هائی که در این مطالعه مورد سنجش قرارگرفت بالاترین سطح سرمی را در بیماران مبتلا به آرتریت کمردرد بروسلائی نشان داد. سطح سرمی بالای انترفرون گاما در بیماران با بروسلوز توسط احمد و همکاران گزارش شده است (۵). در بررسی حاضر سطوح سرمی انترلوکین های ۲و ۴ در بیماران با آرتریت کمردرد بروسلائی نیز در افراد طبیعی اندازه گیری شد، افزایش اندک سطوح انترلوکین های ۴ در بیماران مشاهده شد (جدول۱). بعضی مقالات سطح انترلوکین ۴ را بالا گزارش کرده اند (۱۴،۱۳). سطح انترلوکین ۲ در بیماران با بروسلوز حاد تفاوت معنی داری در مقایسه با کنترل طبیعی نشان نداد (جدول۱). گزارشی مربوط به انترلوکین ۲ در بروسلوز انسانی دریافت نشد، با این حال فرناندز- لوگو[1] سطح قابل توجه انترلوکین ۱۰ در سلولهای طحال موش آلوده به بروسلا آبورتوس را یافتند و فرو تنظیمی[2] پاسخ ایمنی حفاظتی بوسیله این سایتوکاین را در ا ین موشها نشان دادند (۱۵). از یافته های مهم تحقیق حاضر بالا بودن میزان انتر فرون گاما و همچنین انترلوکین ۱۰ سرم بیماران مبتلا به بروسلوز است. این سایتوکاین ها در زمره سایتوکاین های Th1 طبقه بندی می شوند. سایتوکاین های Th1 پاسخ CMI را به سمت یک دفاع موثر و کارآمد علیه پاتوژنهای درون سلولی پیش می برند و احتمالا نقش موثری در بهبودی از این عفونت دارند (۱۱). پاسکولی[3] و همکارانش گزارش کرده اند که IL-4 در موش ها واکسینه شده بروسلای گاوی پیدا نکردند. در تعداد محدودی از مطالعات سطح IL-1 و IL-4 در سرم غیرقابل ارزیابی است (۱۶). شریف[4] و همکارانش سطح TNF-α را پایین گزارش کردند (۱۷). در این مطالعه نیز در آرتریت و کمردرد بروسلائی TNF-α یافته نشد . یافته های تحقیق حاضر دلالت براین نکته دارد که پاسخ Th1 در بروسلوز حاد در مقایسه با پاسخ Th2 غلبه داشته و تداوم این پاسخ در بهبودی فرد مبتلا نقش موثری دارد.

نتیجه گیری

این نتایج حاکی از آن است که انترفرون گاما و اینترلوکین ۱۰ در سرم بیماران مبتلا به آرتریت و کمردرد بروسلائی نقش تائید کننده ای دارد و مشاهده شده که این نقش لازم نیست که با وسعت فعالیت بیماری همراه باشد. انترفرون گاما مسئول یک پاسخ ایمنی سلولی از نوع Th1 در بیماران مبتلا به کمردرد و آرتریت بروسلائی می باشد.

تشکر و قدر دانی

انجام این بررسی از حمایت های معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد برخودار بوده است. از همکاری های بی دریغ آنان سپاسگزاری می گردد. همچنین از سرکارخانم اعظم بروک صمیمانه تشکرو قدردانی می شود.

[1] Fernondez – Logo
[2] Dawn-regulation
[3] Pasquali
[4] Sherif

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

References:

1- Enright FM. The pathogenesis and pathobiology of brucella infection in domestic animals. In: Nielsen K, Duncan JR. editors. Animal brucellosis. CRC press; Inc., boca raton, fla, 1990.

2- Ahmed K, Al- matrouk KA, Martinz G, Oishi K, Rotimi VO, Nagatake T. Increased serum levels of interferon gamma and interleukin–12 during human brucellosis. Am J Trop Med hyg 1999; 61:425-417.

3- Young EJ, Human brucellosis. Rev infect dis 1983; 5:821-842.

4- Zhan Y, LIU Z, Cheers C. Tumor necrosis factor alfa and Il-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium brucella abortus by different mechanisms. Infect Immun 1996 ; 2782 – 2786.

5- Ahmed K, Kismat A, Rouk AL, Martinez G, Oishi K, Rotimi OY, *et al.*, Levels of interferon γ and interleukin – 12 during human brucellosis. AM J Trop Med Hyg 1999 ; 61:425 – 427.

6- Firestein GS, Budd RC, Harris ED, McInnes I, Ruddy S, Sergent J. Saunders Elsevier Kelley's Textbook of Rheumatology. 8th ed. WB Saunders Company; 2008.p.1226-12227.

7- Trinchieri G, Interleukin 12. A Proinflammatory eytokine with immuno regulatory functions that bridge innate resistance and antigen – specific adaptive immunity. Ann Rev Immun 1995; 13:251- 276.

8- Abbas AK , Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 4th ed. WB Saunders; 2000.p. 235 – 269.

9- Zhan Y, Cheers C. Endogenous interleukin -12 is involed in resistance to brucella abortus infection. Infect Immun 1995; 163:1387 – 1390.

10- Skendros P, Boura P, Chrisagis D, Raptopoulou-Gigi M.Diminished percentage of CD4+ T-lymphocytes expressing interleukine-2 receptor alpha in chronic brucellosis. J Infect 2007; 54:192-197.

11- Goldsby RA, Kindt TJ, Obrone BA. Kuby immunology. 4th ed. Freeman & Co;2000.p. 351 – 370.

12- Faver N, Bordman G, Rudin W. Comparison of cytokine measurements using ELISA ELISPOT, and semi – quantitative RT-PCR. J Immunol Methods 1997 ; 57 – 66.

13- Rezazadeh M, Hajilooi M, Haidari M, Rafiei A, Alavi SA, Keramat F. Association of susceptibility to brucellosis and interleukin-4 promoter polymorphism. Scand J Infect Dis 2006; 38:1045-1049.

14- Gaupp S, Cannella B, Raine CS. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-4R{alpha}-/-Mice implicates compensatory Up-regulation of Th2-Type cytokines. Am J Pathol 2008; 173:119 - 129.

15- Fernandez-Lago L, Monte M, Chordi A. Endogenous gamma interferon andinterleukin – 10 in brucella abortus 2308 infection in mice. FEMS Immunol Med Microbiol 1996 ; 15:109 – 114.

16- Akbulut H, Celik I, Akbulut A. Cytokine levels in patients with Brucellosis and their relations with the treatment. Indian J Med Microbiol 2007; 25:387-390.

17- El-Saadany SA, EL-Bassat H, EL-Yamany S, EL-Bendary A, Hassan A. Role of T Helper-1 Cytokine and Nitric Oxide Production in Patients with Acute Brucellosis, knol.google.com, 2008.

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/