Archive of SID

TUMJ مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، فروردین ۱۳۹۳، دوره ۷۲، شماره ۱، صفحه‌های ۳۳ تا ۳۹ مقاله اصیل

بررسی ارتباط سلول‌های $T\ CD4^+$ و سطح سرمی IL-17، IL-11 در ترومبوسیتوپنیک پورپورا

نیره علیزاده[۱]، سعید عابدیان کناری[۲*]
قاسم جان بابایی[۳]، حسین کرمی[۳]
احد علیزاده[۴]

۱- گروه ایمونولوژی
۲- گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک
۳- گروه هماتولوژی و انکولوژی
۴- گروه آمار حیاتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۱، ۲ و ۳: دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.

* نویسنده مسئول: ساری، مجتمع پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک
تلفن: ۳۲۴۷۸۰۵-۰۱۵۱
E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk

چکیده

دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۰۵ آنلاین: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰

زمینه و هدف: بیماری ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا (ITP)، یک بیماری اکتسابی خودایمنی، با مکانیسم پیچیده و ناشناخته می‌باشد که در آن اتوآنتی‌بادی‌های ضد پلاکت منجر به کاهش تعداد پلاکت‌های در گردش خون می‌شود. در تحقیقات متعدد نقش سلول‌های $T\ CD4^+$ در بیماران مبتلا به ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا با نتایج متفاوتی همراه بوده است. از این‌روی در این مطالعه با هدف تحقیقات کاربردی در پاتوژنز بیماری ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا، رابطه تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ و سایتوکین‌های مرتبط همراه با تعداد پلاکت‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در یک مطالعه مورد- شاهدی تعداد ۶۰ بیمار مبتلا به ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا و ۵۰ فرد سالم وارد مطالعه شدند. تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ به‌روش فلوسایتومتری بررسی شدند و علاوه بر این سطح سرمی اینترلوکین‌های- ۱۱ و ۱۷ (IL-11, IL-17) با استفاده از روش آنزیمی (الیزا) اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ و سطح پلاسمایی IL-17 در دو گروه تفاوت آشکاری نداشت ولی در بررسی سطح پلاسمایی (IL-11)، در گروه بیمار به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داشت (P=۰/۰۳۱).

نتیجه‌گیری: در این تحقیق سطح سایتوکین (IL-11)، در مقایسه با (IL-17) و سلول‌های $T\ CD4^+$ در بیماران مبتلا به ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا افزایش قابل توجه‌ای داشت، لذا پیشنهاد می‌شود که اندازه‌گیری سطح سایتوکین (IL-11) در این بیماران می‌تواند یک مارکر تشخیصی و شاخص مهمی در مراحل پیشرفت بیماری باشد.

کلمات کلیدی: سیستم ایمنی، ترومبوسیتوپنیک پورپورا، پلاکت خون، لنفوسیت‌های T، اینترلوکین‌ها.

مقدمه

ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا (Immune Thrombocytopenic Purpura, ITP) یک بیماری خونریزی‌دهنده‌ی خودایمنی می‌باشد که در آن اتوآنتی‌بادی‌ها علیه گلیکوپروتیین‌های سطحی پلاکت‌های خودی، شامل GP2b/3a/1b تولیدشده و منجر به تخریب و پاکسازی آن‌ها توسط ماکروفاژهای سیستم رتیکولواندوتلیال می‌شود. پاتوفیزیولوژی بیماری ITP پیچیده و ناشناخته می‌باشد، اگرچه لنفوسیت‌های تولیدکننده اتوآنتی‌بادی‌های ضد پلاکت به‌طور اساسی به‌عنوان نقص ایمنی اصلی و اولیه در نظر گرفته می‌شوند ولی طبق تحقیقات انجام‌شده، اختلال عملکرد در ایمنی سلولی نیز نقش مهمی را در پاتوژنز ITP ایفا می‌کند.[۱-۳]

لنفوسیت‌های $T\ CD4^+$ از سلول‌های موثر در سیستم ایمنی می‌باشند که نقش مهمی در تولید آنتی‌بادی‌های اوتراکتیو و تعویض کلاس آنتی‌بادی دارند. این سلول‌ها انواع مختلفی دارد به‌طوری که لنفوسیت‌های T کمک‌کننده ۱ و ۲ (Th1, Th2) از انواع سلول‌های کلاسیک $T\ CD4^+$ هستند که سلول‌های Th1 در فعال‌سازی ماکروفاژها با ترشح اینترفرون گاما و سلول‌های Th2 در القای تولید

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌بادی و واکنش‌های آلرژیک نقش دارد.[۲و۳] تعادل بین دو زیر گروه Th1 و Th2 در تنظیم پاسخ‌های ایمنی متعددی تحت تاثیر قرار می‌گیرد و مشخص شده که در بیماری‌های اتوایمیون مختلف دچار اختلال می‌شود.[۴] گروهی از این مطالعات پاسخ کم‌تر سلول‌های Th1 و یا حتی پاسخ سلول‌های Th2 را در بیماران مزمن مبتلا به ITP گزارش کرده‌اند، اما بیش‌تر تحقیقات پاسخ بالای Th1 را نشان داده‌اند.[۴-۸]

به‌تازگی زیرگروه جدیدی از سلول‌های T helper $CD4^+$ که رده‌ی متمایزی از سلول‌های Th1 و Th2 می‌باشد، شناسایی شده که مشخصه‌ی آن تولید اینترلوکین-۱۷ (IL-17) بوده و به‌عنوان لنفوسیت‌های Th17 در نظر گرفته می‌شود.[۹] تحقیقات نشان داده است که سلول‌های Th17 نقش مهمی در القای بیماری‌های اتوایمیون نظیر لوپوس اریتماتوی سیستمیک، انسفالومیلیت اتوایمیون، میاستینی گراویس دارند.[۱۰-۱۲] علاوه بر این، نقش این سلول‌ها در ITP نیز مورد بررسی قرار گرفته که نتایج متناقضی داشته است.[۸-۶و۱۳] هم‌چنین IL-11 سایتوکینی می‌باشد که در سنتز پلاکت نقش داشته[۱۴و۱۵] و تاکنون تحقیقات اندکی در زمینه‌ی نقش IL-11 در بیماری ITP انجام شده است که نتایج متناقضی داشته‌اند.[۱۶و۱۷] لذا در این پژوهش به‌منظور ارزیابی مکانیسم‌های مولکولی، سطح سرمی IL-17، IL-11 و تعداد سلول‌های T $CD4^+$ در بیماران مزمن ITP، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی

در یک مطالعه مورد- شاهدی، ۶۰ بیمار مبتلا به ITP مزمن شامل ۳۷ خانم و ۲۳ آقا با میانگین سنی ۱۵/۴±۴۲/۳۹ و ۵۰ فرد سالم شامل ۳۰ خانم و ۲۰ آقا با میانگین سنی ۱۵/۲±۴۰/۵۸ در گروه شاهد انتخاب شدند. بیماران، از بین مراجعه‌کنندگان به درمانگاه فوق تخصصی طوبی در شهرستان ساری در سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ انتخاب شدند. تشخیص بیماری با توجه به علایم بالینی و انجام آزمایش شمارش کامل سلول‌های خونی و پلاکت توسط فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی گذاشته شد. معیارهای خروج بیماران، سابقه هر گونه مصرف دارو و هم‌چنین سابقه بیماری‌های خودایمنی بود. معیار ورود بیماران کاهش تعداد پلاکت با علت نامعلوم براساس معیارهای تشخیص بیماری بود. میانگین تعداد پلاکت در گروه مورد $۴۱/۷\times۱۰^۳\pm۹۵/۱\times۱۰^۳$ و در گروه شاهد $۴۳/۶\times۱۰^۳\pm۲۷۳\times۱۰^۳$ بود (جدول ۱).

از افراد تحت مطالعه بعد از کسب رضایت آگاهانه کتبی و آگاهی از مطالعه حاضر به‌میزان ml ۵-۳ خون اخذ گردید. جهت انجام فلوسایتومتری، برای تعیین تعداد سلول‌های T $CD4^+$، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) را با استفاده از Ficoll (Baharafshan Co., Iran) جدا نمودیم. سپس سلول‌ها را با فسفات بافر سالین (PBS) حاوی FCS ۲٪ شستشو دادیم. بعد برای ۲۰ دقیقه در ۴ °C با آنتی‌بادی Anti-CD4 مجاور کردیم و در پایان، این سلول‌ها را با PAS II flow cytometer (Partec GmbH, Munster, Germany) مورد آنالیز قرار دادیم. تعیین سطح سرمی IL-11 و IL-17 نیز به‌روش ELISA و با استفاده از پروتکل ELISA kits (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) صورت پذیرفت. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ مورد آنالیز قرار گرفت. مقایسه متغیرهای کمّی با Student's t-test و Mann-Whitney u test انجام گرفت. آزمون Spearman نیز برای همبستگی متغیرهای کمّی استفاده شد. $P<۰/۰۵$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مقایسه‌ی سطح سرمی IL-11 در دو گروه، نتیجه به‌دست‌آمده به این صورت بود که میانگین سطح سرمی آن در افراد کنترل ۱۱۲/۳±۲۲۷/۷۱ و در بیماران ۲۲۴/۵±۳۱۹/۰۸ بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سطح سرمی IL-11 بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر آماری اختلاف معناداری داشت (P=۰/۰۳۱، جدول ۲). در بررسی سطح سرمی IL-17 در دو گروه، میانگین آن در گروه کنترل ۸/۵±۱۲/۹ و در گروه بیمار ۳۰/۱±۱۶/۰۳ بود که مقادیر سایتوکین IL-17 در بررسی آماری اختلاف معناداری در دو گروه نشان نداد (P=۰/۳۰، جدول ۲).

هم‌چنین میانگین تعداد سلول‌های T $CD4^+$ در گروه کنترل ۲۰۹/۳±۸۵۵ و در بیماران ۳۳۶/۸±۹۲۹/۶ در میکرولیتر بود که از نظر آماری اختلاف معناداری بین شاهد و کنترل وجود نداشت (P=۰/۳۵، نمودار ۱؛ جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

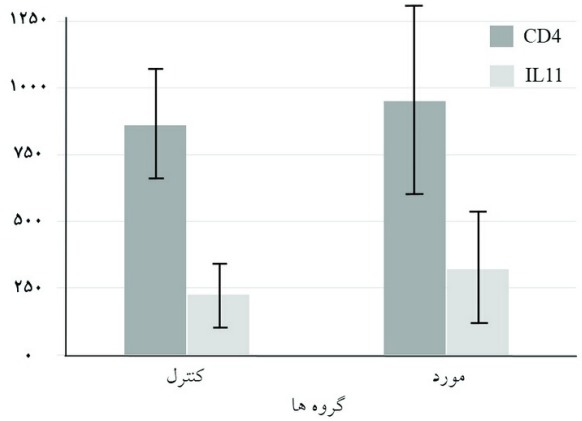
جدول ۱: اطلاعات دموگرافیک دو گروه بیمار و کنترل

متغیر	گروه کنترل (n=۵۰)	گروه بیمار (n=۶۰)
سن (سال)	۴۰/۵۸±۱۵/۲۵	۴۲/۳۹±۱۵/۴
جنس زن	۳۰ (٪۶۰)	۳۷ (٪۶۱/۷)
مرد	۲۰(٪۴۰)	۲۳(٪۳۸/۳)
سابقه بیماری‌های خودایمنی	ندارد	ندارد
سابقه مصرف دارو	ندارد	ندارد
زمان شروع بیماری (سال)	–	۴±۱
تعداد پلاکت	$۲۷۳\times۱۰^۳\pm۴۳/۶\times۱۰^۳$	$۹۵/۱\times۱۰^۳\pm۴۱/۷\times۱۰^۳$

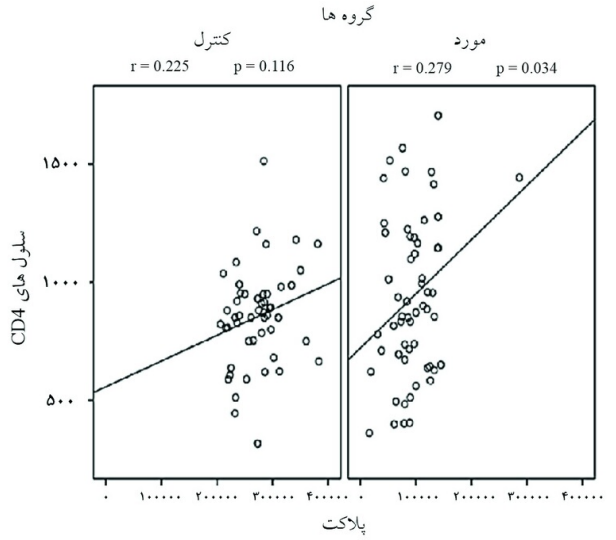
جدول ۲: مقایسه میانگین متغیرهای کمی مورد مطالعه

متغیر	گروه مورد	گروه شاهد	P
تعداد PLT	$۹۵/۱\times۱۰^۳\pm۴۱/۷\times۱۰^۳$	$۲۷۳\times۱۰^۳\pm۴۳/۶\times۱۰^۳$	۰/۰۰۰۱
سطح سرمی IL-11	۳۱۹/۰۸±۲۲۴/۵	۲۲۷/۷۱±۱۱۲/۳	۰/۰۳۱
سطح سرمی IL-17	۱۶/۰۳±۳۰/۱	۱۲/۹±۸/۵	۰/۳۰۸
تعداد سلول‌های $CD4^+$	۹۲۹/۶±۳۳۶/۸	۸۵۵±۲۰۹/۳	۰/۳۶

* با استفاده از آزمون آماری T، مقادیر کم‌تر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.



نمودار ۱: میانگین تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ و غلظت پلاسمایی IL-11 در گروه‌های مورد و شاهد



نمودار ۲: ارتباط تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ با شدت افت پلاکت در بیماران مبتلا به ITP و گروه کنترل

در بررسی ارتباط بین IL-11، IL-17، سلول $T\ CD4^+$ و تعداد پلاکت، میان سلول‌های $T\ CD4^+$ و پلاکت همبستگی مثبت وجود داشت (P=۰/۰۳؛ نمودار ۲). علاوه بر این میان IL-11 و سن نیز در هر دو گروه مورد و شاهد همبستگی منفی مشاهده شد. سایر فاکتورها در گروه‌ها ارتباط معناداری با یک‌دیگر نداشتند. با توجه به ارتباط IL-11 و سن اثر مستقل IL-11 بین دو گروه کنترل و بیمار بررسی شد که نتیجه به‌دست‌آمده با استفاده از رگرسیون لجستیک به این صورت بود که IL-11 به‌طور معناداری در بیماران افزایش نشان داد (P=۰/۰۰۰۱).

بحث

در این مطالعه لنفوسیت‌های $T\ CD4^+$ به‌عنوان سلول‌های موثر در تولید آنتی‌بادی و ایجاد التهاب همراه با سایتوکین‌های IL-17 (به‌عنوان شاخص سلول‌های Th17)، IL-11 و تعداد پلاکت‌ها در بیماران مبتلا به ایمیون ترومبوسیتوپنیک پورپورا مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این‌که پاتوفیزیولوژی بیماری ITP پیچیده و ناشناخته بوده، پژوهش‌های متعددی در زمینه‌ی شناخت مکانیسم ITP صورت گرفته است. در این مطالعه تعداد سلول‌های $T\ CD4^+$ را در دو گروه

www.SID.ir

Archive of SID

کنترل و شاهد اندازه‌گیری کردیم که با وجود این‌که میانگین این سلول‌ها در گروه بیمار بیش‌تر بوده ولی اختلاف آماری معناداری بین دو گروه وجود نداشت (P=۰/۳۶).

در مطالعات متعددی که در زمینه‌ی نقش سلول‌های T helper در بیماران ITP انجام شد، در بسیاری از مطالعات نظیر مطالعه Gu و Hu نسبت سلول‌های Th1/Th2 و Th17 افزایش معناداری داشته است[۴و۱۸] و در برخی مطالعات نظیر مطالعه Ma ارتباط معناداری در سایتوکین‌های مربوط به سلول‌های Th1 بین دو گروه وجود نداشت که نظر محقق در زمینه‌ی این تناقض، حساس نبودن روش اندازه‌گیری مورد استفاده نسبت به سایر مطالعات بوده است.[۶] با توجه به این‌که اکثر مطالعات اختلال در تعادل Th1/Th2 را به‌صورت غالب شدن سلول‌های Th1 در بسیاری از بیماری‌های اتوایمیون، از جمله ITP گزارش کرده‌اند.[۴و۵] بنابراین می‌توان گفت معنادار نشدن سلول‌های $T\ CD4^+$ در دو گروه، شاید به این خاطر است که سطح کلی این سلول‌ها در مبتلایان به ITP تغییر چندانی نداشته باشد و فقط تعادل میان زیرگروه‌های T helper دچار اختلال می‌شود.

از طرفی، ما در این مطالعه تنها مارکر $T\ CD4^+$ را سنجیدیم، با توجه به این‌که سلول‌های $T\ CD4^+$ انواع متعددی داشته و با توجه به مطالعات قبلی، بعضی از آن‌ها نظیر سلول‌های Th1 و Th22 در بیماری ITP افزایش داشته[۴و۱۸] و گروهی نیز مانند سلول‌های Th2 و T regulatory کاهش می‌یابند،[۵و۱۹و۲۰] لذا پیشنهاد می‌شود که زیر جمعیت‌های دیگر سلول‌های $T\ CD4^+$ به‌طور مجزا مورد ارزیابی قرار گیرد تا به‌طور دقیق‌تر نقش این سلول‌ها مشخص گردد.

ما در این مطالعه ارتباط میان سلول‌های $T\ CD4^+$ و پلاکت را در دو گروه کنترل و بیمار سنجیدیم که در گروه کنترل اگرچه همبستگی مثبتی بین آن‌ها وجود داشت ولی این همبستگی از نظر آماری معنادار نبود (P=۰/۱۱) ولی در گروه بیمار به‌طور معناداری میان سلول‌های $T\ CD4^+$ و پلاکت همبستگی مثبت وجود داشت (P=۰/۰۳). در مطالعه Gu ارتباط میان پلاکت و سلول‌های Th1 بررسی شد که این دو متغیر در بیماران، به‌طور معناداری همبستگی منفی داشتند.[۴] هم‌چنین در مطالعه Sakakura، ارتباط میان سلول‌های T regulatory و پلاکت در بیماران ITP مورد بررسی قرار گرفت که در این مطالعه همبستگی مثبتی میان آن‌ها وجود داشت.[۲۰] بنابراین در مطالعه حاضر چون سلول‌های $T\ CD4^+$ تفکیک نشده است، نمی‌توان مشخص کرد که کدام‌یک از انواع این سلول‌ها سبب ایجاد ارتباط مثبت با سطح پلاکت شده است. براساس مطالعات قبلی انتظار می‌رود که با افزایش پلاکت در بیماران ITP سطح سلول‌های T helper2 و T regulatory افزایش یابد.[۵و۲۰]

اگرچه سلول‌های Th1 با افزایش پلاکت در این بیماران کاهش می‌یابد،[۴و۵] در مطالعه‌ای که ما انجام دادیم سطح کلی سلول‌های $T\ CD4^+$، با افزایش پلاکت افزایش داشته است که می‌تواند بیان‌کننده‌ی این باشد که عمده‌ی این سلول‌ها، به‌احتمال زیاد سلول‌های Th2 و T regulatory بوده است. اینترلوکین ۱۱ از سایتوکین‌هایی است که در سنتز پلاکت نقش دارد.[۱۵] در مطالعه‌ای که انجام دادیم سطح IL-11 را در دو گروه سنجیدیم که IL-11 در گروه بیمار به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است (P=۰/۰۰۰۱). در بررسی ارتباط میان سطح IL-11 و تعداد پلاکت در بیماران، همبستگی منفی میان این دو متغیر وجود داشته است، یعنی با کاهش پلاکت، سطح IL-11 افزایش پیدا کرده است ولی این همبستگی از نظر آماری معنادار نبوده است (P=۰/۲).

در مطالعه Yan Min، سطح سرمی IL-11 در مبتلایان به ITP اندازه‌گیری شد که به‌طور معناداری افزایش داشته است.[۱۶] در مطالعه دیگری که توسط Xiao Hong انجام شد، به مبتلایان ITP مقاوم به درمان، IL-11 انسانی نوترکیب تزریق شد که تعداد پلاکت بعد از تزریق به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد.[۱۷]

مطالعه حاضر هم‌راستا با برخی از مطالعات، سطح IL-11 در گروه بیماران در مقایسه با کنترل افزایش داشته است[۱۶] که به‌نظر می‌رسد کاهش تعداد پلاکت‌ها از دلایل افزایش آن در بیماران مبتلا بوده است. علاوه‌براین افزایش سطح پلاکت در بیماران مبتلا می‌تواند به‌واسطه ترشح بیش‌تر اینترلوکین ۱۱ باشد.

اگرچه در مطالعه ما IL-11 هم در گروه کنترل و هم در گروه بیمار ارتباط منفی با سن داشته است، یعنی با افزایش سن سطح آن کاهش پیدا کرده است ولی با استفاده از روش‌های آماری، سنجش اثر مستقل IL-11 بین دو گروه نیز معنادار بوده است.

یکی دیگر از سایتوکین‌هایی که نقش آن در ITP موثر شناخته شده است IL-17 بوده که به‌طور غیرمستقیم سطح سلول‌های T helper 17 را در این بیماران نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر سطح IL-17 را بین دو گروه کنترل و بیمار سنجیدیم که سطح آن در گروه

www.SID.ir

Archive of SID

بیمار بیش‌تر بوده ولی اختلاف آماری معناداری بین دو گروه وجود نداشت (P=۰/۳). در بررسی ارتباط میان سطح IL-17 و تعداد پلاکت، در گروه بیمار یک همبستگی منفی میان دو متغیر وجود داشت که معنادار نبوده است (P=۰/۴).

اگرچه نتیجه‌ای که ما در این مطالعه بدان دست یافتیم با تعدادی از مطالعات نظیر Zhu و مطالعه Hu، نتیجه‌ای متناقض داشت،[۷و۱۸] ولی با بعضی مطالعات نظیر Ma هم‌سو بوده است.[۶] Ma اشاره داشت که یکی‌از علت‌های معنادار نشدن سطح IL-17 بین دو گروه کنترل و بیمار می‌تواند تفاوت بین ابزار سنجش این سایتوکین در جمعیت مورد مطالعه باشد.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که میان سطح کلی سلول‌های T helper $CD4^+$ و سطح IL-17 با بیماری ITP ارتباط معناداری وجود ندارد ولی بین سطح IL-11 و بیماری ارتباط معناداری وجود داشته است. علاوه بر این، مکانیسم ایجاد بیماری ITP ناشناخته و پیچیده است، از این‌روی برای بررسی علت ایجاد، گسترش و مقاوم شدن آن در برخی از افراد مبتلا، باید موارد متعددی از تفاوت‌های ایمونولوژیکی این افراد نسبت به گروه سالم جامعه مورد بررسی قرار گیرد، برای شناخت واقعی نقش سلول‌های T $CD4^+$ و سطح سایتوکین‌های مرتبط در بیماران ITP مطالعات مولکولی بیش‌تری انجام پذیرد.

امید است با شناسایی سلول‌ها و سایتوکین‌های موثر در پاتوژنز ITP و سرکوب و یا جایگزینی آن‌ها در این بیماران استراتژی‌های درمانی موثرتری برای درمان آن‌ها فراهم گردد تا عوارض و هزینه‌های ناشی‌از درمان‌های موجود به حداقل برسد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که IL-11 از مولکول‌های موثر در تولید پلاکت‌ها است و اندازه‌گیری آن می‌تواند شاخص تشخیصی و درمانی مهمی در پیشگیری و شناسایی بیماران مبتلا باشد.

سپاسگزاری: این تحقیق حاصل بخشی‌از پایان‌نامه خانم نیره علیزاده تحت عنوان "بررسی ارتباط سلول‌های T $CD4^+$ و سطح سرمی IL-17، IL-11 در بیماران مبتلا به ITP" در مقطع پزشکی عمومی در سال ۱۳۹۰ و کد ۱۲۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

References

1. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC. Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005;54(2):107-16.
2. Coopamah MD, Garvey MB, Freedman J, Semple JW. Cellular immune mechanisms in autoimmune thrombocytopenic purpura: An update. *Transfus Med Rev* 2003;17(1):69-80.
3. Semple JW. T cell and cytokine abnormalities in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci* 2003; 28(3):237-42.
4. Gu D, Chen Z, Zhao H, Du W, Xue F, Ge J, et al. Th1 (CXCL10) and Th2 (CCL2) chemokine expression in patients with immune thrombocytopenia. *Hum Immunol* 2010;71(6):586-91
5. Wang T, Zhao H, Ren H, Guo J, Xu M, Yang R, et al. Type 1 and type 2 T-cell profiles in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2005;90(7):914-23.
6. Ma D, Zhu X, Zhao P, Zhao C, Li X, Zhu Y, et al. Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGF-beta, IL-6) and Th1 cytokine (IFN-gamma) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 2008;87(11):899-904.
7. Zhu X, Ma D, Zhang J, Peng J, Qu X, Ji C, et al. Elevated interleukin-21 correlated to Th17 and Th1 cells in patients with immune thrombocytopenia. *J Clin Immunol* 2010;30(2):253-9.
8. Zhang J, Ma D, Zhu X, Qu X, Ji C, Hou M. Elevated profile of Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2009;94(9):1326-9.
9. Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology* 2010;129(3):311-21.
10. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol* 2008;127(3):385-93.
11. Masuda M, Matsumoto M, Tanaka S, Nakajima K, Yamada N, Ido N, et al. Clinical implication of peripheral CD4+CD25+ regulatory T cells and Th17 cells in myasthenia gravis patients. *J Neuroimmunol* 2010;225(1-2):123-31.
12. Abediankenari S, Janbabaei Mollae G, Ghasemi M, Yousefzadeh Y, Bahrami M, et al. Vaccination of diffuse large B- cell lymphoma patients with antigen-primed dendritic cells. *Acta Med Iran* 2013;51 (5):284-8.
13. Rocha AM, Souza C, Rocha GA, de Melo FF, Clementino NC, Marino MC, et al. The levels of IL-17A and of the cytokines involved in Th17 cell commitment are increased in patients with chronic immune thrombocytopenia. *Haematologica* 2011;96(10): 1560-4.
14. Hermann JA, Hall MA, Maini RN, Feldmann M, Brennan FM. Important immunoregulatory role of interleukin-11 in the inflammatory process in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998 ;41(8):1388-97.
15. Jacques Y, Minvielle S, Müller-Newen G, Heinrich PC, Grötzinger J, Montero-Julian F, et al. The interleukin-11/receptor complex:

www.SID.ir

Archive of SID

rational design of agonists/antagonists and immunoassays potentially useful in human therapy. *Res Immunol* 1998;149(7-8): 737-40.

16. Ling Y, Xue-qin S, li T, Lie-fen Y, Xue-zhong G, Bing-ying X. Measurement of serum thrombopoietin levels and serum interlukin-11 levels in patients with throm-bocyropenia. *J Leukemia Lymphoma* 2006;15(2):115-7.
17. Hong X, Xiu-lan P, Hua-dong L. Clinical study of recombinant human interleukin-11 in treating chronic refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *China J Modern Med* 2007;17(8):993-8.
18. Hu Y, Li H, Zhang L, Shan B, Xu X, Li H, et al. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Hum Immunol* 2012;73(6):629-35.
19. Liu B, Zhao H, Poon MC, Han Z, Gu D, Xu M, et al. Abnormality of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2007;78(2):139-43.
20. Sakakura M, Wada H, Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagawa N, et al. Reduced Cd4+Cd25+ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res* 2007;120(2):187-93.

www.SID.ir

Archive of SID

TUMJ Tehran University Medical Journal, April 2014; Vol. 72, No. 1: 33-39 Original Article

The relationship between T CD4$^+$ cells count and IL-17, IL-11 serum level in idiopathic thrombocytopenic purpura

Nayereh Alizadeh M.D.[1]
Saeid Abediankenari Ph.D.[2*]
Ghasem Janbabaei M.D.[3]
Hossein Karami M.D.[3]
Ahad Alizadeh Ph.D.[4]

1- Department of Immunology, Medical student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
2- Department of Immunology, Immunogenetic Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
3- Departments of Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
4- Ph.D. Student in Biostatistics, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Immunogenetic Research center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
Tel: +98-151-3247805
E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk

Abstract

Received: 08 Oct. 2013 Accepted: 25 Jan. 2014 Available online: 01 Mar. 2014

Background: Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) is an acquired autoimmune disorder characterized by a low platelet count; because of anti platelet auto-antibodies. ITP patients have auto antibodies against platelet antigens. T CD4$^+$ lymphocytes are effective cells in immune system that has an important role in auto reactive antibody production and class switching. The pathophisiology and mechanism of ITP is complex and unknown. Numerous studies have difference results about role of T cells in ITP patients. T lymphocytes have been characterized to different subsets. To further investigate about the pathogenesis of ITP, we studied the role of T CD4$^+$ cells and cytokines attributed with platelet count. Therefore, in this research, we evaluated T CD4$^+$ lymphocytes count and interleukin 17 (IL-17), interleukin 11 (IL-11) levels in ITP in comparison with control.

Methods: In a case-control study, we have studied 60 patients with ITP and 50 normal individuals as the control group. Peripheral blood mononuclear cells were isolated by ficoll histopaque 1.077. T CD4$^+$ cells count in ITP patients and control subjects were studied by flow cytometry method and serum interleukin 17 (IL-17), interleukin 11 (IL-11) concentration were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test. All data were expressed as mean±SD. Differences between means were considered significant at the $P< 0.05$. Tests were performed using SPSS software version 16.

Results: This study showed, T CD4$^+$ cells and plasma IL-17 concentration were not significantly different between patients with ITP and the control group. But plasma IL-11 levels were significantly increased in immune thrombocytopenic purpura patients in comparison with controls ($P= 0.031$).

Conclusion: In summary, our study indicated a role of IL-11 in ITP patients, also showed that ITP may not be associated with changes of plasma IL-17 levels and T CD4$^+$ cells count relative to control population. Therefore, measurement of plasma IL-11 levels may be important criteria in development of ITP. In addition, it is concluded that determination of IL-11 can be a diagnostic marker to recognize thrombocytopenic purpura patients.

Keywords: blood platelets, immune system, immune thrombocytopenic purpura, interleukins, t-lymphocytes.

www.SID.ir