Avicenna Journal of Clinical Medicine No 96, Volume 27, Issue 2, Summer 2020, Pages: 77-84

Original Article

doi: 10.29252/ajcm.27.2.77

Interleukin-34 Gene Expression in the Peripheral Blood Leukocytes of Guillain-Barre Patients

Sina Rezaee[1], Mehrdokht Mazdeh[2], Mahdi Behzad[3], Alireza Zamani[4], Mohammad Mahdi Eftekharian[3,*]

[1] *MSc in Immunology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[2] *Professor, Departement of Neurology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[3] *Associate Professor, Departement of Immunology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[4] *Professor, Departement of Immunology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*

**** Corresponding Author:*** *Mohammad Mahdi Eftekharian, Departement of Immunology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. Email: eftekharian@umsha.ac.ir*

Received: 30.05.2020
Accepted: 11.08.2020

How to Cite this Article:
Rezaee S, Mazdeh M, Behzad M, Zamani A, Eftekharian MM. Interleukin-34 Gene Expression in the Peripheral Blood Leukocytes of Guillain-Barre Patients. *Avicenna J Clin Med*. 2020; 27(2): 77-84. DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77

Abstract

Background and Objective: Immune-mediated polyneuropathy is divided into acute and chronic categories named as Guillain Barré syndrome (GBS) and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy based on the course of the disease. Although the basic mechanism of these conditions has not been yet clarified, genes that regulate immune responses are putative contributors in their development. The aim of this study was to compare the blood expression level of *IL-34* gene between patients with GBS and healthy individuals.

Materials and Methods: In this case-control study, blood samples were collected from 53 patients with GBS (i.e., 33 chronic patients and 20 acute patients) and 40 healthy individuals. Gene expression levels in the studied groups were measured using the real-time polymerase chain reaction technique. Finally, statistical analysis was performed using SPSS software (version 16) at a significance level of < 0.05 was.

Results: The patient group consisted of 36 (67.93%) males and 17 (32.07%) females. In addition, the healthy control group included 27 (67.5%) males and 13 (32.5%) females. The results showed a significant increase in *IL-34* expression in the GBS patients, compared to that in the control group.

Conclusion: The findings of the present study revealed an increase in *IL-34* gene expression in patients with GBS. Accordingly, it seems that *IL-34* gene has an important role in the pathogenesis of this disease.

Keywords: Interleukin-34, Guillain-Barre Syndrome, Polyneuropathy

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

Copyright © 2020 Avicenna Journal of Clinical Medicine

مقاله پژوهشی

doi: 10.29252/ajcm.27.2.77

بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در سلول‌های خون محیطی افراد مبتلابه سندرم گیلن باره

سینا رضایی[۱]، مهردخت مزده[۲]، مهدی بهزاد[۳]، علیرضا زمانی[۴]، محمد مهدی افتخاریان[۳،*]

[۱] کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

[۲] استاد، گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

[۳] دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

[۴] استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

* **نویسنده مسئول:** محمد مهدی افتخاریان، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

ایمیل: eftekharian@umsha.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۳/۰۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۵/۲۳

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

چکیده

سابقه و هدف: پلی‌نوروپاتی‌های باواسطه ایمنی، به دو دسته حاد و مزمن تقسیم می‌شوند که سندرم گیلن باره (GBS: Guillain-Barré Syndrome) و پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن (CIDP: Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy) نام دارند. اگرچه مکانیسم اصلی این بیماری‌ها هنوز به‌طور دقیق شناخته نشده است، ژن‌هایی که تنظیم‌کننده پاسخ‌های سیستم ایمنی هستند نقش اصلی را در گسترش این بیماری بر عهده دارند. هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان مولکولی اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه سندروم گیلن باره در مقایسه با گروه کنترل است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی از ۵۳ بیمار مبتلابه سندروم گیلن باره (۳۳ بیمار از نوع مزمن و ۲۰ بیمار از نوع حاد) و ۴۰ فرد سالم نمونه خون جمع‌آوری شد. میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در گروه‌ها با استفاده از روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. درانتها نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه‌وتحلیل شدند و سطح معناداری، P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: گروه بیماران متشکل از ۳۶ مرد (۶۷/۹۳ درصد) و ۱۷ زن (۳۲/۰۷ درصد) و گروه کنترل نیز شامل ۲۷ مرد (۶۷/۵ درصد) و ۱۳ زن (۳۲/۵ درصد) بودند. نتایج مطالعه حاکی از افزایش معنادار بیان این سایتوکاین در بیماران مبتلابه سندرم گیلن باره نسبت به گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه سندرم گیلن باره مشاهده شد. به نظر می‌رسد اینترلوکین ۳۴ در پاتوژنز پلی‌نوروپاتی‌های باواسطه ایمنی اهمیت زیادی داشته باشد.

واژگان کلیدی: اینترلوکین ۳۴، پلی‌نوروپاتی، سندرم گیلن باره

مقدمه

سندرم گیلن باره شامل گروهی از بیماری‌های نوروپاتیک است که با ضعف پیش‌رونده و رفلکس‌های کاهش‌یافته مشخص می‌شود. اتیولوژی سندرم گیلن باره (Guillain-Barré Syndrome) به‌طور دقیق شناخته نشده است؛ اما به نظر می‌رسد این بیماری ناشی از پاسخ ایمنی کنترل‌نشده و حمله سیستم ایمنی به بافت عصبی ایجاد می‌شود. این پاسخ ممکن است با جراحی، ایمن‌سازی یا عفونت ایجاد شود [۱]. ارتباط تزریق واکسن ضدهاری و واکسن آنفلوانزا با سندروم گیلن باره برای اولین بار در سال ۱۹۷۶ در ایالت متحده آمریکا بررسی شد. مطالعات اخیر بر ابتلا به گیلن باره بعد از واکسیناسیون با انواع واکسن‌ها تأکید کرده‌اند. ابتلا به این بیماری با تروما و عمل جراحی نیز در ارتباط است [۲].

بسیاری از دانسته‌های ما درباره گیلن باره از مدل حیوانی آن، یعنی نوریت آلرژیک به‌دست آمده است که ترکیبی از واکنش سلول‌های T و آنتی‌بادی به پروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای میلین آن را واسطه‌گری می‌کنند. آنتی‌بادی‌هایی که علیه اعصاب محیطی در بیماران مبتلابه گیلن باره مشاهده می‌شود و کاهش تیتر آن حاکی از روند بهبودی بیمار است [۳]. سندروم گیلن باره به‌صورت ۰/۴ تا ۲ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر اتفاق می‌افتد. این بیماری عموماً به فصل وابسته نیست و به‌صورت اپیدمیک رخ نمی‌دهد. به نظر

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

می‌رسد شیوع این بیماری در مردان بیشتر از زنان باشد. این بیماری سالانه ۱۰۰ هزار نفر را در سراسر جهان درگیر می‌کند [۴]. رده سنی ابتلا به این بیماری، از ۸ ماه تا ۸۱ سال است. فرم پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد (AIDP: Acute Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy) این بیماری علت ۹۰ درصد سندروم گیلن باره در اروپا و آمریکای شمالی است. درحالی‌که فرم نوروپاتی آکسونی حرکتی حاد (AMAN: Acute Motor Axonal Neuropathy) و نوروپاتی آکسونی حسی-حرکتی حاد (AMSAN: Acute Motor-Sensory Axonal Neuropathy) فرم‌های شایع گیلن باره در آسیا، آمریکای جنوبی و مرکزی هستند [۵].

سندروم گیلن باره به دو فرم اصلی پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد و مزمن تقسیم می‌شود. فرم پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد به‌شدت ریشه‌های اعصاب محیطی را طی ۴ هفته از شروع بیماری درگیر می‌کند. درحالی‌که فرم پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن ریشه‌های اعصاب محیطی را بعد از ۸ هفته از آغاز بیماری درگیر می‌کند. فرم پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد شامل انواع نوروپاتی آکسونی حرکتی حاد، نوروپاتی آکسونی حسی-حرکتی حاد و میلر فیشر است؛ فرمی است که در آن آکسون‌های عصب حسی و حرکتی به‌شدت تخریب می‌شوند. فرم پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن که به‌صورت آیدیوپاتیک یا به‌صورت ثانویه در اختلالات سیستمیک رخ می‌دهد، به انواع (MADSAM: Multifocal Acquired Demyelinating Sensory And Motor neuropathy) و (DADS: Distal Aquired Demyelinating Sensory Neuropathy) تقسیم‌بندی شده و در اصطلاح به‌عنوان نوروپاتی حرکتی چندکانونه در نظر گرفته می‌شود.

پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد فرمی است که عمدتاً خودمحدودشونده است و به‌ندرت دچار عود می‌شود، درحالی‌که پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن فرمی است که به‌ندرت تک‌فازی است و توانایی عود مجدد دارد [۶].

بر اساس مستندات موجود، نقش سیستم ایمنی در بروز بیماری گیلن باره، بسیار مهم و پررنگ است. با وجود تولید مقادیر زیاد IgG علیه پپتیدهای میلین، سلول‌های B خاطره نیز نقش کلیدی را در پاتوژنز گیلن باره بازی می‌کنند. در مطالعات پیشین نشان داده شده است که درصد سلول‌های B خاطره در بیماران مبتلابه گیلن باره نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است و با شدت بیماری ارتباط مستقیم دارد. اتوآنتی‌بادی‌های IgG به‌طور کاملاً مؤثر به آنتی‌ژن‌های خودی متصل می‌شود و توانایی فعال‌کردن سیستم کمپلمان را دارند؛ بنابراین، سبب ارتقای دمیلین‌شدن و تخریب آکسونال می‌شوند [۷]. همچنین نشان داده شده است IgG، C3 و کمپلکس حمله به غشا در گره‌های ثانویه بیماران مبتلابه گیلن باره رسوب می‌کند. کمپلکس‌های آنتی‌بادی علیه گانگلیوزید سبب فعال‌شدن بیشتر کمپلمان نسبت به زمانی می‌شود که آنتی‌بادی علیه گانگلیوزید منفرد ساخته می‌شود [۸].

پس از کشف اینترلوکین ۳۴ در سال ۲۰۰۸ مشخص شد این سایتوکاین گیرنده مولکول‌هایی نظیر CSF-1 (Cerebrospinal Fluid)، PTPRZ1 (Receptor-type tyrosine-protein phosphatase zeta) و syndecan-1 (CD138) است [۹]. اینترلوکین ۳۴ می‌تواند نقش‌های متنوعی در محافظت سیستم عصبی، بیماری‌های خودایمن، عفونت، سرطان و بیماری‌های دژنراتیو استخوان داشته باشد [۱۰]. در انسان اینترلوکین ۳۴، M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) و GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) بقا و تمایز مونوسیت‌ها به ماکروفاژها را موجب می‌شوند. ماکروفاژهای القاشده با GM-CSF معمولاً به نام M1 نامیده می‌شوند. اینترلوکین ۳۴ و M-CSF تمایز ماکروفاژها با فنوتیپ مشابه را منجر می‌شوند. این ماکروفاژها اینترلوکین 10^{high} و اینترلوکین 12^{low} هستند که اینترلوکین ۲۳ تولید نمی‌کنند و سطح کمی از MHC-II، CD80 و CD86 را بیان می‌کنند. ماکروفاژهای القاشده با اینترلوکین ۳۴ و M-CSF میزان کمتری از تحریک‌کنندگی سلول‌های T را نشان و فعالیت سلول‌های T افکتور را کاهش می‌دهند [۱۱]. بر اساس مطالعات انجام‌شده، اینترلوکین ۳۴ در بیماری آلزایمر نقش مهمی دارد و توسط نورون‌ها ترشح می‌شود. همچنین سلول‌های میکروگلیال رسپتور این سایتوکاین را بیان می‌کنند که درنتیجه آن، ماکروفاژها تکثیر می‌شود و آمیلویید بتا را از بین می‌برند و به نقص عملکرد سیستم عصبی و وقوع بیماری آلزایمر منجر می‌شود [۱۲].

با توجه به موارد یادشده، این مطالعه با هدف تعیین میزان بیان مولکولی اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه سندروم گیلن باره در مقایسه با گروه کنترل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی، روی دو گروه از افراد انجام شد که شامل گروه آزمون (بیمار) که به سندروم گیلن باره مبتلا بودند [چه در فاز مزمن بیماری (پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن) و چه در فاز حاد (پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد)] و گروه کنترل (سالم) که به این بیماری مبتلا نبودند.

معیار ورود به مطالعه عبارت بود از: افراد مبتلابه سندروم گیلن باره مراجعه‌کننده به بیمارستان سینا (بستری و سرپایی) و کلینیک تخصصی امام خمینی همدان که وجود این بیماری در آن‌ها قطعی شده است.

معیار خروج عبارت بود از: سابقه ابتلا به سایر بیماری‌های زمینه‌ای و خودایمن.

معیار ورود برای گروه کنترل نیز شامل افراد سالمی بود که از نظر میانگین سنی و جنسی با گروه بیمار همسان‌سازی شدند.

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

معیار خروج نیز ابتلا به سندرم گیلن باره و سایر بیماری‌های خودایمن و عفونی و مطابق‌نبودن از لحاظ سنی و جنسی با گروه بیمار بود.

برای تعیین تعداد نمونه با توجه به اینکه مطالعه مشابهی در زمینه ژن‌های بررسی‌شده در این مطالعه انجام نشده است، لذا از اطلاعات مقاله Xu و همکاران (۲۰۱۶) استفاده شد که درباره ژن‌های دیگر انجام شده بود [۱۳]. با توجه با این اطلاعات و فرمول آماری و با درنظرگرفتن خطای نوع اول ۵ درصد و توان آزمون ۸۰ درصد، تعداد نمونه لازم در این مطالعه ۴۰ نفر به‌دست آمد.

تعداد افراد مطالعه‌شده و نمونه‌گیری از آن‌ها

از ۵۳ بیمار مبتلابه سندروم گیلن باره در استان همدان نمونه‌گیری انجام شد. بیماران پس از معاینه و تأیید پزشک فوق تخصص (بخش نورولوژی مرکز آموزشی درمانی سینا همدان)، بر اساس راهنمای موجود در کتاب Victors and Adams principles of neurology (ویرایش دهم) انتخاب و در صورت واجد شرایط بودن، ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی در لوله خلأ خون‌گیری حاوی ضدانعقاد EDTA جمع‌آوری شد. از ۴۰ داوطلب گروه کنترل نیز خون‌گیری انجام شد.

استخراج RNA از خون تام

بدین منظور از کیت استخراج RNA محصول شرکت Gene ALL (Gene All Hybrid-RTM Blood RNA) ساخت کره جنوبی استفاده شد. برای بررسی کمیت RNA استخراج‌شده از دستگاه نانودراپ و خوانش جذب نوری در نسبت A260/A280 و A260/A230 و برای بررسی کیفیت RNA استخراج‌شده از الکتروفورز نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۲ درصد استفاده شد. الگوی الکتروفورز نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۲ درصد در مقایسه با Ladder نشان‌دهنده کیفیت RNA استخراج‌شده است.

سنتز cDNA

به‌منظور سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA (Gene ALL-HyperScript™) ساخت کره جنوبی و دستگاه ترمال سایکلر (Techne) ساخت آلمان استفاده شد. مشخصات دمایی و زمانی اعمال‌شده در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱: دما و زمان‌های دستگاه ترمال سایکلر برای سنتز cDNA

زمان (دقیقه)	دما (سانتی‌گراد)
۵	۲۵^0
۶۰	۵۵^0
۵	۸۵^0

طراحی پرایمر

طراحی پرایمر برای ژن اصلی و ژن مرجع، با کمک نرم‌افزار Allele ID نسخه ۷/۸۲ انجام شده است. طراحی پرایمرها به‌صورت Exon-Exon junction انجام شد تا پرایمرها توانایی اتصال به توالی‌های DNA را نداشته باشند و فقط به cDNA متصل شوند. درنتیجه وجود DNA درون نمونه cDNA موجب پدیدآمدن خطا نمی‌شود. به‌منظور تأیید عملکرد اختصاصی، توالی پرایمرها در سایت NCBI با BLAST کردن ارزیابی شد. در جدول ۲ مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده آمده است.

آزمایش Real-time PCR

در این بخش از روش سایبرگرین و دستگاه ریل تایم شرکت Roche (Light cycler-96) ساخت کشور آلمان استفاده شد. در جدول ۳ مشخصات سیکل‌های اعمال‌شده آمده است.

Ct حاصل از واکنش Real-Time PCR با تعداد نسخه cDNA اولیه ارتباط دارد. به عبارتی دیگر، هرچه تعداد نسخه cDNA اولیه بیشتر باشد، تعداد چرخه‌های کمتری مورد نیاز است که تعداد محصول به حد قابل شناسایی برسد. همچنین برای بررسی آلودگی‌های احتمالی از کنترل منفی استفاده شد. در این مطالعه از فرمول لیواک برای نرمال‌سازی داده‌ها و مقایسه بیان ژن‌های مدنظر در گروه‌های بیمار و کنترل استفاده شد:

$$\Delta Ct\ (\text{test or control}) = Ct\ (\text{target}) - Ct\ (\text{reference})$$

برای مقایسه میزان بیان ژن‌های مدنظر در گروه بیمار و

جدول ۲: مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده

ژن	توالی پرایمر	طول پرایمر	اندازه محصول
اینترلوکین ۳۴	F: CTGTACTGCTCCTGCTGTAAC R: CATACTGCAATGAGGGCTCTG	۲۱ ۲۲	۱۰۱

جدول ۳: مراحل واکنش Real-Time PCR

مرحله	دما (سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل‌ها
فعال‌سازی پلیمراز	۹۵	۱۰ (دقیقه)	۱
دناتوراسیون	۹۵	۱۰ (ثانیه)	۴۰
اتصال پرایمر / اکستنشن	۶۰	۱ (دقیقه)	

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

کنترل از محاسبه $2^{-\Delta Ct}$ استفاده شد.

به‌منظور تحلیل داده‌های Real-time PCR از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون‌های کولموگروف اسمیرنف، تی مستقل و تحلیل واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه‌های چندگانه از آزمون توکی استفاده شد. همچنین برای ترسیم نمودارها از GraphPadPerism نسخه ۶ استفاده شد. P<۰/۰۵ به‌عنوان حد معنی‌داربودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۵۳ بیمار مبتلابه سندروم گیلن باره، ۳۳ بیمار به نوع پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن مبتلا بودند و تحت درمان قرار داشتند. ۲۰ بیمار دیگر به پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد مبتلا بودند. همچنین بیماران از نظر سابقه ابتلا به عفونت نیز به دو گروه طبقه‌بندی شدند که ۲۴ نفر از آن‌ها سابقه ابتلا به عفونت (صرف‌نظر از نوع عفونت) داشتند و ۲۹ نفر بدون سابقه ابتلا به عفونت بودند. ۴۰ فرد نیز در گروه کنترل سالم قرار گرفتند که به هیچ‌گونه بیماری‌ای مبتلا نبودند. دو گروه بیمار و کنترل از لحاظ سنی و جنسی همسان‌سازی شده بودند و برای اطمینان از این موضوع، آزمون تی مستقل انجام و مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد (P=۰/۹۳). جدول ۴ مشخصات دموگرافیک گروه‌های مطالعه‌شده را نشان می‌دهد.

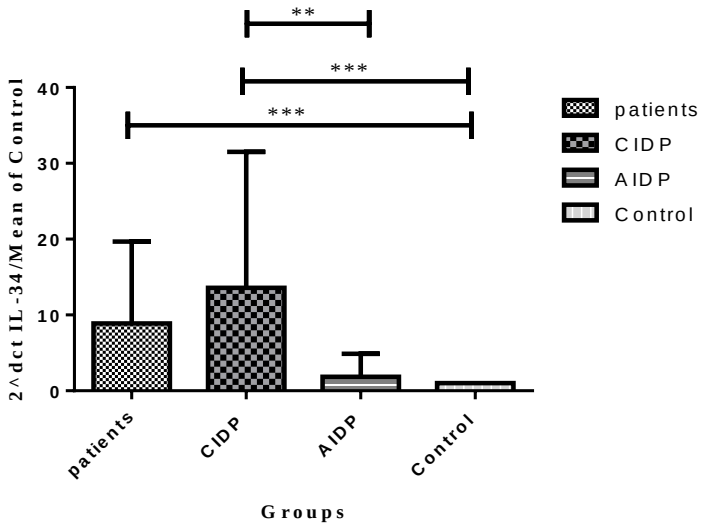
بررسی میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در بین گروه‌های مطالعه‌شده

به‌منظور بررسی نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه بیان این ژن بین گروه بیمار و کنترل از آزمون تی مستقل استفاده شد. به‌منظور مقایسه بیان این ژن در بین گروه‌های بیمار (پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن و حاد) و کنترل (سه گروهه) از آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌طرفه آنووا استفاده شد. همچنین از آزمون توکی برای مقایسه میانگین دوبه‌دو گروه‌ها استفاده شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان حد معنادار در نظر گرفته شد. نتایج این آزمون‌ها در شکل ۱ آمده است.

در شکل ۲، میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل سنجیده شده که بیانگر افزایش معنادار است (P=۰/۰۰۰). یافته‌های آزمون آماری در بین گروه‌های پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن و کنترل نشان‌دهنده افزایش معنادار بیان این ژن در گروه پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن است (P=۰/۰۰۰). بیان ژن در گروه پلی‌نوروپاتی

جدول ۴: مشخصات دموگرافیک، توزیع جنسیتی و توزیع سنی افراد مطالعه‌شده

گروه	تعداد	زنان تعداد (درصد)	مردان تعداد (درصد)	سن انحراف‌معیار± میانگین
پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن	۳۳	(۳۰/۳)۱۰	(۶۹/۷)۲۳	۵۰/۳۰ ± ۳/۰۲
پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد	۲۰	(۳۰)۶	(۷۰)۱۴	۵۲/۹۵ ± ۳/۸۹
بیماران با سابقه ابتلا به عفونت	۲۴	(۳۳/۴)۶	(۶۶/۶)۱۶	۴۸/۷۹ ± ۳/۶۶
بیماران بدون سابقه ابتلا به عفونت	۲۹	(۳۴/۵)۱۰	(۶۵/۵)۱۹	۵۳ ± ۳/۳۳
گروه کنترل	۴۰	(۳۲/۵)۱۳	(۶۷/۵)۲۷	۵۱/۶۳ ± ۲/۵۴

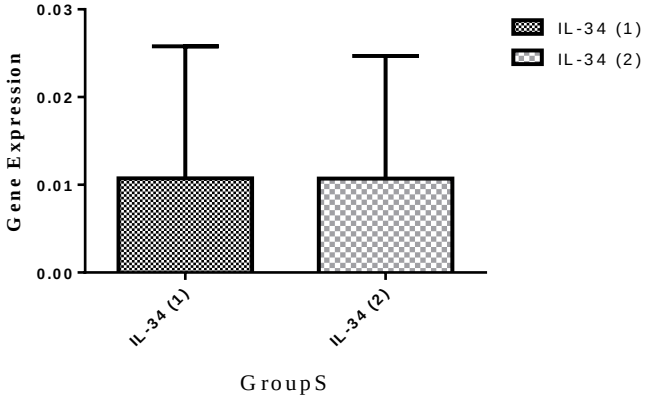


شکل ۱: مقایسه بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در گروه‌های بیمار در مقایسه با گروه کنترل

** P<۰/۰۱؛ *** P<۰/۰۰۱ اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]



شکل ۲: مقایسه سابقه ابتلا به عفونت و میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در گروه بیمار
(۱) بیماران با سابقه ابتلا به عفونت؛ (۲) بیماران بدون سابقه ابتلا به عفونت

دمیلینیزاسیون التهابی مزمن نسبت به گروه حاد افزایش معنادار داشته است (P=۰/۰۰۱). با وجود اینکه میزان بیان این ژن در گروه پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی حاد نسبت به کنترل افزایش داشته، اما این اختلاف معنادار نبوده است (P=۰/۹۳).

مقایسه میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در گروه‌های با سابقه ابتلا به عفونت و بدون سابقه ابتلا

در این مطالعه به‌منظور بررسی نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه سابقه ابتلا به عفونت و میزان بیان ژن اینترلوکین ۳۴ از آزمون تی مستقل استفاده شد. نتایج مندرج در نمودار ۲ اختلاف معناداری را در بین گروه‌های مطالعه نشان نداد (P=۰/۹۸).

بحث

در مطالعه حاضر سطح بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در سه گروه بیمار، پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاسیون التهابی مزمن و حاد نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار داشته است. در تحقیقات مختلف نشان داده شده است اینترلوکین ۳۴ در پاتوژنز چندین بیماری خودایمن نقش دارد. مطالعه Xie و همکارانش در سال ۲۰۱۸ نشان داد سطح سرمی اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه SLE به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل است که با شدت فعالیت بیماری در ارتباط است؛ بنابراین، این سایتوکاین به‌عنوان مارکر فعالیت بیماری در نظر گرفته می‌شود [۱۴]. در مطالعه Wang و همکارانش در سال ۲۰۱۸ نشان داده شد بیان ژن اینترلوکین ۳۴ در بافت تیروئید بیماران مبتلابه تیروئید هاشیموتو (HT: Hashimoto's thyroiditis) به‌طور معناداری کاهش یافته است. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد سطح سرمی اینترلوکین ۳۴ نیز در این بیماران به‌طور معناداری کاهش یافته است. به‌علاوه نشان داده شد اینترلوکین ۳۴ با اتوآنتی‌بادی‌های تیروئیدی در هر دو بافت تیروئید و سرم در ارتباط است. از طرفی دیگر، نتایج مطالعه نشان می‌دهد اینترلوکین ۳۴ القاشده با CSF-1R سبب آپوپتوز thiyocyteها و درنتیجه تخریب آن‌ها می‌شود [۱۵].

اینترلوکین ۳۴ سایتوکاینی است که از نظر عملکرد مشابه M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) است. در مطالعه Bostrom و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نشان داده شد بیان اینترلوکین ۳۴ با TNF-α و اینترلوکین 1β افزایش می‌یابد؛ بنابراین، اینترلوکین ۳۴ ممکن است به التهاب و پوکی استخوان در بیماری‌های تخریب‌کننده استخوان مانند پریودنتیت منجر شود [۱۶]. در مطالعه Yang و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد سطح اینترلوکین ۳۴ در مایع سینوویال افراد مبتلابه RA به‌طور معناداری افزایش یافته است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد اینترلوکین ۳۴ سبب تحریک فعالیت P-STAT3 و درنهایت بیان miR-21 شده است که در بقای سلول و مقاومت در برابر آپوپتوز نقش دارد؛ بنابراین، مسیر پیام‌رسانی اینترلوکین 34/STAT-3/miR-21 مسیری حیاتی برای بقای فیبروبلاست‌های سینوویال در بیماران مبتلابه RA است که از این مسیر می‌توان به‌عنوان اهداف درمانی استفاده کرد [۱۷].

نتایج مطالعه Tian و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نشان داد سطح سرمی اینترلوکین ۳۴ به‌طور معناداری در بیماران مبتلابه RA بالا و با شدت فعالیت بیماری در ارتباط است. همچنین سطح این سایتوکاین در مایع سینوویال این بیماران نسبت به سطح سرمی آن بیشتر است. در این مطالعه نشان داده شد در سطح سرمی اینترلوکین ۳۴ بعد از درمان با anti-TNF دچار کاهش می‌شود. همچنین در حضور اینترلوکین ۳۴، اینترلوکین ۱۷ دچار افزایش می‌شود. نتایج این مطالعه بیان می‌کند اینترلوکین ۳۴ ممکن است در پاتوژنز RA ایفای نقش کند [۱۸]. همسو با نتایج این مطالعه، نتایج مطالعه Cheng و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان می‌دهد سطح سرمی اینترلوکین ۳۴ و اینترلوکین ۱۷ به‌عنوان دو فاکتور التهابی در بیماران نفریت لوپوسی (LN: Lupus nephritis)

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]
[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

بـه‌طور معناداری افزایش یافته اســت که به‌عنوان مارکرهای تشــخیص بالینی، درمان و پیشــرفت بیماری در نظر گرفته می‌شــوند [۱۹]. همچنین نشـان داده شـده اسـت سلول‌های Th17 نقش مهمی در پاتوژنز ســندرم گیلن باره دارند [۲۰]؛ بنابراین، احتمالاً اینترلوکین ۳۴ در ســندرم گیلن باره نقش پاتوژنیک داشته باشد.

اینترلوکین ۳۴ سـایتوکاینی اسـت که سـبب تمایز و تولید مـاکروفـاژهای M1 و M2 و درنهایت افزایش تولید اینترلوکین ۱۰ و CCL-17 می‌شود [۲۱]. از طرفی، Chen و همکارانش در سـال ۲۰۱۲ در مطالعه‌ای نشـان دادند اینترلوکین ۱۰ در افراد مبتلابه نوع پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاســیون التهابی مزمن افزایش یافته اســت. همچنین ماکروفاژهای القاشــده با اینترلوکین ۳۴ قادر به القای تمایز سلول‌های T مبتدی به سمت فنوتیپ Th1 هســتند [۲۲،۲۳]. Chi و همکـارانش در ســال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای نشـان دادند نسـبت سـلول‌های Th17 در PBMC و مـایـع مغزی نخـاعی بیمـاران مبتلابـه نوع پلی نوروپـاتی دمیلینیزاســیون التهـابی مزمن کـه در فاز فعال بیماری قرار دارنـد، نســبت به افراد با نوع پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاســیون التهـابی مزمن کـه در فـاز غیرفعال بیماری قرار دارند افزایش داشــته اســت؛ اما هر دو نوع افراد مبتلابه نوع پلی‌نوروپاتی دمیلینیزاســیون التهـابی مزمن کـه در فـاز فعال و غیرفعال بیمـاری قرار دارنـد، افزایش در ســلول‌های Th1 را در مایع مغزی نخاعی نشان دادند [۲۴]؛ ، اینترلوکین ۳۴ ممکن است بـه‌واســطـه تحریـک تمـایز ســلول‌های Th1 یا القای بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پاتوژنز سندرم گیلن باره نقش داشـته باشـد [۲۵]. همسـو با نتایج مطالعات ذکرشـده، نتایج مطـالعه حاضــر نیز حاکی از افزایش بیان اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه سندرم گیلن باره است که شواهدی را بر نقش این سایتوکاین در پاتوژنز این بیماری فراهم می‌کند؛ بنابراین، بررســی‌هـای بیشــتر در زمینـه مکانیســم‌های مولکولی و فرایندهای ایمونوپاتوژنز این سایتوکاین لازم است.

نتایج مطالعه حاضر بیان می‌کند بین گروه بیماران با سابقه ابتلا به عفونت در مقایسه با گروه بیماران بدون سابقه ابتلا به عفونت از نظر بیان ژن اینترلوکین ۳۴ اختلاف معناداری وجود ندارد. سایتوکاین‌ها پاسخ ایمنی میزبان را هنگام عفونت تنظیم می‌کنند. سایتوکاین‌های ضدالتهابی و PAMPها بیان اینترلوکین ۳۴ را القا می‌کنند که درنتیجه آن، پاسخ ایمنی ذاتی علیه عفونت‌ها تعدیل می‌شود. اینترلوکین ۳۴ با ایفای نقش خود در تحمل ایمنی به ماندگاری ویروس‌ها کمک می‌کند [۲۶،۲۷]. بیماران مبتلابه عفونت هپاتیت C افزایش سطح اینترلوکین ۳۴ را نشان می‌دهند. همین مورد در بیماران مبتلابه عفونت آنفلوانزا A نیزمشاهده شده است که در آن‌ها تولید اینترلوکین ۳۴ به‌شدت به پاسخ التهابی واسطه اینترلوکین ۲۲ بستگی دارد [۲۸،۲۹].

همسو با مطالب ذکرشده، نتایج مطالعه Liu و همکارانش در سال ۲۰۱۹ نشان داد اینترلوکین ۳۴ احتمالاً با دخالت در تمایز ماکروفاژها به سمت فنوتیپ M2 نقش حفاظتی در کبد و سرکوب‌کننده التهاب در هپاتیت دارد [۳۰]. همچنین در مطالعه Bezie و همکارانش در سال ۲۰۱۵ مشخص شد اینترلوکین ۳۴ به‌عنوان سرکوبگر اختصاصی سلول‌های Treg و به‌عنوان سایتوکاین تولروژنیک مهارکننده پاسخ‌های ردکننده پیوند عمل می‌کند و موجب تحمل پیوند می‌شود [۳۱].

نتیجه‌گیری

در این مطالعه افزایش بیان اینترلوکین ۳۴ در بیماران مبتلابه سندرم گیلن باره مشاهده شد. نتایج بر نقش احتمالی این سایتوکاین در پاتوژنز این بیماری تأکید دارند. بااین‌وجود بررسی‌های بیشتری در خصوص مکانیسم‌های مولکولی و فرایندهای ایمونوپاتوژنز این سایتوکاین در جامعه آماری بزرگ‌تر لازم به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد ایمنی‌شناسی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره ۹۸۰۱۲۷۳۲۲ گرفته شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و تمام عزیزانی اعلام می‌دارند که در تکمیل این پروژه همکاری داشتند.

تضاد منافع

در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی گزارش نشده است.

ملاحظات اخلاقی

پژوهشگران در تمامی مراحل انجام این مطالعه به مفاد بیانیه هلسینکی مقید بودند. تمام اطلاعات مربوط به بیماران محرمانه خواهد ماند. پیش از آغاز مطالعه، از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد IR.UMSHA.REC. 1397.807 مجوز دریافت شد. از بیماران و گروه کنترل در ابتدای پژوهش رضایت کتبی و آگاهانه گرفته شد. ورود به مطالعه داوطلبانه بود و تمایل‌نداشتن بیماران نسبت به شرکت در مطالعه مانعی برای اقدام درمانی برای آن‌ها ایجاد نمی‌کرد. از افراد شرکت‌کننده در مطالعه هیچ‌گونه هزینه‌ای دریافت نشد.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی) تهیه پروپوزال، انجام امور آزمایشگاهی ۱۵ درصد؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی) مشاور علمی و معرفی بیماران ۱۰ درصد؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار) مشاوره علمی طرح، ویرایش علمی مقاله ۱۰ درصد؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار) مشاور آماری طرح،

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]

روش‌شناسی ۱۰ درصد؛ نویسنده پنجم (پژوهشگر اصلی) مسئول مکاتبات، طراحی پروژه، تدوین بخش‌های مختلف طرح، نگارش و ویرایش مقاله ۵۵ درصد.

حمایت مالی

این مطالعه از سوی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان پشتیبانی مالی شده است.

REFERENCES

1. Walling AD, Dickson G. Guillain-Barre syndrome. *Am Fam Physician*. 2013;**87**(3):191-7. PMID: 23418763
2. Willison HJ, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain-Barre syndrome. *Lancet*. 2016;**388**(10045):717-27. PMID: 26948435 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00339-1
3. Dimachkie MM, Barohn RJ. Guillain-Barré syndrome and variants. *Neurol Clin*. 2013;**31**(2):491-510. PMID: 23642721 DOI: 10.1016/j.ncl.2013.01.005
4. Lambracht-Washington D, Wolfe GI. Cytokines in Guillain-Barré syndrome: a lesson in time. *Arch Neurol*. 2011;**68**(4):427-8. PMID: 21482922 DOI: 10.1001/archneurol.2011.47
5. Zhang HL, Zheng XY, Zhu J. Th1/Th2/Th17/Treg cytokines in Guillain–Barré syndrome and experimental autoimmune neuritis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2013;**24**(5):443-53. PMID: 23791985 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2013.05.005
6. Mathey EK, Park SB, Hughes RA, Pollard JD, Armati PJ, Barnett MH, et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;**86**(9):973-85. PMID: 25677463 DOI: 10.1136/jnnp-2014-309697
7. Yuki N. Ganglioside mimicry and peripheral nerve disease. *Muscle Nerve*. 2007;**35**(6):691-711. PMID: 17373701 DOI: 10.1002/mus.20762
8. Rodriguez Y, Rojas M, Pacheco Y, Acosta-Ampudia Y, Ramirez-Santana C, Monsalve DM, et al. Guillain-Barre syndrome, transverse myelitis and infectious diseases. *Cell Mol Immunol*. 2018;**15**(6):547-62. PMID: 29375121 DOI: 10.1038/cmi.2017.142
9. Segaliny AI, Brion R, Mortier E, Maillasson M, Cherel M, Jacques Y, et al. Syndecan-1 regulates the biological activities of interleukin-34. *Biochim Biophys Acta*. 2015;**1853**(5):1010-21. PMID: 25662098 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2015.01.023
10. Guillonneau C, Bezie S, Anegon I. Immunoregulatory properties of the cytokine IL-34. *Cell Mol Life Sci*. 2017;**74**(14):2569-86. PMID: 28258292 DOI: 10.1007/s00018-017-2482-4
11. Foucher ED, Blanchard S, Preisser L, Descamps P, Ifrah N, Delneste Y, et al. IL-34- and M-CSF-induced macrophages switch memory T cells into Th17 cells via membrane IL-1alpha. *Eur J Immunol*. 2015;**45**(4):1092-102. PMID: 25545357 DOI: 10.1002/eji.201444606
12. Segaliny AI, Mohamadi A, Dizier B, Lokajczyk A, Brion R, Lanel R, et al. Interleukin-34 promotes tumor progression and metastatic process in osteosarcoma through induction of angiogenesis and macrophage recruitment. *Int J Cancer*. 2015;**137**(1):73-85. PMID: 25471534 DOI: 10.1002/ijc.29376
13. Xu J, Gao C, Zhang F, Ma X, Peng X, Zhang R, et al. Differentially expressed lncRNAs and mRNAs identified by microarray analysis in GBS patients vs healthy controls. *Sci Rep*. 2016;**6**:21819. PMID: 26898505 DOI: 10.1038/srep21819
14. Xie HH, Shen H, Zhang L, Cui MY, Xia LP, Lu J. Elevated serum interleukin-34 level in patients with systemic lupus erythematosus is associated with disease activity. *Sci Rep*. 2018;**8**(1):3462. PMID: 29472590 DOI: 10.1038/s41598-018-21859-z
15. Wang S, Liu Y, Zhao N, Cui X, Huang M, Li Y, et al. IL-34 expression is reduced in hashimoto's thyroiditis and associated with thyrocyte apoptosis. *Front Endocrinol*. 2018;**9**:629. PMID: 30405534 DOI: 10.3389/fendo.2018.00629
16. Boström EA, Lundberg P. The newly discovered cytokine IL-34 is expressed in gingival fibroblasts, shows enhanced expression by pro-inflammatory cytokines, and stimulates osteoclast differentiation. *PloS One*. 2013;**8**(12):e81665. PMID: 24339952 DOI: 10.1371/journal.pone.0081665
17. Yang S, Jiang S, Wang Y, Tu S, Wang Z, Chen Z. Interleukin 34 upregulation contributes to the increment of MicroRNA 21 expression through STAT3 activation associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2016;**43**(7):1312-9. PMID: 27084907 DOI: 10.3899/jrheum.151253
18. Tian Y, Shen H, Xia L, Lu J. Elevated serum and synovial fluid levels of interleukin-34 in rheumatoid arthritis: possible association with disease progression via interleukin-17 production. *J Interferon Cytokine Res*. 2013;**33**(7):398-401. PMID: 23421370 DOI: 10.1089/jir.2012.0122
19. Cheng Y, Yang X, Zhang X, An Z. Analysis of expression levels of IL-17 and IL-34 and influencing factors for prognosis in patients with lupus nephritis. *Exp Ther Med*. 2019;**17**(3):2279-83. PMID: 30783486 DOI: 10.3892/etm.2019.7168
20. Debnath M, Nagappa M, Subbanna M, Sundaravadivel P, Talukdar PM, Shivakumar V, et al. Th17 pathway signatures in a large Indian cohort of Guillain Barré syndrome. *J Neuroimmunol*. 2018;**323**:125-30. PMID: 30196825 DOI: 10.1016/j.jneuroim.2018.08.001
21. Boulakirba S, Pfeifer A, Mhaidly R, Obba S, Goulard M, Schmitt T, et al. IL-34 and CSF-1 display an equivalent macrophage differentiation ability but a different polarization potential. *Sci Rep*. 2018;**8**(1):256. PMID: 29321503 DOI: 10.1038/s41598-017-18433-4
22. Chen H, Ende N, Souayah N. The cytokine profile of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (P06.134). *Neurology*. 2012;**78**(1 Suppl):P06.134.
23. Lindau R, Mehta RB, Lash GE, Papapavlou G, Boij R, Berg G, et al. Interleukin-34 is present at the fetal-maternal interface and induces immunoregulatory macrophages of a decidual phenotype in vitro. *Hum Reprod*. 2018;**33**(4):588-99. PMID: 29579271 DOI: 10.1093/humrep/dey037
24. Chi LJ, Xu WH, Zhang ZW, Huang HT, Zhang LM, Zhou J. Distribution of Th17 cells and Th1 cells in peripheral blood and cerebrospinal fluid in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. 2010;**15**(4):345-56. PMID: 21199106 DOI: 10.1111/j.1529-8027.2010.00294.x
25. Sivieri S, Ferrarini AM, Lolli F, Matà S, Pinto F, Tavolato B, et al. Cytokine pattern in the cerebrospinal fluid from patients with GBS and CIDP. *J Neurol Sci*. 1997;**147**(1):93-5. PMID: 9094066 DOI: 10.1016/s0022-510x(96)00319-x
26. Baghdadi M, Endo H, Tanaka Y, Wada H, Seino KI. Interleukin 34, from pathogenesis to clinical applications. *Cytokine*. 2017;**99**:139-47. PMID: 28886491 DOI: 10.1016/j.cyto.2017.08.020
27. Zelante T, Ricciardi-Castagnoli P. The yin-yang nature of CSF1R-binding cytokines. *Nat Immunol*. 2012;**13**(8):717-9. PMID: 22814343 DOI: 10.1038/ni.2375
28. Ge Y, Huang M, Yao YM. Immunomodulation of interleukin-34 and its potential significance as a disease biomarker and therapeutic target. *Int J Biol Sci*. 2019;**15**(9):1835-45. PMID: 31523186 DOI: 10.7150/ijbs.35070
29. Preisser L, Miot C, Le Guillou-Guillemette H, Beaumont E, Foucher ED, Garo E, et al. IL-34 and macrophage colony-stimulating factor are overexpressed in hepatitis C virus fibrosis and induce profibrotic macrophages that promote collagen synthesis by hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2014;**60**(6):1879-90. PMID: 25066464 DOI: 10.1002/hep.27328
30. Liu Y, Liu H, Zhu J, Bian Z. Interleukin-34 drives macrophage polarization to the M2 phenotype in autoimmune hepatitis. *Pathol Res Pract*. 2019;**215**(8):152493. PMID: 31201067 DOI: 10.1016/j.prp.2019.152493
31. Bézie S, Picarda E, Ossart J, Tesson L, Usal C, Renaudin K, et al. IL-34 is a Treg-specific cytokine and mediates transplant tolerance. *J Clin Invest*. 2015;**125**(10):3952-64. PMID: 26389674 DOI: 10.1172/JCI81227

[Downloaded from sjh.umsha.ac.ir on 2023-12-07]

[DOI: 10.29252/ajcm.27.2.77]