

### *Evaluation of serum level of IL-12 in patients with occult HBV infection*

Mohammad Kazemi Arababadi<sup>1</sup>, Ali Akbar Pourfathollah<sup>2</sup>, Gholamhossein Hassanshahi<sup>1</sup>,  
Vahid Pooladvand<sup>3</sup>, Narges Yaghini<sup>3</sup>, Ali Shamsyzadeh<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology-Immunology & Hematology, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>2</sup>Department of Immunology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modarres University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Biochemistry-Biophysic & Genetic, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>4</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

(Received 26 August, 2009 ; Accepted 18 November, 2009)

#### **Abstract**

**Background and purpose:** Occult hepatitis B infection (OBI) is a form of hepatitis in which despite the absence of detectable HBsAg, HBV-DNA is present in peripheral blood of patients. Investigators believed that the genetics and immunological parameters may be different in resistant individuals and patients. Cytokines, such as IL-12, could be leading to alteration in viral immune response. The main aim of this study was to investigate the serum level of IL12 in OBI patients.

**Materials and methods:** In this study, the plasma samples of 3700 HBsAg negative blood donors were tested for anti-HBs by ELISA. The HBsAg negative and anti-HBc positive samples were selected and screened for HBV-DNA by PCR. HBV-DNA positive samples were assigned as OBI cases and ELISA technique were performed to examine the serum level of IL-12 in OBI and 100 healthy controls.

**Results:** Our results showed that there was no significant difference in serum level of IL-12 between OBI patients and controls.

**Conclusion:** In order to be clear of viruses, L-12 is increased in viral infection. Based on the results of this study, it is concluded that OBI patients can not produce enough IL-12 to clear HBV.

**Key words:** Occult hepatitis B infection, IL-12, HBsAg, HBV-DNA

## بررسی سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B

محمد کاظمی عرب آبادی<sup>۱</sup>، علی اکبر پور فتح اله<sup>۲</sup>، غلامحسین حسن شاهی<sup>۱</sup>  
وحید پولادوند<sup>۳</sup>، نرگس یقینی<sup>۳</sup>، علی شمسی زاده<sup>۴</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** عفونت نهفته هپاتیت B یک فرم بالینی از بیماری هپاتیت B می باشد که فرد قادر به پاکسازی کامل ویروس از بدن نمی باشد. محققین علت این امر را در تفاوت های ژنتیکی و ایمنولوژیکی می دانند. سایتوکاین هایی مانند اینترلوکین ۱۲ توانایی ایجاد تغییر در پاسخ ایمنی علیه را ویروس دارند. هدف ما در این مطالعه بررسی سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B بوده است.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه ابتدا تعداد ۳۷۰۰ مورد پلاسما که از نظر HBsAg منفی بودند جمع آوری شد و سپس از نظر Anti-HBc مورد آزمایش قرار گرفتند سپس نمونه های HBsAg<sup>-</sup>/Anti-HBc<sup>+</sup> از نظر وجود HBV-DNA با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه های HBV-DNA مثبت به عنوان موارد عفونت نهفته هپاتیت B به همراه ۱۰۰ فرد سالم از نظر میزان سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ با تکنیک الیزا مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته ها:** نتایج این تحقیق نشان داد که دو گروه از نظر سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ با هم دارای تفاوت معنی دار آماری نمی باشند.

**استنتاج:** باتوجه به اینکه اینترلوکین ۱۲ می بایست در طی عفونت های ویروسی جهت مبارزه و ریشه کنی بیماری افزایش یابد، می توان اینگونه نتیجه گرفت که شاید بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B در تولید مقادیر لازم و کافی از این سایتوکین دارای نقص می باشند و در نتیجه نمی توانند پاسخ ایمنی مناسب و کافی جهت مبارزه با هپاتیت B از خود نشان دهند.

**واژه های کلیدی:** عفونت نهفته هپاتیت B، اینترلوکین ۱۲، HBsAg، HBV-DNA

### مقدمه

عفونت نهفته هپاتیت B یک فرم بالینی از بیماری هپاتیت B می باشد که در آن فرد علی رغم منفی بودن HBsAg دارای HBV-DNA در خون محیطی می باشد (۱).  
مطالعات انجام شده بر روی اهداکنندگان خون اصفهان (۲) و رفسنجان (۳) حاکی از شیوع بالای این فرم بیماری بود. هنوز دلیل اینکه چرا فرم های متعددی از بیماری هپاتیت B

**مؤلف مسئول:** محمد کاظمی عرب آبادی - رفسنجان: میدان انقلاب، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی

E-mail: kazemi24@yahoo.com

۱. گروه میکروبیولوژی، ایمونولوژی و هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳. گروه بیوشیمی، بیوفیزیک و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۴. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۸/۷/۶ تاریخ تصویب: ۸۸/۸/۲۷

به اینکه سیستم ایمنی جهت حذف عفونت‌های ویروسی از بدن به مقادیر کافی و افزایش یافته‌ای از این سایتوکین نیاز دارد بنابراین این کاهش نسبی نیز حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که شاید یکی از دلایل اصلی که این دسته بیماران قادر به پاکسازی کامل ویروس نمی‌باشند، عدم توانایی در تولید مقادیر کافی و لازم اینترلوکین ۱۲ باشد. بررسی‌های ما نشان داد که تا کنون هیچ مطالعه‌ای به بررسی سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B نپرداخته است و مطالعه ما اولین بررسی بر روی بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B می‌باشد. اما مطالعات زیادی بر روی دیگر اشکال بالینی عفونت هپاتیت B صورت گرفته است. به طور مثال Song و همکاران در طی مطالعه خود ذکر کردند که سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در انواع اشکال بالینی هپاتیت B افزایش دارد (۸). مطالعات دیگر نیز به افزایش سطح سرمی این سایتوکین در دیگر اشکال بالینی هپاتیت B اشاره کرده‌اند (۱۰، ۹). اما نکته جالب اینکه در تمامی مطالعات هر چه شدت علائم بالینی کاهش می‌یابد میزان سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ نیز کاهش می‌یابد. این رابطه نشان دهنده از تباط سطح سرمی این سایتوکین با علائم بالینی ایجاد شده در طی این بیماری می‌باشد. به طور کل به نظر می‌رسد که اینترلوکین ۱۲ دارای اثرات متناقضی می‌باشد به گونه‌ای که افزایش سطح سرمی آن گرچه به پاکسازی ویروس کمک شایانی می‌کند اما از طرفی موجب فعالسازی سیستم ایمنی سلولی و متعاقباً آسیب به سلول‌های هپاتوسیت می‌شود. بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که عدم وجود علائم بالینی در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B نیز حاصل کاهش سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در این دسته بیماران باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که چندین علت را می‌توان به کاهش نسبی سطح سرمی اینترلوکین ۱۲ در بیماران مورد بررسی در این مطالعه نسبت داد:

۱. در طی بیماری عفونت نهفته هپاتیت B سرعت

در افراد یک جامعه بعد از برخورد با ویروس هپاتیت B وجود می‌آید، مشخص نیست. یکی از مواردی که ذهن محققین زیادی را به خود معطوف کرده است، سطح سرمی سایتوکین‌های درگیر در ایمنی سلولی می‌باشد (۴). اینترلوکین ۱۲، یکی از مهمترین سایتوکین‌های تقویت کننده ایمنی سلولی جهت مبارزه با عفونت‌های ویروسی می‌باشد (۵). محققین علم ایمنی‌شناسی بر این عقیده هستند که اینترلوکین ۱۲ نقطه کلیدی موجود برای ایجاد بالانس بین Th1 و Th2 می‌باشد (۶). بنابراین با توجه به این مطلب که سایتوکین اینترلوکین ۱۲ مهمترین سایتوکین درگیر در عفونت‌های ویروسی می‌باشد، ما سعی کردیم در طی مطالعه خود به بررسی سطح سرمی سایتوکین اینترلوکین ۱۲ در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B بپردازیم.

## مواد و روش‌ها

چگونگی انتخاب بیماران و گروه کنترل در طی مطالعه قبلی ما (۷) به خوبی نشان داده شده است. سطح سرمی سایتوکین اینترلوکین ۱۲ با استفاده از کیت‌های تجاری (eBiosense, UK) که قادر به اندازه‌گیری p70 اینترلوکین ۱۲ بودند و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد بررسی قرار گرفتند. حساسیت کیت مورد استفاده به میزان ۲ pg/ml ذکر شده بود و مطالعات اینتراسی و اینتراسی نیز در مورد این کیت انجام شد. اطلاعات توسط نرم افزار آماری SPSS مورد پردازش قرار گرفت. از روش آماری پارامتریک T-test جهت انجام مقایسات استفاده گردید.

## یافته‌ها و بحث

نتایج ما نشان داد که میانگین میزان سرمی اینترلوکین ۱۲ در بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B  $5/34 \pm 1/11$  pg/ml و در افراد سالم  $4/41 \pm 0/62$  pg/ml بود. آزمون t-test این اختلاف را معنی‌دار نشان نداد ( $p > 0/05$ ). گرچه این کاهش معنی‌دار نبود اما با توجه

به طور خلاصه به نظر می‌رسد که عدم توانایی بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیت B در پاکسازی کامل ویروس و همچنین فقدان علائم بالینی در این دسته بیماران شاید نتیجه بیان ناقص اینترلوکین ۱۲ در آنها باشد.

تکثیر ویروس به مراتب پایینتر از دیگر اشکال بالینی عفونت هپاتیت B می‌باشد.  
۲. تفاوت‌های ژنتیکی در ژن‌های افراد.  
۳. عدم توانایی این افراد در تولید دیگر سایتوکین‌های مرتبط با اینترلوکین ۱۲.

## References

1. Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H, Zarandi ER, Moradi M, Mahmoodi M. No detected hepatitis B virus-DNA in thalassemic patients infected by hepatitis C virus in Kerman province of Iran. *Pak J Biol Sci* 2008; 11(13): 1738-1741.
2. Pourazar A, Salehi M, Jafarzadeh A, Arababadi MK, Oreizi F, Shariatinezhad K. Detection of HBV DNA in HBsAg Negative Normal Blood Donors. *IJI* 2005; 2(3): 172-176.
3. Jafarzadeh A, Arababadi MK, Mirzaee M, Pourazar A. Occult hepatitis B virus infection among blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. *Acta Med Iran* 2008; 46(1): 27-32.
4. Collado-Hidalgo A, Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Cole SW. Cytokine gene polymorphisms and fatigue in breast cancer survivors: Early findings. *Brain Behav Immun* 2008; 8: 8.
5. Takei M, Umeyama A, Shoji N, Hashimoto T. Diterpenes drive Th1 polarization depending on IL-12. *Int Immunopharmacol* 2008; 8(11): 1602-1608.
6. Romani L. Cell mediated immunity to fungi: a reassessment. *Med Mycol* 2008; 12: 1-15.
7. Arababadi MK, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, Hassanshahi G, Mohit M, Hajghani M, et al. Evaluation of expression rate of chemokines receptor CCR5 on peripheral blood CD8+T cells of occult hepatitis B infected patients. *J Mazand Univ Med Sci* 2009; 18(68): 11-18.
8. Song le H, Binh VQ, Duy DN, Kun JF, Bock TC, Kreamsner PG, et al. Serum cytokine profiles associated with clinical presentation in Vietnamese infected with hepatitis B virus. *J Clin Virol* 2003; 28(1): 93-103.
9. Ayada M, Ishikawa T, Okumura A, Tanabe J, Ito H, Ohashi T, et al. Alteration of serum cytokine balances among different phases of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2006; 34(4): 214-221.
10. Gora-Gebka M, Liberek A, Szydłowska-Lysiak W, Bako W, Korzon M. Serum interleukin 6 and interleukin 12 levels in children with chronic hepatitis HBV treated with interferon alpha. *Ann Hepatol* 2003; 2(2): 92-97.