Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ٦٥ ، شماره ٢، اردیبهشت ١٣٨٦، ١٧-١٢

بررسی سیتوکینهای Th1-Th2 در سطح سلولی در بیماران مبتلا به سپسیس و سپسیس شدید

زهرا احمدی نژاد[1*]
احمدرضامبین[1]
آمیناکریمی نیا[2]
شیرین افهمی[1]
زینت نادیا حتمی[3]
ابراهیم ترک آبادی[2]
علیرضایلدا[1]

۱- گروه عفونی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- گروه ایمونولوژی، انستیتو پاستور ایران
۳- گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*نویسنده مسئول، نشانی: تهران، انتهای بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی،گروه عفونی
تلفن: ٦٦٩٢٩٢١٦و٤٤٣٠٥٤٨١
email: ahmadiz@tums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: سپسیس از علل عمده مرگ بیماران بوده و پیامد بیماری، بستگی به پاسخ Th1 و Th2 دارد به طوری که در پاسخ غالب Th2، شدت بیماری افزایش می‌یابد. هدف این مطالعه ارزیابی ارتباط بین سطوح سایتوکین‌ها و شدت بیماری می‌باشد.

روش بررسی: یک مطالعه مقطعی جهت بررسی سطوح سلولی سایتوکین‌ها در بیماران دچار سپسیس و سپسیس شدید در به بیمارستان امام خمینی طی سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸٤ انجام شد. این مطالعه شامل ۳۷ بیمار (٢٤ مرد و ۱۳ زن) بود. بیست و شش بیمار دچار سپسیس و ۱۱ نفر دچار سپسیس شدید بودند. ۳۷ داوطلب سالم به عنوان کنترل بود. میانگین سنی بیماران ۲۳/۳± ۵۷ (محدوده ۲۱ تا ۹۲ سال) بود. بعد از سانتریفوژ کردن نمونه خون کامل بیماران و گروه کنترل، مونوسیت و لوکوسیت را جدا و سپس کشت داده و مقدار IFN-γ, IL-4 ,IL-12 و IL-10 را با و بدون تحریک سلولی، به روش الیزا اندازه‌گیری کردیم.

یافته‌ها: ارتباط معنی‌داری در تولید IFN-γ در بیماران سپسیسی با سپسیس شدید و حتی در آنها که فوت کردند با افراد زنده، پیدا نشد، اما سطوح IL-12 در بیماران دچار سپسیس شدید در مقایسه با بیماران دچار سپسیس، کاهش معنی‌دار داشت (p=۰/۰٤۸) ونیز در افراد فوت شده در مقایسه با زنده مانده‌ها (p=۰/۰۲۸). همچنین سطوح IFN-γ ,IL-10 و IL-4 در بیماران در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌دار داشت، اختلاف معنی‌داری در تولید IL-12 بین دو گروه ذکر شده وجود نداشت. از نظر جنس و سن (بالای ۵۵ و کمتر)، اختلاف معنی‌داری در تولید سایتوکین‌ها وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان داد که سلول T کمک کننده غالب در بیماران دچار سپسیس شدید و بیماران فوت شده Th2 است و ارتباط معنی‌داری در تولید سایتوکین‌های Th1 و پیشرفت سپسیس وجود دارد و به احتمال قوی، سطوح IL-12 بطور مشخص در بیماران فوت شده و سپسیس شدید، کاهش می‌یابد.

کلمات کلیدی: سپسیس، سپسیس شدید، سیتوکین، سلول T کمک کننده نوع ۱و ۲

مقدمه

سپسیس یک علت عمده عوارض و مرگ و میر است و همچنان پاتولوژی آن روشن نیست. تعریف تظاهرات بالینی سپسیس هنوز کامل نشده و هر روز تعاریف تازه‌تر و دقیق‌تر برای بیماری ارائه می‌شود. بنا به گزارشات اخیر علی‌رغم پیشرفت تکنیکی در بخش‌های مراقبت ویژه و درمان‌های محافظتی پیشرفته انسیدانس بیماری هر سال بین ۱/۵٪ تا ۸٪ در حال افزایش بوده و اقامت

www.SID.ir

Archive of SID

طولانی این بیماران در بخش و ICU هزینه سنگینی را بـه سـازمانهای بهداشتی تحمیل می‌کنند.[۱]

لنفوسیتهای T_{CD4}^{+} از نظر عملکرد به حداقل سه نوعTh0, Th1, Th2، تقسیم می‌شوند که بر اسـاس پاسـخ بـه آنتـی ژن، تمـایز مـی‌یابنـد.[۲] لنفوسیتهای Th0 منبع عملکرد سلولهای کمک کننـدهT Helper بـرای Th1, Th2 است. پاسخ Th1 با تولید اینترفرون گاما، اینترلـوکین ۱۲ و سیتوکینهای دیگر مشخص می‌شود مشخـصه پاسـخ اختـصاصی Th2 تولید اینترلوکین‌هایIL10 , IL5 , IL4 و سیتوکینهای دیگر است.[۳]

سیتوکین‌ها، هورمونهای پلی‌پپتیدی هستند که در تنظیم رشد، تمـایز و عملکرد سلولهای خون‌ساز و غیرخون‌ساز دخالت دارند. سیتوکین‌هـا به عنوان پیامبر شیمیایی در داخل دستگاه ایمنی عمل می‌کننـد. نـدرتاً در بدن به تنهایی عمل می‌کنند. عملکرد آنها مـوقتی اسـت و معمـولاً محدوده کوچکی دارد. سیتوکین‌ها نقش مهمی در تقویت پاسخ ایمنی دارند زیرا رها سازی سیتوکین‌هـا از تعـداد کمـی سـلول فعـال شـده توسط آنتی ژن، موجب فعال شدن انواع گوناگون سلول‌ها کـه لزومـاً در ناحیه مجاور محل رهاسازی سیتوکین‌ها قرار ندارنـد، مـی‌شـوند.[۲] ارزیابی سیتوکین‌ها در سـطح سـلولی اهمیـت بـه سـزایی در بدسـت آوردن اطلاعات صحیح در مورد نوع و نسبت سـلولهای T پاسـخگو در مقابل آنتی‌ژنهای اختـصاصی دارد.[۴] بررسـی تولیـد داخـل سـلولی سـیتوکین‌هـا بـا اسـتفاده از فلوسـیتومتری امکـان شناسـایی همزمـان دسـتجات مختلـف سـلولی و تولیـد سـیتوکین‌هـا را در آنهـا فـراهم می‌آورد.[۵] با این روش امکان اندازه‌گیری سریع تولید سـیتوکین‌هـا در هزاران سلول مجزا فراهم می‌گردد. به لحاظ این که پاسـخهای ایمنـی در اکثر بیماریها دارای اساس Th1 وTh2 می‌باشد، این تکنیـک بـرای بررسی روند بیماریزایی و تعقیب پیشرفت بیماری نیز سودمند است.[۶]

در مطالعات، نشان داده شده که استعداد ابتلا به سپـسیس و پیـشرفت وضعیت عمومی بدن بیمار به سمت سپـسیس، در ارتبـاط بـا کـاهش تولید سیتوکین‌های Th1 (اینترلوکین۱۲ و اینترفرون گامـا) در حـضور افـزایش یافتـه سـیتوکینهایTh2 (IL10- IL4) اسـت.[۷] همچنـین سیتوکین‌های تولید شده در سپسیس ممکـن اسـت روی برتـری زیـر گروهای T-helper تاثیر گذاشـته و متعاقبـا روی پاسـخ ایمنـی مـؤثر باشند[۸] به طوری که ممکن است وضعیت بیمـار را بـه سـمت وخـیم شدن حال عمومی برده و منجر بـه افـزایش مـرگ و میـر شـوند. بـه عبارت دیگر سیتوکین‌ها نقش هدایتگر سیستم ایمنی را به عهده داشته و سرانجام بیماری را متاثر می‌سازند. به عنـوان مثـال، IFN-γ تولیـد شده در سلول های Th1، جلوی تولید سلول های Th2 را می‌گیـرد و IL-4 و IL-10 تولید شده در سلول‌های Th2، مانع تولید سـلول‌هـای Th1 می‌شوند.[۹] در این مطالعـه میـزان تولیـد IFN-γ، IL-10 IL-12 و IL-4 در بیماران دچار سپسیس و سپـسیس شـدید در سـطح سـلولی بررسی شد. سطح سیتوکین‌های Th1 و Th2 در بیماران با گروه کنترل نیز مقایسه گردید.

روش بررسی

این مطالعه مقطعـی بـر روی بیمـاران مبـتلا بـه سپـسیس کـه از شهریور ۱۳۸۳ لغایت اسفند ۱۳۸٤ به بیمارستان امام خمینـی در شـهر تهران مراجعه کرده بودند انجام شد. ۳۷ بیمـار (۱۳ نفـر زن، ۲٤ نفـر مرد) که وضعیت سپسیس آنها توسـط معیارهـای توافـق‌نامـه انجمـن مراقبت‌های حیاتی پزشکی و کالج امریکایی پزشـکان قفـسه سـینه در سال ۱۹۹۲ تأیید شد، وارد مطالعـه شـدند. بیمـارانی کـه بـیش از دو نوبت آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند، بیماران مبتلا بـه نقـص ایمنـی اولیه یا اکتسابی و نیز مبتلایان بـه دیابـت و نارسـایی مـزمن کلیـه از مطالعه خارج شدند. گروه کنترل شامل ۳۷ نفر (۱۰نفر زن، ۲۷نفر مرد با میانگین سنی ۸/٤ ± ۳۳ سال) بود. از پرسـنل پزشـکی و همراهـان بیماران برای انتخاب گروه کنترل استفاده شـد. ایـن افـراد عـلاوه بـر معیارهای خروج ذکر شده بـرای بیمـاران، سـابقه ابـتلاء بـه بیمـاری عفونی در دو هفته قبل از نمونه‌گیـری نداشـتند. انجـام آزمایـشات و گرفتن خون با رضایت افـراد صـورت گرفـت. هیچگونـه مـداخلات درمانی خارج از روال معمول، صورت نگرفت و هزینه آزمایشات بـر افراد تحمیل نشد. مشخصات و اطلاعات بیماران کاملاً محفوظ مانـد. پنج میلی‌لیتر خون بیمار و شاهد با استفاده از لوله استریل دارای مـاده ضد انعقاد هپارین سدیم (۱۰ IU/ml) تهیه و به سـرعت (در کمتـر از سه ساعت) به آزمایشگاه ایمونولوژی انستیتو پاستور منتقل می‌شد. در آزمایشگاه خون با PHYCOL (دانسیته ۱/۰۷۷) مخلوط شده و سـپس با سرعت ۵۰۰j به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اطاق، سانتریفوژ مـی‌شـد. سپس از قسمت میانی نمونه سانتریفوژ شده (محل تجمع لنفوسـیت و مونوسیت‌ها) سرم برداشته و با غلظت دو میلیون سلول در میلـی‌لیتـر، کشت سلولی انجام شد. به دنبـال آن، نمونـه‌هـا در دمـای ۳۷ درجـه سانتی‌گراد و Co2 ۵٪ برای ۱۲ ساعت انکوبه شدند. سپس نمونـه‌هـا

www.SID.ir

Archive of SID

را به دو دسته تقسیم کرده: به دسته اول Phorbol ۵۰ ng/ml Myristate Acetate و Inomycin برای تحریک سلولی، در محیط کشت اضافه کردیم و به دسته دوم هیچ تحریکی وارد نکردیم. سپس سوپ سلولی حاصله را جمع‌آوری کرده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری کردیم.

میزان سایتوکین‌های IL-4 , IL-10 برای TH2 و IL-12 و INF-γ برای TH1 مورد آزمایش قرار گرفت. مقدار سایتوکین‌های تولیدی را با دانسیتومتری نوری بدست آورده و بنا به فرمول خطی هر کیت غلظت سیتوکین را محاسبه کردیم. کلیه کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری سایتوکین‌های IFN-γ، IL-12,IL-10 و IL-4 از شرکت Bender Med system، اتریش خریداری شد. معیارهای توصیفی بصورت میانگین ± انحراف معیار و فراوانی مطلق و نسبی نمایش داده شد. برای مقایسه بین گروه‌ها و بررسی معنی‌دار بودن نتایج از نظر آماری، از t-test استفاده شد. اختلاف بیشتر از ۹۵٪ دامنه اطمینان در تمام آزمایشات با مقدار P≤۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS ویراست ۱۱/۵ استفاده شد.

یافته‌ها

در مجموع از ٤۰ بیمار با تشخیص سپسیس نمونه خون تهیه شد ولی سه بیمار از مطالعه خارج شدند. (یک بیمار به علت مثبت شدن آزمایش HIV، یک مورد به علت رد تشخیص سپسیس و ابتلاء به آرتریت روماتوئید و یک مورد به دلیل عدم پاسخ نمونه به محرک‌های اضافه شده در آزمایشگاه). میانگین سنی بیماران ۵۷±۲۳/۳ بود با محدوده ۹۲ – ۲۱ سال. علل سپسیس عبارت بودند از: پنومونی ۱۲ مورد (۳۰٪)، عفونت ادراری ۱۰ مورد (۲۵٪)، عفونت بافت نرم و استخوان پنج مورد (۱۲/۵٪)، آندوکاردیت سه بیمار (۷/۵٪) و سپسیس با منشاء ناشناخته هشت بیمار (۲۰٪). ۲۷ بیمار (۷۳٪) در مرحله سپسیس و ۱۰ بیمار (۲۷٪) مبتلا به سپسیس شدید بودند. پنج بیمار (۱۳/۵٪) فوت کردند که همه آنها در گروه سپسیس شدید قرار داشتند. میانگین تولید اینترفرون گاما (γ -IFN) در بیماران تحت مطالعه به دنبال تحریک سلولی با PMA و Ionomycine ng/ml ۳۰/۷ ± ۳۷ و در گروه کنترل، ng/ml ۵۰/۸ ± ۱/ ۷۳ بود. (p=۰/۰۰۰ و t test) میانگین تولید IL-4 و IL-10 در بیماران به دنبال تحریک سلولی، به ترتیب ٦٤۳/٤Pg/ml ± ٦٥٤/٤ و ۱۸٤۳/٤±۱٥٤۹pg/ml بود در حالیکه در گروه کنترل به ترتیب برابر ۱۰٥۲/۲ pg/ml ±۱۳۲۷/۸ T) (p=۰/۰۰٤ و t test) و ۳٤۳۸/۹±۱۷۸۰ pg/ml بود. (p=۰/۰۰۰ و t test). میانگین تولید اینترلوکین ۱۲ در بیماران تحت مطالعه به دنبال تحریک سلولی مساوی ۳/۹±۱/۹ pg/ml و در گروه کنترل ۰/۸pg/ml ± ۳/۷ بود. (p=۰/٤۳ و t test) مقدار تولید سایتوکین‌ها برحسب وضعیت بیماری (سپسیس و سپسیس شدید) و پیامد بیماری (زنده ماندن و فوت) در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول-۱: مقدار سایتوکین‌ها در بیماران تحت مطالعه براساس شدت سپسیس و پیامد بیماری

سایتوکین	سپسیس	سپسیس شدید	فوت شده	زنده
اینترفرون گاما با تحریک سلولی	۳۳ ± ۳۵/۸	۲٤/۱ ±٤۰/٦	۱٦/۳ ±۲٥/۸	۳۱/۹ ±۳۸/۳
اینترفرون گاما بدون تحریک سلولی (ng/ml)	۰/۷ ± -۱/۳	۰/٤ ±-۱/٥	۰/٦ ±-۱/۷	۰/٦ ±-۱/۳
اینترلوکین۲ با تحریک سلولی	۲/۱ ±٤/۲	۰/۳ ±۳/۳	۰/۳ ±۳/۲	۱/۹ ±٤
اینترلوکین ۱۲ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۰/٤ ±۳/۳	۰/٥ ±۳/۳	۰/۲ ±۳/۲	۰/٤ ±۳/٤
اینترلوکین ٤ با تحریک سلولی	٥۹۱/۷ ±٦٥٦/٤	۸۰۲/۷ ±۷٥۱/۳	۲٤۲/٥ ±۲٥٥/٥	٦٥۹ ±۷۳۱/٥
اینترلوکین٤ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۷/۳ ±٦/۲	٤/٦ ±٥/۹	٤/٤ ±۳/٤	٦/۹ ±٦/۷
اینترلوکین۱۰ با تحریک سلولی	۱٥۹۰/۷ ±۱۸۲۰/٥	۱٥۰٥/۹ ±۱۹۰۷/٥	۱۷۸۸/۱ ±۱٥۱۰/۳	۱٥٤٤/۲ ±۱۸۸۲/٦
اینترلوکین ۱۰ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۵۳/۸ ±۳۲/۱	٥٦/٤ ±۳۷/٦	۲۰ ±۲٥/٦	٥۷/۳ ±۳٥/۲

www.SID.ir

Archive of SID

جدول-۲: میزان تولید سایتوکین ها بر حسب سن و جنس

سایتوکین	مرد	زن	سن کمتر از ۵۵	سن بیشتر از ۵۵
اینترفرون گاما با تحریک سلولی	۳۲۳۵ ± ۲۸	۳۷/۷ ±۳۵/۸	۳۶/۵ ±۲۶/۷	٤٦/٨ ±٣/٤
اینترفرون گاما بدون تحریک سلولی (ng/ml)	-۱/٤ ±۳/٤	-۱/۱ ±۰/۸	-۱/۵ ±۰/۳٤	-۱/۳ ±۰/۹
اینترلوکین ۱۲ با تحریک سلولی	۳/٤ ±۰/٤	٤ ±۱/۳	۳/۸ ±۲/۲	٤/۹ ±۳
اینترلوکین ۱۲ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۳/٤ ±۰/٤	۳/۵ ±۰/٤	۳/۳ ±۰/۳	۳/۳ ±۰/۵
اینترلوکین ٤ با تحریک سلولی	٦٧٦/١ ±٧٢٩/٥	٦٣٠/٥ ±٦٧٣/٦	٧٢٠/٨ ±٦٣٣/٣	٦٩١/٥ ±٤٦٠/٣
اینترلوکین ٤ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۵/۱ ±۵/۸	۷/۵ ±۷/٦	۵/۷ ±۵/۹	۸/۸ ±۷/۸
اینترلوکین ۱۰ با تحریک سلولی	١٦٠١ ±١٦٢٤/٦	٢٢٢٦/٣ ±١٧٦٩/٣	١٥٣٣/٥ ±١٣٠٧/٤	٢٣٠٨/٤ ±١٣٢٨
اینترلوکین ۱۰ بدون تحریک سلولی(Pg/ml)	۳۱/۹ ±۵۵/۷	٢٤/١ ±١٩/٣	٤١/٤ ±٦٩/١	۳۸/۷ ±۵۳/٦

در آنالیز انجام شده بین دو گروه بیماران مبتلا به سپسیس و سپسیس شدید هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سایتوکین‌های IFN-γ ، IL-10 و IL-4 دیده نشد. میزان تولید IL-12 در بیماران دچار سپسیس به طور معنی‌داری بالاتر از بیماران با سپسیس شدید بود . (p=۰/۰٤۸ و t test). میزان تولید سایتوکین‌های IFN-γ،IL-4 و IL-10 در بیماران فوت شده و بیماران زنده تفاوت معنی‌داری نداشت در حالی که IL-12 در بیماران فوت شده پایین‌تر از بیماران زنده بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود. (p=۰/۰۲۸ و t test). تولید سایتوکین‌ها به دنبال تحریک سلولی با PMA و Ionomycine و بدون تحریک در مردان و زنان و نیز در افراد مسن (بالاتر از ۵۵ سال) و بیماران جوان‌تر یکسان بود و سطح سیتوکین‌ها بر حسب جنس و سن اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. (جدول شماره ۲)

بحث

فعال شدن راههای التهابی شامل شبکه سیتوکینی به عنوان یک عامل مهم در پاتوژنز سپسیس مورد توجه است. نوع پاسخ ایمنی با تبدیل سلول Th0 به Th2 ,Th1 مشخص می‌شود. بطوری که در معرض IL-12 قرار گرفتن، باعث تبدیل شدن به فنوتیپ Th1 و آزاد شدن IL-4 موجب تبدیل شدن به فنوتیپ Th2 می‌شود. هر دو نوع سلول Th، پاسخ ایمنی را توسط این سایتوکین‌های متنوع با اثر آنتاگونیست در بیماران دچار سپسیس، تنظیم می‌کنند.[10] بررسی‌های متعددی در مورد غلظت سرمی و سلولی سایتوکین‌ها در بیماران مبتلا به سپسیس منتشر شده است. اندازه‌گیری سیتوکین‌ها در سطح سلولی روشی پیچیده‌تر و پر هزینه‌تر از اندازه‌گیری مقادیر سرمی سایتوکین‌ها است ولی باید توجه داشت نیمه عمر کوتاه سایتوکین‌های در گردش، وجود مهار کننده‌های سایتوکینی در سرم و به دام انداخته شدن سایتوکین‌ها از طریق رسپتورهای سلول‌های خون محیطی مثل اریتروسیت‌ها و لکوسیت‌ها، ممکن است موجب حصول نتایج غیر واقعی شود. (پدیده کوه یخ که قله آن سطح سرمی سایتوکین‌ها است). لذا در این مطالعه نیز ما از روش اندازه‌گیری در سطح سلولی (اینتراسیتوپلاسمی) استفاده کردیم. بر اساس نتایج حاصل از اکثر مطالعات آنچه که در سپسیس (بویژه سپسیس شدید) رخ می‌دهد حرکت سیستم ایمنی به سمت غلبه فنوتیپ Th2 است. Ono و همکاران[11] گزارش کردند که در سپسیس شدید با کاهش در سیتوکینهای Th1 و افزایش در سیتوکینهای Th2 روبرو هستیم. در یک مطالعه که در دانشکده پزشکی Otia در ژاپن انجام شد، نیز دیده شد که بیماران دچار سپسیس، هرچه به سمت مرحله پیشرفته تر سپسیس بروند، Th2 در آنها غالب می‌شود.[12] نتایج مطالعه ما نیز نشان داد که میزان تولید IL-12 در بیماران دچار سپسیس شدید کمتر از بیماران دچار سپسیس بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود . (p=۰/۰٤۸ وt test) اگرچه در مطالعه ما سطح سیتوکین‌های Th2 در دو گروه بیماران با سپسیس و سپسیس شدید اختلاف معنی‌داری نداشت. در مطالعه حاضر، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان تولید IL-12 بین بیماران فوت شده در مقایسه با بیماران زنده مانده، وجود داشت (p=۰/۰۲۸ و t test). چنانکه میزان تولید IL-12 در افراد فوت

www.SID.ir

Archive of SID

شده بطور قابل توجهی کمتر از بیماران زنده مانده بود. به عبارتی در بیماران فوت شده فنوتیپ غالب Th2 بود. مطالعه فرگوسن و همکاران[8] نیز نشان داد که برتری سایتوکین‌های Th2، بیمار را به سمت وخیم شدن حال عمومی برده و باعث افزایش مرگ و میر می‌شود. نکته حائز اهمیت نقش مثبت سایتوکین‌های Th1 به ویژه IL-12 در پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سپسیس است. Yu Yong[13] در بررسی‌هایی که در سال ۲۰۰۵ انجام داد، سطح سرمی Th1/Th2 را در موشهایی که دچار سپسیس شدید (با منشاء پریتونیت شدید) بودند، قبل و بعد از تزریق (RIL-12) Recombinant Interleukin-12 اندازه‌گیری کرد و نشان داد که در موش‌هایی که rIL-12 دریافت کرده بودند، میزان بقا (Survival rate) بیشتر می‌شود. اگرچه در مطالعه حاضر چنین مداخله‌ای انجام نشد ولی در مقایسه سطح سایتوکین‌ها در گروه سالم و بیمار دیده شد که سایتوکین‌های IFN-γ، IL-4 و IL10، در بیماران تحت مطالعه کمتر از گروه کنترل بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود. در حالی که اختلاف معنی‌داری بین میزان تولید سایتوکین‌های Th1 در دو گروه بیمار و سالم وجود نداشت و به عبارت دیگر در مجموع سیستم ایمنی Th1 در بیماران تحت مطالعه به شدت سرکوب نشده بود که شاید این یافته توجیه‌کننده میزان بالای بقاء در این بیماران و تاییدکننده نقش محافظتی IL-12 باشد.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پیشرفت هر دو نوع پاسخ سلول Th با بروز سیتوکین‌های غالب پیش‌التهابی، نقش اساسی در بهبودی و سلامت بیماران دچار سپسیس شدید دارند، اگرچه نقش حفاظتی سیستم ایمنی Th1 باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

توصیه نویسندگان این مقاله، بررسی تعادل Th1 و Th2 (با تأکید بر میزان تولید IL-12) در بیماران دچار سپسیس برای تعیین میزان احتمال بروز پیامد مرگ در هر بیمار می‌باشد. زیرا حتی در صورت عدم امکان اصلاح این اختلال ایمونولوژیک با عامل ایمونومدولاتوری مانند اینترلوکین ۱۲، با اعمال مراقبت ویژه از این بیماران می‌توان میزان مرگ آنها را کاهش داد.

سپاسگزاری: این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۷۳۷ مورخ ۸۳/۳/۲۷ می‌باشد.

References

1. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-50.
2. Benjamini E, Coico R, Sunshine G. Immunology: a short course. 5th ed. New York, NY: Wiley-Liss: 2003.
3. Germann T, Rude E. Interleukin-12. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 108: 103-12.
4. Ferry B, Antrobus P, Huzicka I, Farrell A, Lane A, Chapel H. Intracellular cytokine expression in whole blood preparations from normals and patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 1997; 110: 410-7.
5. Prussin C, Metcalfe DD. Detection of intracytoplasmic cytokine using flow cytometry and directly conjugated anti-cytokine antibodies. *J Immunol Methods* 1995; 188: 117-28.
6. Maino VC. Rapid assessment of antigen induced cytokine expression in memory T cells by flow cytometry. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 63: 199-207.
7. Kelly JL, Lyons A, Soberg CC, Mannick JA, Lederer JA. Anti-interleukin-10 antibody restores burn-induced defects in T-cell function. *Surgery* 1997; 122: 146-52.
8. Ferguson NR, Galley HF, Webster NR. T helper cell subset ratios in patients with sever sepsis. *Intensive Care Med* 1999; 25: 106-9.
9. Roitt IM, Delves PJ. Roitt's Essential Immunology. 10th ed. London: Black-well: 2001.
10. Hassing A, Keremer H, Liang WX, Stampfil K. The role of the Th1 to Th2 shift of the cytokine profiles of CD4 helper cells in the pathogenesis of autoimmune and hypercatabolic disease. *Med Hypotheses* 1998; 51: 59-63.
11. Ono S, Ueno C, Aosasa S, Tsujimoto H, Seki S, Mochizuki H. Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis. *Am J Surg* 2001; 182: 491-7.
12. Iwasaka H, Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS) . *Nippon Rinsho* 2004; 62: 2237-43.
13. Yu YH, Cui NQ, Fu Q, Li J. Change of TH1/TH2 cytokine equilibrium in rats with severe sepsis and therapeutic effect of recombinant interleukin-12 and Shenmai injection. *Chin J Integr Med* 2005; 11: 136-41.

www.SID.ir

Archive of SID

Tehran University Medical Journal; Vol. 65, No. 2, May 2007: 12-17

Detection of intracytoplasmic Th1/Th2 cytokine profiles in patients with sepsis and severe sepsis

Ahmadinejad Z[*1]
Mobaen A.R[1]
Kariminia A[2].
Afhami SH[1].
Hatmi ZN[3]
Torkabadi E[2]
Yalda A[1]

1-Department of Infectious Diseases, Tehran University of Medical Sciences
2- Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran
3- Department of Social Medicine, Tehran University of Medical Sciences

*Corresponding author Department ofInfectious Diseases, Imam Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd., Tehran.
Tel: +98-21-66929216, 44305481
email: ahmadiz@tums.ac.ir

Abstract

***Background*:** Sepsis is the leading cause of death in critically ill patients throughout the world. The incidence is increasing despite the major advances in the development of antimicrobial agents and other supportive treatments. Based on multiple studies, it has been shown that patient outcome depends on Th1 and Th2 cytokine response. Moreover, whenever the Th2 response is predominant, the sepsis is more severe. The aim of this study was to evaluate the correlation between cytokine levels and the severity of sepsis in patients.

***Methods*:** A cross-sectional study on the cellular levels of several pro-inflammatory cytokines was carried out in patients with sepsis and severe sepsis. The study included 37 patients (24 men and 13 women), 26 of them had sepsis and 11 had the severe form of sepsis Thirty-seven healthy volunteers served as controls. The average age of the patients was 57 years (±23.3 years), with a range of 21 to 92 years. From the whole blood of the subjects, we separated the monocytes and leukocytes, which were then cultured. Using an ELISA method, we measured levels of IFN-γ and IL-12 (associated with Th1), and IL-4 and IL-10 (associated with Th2) in the cultured cells with and without cell stimulation.

***Results*:** No correlation was found for IFN-γ production in the cells of patients with sepsis and severe sepsis, regardless of whether the patients had died or survived. However, IL-12 levels were significantly decreased in severe sepsis compared with those of sepsis patients (P=0.048). Furthermore, the cells of expired patients also had significantly decreased IL-12 levels compared with those of surviving patients (P=0.028). We also found that the levels of IFN-γ, IL-4, and IL-10 were decreased in patients compared with those of controls, which correlated to their production. However, there was no correlation for IL-12 production between the cells of the patients compared with those of the controls. There was also no correlation for cytokine production between men and women with sepsis and in adults compared with that of elderly patients (>55 years old).

***Conclusion*:** We have shown that the predominating T helper cell subset in patients with severe sepsis, as well as expired patients, is Th2. In conclusion, the correlation of Th1 cytokine production and progression of sepsis was demonstrated. Most probably IL-12 levels would be significantly lower in patients with severe sepsis and those who expired.

Keywords: Sepsis, Severe sepsis, Cytokine, Th1, Th2.

www.SID.ir