# ارتباط سطوح سرمی اینترلوکین ۸ با درمان در بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد

**معصومه صوفیان[۱]، آرزو آقاخانی[۲] ، قاسم مسیبی[۳]، احسان الله غزنوی راد[۴] ، محمد بنی فضل[۵]، لطیف گچکار[۶]، علی اسلامی فر[۲] و آمیتیس رمضانی[۷]**

۱. متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، استاد دانشگاه علوم پزشکی اراک
۲. پاتولوژیست، دانشیار انستیتو پاستور ایران
۳. دکترای ایمونولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی اراک
۴. دکترای میکروبیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اراک
۵. متخصص اطفال، انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور
۶. متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۷. متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشیار انستیتو پاستور ایران

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران ،خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران،بخش تحقیقات بالینی، تلفن:۰۲۱۶۶۹۶۸۸۵۲، فاکس: ۰۲۱۶۶۹۶۸۸۵۲ amitisramezani@hotmail.com

دریافت مقاله: مرداد نود و سه پذیرش برای چاپ: مهر نود و سه

## چکیده

***سابقه و هدف:*** *بروسلوزیس یک بیماری زونوتیک باکتریایی است و عفونت با آن منجر به فعال شدن پاسخ سیستم ایمنی سلولی می گردد. تعامل بین سیتوکین های سلولهای T-helper type 1 (Th1)/Th2 می تواند پیش اگهی بیماری را تعیین نماید.انالیز سطوح سیتوکین ها در تعیین نقش سیستم ایمنی در پاتوژنز بروسلا اهمیت دارد.هدف از این مطالعه تعیین سطوح سرمی اینترلوکین ۸ (IL-8) و ارتباط ان با درمان در بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد می باشد.*

***روش کار:*** *این مطالعه بر روی ۳۳ بیمار مبتلا به بروسلوزیس حاد و ۱۹ کنترل سالم انجام شده است. تشخیص بروسلوز بر اساس علائم و یافته های بالینی و تست استاندارد tube agglutination بوده است.سطح سرمی IL-8 با روش ELISA در گروه کنترل و بیماران قبل و بعد از درمان تعیین گردید.*

***یافته ها:*** *سطوح اینترلوکین ۸ به طور معنی داری در گروه بیماران پایینتر از گروه کنترل بود. دربیماران، در پایان درمان، سطح سرمی این سیتوکین افزایش یافت اما اختلاف معنی داری بین سطوح این سیتوکین قبل و بعد از درمان مشاهده نگردید.*

***نتیجه گیری:*** *مطالعه ما نشان داد که IL-8 در بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد سطوح پایینتری نسبت به افراد سالم دارد و بعد از درمان سطوح ان افزایش می یابد. مطالعات بعدی با تعداد بیشتر بیماران لازم است تا نقش این سیتوکین در پاتوژنز بروسلوزیس مشخص گردد.*

**واژگان کلیدی :** ***اینترلوکین ۸ (IL-8) ، بروسلوزیس حاد، درمان***

**مقدمه**

سویه های بروسلا باکتریهای داخل سلولی گرم منفی، بدون حرکت،فاقد کپسول می باشند که می توانند سبب بیماری مزمن زونوتیک در انسان گردند (۱،۲).حیوانات اهلی و وحشی مخزن این باکتری بوده و با مصرف شیر و لبنیات الوده و یا تماس مستقیم با حیوان مبتلا و یا استنشاق ائروسل های آلوده، باکتری به انسان انتقال می یابد(۳). بروسلوز شایع ترین بیماری باکتریال زونوتیک جهانی است و بیش از نیم میلیون نفر سالیانه به ان الوده می شوند و سبب مشکلات جدی سلامت و ضررهای اقتصادی می گردد (۴،۵).

باوجود کنترل این بیماری در بسیاری از کشورها،همچنان در نواحی از مدیترانه و خاور میانه مانند ایران اندمیک می باشد (۲،۶،۷). شیوع بروسلوزیس در ایران از ۰/۵ تا ۱۹/۹٪ در استان های مختلف متفاوت می باشد و بیشتر ایزوله ها متعلق به بروسلا ملیتنسیس می باشد.در بعضی نواحی ایران مانند استان مرکزی این بیماری هایپراندمیک بوده و میزان بروز ۵ ساله ۴۰/۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت را دارد(۸،۹).سویه های بروسلا در بعضی از سلول ها مانند ماکروفاژ زنده می مانند و می توانند از طریق فاگوسیت های مونونوکلوئر در سیستم رتیکولواندوتلیال منتشر شوند (۱۰،۱۱). هر دو ایمنی هومورال و سلولار در پاکسازی عفونت بروسلا نقش دارند (۱۱،۱۲). حفاظت میزبان در برابر سویه های بروسلا به طور اولیه به سیستم ایمنی سلولی شامل سلول های CD4+ T و CD8+ و سلول های antigen-presenting مانند سلول های ماکروفاژ و دندریتیک وابسته است (۲،۱۰).

پروفایل سیتوکین ها به سلول های /(Th1) T-helper cell type 1، Th2و Th3 مربوط می باشد. بالانس Th1/Th2 می تواند در حساسیت یا مقاومت به عفونت بروسلایی نقش داشته باشد (۱).تقویت پاسخ ایمنی سلولی Th1سبب پاکسازی بروسلا گشته و تحت کنترل سیتوکین های مهمی مانند گاما اینترفرون(IFN-γ)، تومور نکروزیس فاکتور الفا (TNF-α) و اینترلوکین ۱۲ می باشدکه در شروع عفونت تولید می شوند.اما فعال سازی پاسخ Th2 سیستم ایمنی هومورال شامل اینترلوکین ۴،۵،۹،۱۰و۱۳ را تقویت کرده و عملکرد ماکروفاژها را مهار می کند و سبب افزایش حساسیت به عفونت می شود (۱۴،۱۵،۱۶).Th3 سبب تحریک transforming growth factor beta (TGF-β) می گردد که یک سیتوکین با عملکرد متعدد بوده و می تواند چندین مسیر در رشد و افتراق سلول های ایمنی را تنظیم کند (۱).

اینترلوکین ۸ یکی از اعضای کموکاین هایCXC است که موجب کموتاکسی نوتروفیل ها می گردد. این سیتوکین توسط سلول های مختلف در پاسخ به سایر سیتوکین های پیش التهابی مانند TNF-α و محصولات باکتریال و ویرال در ناحیه التهاب ساخته می شود (۱۷،۱۸). سطح اینترلوکین ۸ در پاتوژنز بروسلوزیس و کموتاکسی لکوسیت ها موثر می باشد (۱۹).

در مطالعات قبلی نقش برخی سیتوکین ها مانند IFN-γ, IL-2, IL-3, IL-12 ,4 و IL-6 در پاتوژنز بروسلوز بررسی شده است (۲۳-۲۰)ولی نقش بعضی دیگر هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است.هدف از این مطالعه بررسی سطح سرمی اینترلوکین ۸ (IL-8) و ارتباط ان با درمان در بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد می باشد.

## روش کار

این مطالعه بر روی ۳۳ بیمار مبتلا به بروسلوزیس حاد و ۱۹ نفر کنترل سالم(aged-matched)در شهر اراک از دی ماه ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳انجام گرفته است. طرح تحقیقاتی این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک تصویب گردیده و از کلیه افراد پیش از ورود به مطالعه رضایت نامه اگاهانه اخذ شده است.

تشخیص بروسلوز بر اساس علائم و یافته های بالینی و تست standard tube agglutination (STA=Wright) ≥1:160 در حضور 2-Mercaptoethanol (2ME) agglutination ≥1:40 بوده است.گروه کنترل از افراد سالمی که در همان ناحیه جغرافیایی زندگی می کردند انتخاب شدند.نمونه سرم افراد گروه کنترل و بیماران قبل از درمان جهت بررسی سطح IL-8 جمع اوری گردید و سطح ان به روش الیزا در نمونه ها تعیین شد.کیت الیزای مورد استفاده affymetrix ebioscience, Vienna, Austria بود. سپس کلیه بیماران تحت درمان ۶ تا ۸ هفته ای با داکسی سیلین (۱۰۰ میلی گرم ۲ بار در روز) به همراه ریفامپین(۶۰۰ میلی گرم روزانه) قرار گرفتند.پس از درمان مجددا نمونه های سرم از بیماران جمع اوری گشته و سطح IL-8 با روش الیزا با کیت فوق الذکر بررسی شد.یافته ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ و آزمونهای اماری Mann-Whitney U test و Wilcoxon signed-rank test تجزیه و تحلیل شدند و مرز معنی داری اختلافات روی P <۰/۰۵ قرار داده شد. داده ها به صورت means ± standard deviations و در صورت لزوم عدد مطلق یا در صد گزارش شدند.

## یافته ها

سطوح اینترلوکین ۸ در ۳۳ بیمار مبتلا به بروسلوزیس حاد و ۱۹ کنترل سالم اندازه گیری شد. میانگین سن بیماران ۱۵/۲±۲۳/۲ سال بود. ۵۴/۵٪ از بیماران مرد و ۴۵/۵٪ زن بودند.

سطح اینترلوکین ۸ به طور معنی داری در گروه بیماران پایین تر از گروه کنترل بود(۳۰/۸± ۱۵۴/۴ دربرابر ۶۰/۶± ۲۰۱/۳ ،p< ۰/۰۰۱ ). در پایان درمان سطح سرمی این سیتوکین افزایش یافت اما هیچ اختلاف معنی داری بین بین mean rank این سیتوکین قبل و بعد از درمان مشاهده نگردید (۱۶/۳ در برابر ۰/۱۶،۴/۹ =Wilcoxon signed-rank test p).

## بحث

در این مطالعه سطوح سرمی اینترلوکین ۸ در گروه کنترل و بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد قبل و بعد از درمان بررسی شد. سطوح اینترلوکین ۸ به طور معنی داری در گروه بیماران پایینتر از گروه کنترل بود .در پایان درمان ، در بیماران سطح سرمی این سیتوکین افزایش یافت اما هیچ اختلاف معنی داری بین سطوح این سیتوکین قبل و بعد از درمان مشاهده نگردید.

سد دفاعی در برابر ارگانیسم های داخل سلولی مانند بروسلا سیستم ایمنی سلولی است.حذف این باکتری توسط ماکروفاژهای تقویت شده بوسیله ایمنی با واسطه سلول Th1 صورت می گیرد. سیتوکین هایی که در طی پروسه فعال سازی سلول های Th1 توسط سلول های مختلف در پاسخ به واسطه های پیش التهابی و محصولات باکتریال ازاد می شوند نقش مهمی در پاتوژنز بروسلوز دارا می باشند(۱،۲،۱۱،۱۴،۱۵).

IL-8 در پاسخ به لیپوپلی ساکاریدها و سیتوکین های پیش التهابی توسط تعدادی از سلولها تولید می شود و بعنوان یک chemoattractant قوی و فعال کننده منوسیتها،لنفوسیتها،نوتروفیل ها عمل می کند.تولیدIL-8 در موجودات زنده موجب ایجاد سیگنال هایی جهت فعال سازی طیف وسیعی از ایمنی سلولی میزبان می گردد. وجود یک اگونیست جهت بروز طولانی مدت IL-8 ضروری می باشد(۲۴).منبع IL-8 منوسیت ها،ماکروفاژها،فیبروبلاستها،کراتینوسیتها،هپاتوسیتها،کندروسیتها و سلولهای اپی تلیال و اندوتلیال می باشد. این اینترلوکین نقش مهمی در اسیب بافتی و مهاجرت سلول های اختصاصی به منطقه التهاب ایفا می کند و یکی از قوی ترین فاکتورهای کموتاکتیک برای نوتروفیل ها محسوب می شود(۱۹،۲۵).

مطالعات انجام شده بر روی نقش IL-8 در بیماران مبتلا به بروسلوزیس حاد محدود است. در مطالعه انجام شده توسط Akbulut و همکاران(۲۶)،سطح IL-8 در طول بیماری بروسلوزیس حاد بدون تغییر باقی ماند در حالیکه Refik و همکاران(۲۳) سطوح بالای این اینترلوکین را در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده کردند. Demir و همکاران (۱۹)نقش IL-8 را در پیش بینی موارد عود بروسلوز حاد بررسی کردند و دریافتند که سطوح این اینترلوکین به طور معنی داری در بیماران بیش از گروه کنترل بوده و بعد از درمان سطح سرمی ان افزایش می یابد و سطوح IL-8 می تواند می تواند تعیین کننده عود در بیماران بروسلوزی باشد. این اختلافات در نتایج می تواند با تنوعات جغرافیایی، قومی، شرایط دموگرافیک و اپیدمیولوژیک و تعداد بیماران مورد مطالعه قابل توجیه باشد.

## نتیجه گیری

مطالعه ما نشان داد که IL-8 در پاتوژنز بروسلوزیس نقش دارد و سطوح ان می تواند پیش اگهی عفونت بروسلوزیس را تعیین نماید.با توجه به محدود بودن تعداد نمونه در مطالعه فوق، مطالعات وسیع تر با تعداد بیشتر بیماران لازم است تا نقش این سیتوکین در پاتوژنز بروسلوزیس را روشن نماید.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم پزشکی اراک به جهت حمایت مالی از طرح فوق قدردانی می نمایند.

## REFERENCES

1. Karaoglan I, Pehlivan S, Namiduru M, Pehlivan M, Kilinçarslan C, Balkan Y, et al.TNF-alpha, TGF-beta, IL-10, IL-6 and IFNgamma gene polymorphisms as risk factors for brucellosis. New Microbiol. 2009; 32(2):173-8.

2. Eskandari-Nasab E, Moghadampour M, Hasani SS, Hadadi-fishani M, Mirghanizadeh-Bafghi SA, Asadi-Saghandi A, Zare F, Sadeghi-Kalani B, Ghazali-bina M. Relationship between γ-interferon gene polymorphisms and susceptibility to brucellosis infection. Microbiol Immunol. 2013; 57(11):785-91

3. Baldi PC, Giambartolomei GH. Immunopathology of Brucella infection. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2013; 8(1):18-26.

4. Pappas G., Memish Z.A. Brucellosis in the Middle East: a persistent medical, socioeconomic and political issue. J Chemother 2007; 19: 243-8.

5. Ahmed K, Al-Matrouk KA, Martinez 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(3):425-7.

6. Sofian M, Aghakhani A, Velayati AA, Banifazl M, Eslamifar A, Ramezani A. Risk factors for human brucellosis in Iran: a case–control study. Int J Infect Dis 2008; 12: 157–61.

7. Von Bargen K, Gorvel JP, Salcedo SP. Internal affairs: investigating the Brucella intracellular lifestyle. FEMS Microbiol Rev 2012; 36: 533–62.

8. Farahani SH, Shah Mohamadi S, Navidi I, Sofian M. An investigation of the epidemiology of brucellosis in Arak City, Iran, (2001-2010). Arak Med University J. 2012; 14(7): 49-54[In Persian]

9. Sofian M, Aghakhani A, Banifazl M, Eslamifar A, Zolfaghari F, Sarmadian H, Ramezani A. Differentiation of Brucella-Induced Epididymo-orchitis from Nonspecific Epididymo-orchitis in an Endemic Area for Brucellosis. J Med Microbiol Infec Dis 2013, 1(1): 8-13

10. Rasouli M, Asaei S, Kalani M, Kiany S, Moravej A. Interleukin-17A genetic variants can confer resistance to brucellosis in Iranian population. Cytokine 2013;61(1):297-303

11. Orozco G, Sánchez E, López-Nevot MA, Caballero A, Bravo MJ, Morata P, de Dios Colmenero J, Alonso A, Martín J. Inducible nitric oxide synthase promoter polymorphism in human brucellosis. Microbes Infect. 2003; 5(13):1165-9.

12. Eskandari-Nasab E, Moghadampour M, Asadi-Saghandi A, Kharazi-Nejad E, Rezaeifar A, Pourmasoumi H. Levels of interleukin-(IL)-12p40 are markedly increased in Brucellosis among patients with specific IL-12B genotypes. Scand J Immunol. 2013;78(1):85-91

13. Oñate A, Andrews E, Beltran A, Eller G, Schurig G, Folch H. Frequent exposure of mice to crude Brucella abortus proteins down-regulates immune response. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2000; 47(9):677-82.

14. Dornand J, Gross A, Lafont V, Liautard J, Oliaro J, Liautard JP. The innate immune response against Brucella in humans. Vet Microbiol. 2002; 90(1-4):383-94.

15. Fernandes DM, Baldwin CL. Interleukin-10 down regulates protective immunity to Brucella abortus. Infect Immun. 1995; 63(3):1130-3.

16. Demirdag K, Ozden M, Kalkan A, Godekmerdan A, Sirri Kilic S. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003; 39(2):149-53.

17. Budak F, Göral G, Heper Y, Yilmaz E, Aymak F, Baştürk B, et al. IL-10 and IL-6 gene polymorphisms as potential host susceptibility factors in Brucellosis. Cytokine 2007; 38:32-6.

18. Cassatella MA. Neutrophil-derived proteins: selling cytokines by the pound. Adv Immunol. 1999; 73:369-509.

19. Demir NA, Ural O. Serum interleukin-8 levels may predict relapse in brucellosis. Turk J Med Sci 2012; 42 (5): 796-801

20. Zhan Y, Cheers C. Endogenous gamma interferon mediates resistance to Brucella abortus infection. Infect Immun. 1993; 61:4899-4901.

21. Rodriguez-Zapata M, Salmeron I, Manzano L, Salmeron OJ, Prieto A. Alvarez-Mon M. Defective interferon-gamma production by T-lymphocytes from patients with acute brucellosis. Eur J Clin Invest. 1996; 26: 136-140.

22. Galanakis E, Makis A, Bourantas KL. Papadopoulou ZL.Interleukin-3 and interleukin-4 in childhood brucellosis. Infection 2002; 30: 33-34.

23. Refik M, Mehmet N, Durmaz R, Ersoy Y. Cytokine profile and nitric oxide levels in sera from patients with brucellosis. Braz J Med Biol Res. 2004; 37(11):1659-6

24. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel pro-inflammatory supergene ‘‘intercrine’’ cytokine family. Annu Rev Immunol 1991; 9: 617–648.

25. Wuyts A, Proost P, Damme JV. Interleukin-8 and Other CXC Chemokines. In: Thomson AW, editor. The cytokine handbook. London, UK: Academic Press; 1998. p.271-313.

26. Akbulut H, Celik I, Akbulut A. Cytokine levels in patients with brucellosis and their relations with the treatment. Indian J Med Microbiol. 2007; 25(4):387-90.