

بررسی سطح سرمی اینترلوکین 6 و 8 در بیماران مبتلا به زخم‌های آفت کننده

محمد واحدی^{*} - شرمین عبدالله‌زاده^{*} - حمیدرضا عبدالصمدی^{*} - مهرداد حاجیلویی^{**} - پژمان بکیانیاوزیری^{*}

^{*} استادیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان
^{**} ایمونولوژیست، مرکز پژوهش‌های دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان

چکیده

بیان مساله: زخم‌های آفت عودکننده، یکی از شایع‌ترین آسیب‌های مخاطی حفره‌ی دهان است. پژوهش‌های گوناگون بیان کننده نتایج متضاد و متنوع درباره‌ی سایتوکاین‌های التهابی و نمایه‌های زیست شناختی در پیوند با این آسیب می‌باشد.
هدف: این پژوهش با هدف مشخص کردن اندازه‌ی سطوح سرمی اینترلوکین 8 و 6 (IL-8، IL-6) در بیماران مبتلا به آفت عود کننده انجام گردید.

مواد و روش: در این پژوهش مورد شاهده‌ی، سطوح سرمی اینترلوکین 8 و 6 در 40 بیمار مبتلا به آفت در برابر 40 فرد سالم مورد سنجش قرار گرفت. برای اندازه‌گیری این سایتوکاین‌ها از روش ELISA و برای واکاوی آماری از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری تی (T-test) استفاده شد.
یافته‌ها: اندازه‌ی متوسط سطح سرمی اینترلوکین 8 در بیماران مبتلا، برابر با 52/24 پیکوگرم/ میلی‌متر بود، که تقریباً 10 برابر اندازه‌ی میانگین آن در افراد سالم بوده است ($p < 0/01$). اندازه‌ی میانگین اینترلوکین 6 در گروه بیماران برابر با 9/39 پیکوگرم/ میلی‌متر بود، که این اندازه نسبت به افراد سالم چهار برابر بوده است ($p < 0/01$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان داد، که میزان سطوح سرمی اینترلوکین 8 و 6 در بیماران مبتلا، نسبت به افراد سالم افزایش پیدا کرده، که این افزایش درباره‌ی میزان اینترلوکین 8 بسیار چشمگیر است.
واژگان کلیدی: اینترلوکین 8، اینترلوکین 6، زخم‌های آفتی

درآمد

آسیب‌های آفت عودکننده، شایع‌ترین زخم‌های مخاط دهان هستند و ماهیت دردناک و عود کننده در مخاط غیرکراتینه‌ایز از ویژگی‌های این آسیب‌هاست^(1 و 2). پژوهش‌های گوناگونی در زمینه-ی تغییرات سرمی ایمونوگلوبولین‌ها⁽³⁾، کمپلکس ایمنی در گردش⁽⁴⁾ و زیر گروه‌های لئوسیت‌های T⁽⁵⁾ و فعالیت سلول‌های کشته‌ی طبیعی⁽⁶⁾ در بیماران مبتلا به آفت گزارش شده است. اینترلوکین 6 (Interleukin 6)، یک سایتوکاین با کارایی متفاوت بوده، که در پاسخ‌های ایمنی و التهابی شرکت می‌کند⁽⁷⁾.

یاماموتو (Yamamoto) و سان (Sun)، غلظت بالای اینترلوکین 6 را در بیماران مبتلا به آفت گزارش کردند به گونه‌ای که پس از درمان، غلظت سرمی این سایتوکاین با کاهش شدیدی رو به رو شده بود^(8 و 9). این نتایج می‌تواند بیان‌کننده‌ی این مساله باشد، که اینترلوکین 6 به عنوان یک نمایه‌ی سیستمی سودمند در بررسی اثرات درمانی آفت موثر است. اینترلوکین 8 (Interleukin 8) به عنوان واسطه‌ای مهم در پاسخ میزبان، نسبت به آسیب‌های بافتی و التهاب⁽¹⁰⁾، دارای اهمیت و همچنین، به عنوان فعال‌کننده‌ی نوتروفیل‌ها، کموتاکتیک نوتروفیلی و بازوفیل‌ها مطرح است⁽¹¹⁾.

این سایتوکاین به وسیله‌ی سلول‌های گوناگونی، چون مونوسیت‌ها، سلول‌های T، نوتروفیل‌ها و سلول‌های اندوتلیال در مراحل آسیب‌شناختی و التهابی ترشح می‌گردد⁽¹²⁾. اینترلوکین 8 بی‌درنگ در پاسخ به سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، مانند اینترفرون آلفا (INF- α) و فشارهای سلولی⁽¹³⁾ تحریک می‌شود. تا آنجا که سطح سرمی اینترلوکین 8 در سندرم بهجت فعال، به مراتب نسبت به سندرم بهجت غیرفعال و گروه شاهد، افزایش چشمگیر پیدا می‌کند⁽¹⁴⁾. به گونه‌ای که افزایش سطح سرمی اینترلوکین 8 در بیماران مبتلا به بهجت به گونه‌ای آشکار با وجود آسیب‌های آفت عودکننده در این بیماران در پیوند است^(14 و 15). فعال شدن نوتروفیل‌ها به وسیله‌ی اینترلوکین 8، باعث تولید آنزیم‌هایی می‌شود، که می‌تواند باعث تخریب بافتی و ایجاد زخم گردد⁽¹¹⁾.

با توجه به این که، اینترلوکین 8 می‌تواند به وسیله‌ی انواعی گوناگون از سلول‌های التهابی همچون مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، لئوسیت‌های T، نوتروفیل‌ها، سلول‌های اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها کراتینوسیت‌ها و با تحریک سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ساخته شود⁽⁹⁾. بنابراین ممکن است نقشی در بیماری‌زایی

آسیب‌های آفت داشته باشد. این مساله، از آنجا اهمیت می‌یابد، که شاید با بررسی میزان نمایه‌های پیش‌التهابی بتوان روشی دقیق‌تر برای شناسایی و بررسی مراحل زخم آفت و پیگیری درمان بیماری استفاده کرد. از آنجا که، تاکنون طرحی به این گونه و با این گستردگی در ایران به انجام نرسیده است، یافته‌های این بررسی می‌تواند برای تعیین پیش‌آگهی، پیگیری روند بهبود، فعالیت بیماری و آغاز آسیب‌های آفتی کاربرد داشته باشد. بنابراین، هدف از پژوهش کنونی، بررسی میزان سرمی اینترلوکین 8 و 6 به عنوان نمایه‌های سرم‌شناختی در مراحل آغازین بیماران مبتلا به آفت بود.

مواد و روش

در این پژوهش تحلیلی از گونه‌ی مورد-شاهدی شمار 40 نفر بیمار مبتلا به زخم‌های آفتی عودکننده، که حداکثر 48 ساعت از آغاز آسیب‌ها در دهانشان گذشته بود، به وسیله‌ی دو متخصص بیماری‌های دهان معاینه شدند. تشخیص آفت بر پایه‌ی نمای بالینی و با بودن زخم‌هایی با قطر کمتر از یک سانتی‌متر (آفت مینور)، گرد و متقارن به رنگ سفید مایل به زرد و با حاشیه‌ی التهابی بود.

معیارهای ورود به پژوهش عبارت بود از: پیشینه‌ی تکرار آسیب‌های بیشتر از سه بار در سال، نبود بیماری‌های سیستمیک مانند سندرم رایتر، بیماری بهجت، بیماری کرون، بیماری‌های گوارشی، بیماری‌های لته و پریدونتیت و دیگر بیماری‌های التهابی و اینکه دست کم در یک ماه پیش دارویی مصرف نکرده باشند و در ضمن باردار نباشند. نمونه‌گیری بر پایه‌ی روش در دسترس و بر مبنای معیارهای ورودی و خروجی پژوهش بود. از میان افراد مبتلا به آفت عودکننده، کسانی انتخاب شدند، که بنا به تشخیص پزشک درمانگر برای کارگاه‌های تشخیصی، به آزمایش خون نیاز داشتند. پس از انجام معاینه‌های بالینی و توضیح علل و اهداف انجام آزمایش‌های لازم و دریافت رضایت‌نامه‌ی کتبی از همه‌ی بیماران در آزمایشگاه تشخیص طبی دی همدان و نیز، پس از گندزدایی ناحیه‌ی آرنج بیماران، مقدار پنج سی سی خون وریدی سیاهرگی با سرنگ‌های 10 سی سی سترون و یکبار مصرف سوپا (همراه با سرسوزن با اندازه‌ی 27) فراهم و در درون لوله‌های آزمایش استاندارد کارخانه‌ی سیگما (Sigma) گردآوری شد. برای گروه شاهد، از میان سرم افراد سالم با همه‌ی معیارهای ورودی گفته شده، که برای انجام آزمایش‌های معمول خون به آزمایشگاه

میزان اینترلوکین 6 در گروه بیماران در 19 نفر (47/5 درصد) بالاتر از اندازه‌ی طبیعی و در 21 نفر (52/5 درصد) در دامنه‌ی طبیعی نرمال بود، که اندازه‌ی طبیعی سرمی اینترلوکین 6 (بر پایه‌ی ارزش منبع کیت مورد استفاده) میان صفر تا 5 پیکوگرم/ میلی‌لیتر گزارش شد (جدول 2). از 19 نفر بیماران بالاتر از اندازه‌ی طبیعی 10 نفر مرد (52/63 درصد) و نه نفر زن (47/36 درصد) و از 21 نفر در اندازه‌ی طبیعی، 10 نفر مرد (47/61 درصد) و 11 نفر زن (52/38 درصد) بودند. اندازه‌ی اینترلوکین 6 در گروه شاهد در 37 مورد (92/5 درصد) در دامنه‌ی طبیعی و در سه مورد (7/5 درصد) بالاتر از آن بود، که اندازه‌ی میانگین سطح سرمی اینترلوکین در این گروه، برابر 2/09 پیکوگرم/ میلی‌لیتر گزارش شد و از 37 مورد در اندازه‌ی طبیعی، 19 مرد (51/35 درصد) و 18 زن (48/64 درصد) بود که از 3 نفر بالاتر از اندازه‌ی طبیعی یک نفر مرد و دو نفر زن بودند و اختلاف میان دو گروه درباره‌ی اینترلوکین 6 از نظر آماری معنادار بود ($p < 0/01$).

جدول 1: میزان سطح سرمی IL-8 در مبتلایان به آسیب‌های آفت و افراد سالم (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)

گروه‌های مورد بررسی	میانگین و انحراف معیار سطح سرمی اینترلوکین 8	فاصله‌ی اطمینان 99 درصد اختلاف میانگین
بیماران مبتلا به آفت عودکننده	52/24 ± 31/56	47/22 ± 5/04
افراد سالم	5/01 ± 4/35	(33/91 ~ 60/52)

جدول 2: میزان سطح سرمی اینترلوکین 6 در مبتلایان به آسیب‌های آفت و افراد سالم (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)

گروه‌های مورد بررسی	میانگین و انحراف معیار سطح سرمی اینترلوکین 6	فاصله‌ی اطمینان 99 درصد اختلاف میانگین
بیماران مبتلا به آفت عودکننده	9/39 ± 9/84	4/138 ~ 10/46
افراد سالم	2/09 ± 2/04	

بحث

پژوهش‌های بسیاری، درباره‌ی سایتوکاین‌های التهابی و نمایه‌های زیست‌شناختی گوناگون در بیماری‌ها و آسیب‌های گوناگون، چون زخم‌های آفت عودکننده (RAU) انجام گرفته

یاد شده مراجعه کرده‌اند و پاسخ آزمایش‌های تشخیصی آنها در دامنه‌ی طبیعی بوده، 40 نفر انتخاب شدند. پس از طی مراحل انعقادی، بی‌درنگ سرم از نمونه‌ها جدا گردید و به لوله‌های پلاستیکی شفاف پنج سی‌سی سترون شده به وسیله‌ی پرتوی گاما منتقل و سپس، در فریزرهای ویژه در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سنجش اینترلوکین 6 و اینترلوکین 8 به وسیله‌ی کست‌های مربوطه (Diagnostic Products Corporation, USA) و به روش ELISA انجام گردید. حساسیت کیت مورد نظر دو پیکوگرم/ میلی‌متر و ضریب تغییرات درون آزمایشگاهی (Intraassay Coefficient Variation (CV)) 3/6 تا 3/8 درصد و ضریب تغییرات بین آزمایشگاهی (Interassay CV) 5/2 تا 7/4 درصد بوده است. برای واکاوی آماری از نرم افزار SPSS و از آزمون t از نوع Independent Two Samples Test برای مقایسه و ارزیابی داده‌های گروه آزمون و شاهد استفاده شد.

یافته‌ها

گروه بیماران شامل 19 مرد (47/5 درصد) و 21 زن (52/5 درصد) با دامنه‌ی سنی 11 تا 43 سال و میانگین سنی 25/08 سال و گروه سالم شامل 20 مرد (50 درصد) و 20 زن (50 درصد) با دامنه‌ی سنی 30 تا 40 سال و میانگین سنی 33/6 سال بودند و اختلاف سنی و جنسی بیماران در هر دو گروه به لحاظ آماری معنادار نبود. میزان اینترلوکین 8 در گروه بیماران مبتلا در 35 نفر (87/5 درصد) بالاتر از اندازه‌ی طبیعی و در پنج نفر (12/5 درصد) در دامنه‌ی طبیعی بود. اندازه‌ی طبیعی سرمی اینترلوکین 8 (بر مبنای ارزش منبع کیت مورد استفاده) صفر تا 9/6 پیکوگرم/ میلی‌لیتر گزارش شد (جدول 1). از 35 نفر بیماران بالاتر از اندازه‌ی طبیعی، 16 نفر مرد (45/7 درصد) و 19 نفر زن (54/3 درصد) و از پنج نفر در اندازه‌ی طبیعی، سه نفر مرد و دو نفر زن بودند. میزان اینترلوکین 8 در گروه سالم، در 37 نفر (92/5 درصد) در دامنه‌ی طبیعی و در سه نفر (7/5 درصد) بالاتر از آن بود و اندازه‌ی میانگین سطح سرمی اینترلوکین 8 در این گروه، برابر 5/01 پیکوگرم/ میلی‌لیتر تعیین گردید. از 37 نفر در دامنه‌ی طبیعی، 21 نفر مرد (56/7 درصد) و 16 نفر زن (43/3 درصد) و از سه نفر بالاتر از آن یک نفر زن و دو نفر مرد بودند. اختلاف میان دو گروه در زمینه‌ی اینترلوکین 8، از نظر آماری معنادار بود ($p < 0/01$).

دخالته داشته باشد. IL-8 به وسیله‌ی مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، T cell ها، نوتروفیل‌ها، سلول‌های آندوتلیال و کراتینوسیت‌هایی ترشح می‌گردد، که به وسیله‌ی سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله TNF- α و IL-1 تحریک می‌شوند⁽²¹⁾. بررسی‌های پژوهشگران نشان دهنده‌ی وجود نمایه‌های CD4⁺، CD8⁺ و لنفوسیت‌های B و T فعال شده در RAU است^(22,23). همچنین، بیان شده است، که لنفوسیت‌های T در خون محیطی افراد مبتلا به RAU وجود دارد⁽²²⁾. بنابراین، افزایش سطح TNF- α در زخم‌های آفتی⁽²⁴⁾ و افزایش فرآورده‌های TNF- α به وسیله‌ی لوکوسیت‌های خون محیطی در بیماران مبتلا به RAU سبب تحریک بسیاری از سلول‌ها در ترشح و افزایش اینترلوکین 8 در ناحیه‌ی موضعی بافت و همچنین خون محیطی می‌گردد⁽²⁵⁾. بنابراین، در این پژوهش نیز، میزان سطح سرمی اینترلوکین 8 در بیماران مبتلا 10 برابر افراد سالم بود، که در پژوهش سان و همکاران، هفت برابر افراد سالم گزارش شده بود⁽¹⁸⁾.

همچنین، در پژوهش یاد شده بیان شده است، که سطح سرمی اینترلوکین 8، نسبت به پیگیری بیماری در مقایسه با سطح سرمی اینترلوکین 6 در بیماران مبتلا به RAU حساسیتی بیشتر دارد، زیرا مقادیر بالاتر از اندازه‌ی طبیعی اینترلوکین 8 و 6، به ترتیب در 60 و 25 درصد بیماران مبتلا وجود داشت⁽¹⁸⁾ در حالی که، در بررسی کنونی، این مقادیر، به ترتیب 87/5 و 47/5 درصد بود. بنابراین، مقایسه‌ی این دو بررسی بیانگر این است که، اینترلوکین 8 و 6 در بیماران مبتلا به RAU افزایش پیدا نموده است و یافته‌های به دست آمده با یکدیگر، همخوانی دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد، که اندازه‌ی سطوح سرمی اینترلوکین 8 و 6 در بیماران مبتلا به آفت عود کننده نسبت به افراد سالم افزایش پیدا کرده بود و میان افزایش این دوسایتوکاین و پیدایش آسیب‌های آفتی پیوندی معنادار وجود داشته است، که شاید ناشی از حاکم بودن شرایط التهابی در این آسیب‌ها باشد. با توجه به یافته‌های این بررسی، به نظر انجام پژوهش‌های مداخله‌گر با استفاده از داروهای ضدالتهاب گوناگون برای سنجش اثر آنها بر ساخت سایتوکاین‌های پیش التهابی، مانند اینترلوکین 8 و 6 در آینده می‌تواند راهگشای درمان و مهار آسیب‌های آفتی عودکننده باشد.

است. از این رو، یافته‌های گوناگون در این باره در دسترس می‌باشد⁽¹⁶⁾. هدف از این پژوهش، بررسی سطوح سرمی دو سایتوکاین التهابی (اینترلوکین 8 و 6) در مبتلایان به آسیب‌های آفت عودکننده در نمونه‌ای از بیماران ایرانی بوده است. این پژوهش نشان داد، که اندازه‌ی میانگین سطح سرمی اینترلوکین 6 در بیماران مبتلا در مدت 48 ساعت نخست آغاز آسیب‌ها، به گونه‌ای معنادار نسبت به افراد سالم بیشتر است. در پژوهشی که بر روی 31 بیمار مبتلا به آفت انجام شد، سطح سرمی اینترلوکین 6 در همه‌ی بیماران، بالاتر از اندازه‌ی طبیعی بود، که با پژوهش کنونی همخوانی داشت. در پژوهش مورد اشاره، پس از درمان با لوامیزول در مدت پنج ماه، میزان این سایتوکاین کاهشی چشمگیر داشت⁽⁹⁾.

افزایش معنادار سطح سرمی اینترلوکین 6 در بیماران مبتلا نسبت به افراد سالم ناشی از تولید موضعی و سیستمیک اینترلوکین 6 به وسیله‌ی بسیاری از سلول‌ها و مکانیزم‌های پیچیده‌ی اتوکراین و پاراکراین است^(9,17). یاماموتو (Yamamoto) و سان (Sun)⁽¹⁸⁾ بیان کردند، که میزان سطح سرمی اینترلوکین 6 در افراد مبتلا به RAU، به ترتیب سه و دو برابر افراد سالم بود، که این میزان در پژوهش کنونی چهار برابر افراد سالم گزارش گردید^(8 و 18). تفاوت ناچیز در این بررسی‌ها می‌تواند ناشی از اختلاف در کیت‌های مورد استفاده، دامنه‌ی سنی افراد مورد بررسی، تفاوت‌های نژادی و حتی زمان نمونه‌گیری باشد، به گونه‌ای، که میانگین سنی بیماران در بررسی سان⁽¹⁸⁾ در حدود 14 سال از میانگین سنی بیماران در این پژوهش بیشتر بود. از این رو، تفاوت‌های سنی می‌تواند در میزان ترشح سایتوکاین‌ها مؤثر باشد⁽¹⁹⁾. در پژوهش سان و همکاران، زمان نمونه‌گیری در مرحله‌ی زخمی آسیب‌ها انجام گرفته بود، ولی در این پژوهش زمان نمونه‌گیری دقیقاً 48 ساعت نخست پیدایش آسیب انجام شده بود، که بیشترین فرآیندهای التهابی دستگاه ایمنی در این مقطع رخ می‌دهد⁽²⁰⁾. در پژوهش سان و همکاران، 25 درصد بیماران مبتلا به RAU دارای سطح سرمی اینترلوکین 6 بالاتر از اندازه‌ی طبیعی بودند، ولی در این پژوهش این میزان به 47/5 درصد افزایش یافته بود، که دارای تفاوتی معنادار بود⁽¹⁸⁾.

در این پژوهش، اندازه‌ی سطح سرمی اینترلوکین 8 نیز، در بیماران مبتلا به RAU نسبت به افراد سالم به گونه‌ای معنادار افزایش پیدا کرده بود و عواملی گوناگون می‌تواند در این امر

سپاسگزاری

پژوهش را به عهده گرفته‌اند و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان که عهده دار تامین مالی این پژوهش بوده‌اند سپاسگزاری می‌نمایند.

نویسندگان این مقاله از زحمات جناب آقای مهندس خسرومانی کاشانی که مسوولیت و بررسی کارهای آماری این

References

1. McCullough MJ, Abdel-Hafeth S, Scully C. Recurrent aphthous stomatitis revisited; clinical features, associations, and new association with infant feeding practices? *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 615-620.
2. Scully C. Clinical practice. Aphthous ulceration. *N Engl J Med* 2006;355:165-172.
3. Porter SR, Scully C, Flint S. Hematologic status in recurrent aphthous stomatitis compared with other oral disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 66: 41-44.
4. Rogers RS 3rd. Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and associated systemic disorders. *Semin Cutan Med Surg* 1997; 16: 278-283.
5. Landesberg R, Fallon M, Insel R. Altered T4/T8 ratios in a patient with severe recurrent aphthous ulcers: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45: 980-982.
6. Sun A, Chu CT, Wu YC, Yuan JH. Mechanisms of depressed natural killer cell activity in recurrent aphthous ulcers. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 60: 83-92.
7. Sun A, Chia JS, Chang YF, Chiang CP. Serum IL-6 level is a useful marker in evaluating therapeutic effects of levamisole and chine medicinal herbs on patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2002; 31: 196- 203.
8. Yamamoto T, Yoneda K, Ueta E, Osaki T. Serum cytokines, interleukin-2 receptor and soluble intercellular adhesionmolecule-1 in Oral disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 727-735.
9. Sun A, Chia JS, Chang YF, Chiang CP. Levamisole and chine medicinal herb can modulate the serum interleukin-6 level in patients with recurrent aphthous ulcerations. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 206-214.
10. al-Dalaan A, al-Sedairy S, al-Balaa S, al-Janadi M, Elramahi K, Bahabri S, et al. Enhanced interleukin-8 Secretion in circulation of patients with Behcet's disease. *J Rheumatol* 1995; 22: 904-907.
11. Peichl P, Ceska M, Broell H, Effenberger F, Lindley IJ. Human neutrophil activating peptide/ interleukin-8 acts as an autoantigen in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 19-22.
12. Ozoran K, Aydintuğ O, Tokgöz G, Düzgün N, Tutkak H, Gürler A. Serum levels of interleukin-8 in patients with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 610.
13. Hoffmann E, Dittrich- Breiolz O, Holtmann H, Kracht M. Multiple Control of interleukin-8 gen expression. *J Leuk Biol* 2002; 72: 847-855.
14. Katsantonis J, Adler Y, Orfanos CE, Zouboulis CC. Adamantiades- Behcet's disease: serum IL-8 in a more reliable marker for disease activity than C- reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. *Dermatol* 2000; 201: 37-39.

15. Zouboulis CC, Katsantonis J, Ketteler R, Treudler R, Kaklamani E, Hornemann S, et al. Adamantiades-Behçet's disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. *Arch Dermatol Res* 2000; 292: 279-284.
16. Buno IJ, Huff JC, Weston WL, Cook DT, Brice SL. Elevated levels of interferon gamma, tumor necrosis factor α , interleukins 2, 4 and 5, but not interleukin 10, are present in RAU. *Arch Dermatol* 1998; 134: 827-831.
17. Bazrafshani MR, Hajeer AH, Ollier WE, Thornhill MH. IL-1 β and IL-6 gene polymorphisms encode significant risk for the development of recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Genes Immun* 2002; 3: 302-305.
18. Sun A, Chang YF, Chia JS, Chiang CP. Serum IL-8 level is a more sensitive marker than serum IL-6 level in monitoring the disease activity of RAS. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 133-139.
19. Lin S, Chou M, Ho C, Kao C, Yang C. Study of the viral infections and cytokines associated with RAS. *Microbes Infect* 2005; 7: 635-644.
20. Sun A, Chiang CP, Chiou PS, Wang JT, Liu BY, Wu YC. Immunomodulation by levamisole in patients with recurrent aphthous ulcers or oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 172-177.
21. Savage NW, Seymour GJ, Kruger BJ. T-lymphocyte subset changes in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 60: 175-181.
22. Hayrinen-Immonen R, Nordstrom D, Malmstrom M, Hietanen J, Konttinen YT. Immune-inflammatory cells in recurrent oral ulcers. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 510-518.
23. Häyrynen-Immonen R. Immune-activation in recurrent oral ulcers (ROU). *Scand J Dent Res* 1992; 100: 222-227.
24. Natah SS, Hayrinen-Immonen R, Hietanen J, Malmstrom M, Konttinen YT. Immunolocalization of tumor necrosis factor- α expressing cells in recurrent aphthous ulcers lesions. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 19-25.
25. Taylor LJ, Bagg J, Walker DM, Peters TJ. Increased production of tumor necrosis factor by peripheral blood leukocytes in patients with recurrent oral aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 21-25.