

## مقایسه سطح سرمی اینترلوکین هشت در بیماران مبتلا به آفت عود کننده دهان با افراد سالم

دکتر حمیدرضا عبدالصمدی\* - دکتر شاهین کسرائی\*\*

\*- استادیار و مدیر گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان.

\*\* - استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان.

### چکیده

**زمینه و هدف:** ضایعات آفتی عود کننده شایعترین زخمهای مخاط دهان می باشد و با توجه به روند التهابی این ضایعات، سایتوکاین های پیش التهابی از جمله اینترلوکین هشت (IL8) می تواند افزایش یابد. هدف از این مطالعه بررسی این سایتوکاین التهابی در بیماران مبتلا به آفت با افراد سالم می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تحلیلی، دو گروه شامل چهار بیمار مبتلا به ضایعات آفتی شامل ۱۹ مرد و ۲۱ زن با میانگین سنی ۲۵/۰۸ سال و فاقد هر گونه بیماری سیستمیک و چهار نفر سالم شامل ۲۳ مرد و ۱۷ زن با میانگین سنی ۲۵/۵ سال بدون ضایعات آفتی و بیماریهای سیستمیک مراجعه کننده به بخش بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی همدان در فواصل زمانی خرداد تا اسفند ماه ۸۴ پس از معاینات بالینی و تکمیل پرسشنامه انتخاب گردید. با دریافت رضایت نامه مقدار ده سی سی خون وریدی از بیماران گرفته شد و سپس سرم از خون بیماران جدا و در فریزر با دمای منهای هفتاد درجه سانتیگراد نگهداری گردید. در مرحله بعد تمامی نمونه ها با روش ELISA، توسط کیت سنجش IL8 ساخت کارخانه Diagnostic آمریکا مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل نتایج از نرم افزار SPSS و آزمون t استفاده شد.  $P < 0/01$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** یافته های این بررسی نشان داد که میانگین سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به ضایعات آفتی ده برابر افراد سالم می باشد ( $P < 0/01$ ) و از چهار بیمار مبتلا به ضایعات آفتی، IL8 در ۳۵ مورد معادل ۸۷/۵٪ بالاتر از حد نرمال و در پنج مورد ۱۲/۵٪ در محدوده نرمال بود. مقدار متوسط سطح سرمی IL8 در این گروه ۵۲/۲۴ پیکوگرم بر میلی لیتر بود که از این ۳۵ مورد، ۱۶ مرد و ۱۹ زن و از پنج مورد در حد نرمال، سه مرد و دو زن بودند. در گروه کنترل، میزان IL8 در ۳۷ مورد برابر ۹۲/۵٪ در محدوده نرمال و در سه مورد معادل ۷/۵٪ بالاتر از حد طبیعی بود و مقدار متوسط سطح سرمی IL8 در این گروه برابر ۵/۰۱ پیکوگرم بر میلی لیتر بود.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج بدست آمده می توان گفت بین افزایش سطح سرمی IL8 و بروز آفت اختلاف معنی داری وجود دارد.

**کلید واژه ها:** سایتوکاین ها - اینترلوکین هشت - زخمهای آفتی عود کننده

پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۱/۱۸

اصلاح نهایی: ۱۳۸۵/۱۰/۱۳

وصول مقاله: ۱۳۸۵/۴/۱

نویسنده مسئول: گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان e\_mail:abdolsamadi@umsha.ac.ir

### مقدمه

نقش مهمی در پاتوژنز و درمان بیماریهای مهمی همچون سرطانها، بیماریهای التهابی و اتوایمیون و خصوصاً آفت دهانی داشته باشد. (۳)، امروزه سایتوکاین ها از مرحله فکر و عقیده خارج شده و به درمان راه پیدا کرده اند به طوری که توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. (۴)، تغییرات سطح سرمی IL8 در طی بیماری و عوامل موثر بر

زخمهای آفتی عود کننده به عنوان شایعترین ضایعات حفره دهان محسوب می گردد. (۱)، علت این گونه ضایعات دقیقاً مشخص نمی باشد، ضمن اینکه سیستم ایمنی هومورال می تواند نقش مهمی در ایمنوپاتوژنز آفت ایفا نماید. (۲)، سایتوکاین ها و از جمله اینترلوکین هشت، کلاس های جدیدی از مولکول های کشف شده در ده اخیر هستند که می تواند

بیماران مبتلا به آفت با افراد سالم می‌باشد.

### روش بررسی

در این مطالعه تحلیلی - مقایسه‌ای افراد مورد بررسی از بیماران مبتلا به زخمهای آفتی عودکننده مراجعه کننده به بخش بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی همدان در فاصله زمانی اول خرداد تا اوایل اسفند ۸۴ انتخاب شدند. تعداد چهل بیمار که شامل ۱۹ مرد و ۲۱ زن با میانگین سنی ۲۵/۰۸ سال و چهل فرد سالم شامل ۲۳ مرد و ۱۷ زن با میانگین سنی ۲۵/۵ سال مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه بیماران انتخاب شده که در مرحله اولیه آفت بودند توسط یک متخصص بیماریهای دهان معاینه شدند. تشخیص آفت براساس حضور زخمهایی با قطر کمتر از یک سانتی‌متر (آفت کوچک)، گرد و متقارن بر رنگ سفید مایل به زرد و با حاشیه قرمز رنگ بود. برای کلیه بیماران پرسشنامه‌ای تهیه و به دقت تکمیل گردید. شرایط ورود به مطالعه عبارت بود از: گزارش سابقه تکرار ضایعات بیش از سه بار در سال، وجود یک زخم آفت کوچک منفرد (با زمان بروز کمتر از ۴۸ ساعت در حفره دهان)، نداشتن بیماریهای سیستمیک از جمله سندرم رایتز، بهجت، کرون، بیماریهای گوارشی، بیماریهای لته و پریودنتیت و حداقل طی دو ماه قبل دارویی مصرف نکرده باشند در ضمن باردار نیز نباشند. پس از انجام معاینات بالینی و تشخیص نهایی ضایعات آفتی و اخذ رضایت‌نامه کتبی بلافاصله بیماران جهت انجام آزمایشات پاراکلینیک به آزمایشگاه دی همدان ارجاع داده شدند. در آزمایشگاه بعد از ضدعفونی کردن ناحیه آرنج بیماران، مقدار ده سی سی خون وریدی توسط سرنگ‌های ده سی سی استریل و یک بار مصرف سوپا (همراه با سر سوزن اندازه ۲۷) تهیه و در داخل لوله‌های آزمایش استاندارد کارخانه سیگما که توسط اشعه گاما استریل شده بودند جمع‌آوری گردید. پس از طی مراحل انعقادی و دکوله کردن لخته خون، نمونه‌ها جهت جداسازی سرم در دستگاه سانتریفوژ Biotech ساخت کشور آمریکا با شماره سریال ۷۵۳۲ با سرعت هفت هزار دور در دقیقه قرار داده شد و پس از سانتریفوژ ۲۵ دقیقه‌ای، سرم بیماران از قسمت لخته

این سطح سرمی (آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، داروهای تعدیل کننده سیستم ایمنی) می‌تواند درجه تازه‌ای را در آینده در درمان ضایعات آفت در دوران امروزی سایتوکاین‌ها بگشاید (۴) و این امر مستلزم تحقیقات اولیه در مورد رابطه بین سطح سرمی IL8 با ضایعات التهابی از جمله آفت می‌باشد. IL8 توسط ماکروفاژها، لنفوسیت‌های T تحریک شده، مونوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و هیپاتوسیت‌ها تولید می‌شود و ژن سازنده IL8 بر روی کروموزوم شماره چهل واقع است. (۴)، این سایتوکاین از طریق گیرنده‌های اختصاصی بر روی سلول‌های هدف اثر می‌کند و بعد از اتصال به گیرنده اختصاصی‌اش باعث تغییرات بیولوژیکی خاصی در سلول‌ها می‌شود. بسیاری از ضایعات و بیماریهای التهابی از جمله آفت می‌تواند ناشی از تولید و اثرات مختلف سایتوکاین‌های التهابی از جمله IL8 باشد. به عنوان مثال در ضایعات پسوریازیس، نقرس و مایع سینوویال در آرتریت روماتوئید مقادیر زیادی IL8 یافت شده است. (۳)، از این جهت با مهار این سایتوکاین‌ها شاید بتوان درجه امیدی در جهت درمان و بهبود علائم بیماری پیدا کرد. (۵) چرا که استفاده از یک سایتوکاین خاص که اثر سایتوکاین‌های دیگر را خنثی نماید، می‌تواند در این مهم کمک کننده باشد. (۶)، Tetsuga و همکاران به وجود رسپتورهای IL2 در آفت اشاره کرده است و عنوان کرد IL2 خود به عنوان محرک ترشح IL8 توسط عمل واسطه‌ای ماکروفاژها، سلول‌های آندوتلیالی و فیبروبلاست‌ها عمل می‌کند به طوری که میزان IL8 در این بیماران افزایش یافته بود. (۳)، Sirajedin نیز عنوان کرده بود که در بیماران مبتلا به آفت میزان TNF $\alpha$  افزایش می‌یابد به طوری که IL8 از طریق تحریک ماکروفاژها و عمل واسطه‌ای TNF $\alpha$  افزایش یافته بود. (۷)، مطالعات نشان داده است که اغلب عفونت‌های انگلی، باکتریایی و ویروسی باعث تولید IL8 می‌شود. (۸) به طوری که Lin و همکاران در سال ۲۰۰۵ به ارتباط عفونت‌های ویروسی و IL8 و IL6 در بیماران مبتلا به آفت عودکننده اشاره و عنوان کردند که میزان سطح سرمی این دو سایتوکاین به طور قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. (۹)، مطالعه حاضر با هدف بررسی و تعیین سطح سرمی IL8 در

کارخانه سازنده نتایج نهایی محاسبه گردید. به منظور آنالیز آماری از نرم افزار SPSS و آزمون t جهت مقایسه و ارزیابی داده‌های گروه بیمار و شاهد استفاده شد.

#### یافته‌ها

نتایج نشان داد که از چهل بیمار، ۱۹ مرد معادل ۴۷/۵٪ و ۲۱ زن برابر ۵۲/۵٪ با دامنه سنی ۱۱-۴۳ سال و میانگین سنی ۲۵/۰۸ و در گروه کنترل، ۲۳ مرد معادل ۵۷/۵٪ و ۱۷ زن برابر ۴۲/۵٪ با دامنه سنی ۱۵-۴۰ سال و میانگین سنی ۲۵/۵ سال بودند. توزیع جنسی بیماران نیز در دو گروه یکسان بود. مقدار متوسط سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به ضایعات آفتی، ده برابر مقدار متوسط سطح سرمی IL8 در گروه کنترل بود ( $P < 0/01$ ) به طوری که بعد از اتمام انجام آزمایشات از هشتاد نمونه با توجه به محدوده نرمال IL8 که ۰-۹/۶ پیکوگرم بر میلی لیتر می باشد مشخص گردید که در گروه بیماران، میزان IL8 در ۳۵ مورد برابر ۸۷/۵٪ بالاتر از حد نرمال و در پنج مورد معادل ۱۲/۵٪ در محدوده نرمال بود و میانگین و انحراف معیار سطح سرمی IL8 در این گروه برابر  $31/56 \pm 2/24$  پیکوگرم بر میلی لیتر بود. از ۳۵ مورد بالاتر از حد نرمال، ۱۶ مرد برابر ۴۵/۷٪ و ۱۹ زن معادل ۵۴/۳٪ و از پنج مورد در محدوده نرمال سه مرد برابر ۶۰٪ و دو زن معادل ۴۰٪ بود. در گروه کنترل، میزان IL8 در ۳۷ مورد برابر ۹۲/۵٪ در محدوده نرمال و در سه مورد معادل ۷/۵٪ بالاتر از حد نرمال بود و میانگین و انحراف معیار سطح سرمی IL8 در این گروه برابر  $5/01 \pm 4/35$  پیکوگرم بر میلی لیتر تعیین گردید (نمودار ۱) و از ۳۷ مورد در حد نرمال، ۲۱ مرد برابر ۵۶/۷٪ و ۱۶ زن معادل ۴۳/۳٪ و از سه مورد بالاتر از حد نرمال، دو مرد برابر ۶۶/۶٪ و یک زن برابر ۳۳/۴٪ بود.

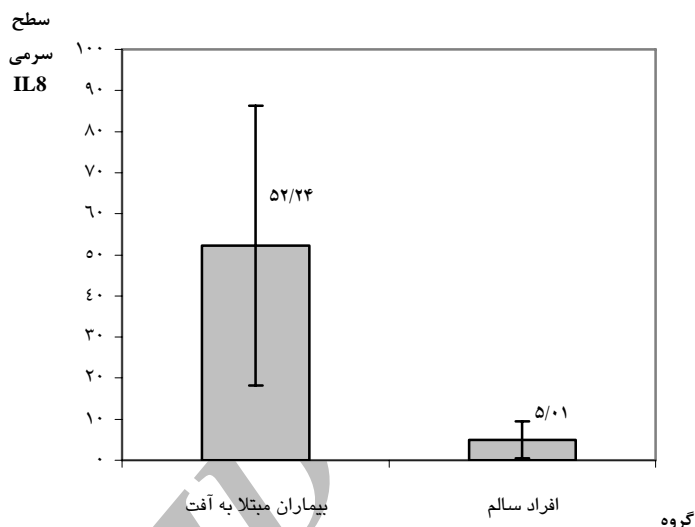
#### بحث

مهمترین عمل IL8 شرکت در واکنش‌های التهابی می باشد. برخی ایمونولوژیست‌ها IL8 را اینترلوکین التهابی می نامند. IL8 یک فعال کننده التهابی و یک عامل کموتاکتیک برای نوتروفیل‌ها می باشد (۱۰)، در این مطالعه، مقایسه‌ای بین

جدا شد و به لوله‌های پلاستیکی شفاف پنج سی سی استریل شده توسط اشعه گاما منتقل گردید. پس از اتمام زمان جمع آوری، نمونه‌های بدست آمده به منظور سنجش IL8 به روش Elisa مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایشگاه تمامی نمونه‌ها توسط کیت سنجش IL8 ساخت کارخانه Diagnostic آمریکا که ۹۶ بار می تواند این آزمایش را انجام دهد به شماره سریال ۳۲۴۵۶ (تاریخ ساخت ۲۰۰۶/۲/۲ و تاریخ مصرف ۲۰۰۶/۱۰/۲) مورد سنجش قرار گرفت و توسط دستگاه Elisa Reader Averne Company USA خوانده شد. مقدار نرمال IL8 با توجه به اعلام کارخانه سازنده برابر با ۰-۹/۶ پیکوگرم بر میلی لیتر بود. جهت انجام آزمایش Elisa، پنجاه میکرولیتر نمونه سرم و بافر به طور همزمان به فاز جدید جامد که از قبل توسط کارخانه سازنده به آنتی بادی منوکلونال مورین Anti IL8 آغشته شده بود اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت سی دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و در فواصل هر ده دقیقه نمونه‌های مورد آزمایش تکان داده شد. سپس با دقت فراوان نمونه‌های تستی را از فاز جامد جدا کرده و با عمل شستشو قسمتهای اضافی از محیط عمل خارج گردید. در طی این مرحله، IL8 نمونه‌های سرمی بیماران با آنتی بادی منوکلونال کوت (آغشته) گردید و به بیدها اتصال برقرار کرد و قسمتهای غیرمتصل به وسیله شستشو از محیط عمل خارج شد. سپس پنج میکرولیتر گونژوگه که یک آنتی بادی منوکلونال گوسفندی است که علیه IL8 انسانی وارد عمل می گردد و توسط آلکالین فسفاتاز نشان دار شده است به هر آزمایش اضافه گردید و تمام نمونه‌ها به مدت سی دقیقه در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از آن پنجاه میکرولیتر سوبسترا (فسفات استر) به محیط واکنش اضافه شد و مجدداً تمامی نمونه‌ها به مدت ده دقیقه در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد در تاریکی انکوبه شدند و دقیقاً در پایان زمان انکوباسیون، محلول Stopping (اسید کلریدریک) اضافه گردید. این محلول از واکنش بیشتر بین آنزیم و سوبسترا جلوگیری می کند و در نهایت به وسیله Elisa Reader و در طول موج چهارصدویست نانومتر، تمامی نمونه‌ها خوانده شد و با توجه به منحنی استاندارد

معنی‌دار IL8 در بیماران بتواند موید مطالعات Brickle باشد. Portat به افزایش میزان ILI در آفت اشاره کرده بود (۱۲) به طوری که این سایتوکاین منجر به افزایش معنی‌دار IL8 شده بود ( $P < 0.05$ ) از این جهت مطالعه حاضر می‌تواند موید مطالعه Portal نیز باشد. Andysun نقش مهمی را برای IL8 در ایمونوپاتوژنز آفت قائل گردید. (۱۰)، Andy در مطالعاتش عنوان کرد که سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به آفت عودکننده دارای حساسیت زیادی نسبت به مانیتورینگ مرحله فعال بیماری دارد (۱۰) و در این مطالعه نیز این مطلب تایید گردید به طوری که در این بررسی کلیه بیماران مبتلا به آفت در مراحل اولیه زخم یعنی ۴۸ ساعت اولیه انتخاب شدند تا که در این مرحله ضایعات دارای بیشترین روند التهابی باشد. در واقع با توجه به مقادیر IL8 در چهل بیمار مبتلا که دارای یک دامنه وسیع  $52/24 \pm 31/56$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (حداقل حدود ۲۱ و حداکثر حدود هشتاد پیکوگرم بر میلی‌لیتر)، این امر ممکن است نشان‌دهنده تأثیر شدت و میزان التهاب حتی در طی ۴۸ ساعت اولیه بر میزان IL8 باشد به طوری که کمترین مقادیر IL8 در بیماران به مراتب بالاتر از بیشترین مقادیر IL8 در افراد سالم است.

Sirajedin و همکارانش به افزایش موضعی سایتوکاین‌ها از جمله TNF $\alpha$  در زخمهای آفتی اشاره داشتند و عنوان کردند که TNF $\alpha$  به عنوان یکی از مهمترین واسطه‌های التهابی است که در پیدایش مرحله فعال آفت نقش مهمی را ایفا می‌کند. (۷) Lisa عنوان کرد که در گلبول‌های سفید خون محیطی بیماران مبتلا به آفت افزایش چشمگیری در تولید IL6 و TNF $\alpha$  دیده می‌شود و پیشنهاد کرد که سایتوکاین‌ها در پیدایش این گونه ضایعات نقش مهمی دارند. (۱۳)، به هر حال باید به این نکته اشاره داشت که سایتوکاین‌ها از درجه حساسیت متفاوتی برخوردار هستند به طوری که در این مطالعه IL8 در بیماران مبتلا به آفت افزایش چشمگیری پیدا کرد. با این وجود ذکر این نکته ضروری است با توجه به اینکه اتیولوژی و پاتوژنز آفت دقیقاً روشن نمی‌باشد و عوامل متعددی (آلرژی، ارث، اختلالات هورمونی و عاطفی و خونی و ...) در آن دخالت دارند نمی‌توان به روشنی افزایش



نمودار ۱: مقایسه سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به آفت و افراد سالم

سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به ضایعات آفتی با افراد سالم صورت گرفت. از مطالعاتی که تاکنون در این مورد صورت گرفته تحقیق Andy و همکارانش در سال ۲۰۰۴ می‌باشد. (۱۰)، در مطالعه حاضر، مقدار سطح سرمی IL8 در بیماران نسبت به افراد سالم به میزان ده برابر بود و این مقدار در مطالعه Andy هفت برابر افراد سالم گزارش شده بود (۱۰)، که این نتیجه می‌تواند موید این باشد که سطح سرمی IL8 در بیماران مبتلا به آفت با توجه به روند التهابی و ایمونولوژیک ضایعه افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند.

در مطالعات Andy و Yufong، ۶۰٪ درصد بیماران مبتلا به آفت دارای سطح سرمی بیشتر از حد نرمال بودند (۱۰) ولی در این مطالعه این میزان به ۸۷/۵٪ افزایش یافته بود که دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد ( $P < 0.01$ ). در مطالعه Andy، ۹۳/۷٪ افراد گروه کنترل دارای مقدار سرمی کمتر از حد نرمال بود (۱۰) ولی این میزان در این مطالعه ۹۲/۵٪ بود که ۱/۲٪ کمتر از گزارش قبلی است که اختلاف عددی در این دو مطالعه می‌تواند ناشی از تفاوت‌های نژادی در افراد مختلف باشد چرا که معمولاً میزان سایتوکاین‌ها در نژادهای مختلف تا حدودی متفاوت می‌باشد. Brickle در سال ۱۹۹۶ به نقش سایتوکاین‌ها و کراتینوسیت‌های فعال شده در ایمونوپاتوژنز آفت اشاره کرد. (۱۱)، با توجه به این که یکی از منابع تولید IL8 کراتینوسیت‌های فعال شده می‌باشد شاید افزایش

**نتیجه‌گیری**

با توجه به افزایش معنی‌دار IL8 در بیماران مبتلا به ضایعات آفت عودکننده که در ۸۷/۵٪ موارد مشاهده گردید (ده برابر افراد سالم) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بین افزایش سطح سرمی IL8 و ابتلا به آفت عودکننده ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

IL8 را به عنوان یک عامل ایجاد کننده زخم در نظر گرفت بلکه می‌توان گفت با توجه به افزایش سطح سرمی IL8 که به عنوان یک سایتوکاین التهابی عمل می‌کند روند التهابی و ایمنولوژیک آفت بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

**REFERENCES**

1. Lynch MA, Brightman VJ, Greenberg MS. Burket's oral medicine, diagnosis and treatment. 9th ed. Philadelphia: J.B Lippincott; 1994;27-9.
2. Pederson A, Anne C, Bjarnek. T lymphocyte subsets in RAS. J Oral Pathol Med. 2002 Oct;20(10):59-60.
3. Tetsuga Y, Kezunori Y. Serum cytokines IL2 receptor in oral disorders. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994 Mar;78(3):727-35.
4. Aggarwal B. Human Cytokines. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Co; 2004;36-41.
5. Regina L, Margaret F. Alternation of T helper/inducer in RAS. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1995 Jan; 83(1):205-8.
6. Austin J, Wood K. Principle of cellular and molecular immunology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Co; 1993; 36-40.
7. Sirajedin S, Natabritua M. Immunolocalization of TNF in RAS. J Oral Pathol Med. 2000 Apr;29(4):19-25.
8. James J, Scuibba T. T lymphocyte subset changes in RAS. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2002 Dec;60(12): 175-81.
9. Lin S, Chou M, Ho C, Yang C. Study of the viral infections and cytokines associated with RAS. Microbes Infect. 2005 Dec;17(3):635-44.
10. Andy S, Yufong C, Sanchia C, Hunchun C. Serum IL-8 level is a more sensitive marker than serum IL-6 level in monitoring the diseases activity of RAS. J Oral Pathol Med. 2004 Oct; 33(10):133-39.
11. Bickel M. Chemokine expression in human oral keratinocyte cell lines and keratinized mucosa. J Dent Res. 1996 Apr; 75(4):27-34.
12. Portal R. IL1 receptor blocade reduces endotoxin and borrelia burgdoferi-stimulated IL8 synthesis in human mononuclear cells. Faseb J. 1992 Nov; 6(11):240-46.
13. Lisa J, Jermly B. Increased production of TNF in RAS. J Oral Pathol Med. 1992 Jan;21(1): 21-5.