

## Cytokines' level in acute and chronic brucellosis patients

Rezaee M. A.<sup>1</sup> *MSc*, Jalili A.<sup>1</sup> *PhD*, Motaharinia Y.<sup>1</sup> *MSc*, Mohsenpour B.<sup>2</sup> *PhD*,  
Hakhamaneshi M. S.<sup>3</sup> *PhD*, Rashidi A.<sup>1</sup> *BSc*, Rahmani M. R.\* *PhD*

\*Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences,  
Sanandaj, Iran

<sup>1</sup>Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences,  
Sanandaj, Iran

<sup>2</sup>Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences,  
Sanandaj, Iran

<sup>3</sup>Department of Biochemistry & Nutrition, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical  
Sciences, Sanandaj, Iran

### Abstract

**Aims:** During brucellosis, infection macrophages and T lymphocytes perform effectively to eliminate microbes. Cytokines are small proteins that have role in activation, differentiation and performance of immune cells. The cytokine secretory pattern can be important in clinical brucellosis outcome. The purpose of this study was to determine the levels of some important cytokines in acute and chronic brucellosis patients during immune response.

**Methods:** In this case-control study which was performed in Sanandaj's Tohid Hospital, Iran, 63 patients referred to infectious department were studied. 30 healthy persons were selected as control. 12ml of blood was taken from each patient for performing brucellosis diagnosing tests like serological tests, blood cultures and PCR. Cytokines were measured by using Sandwich-ELISA. Data were analyzed by SPSS 12 software using independent T-test and Mann-Whitney U tests.

**Results:** The mean serum levels of IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in acute and chronic patients were significantly higher than the control group, but cytokine levels were not significantly different between patients with acute and chronic brucellosis. The serum level of IL-12p70 was not only significantly higher in acute and chronic patients than control group but also was significantly higher in acute than chronic patients.

**Conclusion:** The inflammatory and non-inflammatory cytokines increases in brucellosis. It seems that low levels of IL-12p70 in chronic brucellosis in comparison with acute brucellosis patients is due to a defect in performance of macrophages in chronic patients.

**Keywords:** Acute brucellosis, Chronic Brucellosis, Cytokine

## سطح سرمی سایتوکاین‌ها در بیماران حاد و مزمن تب مالت

### محمدعلی رضایی MSc

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

### علی جلیلی PhD

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

### یوسف مطهری نیا MSc

گروه روان‌شناسی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، واحد کنگاور، دانشگاه پیام نور، کنگاور، ایران

### بهزاد محسن‌پور PhD

گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

### محمدسعید هخامنشی PhD

گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

### احمد رشیدی BSc

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

### محمدرضا رحمانی \* PhD

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

## چکیده

**اهداف:** طی عفونت بروسلوز ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T نقش مهمی در پاکسازی میکروبی ایفا می‌کنند. سایتوکاین‌ها، پروتئین‌های کوچکی هستند که در فعال‌سازی، تمایز و عملکرد سلول‌های ایمنی نقش دارند. الگوی ترشحی سایتوکاینی می‌تواند بر نتیجه بالینی عفونت بروسلوز موثر باشد. هدف از این مطالعه بررسی سطح بعضی سایتوکاین‌های مهم طی پاسخ ایمنی در بیماران مبتلا به تب مالت مزمن و حاد بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه مورد-شاهد که در بیمارستان توحید سنندج به انجام رسید، ۶۳ بیمار مراجعه‌کننده به بخش عفونی مورد مطالعه قرار گرفتند. ۳۰ نفر به‌عنوان کنترل انتخاب شدند. ۱۲ سی‌سی خون برای انجام آزمایشات تشخیص بروسلوز مانند سرولوژی، کشت و PCR از هر نمونه گرفته شد. سایتوکاین‌ها به روش الایزا اندازه‌گیری شدند. داده‌های به‌دست‌آمده به نرم‌افزار آماري SPSS 12 وارد و با استفاده از آزمون‌های T مستقل و من-ویتنی تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** سطح سرمی سایتوکاین‌های IL-6، IL-8، IL-10، IFN- $\gamma$  و TGF- $\beta$  در مبتلایان حاد و مزمن به‌طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود، اما بین سطح این سایتوکاین‌ها در بیماران حاد و مزمن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. سطح سرمی IL-12p70 علاوه بر آنکه در مبتلایان حاد و مزمن به تب مالت به‌طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود، در بیماران حاد نیز نسبت به بیماران مزمن به میزان معنی‌داری بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** در بروسلوز سایتوکاین‌های التهابی و غیرالتهابی افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد که کم‌بودن سطح IL-12p70 در بیماران مزمن نسبت به حاد، نشان‌دهنده نقص ماکروفاژها در بیماران مزمن باشد. **کلیدواژه‌ها:** بروسلوز حاد، بروسلوز مزمن، سایتوکاین

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۳۱

تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۹

\* نویسنده مسئول: rahmany191@gmail.com

## مقدمه

بروسلوز به‌عنوان یکی از بیماری‌های مهم و اصلی مشترک بین انسان و دام مطرح است. در منطقه خاورمیانه، از جمله ایران، این عفونت به‌صورت اندمیک وجود دارد [۱-۳].

بروسلا، باکتری عامل بیماری، آرگانسیم داخل سلولی اختیاری است که می‌تواند در فاگوسیت‌ها (به‌خصوص ماکروفاژ) زنده بماند و در برابر فعالیت‌های کشندگی آنها مقابله نماید [۴-۶]. به‌نظر می‌رسد که پاسخ سیستم ایمنی تطبیقی در مسیر لنفوسیت‌های Th1، بتواند رشد باکتری را محدود و متوقف کند. این سلول‌ها با ترشح سایتوکاین‌هایی مانند IFN- $\gamma$  و TNF- $\alpha$  ماکروفاژها را برای تولید بیشتر رادیکال‌های فعال اکسیژن، NO و همین‌طور سایر مسیره‌های کشندگی بیش از پیش تحریک می‌کنند، در نتیجه سلول برای از بین بردن میکروب قوی‌تر شده و آنتی‌ژن‌های میکروب نیز با شدت بیشتری به سلول‌های T عرضه می‌شوند [۷-۱۲]. سایتوکاین‌ها، تعیین‌کننده مسیر پاسخ‌های ایمنی تطبیقی هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که کاهش یا افزایش بیان سایتوکاین‌ها می‌تواند در میزان آسیب‌رسانی بیماری، نقش اساسی داشته باشد. پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن‌های سایتوکاین‌ها که می‌توانند باعث افزایش یا کاهش بیان آنها شوند، در تعیین حاد یا مزمن شدن بیماری، تاثیرگذار هستند [۱۳].

طول مدت بیماری تب مالت براساس آزمایش‌های تشخیصی بیماران و علائم بالینی، به مرحله حاد و مزمن تقسیم می‌شود. از شایع‌ترین علائم مرحله حاد بیماری می‌توان به تب، خستگی، عرق شبانه، بی‌اشتهایی، تهوع و اسهال و از علائم مرحله مزمن به کاهش وزن، تپش قلب و کمردرد اشاره کرد [۱۴]. در مرحله حاد بیماری، سایتوکاین‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی افزایش یافته و معمولاً پس از درمان میزان آنها در سرم کاهش می‌یابد [۱۵]. به‌نظر می‌رسد بیماران که دچار بیماری مزمن تب مالت شده‌اند در تولید IFN- $\gamma$  دچار نقص هستند، همچنان که مواجه‌شدن میکروب با سلول‌های ایمنی خون بیماران مزمن در شرایط آزمایشگاهی سطح این سایتوکاین، افزایش کمی نشان داده است؛ برخلاف آن، در بیماران حاد افزایش آن قابل توجه و بیشتر از بیماران مزمن بوده است [۱۶].

سن و جنسیت با گروه بیماران تطابق داشتند نیز وارد مطالعه شدند. این افراد در زمان نمونه‌گیری فاقد هرگونه بیماری مشخص عفونی یا غیرعفونی بودند. برای تمامی این افراد پس از خون‌گیری آزمایش رایت استاندارد لوله‌ای انجام شد که در صورت منفی بودن، به‌عنوان کنترل تلقی شد [۲۳].

### تشخیص بیماری

برای تشخیص بروسلوز از روش‌های سرولوژی، کشت و PCR استفاده شد. در روش سرولوژی با استفاده از سرم بیمار آزمایش رایت استاندارد لوله‌ای، 2ME- رایت و کومیس- رایت انجام شد. برای کشت، مقدار ۸ سی‌سی خون بیمار در شرایط استریل بلافاصله به محیط کشت مخصوص BACTEC (BD؛ ایرلند) تلقیح و محیط کشت به مدت ۳۰ روز در گرم‌خانه  $37^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. به فاصله زمانی هر ۷ روز یکبار از محیط کشت بر روی محیط بروسلا آگار (Merck؛ آلمان) حاوی خون تازه گوسفندی کشت داده شد. برای تشخیص باکتری بروسلا از کلنی‌های رشدیافته رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های کاتالاز، اوره‌آز و اکسیداز استفاده شد [۲۴، ۲۵]. از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده با توالی  
F: 5'-CCAGCGCACCATCTTTCAG-3'  
R: 5'-TCGTTGCGCGTAAGGATGC-3'  
برای تشخیص و تکثیر قطعه‌ای مشترک از ژنوم بین گونه‌های بروسلا استفاده شد. برای انجام PCR، با استفاده از کیت استخراج DNA از خون کامل و به روش سالتینگ‌اوت (TakAra؛ ژاپن) و کلنی‌های رشدیافته با روش جوشاندن، DNA از خون بیماران استخراج شد. پس از بهینه‌سازی شرایط انجام PCR، محصول واکنش روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شد. برای کنترل مثبت از سوش واکسنی Rev-1 استفاده شد [۲۶].

### سنجش سایتوکاین‌ها

پس از خون‌گیری از بیماران و گروه کنترل، بلافاصله خون به آزمایشگاه منتقل و سرم به‌سرعت جدا و تا زمان سنجش سطح سایتوکاین‌ها در فریزر  $-70^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد. با استفاده از کیت‌های تجاری سطح سایتوکاین‌های IL-6، IL-8، IFN- $\gamma$ ، IL-12p70، IL-10 (Ucytech؛ هلند) و TGF- $\beta$  (RayBiotech؛ ایالات متحده) با روش الایزا اندازه‌گیری شد. روش سنجش تمام کیت‌ها ساندویچ الایزا بود. حساسیت همه کیت‌ها به‌جز TGF- $\beta$ ۱ که نانوگرم در سی‌سی بود، در حد پیکوگرم در سی‌سی طراحی شده بود [۱۵].

### بررسی آماری

داده‌های به‌دست‌آمده به نرم‌افزار آماری SPSS 12 وارد و با استفاده از آزمون‌های T مستقل و من-وینتی تجزیه و تحلیل شد.

### نتایج

از ۶۳ نمونه مورد مطالعه، براساس علایم بالینی و آزمون‌های

IFN- $\gamma$  در سرم بیماران مزمن تب مالت قابل ردیابی نیست ولی در این بیماران سطح سرمی TGF- $\beta$  نسبت به افراد سالم به میزان قابل توجهی بالاتر است [۱۷]. طی بیماری تب مالت قبل از درمان، سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- $\alpha$ ، IL-6، IL-8 و IL-1 افزایش می‌یابد که افزایش این سایتوکاین‌ها با بعضی فاکتورهای التهابی مانند CRP، NO و همین‌طور تورم طحال در ارتباط مستقیم است [۱۱، ۱۵، ۲۰-۱۸]. IL-12 به‌عنوان یکی از سایتوکاین‌های التهابی ایمنی ذاتی، نقشی اساسی در کنترل عفونت با باکتری‌های داخل سلولی دارد. این سایتوکاین طی عفونت بروسلوز در انسان و در مدل‌های حیوانی نیز افزایش نشان می‌دهد. افزایش IL-12 طی عفونت نقش حفاظتی دارد و میزان بار میکروبی بروسلا را تا ۱۰۰۰ برابر کاهش و میزان ماندگاری موش‌ها را نیز افزایش می‌دهد [۲۱، ۲۲]. مطالعه زاپاتا و همکاران در اسپانیا نشان می‌دهد که سطوح سایتوکاین‌های IL-1 $\beta$ ، IL-2، IL-6، IL-12 و IFN- $\gamma$  طی عفونت بروسلوز افزایش می‌یابد ولی IL-10 افزایش نمی‌یابد. سطح این سایتوکاین‌ها پس از درمان کاهش یافته و به حد طبیعی برمی‌گردد [۹].

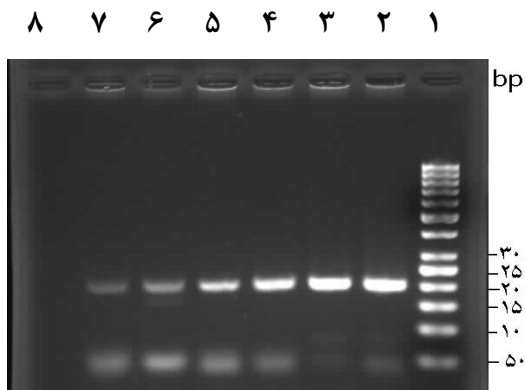
با توجه به اندمیک بودن این بیماری در مناطق محدودی از دنیا، مطالعاتی که سطح سرمی سایتوکاین‌ها در بیماران حاد و مزمن را بررسی کرده باشند، بسیار محدود است. علی‌رغم مطالعات متعدد، هنوز جنبه‌های متعددی از پاسخ ایمنی از جمله الگوی سایتوکاینی در این بیماران، به خوبی روشن نشده است. علاوه بر این، با توجه به تفاوت‌های ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف و وجود پلی‌مورفیسم‌های خاص در بیماران، آگاهی از الگوی سایتوکاینی به‌عنوان یک عامل مهم در نتیجه بالینی عفونت بروسلوز می‌تواند در موفقیت کنترل بیماری موثر باشد. هدف از این مطالعه بررسی سطح بعضی سایتوکاین‌های مهم طی پاسخ ایمنی در بیماران مبتلا به تب مالت مزمن و حاد بود.

### روش‌ها

#### نمونه‌گیری

در این مطالعه مورد-شاهد که در بازه زمانی ۱۶ ماه از خردادماه ۱۳۸۸ تا مهرماه ۱۳۸۹ در بیمارستان توحید سنجید به انجام رسید، بیماران مراجعه‌کننده به بخش عفونی به‌عنوان جامعه آماری مورد مطالعه قرار گرفتند. تمامی بیماران توسط یک نفر همکار متخصص عفونی معاینه شدند و علایم بالینی ثبت شد. پس از توضیحات در مورد مطالعه و رضایت بیمار، ۶۳ بیمار که هیچ‌گونه بیماری عفونی یا غیرعفونی دیگر نداشتند به روش نمونه‌گیری آسان به مطالعه وارد شدند. قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک یا هر داروی دیگر، ۱۲ سی‌سی خون برای انجام آزمایشات تشخیصی از بیمار گرفته شد. بیماران براساس طول بیماری، علایم بالینی و آزمون‌های سرولوژی به دو گروه حاد و مزمن تقسیم شدند [۱۶]. ۳۰ نفر داوطلب که از نظر

معنی‌داری مشاهده نشد. اگر چه سطح IL-10 و TGF-β1 در گروه مزمن بالاتر از گروه حاد بود، اما این فزونی معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). سطح IL-12p70 نیز در کل بیماران نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). در مورد این سایتوکاین، در بیماران حاد افزایش معنی‌دار نسبت به گروه مزمن مشاهده شد ( $p = 0.02$ ; جدول ۱).



**شکل ۱** نتایج حاصل از انجام PCR برای ردیابی قطعه‌ای از ژنوم باکتری بروسلا. به دنبال الکتروفورز، رنگ‌آمیزی ژل آگاروز ۱/۵٪ با اتیدیوم بروماید. ستون ۱: مارکر وزنی DNA ۵۰ جفت‌بازی؛ ستون ۲: سویه Rev-1 با محصول ۱۹۷ جفت‌بازی؛ ستون ۳، ۴ و ۵: باکتری‌های جداشده از کشت خون با محصول ۱۹۷ جفت‌بازی؛ ستون ۶ و ۷: نمونه‌های خون با محصول ۱۹۷ جفت‌بازی؛ ستون ۸: نمونه *E. coli* به‌عنوان کنترل منفی

تشخیصی، ۶۰ بیمار مبتلا به بروسلوز تشخیص داده شدند. میانگین سنی بیماران  $18/23 \pm 36/76$  سال و میانگین سنی گروه کنترل  $34/47 \pm 12/56$  سال بود ( $p = 0.3$ ). از مجموع بیماران، ۴۱ نفر مذکر ( $68/33\%$ ) و ۱۹ نفر ( $31/67\%$ ) مونث بودند. ۴۷ بیمار در گروه حاد و ۱۳ نفر نیز در گروه مزمن قرار گرفتند. تظاهرات بالینی بیماران علایمی اختصاصی و غیراختصاصی همچون تب و لرز (۴۱ نفر)، عرق شبانه (۳۶ نفر)، ضعف و خستگی (۴۲ نفر)، دردهای مفصلی (۴۷ نفر)، ورم مفاصل (۹ نفر)، کمردرد (۴۶ نفر)، بی‌خوابی (۳۰ نفر) و ورم بیضه (۷ نفر) را نشان داد.

از نمونه‌های کشت شده بیماران ۱۸ مورد (۳۰٪) باکتری جدا شد که پس از انجام آزمایش‌های رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی، آزمون‌های بیوشیمیایی و شکل کلنی، وجود باکتری بروسلا تایید شد. آزمون PCR نیز وجود قطعه ۱۹۷ جفت‌بازی اختصاصی باکتری بروسلا را تایید کرد (شکل ۱).

### سطح سایتوکاین‌ها

سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-6 و IL-8 در کل بیماران و گروه‌های حاد و مزمن به شکل معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود ( $p < 0.05$ ), اما بین سطح این سایتوکاین‌ها در بیماران حاد و مزمن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). سایتوکاین‌های IFN-γ، IL-10 و TGF-β نیز در کل بیماران و گروه‌های حاد و مزمن به شکل معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $p < 0.05$ ), اما بین گروه‌های مزمن و حاد از نظر این سایتوکاین‌ها نیز تفاوت

**جدول ۱** سطح سرمی سایتوکاین‌های IL-6، IL-8، IL-10، IFN-γ، IL-12p70 و TGF-β در گروه‌های کل بیماران، کنترل، بیماران حاد و بیماران مزمن (pg/ml)

سایتوکاین‌ها						سایتوکاین‌ها
TGF-β1	IL-12p70	IFN-γ	IL-10	IL-8	IL-6	گروه
$37 \pm 0.8$	$21 \pm 1.1$	$26/73 \pm 11/12$	$2/5 \pm 1.3$	$52/1 \pm 12/8$	$34 \pm 8/7$	کل بیماران
$37 \pm 0.9$	$29 \pm 1.3$	$29/39 \pm 9/62$	$2/4 \pm 1.7$	$56/5 \pm 17/7$	$36/2 \pm 10/5$	بیماران حاد
$37 \pm 0.6$	$11 \pm 0.9$	$25/21 \pm 12/3$	$2/6 \pm 2.1$	$49/6 \pm 17/1$	$35/1 \pm 9/2$	بیماران مزمن
$0.9 \pm 0.3$	$0.4 \pm 0.34$	$8/25 \pm 3/5$	$0.9 \pm 0.7$	$18/5 \pm 6/5$	$12/8 \pm 4/6$	کنترل

تولید فاکتورهای التهابی مانند CRP است، نقش دارد. مطالعه رفیک و همکاران در ترکیه نشان می‌دهد که در بیماری تب مالت سطح IL-6 و IL-8 همراه با NO افزایش می‌یابد و در بیماران حاد این سایتوکاین‌ها به میزان معنی‌داری بیشتر از بیماران تحت حاد است [۱۸]. در مطالعه حاضر، سطوح سایتوکاین‌های IL-6 و IL-8 در بیماران حاد و مزمن تفاوت معنی‌دار نداشت، گرچه در بیماران حاد بیشتر از گروه مزمن بود. حجم نمونه مطالعه حاضر بیشتر از مطالعه رفیک و همکاران بود.

IL-8 به‌عنوان جاذب شیمیایی نوتروفیل، التهاب ایجادشده را در عفونت بروسلوز افزایش می‌دهد، چنان‌که احمد و همکاران در کویت گزارش می‌کنند که IL-8 در پاسخ ایمنی به بروسلا همراه

### بحث

عفونت بروسلوز در انسان و مدل‌های حیوانی پاسخ ایمنی از نوع Th1 را القا می‌کند [۹]. سایتوکاین‌ها به‌عنوان مولکول‌های مهم در پاسخ ایمنی و نتیجه پاسخ، در عفونت بروسلوز تاثیرگذار هستند. این مولکول‌ها علاوه بر نقش داشتن در فعال‌سازی، فراخوانی و تنظیم فعالیت سلول‌ها، در تمایز سلول‌های T نیز نقش دارند که این موضوع سرنوشت پاسخ ایمنی در کنترل یا عدم کنترل عفونت را مشخص می‌کند [۲۷-۲۹].

در مطالعه حاضر، سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-6 و IL-8 در بیماران نسبت به افراد سالم افزایش نشان داد. سایتوکاین IL-6 در ایجاد پاسخ التهابی که همراه با فعال‌سازی سلول‌های ایمنی و

معنی‌داری بالاتر از گروه مزمن بود ( $p=0/02$ ). در مطالعه رفیعی و همکاران در شرایط محیط کشت سطح IL-12 در بیماران مزمن بروسولوز بیشتر از بیماران حاد بود که این مغایرت شاید به دلیل تفاوت در نحوه سنجش این سایتوکاین باشد، زیرا شرایطی که در داخل بدن وجود دارد با شرایط محیط آزمایشگاهی متفاوت است و عوامل بیشتری در بدن بر نحوه پاسخ ایمنی تاثیر می‌گذارد.

در مطالعه زاپاتا و همکاران در اسپانیا، پاسخ ایمنی در عفونت بروسولوز از نوع Th1 بود، اما علی‌رغم تولید کافی IFN- $\gamma$  نقص در عملکرد ماکروفاژها در ازبین‌بردن بروسلا، در بیماران مبتلا مشهود است [۹]. براساس این مطالعه، کم‌بودن سطح IL-12p70 در بیماران مزمن بروسولوز نسبت به بیماران حاد در مطالعه حاضر توجیه می‌شود، زیرا مهم‌ترین منبع تولید این سایتوکاین طی عفونت ماکروفاژهای آلوده به میکروب است که در صورت نقص در عملکرد این سلول به‌طور مستقیم بر تولید سایتوکاین‌های مترشحه از آن تاثیر می‌گذارد. البته در تحریک تولید IL-12 و IFN- $\gamma$  طی پاسخ ایمنی میزبان وجود مقدار کافی TNF- $\alpha$  اهمیت بسیاری دارد [۲۰].

TGF- $\beta$  سایتوکاینی است که عمدتاً توسط سلول‌های T تنظیمی تولید و ترشح می‌شود. TGF- $\beta$ 1 شکل غالب TGF- $\beta$  در بدن است که باعث تنظیم و سرکوب پاسخ ایمنی می‌شود [۱۷]. در مطالعه حاضر، سطح TGF- $\beta$ 1 در سرم بیماران بروسولوز بیشتر از گروه کنترل بود و سطح این سایتوکاین در بیماران مزمن و حاد تفاوت معنی‌دار نداشت، علی‌رغم اینکه در بیماران مزمن بیشتر بود. در مطالعه الفاکی و همکاران، سطح TGF- $\beta$ 1 در سرم بیماران مزمن بروسولوز در سرم و محیط کشت در سطح پروتئین و mRNA بیشتر از گروه کنترل بود [۱۷]. برای اظهارنظر در مورد سطح این سایتوکاین در بیماران مزمن و حاد بروسولوز، مطالعات بیشتری با نمونه‌های بزرگ‌تر لازم است، اما به‌نظر می‌رسد که این سایتوکاین در بیماران مزمن افزایش می‌یابد که باعث نقص در عملکرد سلول‌های T می‌شود [۱۷].

در این مطالعه بیمارانی وجود داشتند که بیش از ۱۰ سال با بیماری بروسولوز درگیر بودند. این احتمال وجود دارد که بیماران فوق دوره درمانی را به‌طور کامل طی نکرده باشند، اما شواهد حاکی از این مطلب نبود. به‌نظر می‌رسد که پاسخ سیستم ایمنی در کنار درمان دارویی می‌تواند موفق به حذف باکتری در بدن شود. در بیماران مزمن بروسولوز نقص در پاسخ ایمنی وجود دارد. این نقصان ممکن است در ترشح سایتوکاین‌ها یا در عملکرد سلول‌ها مانند لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها باشد. در این مطالعه، ترشح IL-12 در بیماران مزمن کمتر از حاد است که نشان می‌دهد عملکرد ماکروفاژ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سلول‌های ایمنی ذاتی در بیماران مزمن تب مالت دچار مشکل می‌شود. بررسی پلی‌مورفیسم‌ها در ژن‌های مربوط به ماکروفاژها و ایمنی ذاتی در بیماران بروسولوز می‌تواند ارزشمند باشد.

با IL-12 و IFN- $\gamma$  افزایش می‌یابد که این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۱۱]. این نتایج نشان می‌دهد که سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند IL-6 و IL-8 طی عفونت تب مالت در بیماران حاد و مزمن تفاوتی ندارد و طی بیماری افزایش می‌یابد.

کارون و همکاران پس از آلوده‌سازی ماکروفاژها با سوش‌های بروسلا مشاهده کردند که سطح سایتوکاین‌های IL-6، IL-8 و IL-1 $\beta$  افزایش می‌یابد، اما باکتری بروسلا می‌تواند مانع از افزایش TNF- $\alpha$  شود. این موضوع حاکی از آن است که باکتری اگرچه باعث افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود، اما از طریق مهار تولید TNF- $\alpha$  می‌تواند از مکانیسم‌های کشندگی ماکروفاژ فرار کند [۳۰]. سطح سرمی IFN- $\gamma$  در مطالعه حاضر، در بیماران حاد بیشتر از بیماران مزمن به‌دست آمد، اما این تفاوت معنی‌دار نبود. سطح IL-10 در بیماران مزمن بیشتر از بیماران حاد بود، اما در این مورد نیز تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. رفیعی و همکاران گزارش می‌کنند که پس از مواجهه خون کامل بیماران بروسولوز مزمن و حاد با باکتری بروسلا سوش واکسینال Rev-1، سطح IFN- $\gamma$  در مایع رویی کشت در بیماران حاد، به میزان معنی‌داری بیشتر از بیماران مزمن است. همچنین آنها در سطح IL-10 بین بیماران حاد و مزمن تفاوتی گزارش نمی‌کنند [۱۶]. در مطالعه حاضر اکثر بیماران مزمن، بیماران مزمن عودکرده بودند که با علائم بالینی خفیف و نامشخص به پزشک مراجعه کرده بودند، لذا تحریک سیستم ایمنی در شرایط داخل بدن ممکن است به نحوی باشد که در مقدار IFN- $\gamma$  در بیماران مزمن و حاد تفاوتی وجود نداشته باشد؛ ضمن اینکه شرایط سنجش سایتوکاین در مطالعه رفیعی در محیط آزمایشگاهی ولی در مطالعه حاضر در سرم افراد بود.

تولید IL-10 طی عفونت بروسولوز در بیماران افزایش می‌یابد، اما این افزایش در بیماران حاد و مزمن تفاوت معنی‌داری ندارد که در مقاله رفیعی نیز در محیط کشت در بیماران حاد و مزمن سطح این سایتوکاین تفاوتی مشاهده نشده است [۱۶]. به‌نظر می‌رسد که در عفونت بروسولوز، IL-10 نقش تعیین‌کننده در روند بیماری ندارد، اگرچه بعضی از مطالعات، فراوانی پلی‌مورفیسم‌های خاصی را در بیماران نسبت به افراد کنترل در ژن IL-10 نشان می‌دهند که حاکی از احتمال ارتباط این سایتوکاین بر روند عفونت است [۳۱، ۳۲].

در مدل موشی عفونت بروسولوز، تزریق شکل فعال زیستی IL-12p70، باعث کاهش بار باکتری در طحال و خون موش‌ها به میزان ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر شده است. این گزارش حاکی از اهمیت این سایتوکاین در پاسخ به عفونت بروسولوز است [۲۱]. در مطالعه حاضر سطح سرمی IL-12p70 در کل بیماران بیشتر از گروه کنترل بود که این نتیجه با نتایج رفیک و همکاران مطابقت دارد [۱۸]. سطح این سایتوکاین در بیماران حاد تب مالت به شکل

## نتیجه گیری

در بروسلوز سایتوکاین‌های التهابی و غیرالتهابی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که کم بودن سطح IL-12p70 در بیماران مزمن نسبت به حاد، نشان‌دهنده نقص ماکروفاژها در بیماران مزمن باشد.

**تشکر و قدردانی:** نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان برای تامین هزینه انجام این پژوهش را اعلام می‌دارند. از کارکنان بخش عفونی بیمارستان توحید سنج و کلیه بیمارانی که برای انجام این مطالعه همکاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

- Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(2):91-9.
- Ghasemi B, Mohammadia B, Soofimajidpour M. Epidemiology of human and animal brucellosis in Kurdistan province in 1997-2001. *Kurdistan Univ Med Sci J.* 2003;8(2):23-32. [Persian]
- Moradi G, Esmail Nasab N, Ghaderi E, Sofi Majidpour M, Salimzadeh H. Brucellosis in Kurdistan province from 1997 to 2003. *Ann Alquds Med.* 2006;2(1):32-7.
- Lim ML, Rickman ML. Brucellosis. *Infect Dis Clin Pract.* 2004;12:7-14.
- Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(12):775-86.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med.* 2005;352(22):2325-36.
- Maria-Pilara J, Dudalb S, Dornandb J, Grossb A. Cellular bioterrorism: How Brucella corrupts macrophage physiology to promote invasion and proliferation. *Clin Immunol.* 2005;114(3):227-38.
- Gorvel JP, Moreno E. Brucella intracellular life: From invasion to intracellular replication. *Veterin Microbiol.* 2002;90(1-4):281-97.
- Rodriguez-Zapata M, Matias MJ, Prieto A, Jonde MA, Monserrat J, Sanchez L, et al. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function. *Infect Immun.* 2010;78(7):3272-9.
- 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.
- Zhan Y, Cheers C. Control of IL-12 and IFN-gamma production in response to live or dead bacteria by TNF and other factors. *J Immunol.* 1998;161(3):1447-53.
- Huang LY, Ishii KJ, Akira S, Aliberti J, Golding B. Th1-like cytokine induction by heat-killed Brucella abortus is dependent on triggering of TLR9. *J Immunol.* 2005;175(6):3964-70.
- Karaoglan I, Pehlivan S, Namiduru M, Pehlivan M, Kiliçarslan C, Balkan Y, et al. TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-10, IL-6 and IFN- $\gamma$  gene polymorphisms as risk factors for brucellosis. *New Microbiol.* 2009;32(2):173-8.
- Pourbagher MA, Pourbagher A, Savas L, Turunc T, Demiroglu YZ. Clinical pattern and abdominal sonographic findings in 251 cases of brucellosis in southern Turkey. *AJR Am J Roentgenol.* 2006;187(2):191-4.
- Demirdag K, Ozden M, Kalkan A, Godekmerdan A, Sirri Kilic S. Serum cytokine levels in patients with acute