

بررسی میزان δ -IFN و IL-4 در بزاق مبتلایان به لیکن پلان دهانی

دکتر شیما نفرزاده[#] دکتر امرالله مصطفی زاده^۱ دکتر علی بیژنی^۲ دکتر محسن صدیق^۴

۱- استادیار بخش آسیب شناسی دهان، فک و صورت و عضو مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۲- دانشیار بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- پزشک عمومی و مشاور آمار، مرکز تحقیقات بیماریهای غیر واگیر کودکان امیرکلا

۴- دندانپزشک

خلاصه:

سابقه و هدف: گزارشات متفاوتی در رابطه با تغییرات سطح بزاقی اینترلوکین ۴ و اینترفرون گاما در بیماران مبتلا به لیکن پلان وجود دارد اما همواره پاتوژن این بیماری مورد سوال است. هدف از این مطالعه ارزیابی سطح بزاقی این نشانگر، در بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی بزاق ۸۴ نمونه شامل ۳۰ بیمار مبتلا به لیکن پلان دهانی و ۵۴ فرد سالم که ضایعه مخاطی نداشتند بررسی شد. نمونه های بزاقی جهت ارزیابی میزان اینترلوکین ۴ و اینترفرون گاما به روش الیزا بررسی شدند و یافته ها با آزمون Mann-U-Whitney و آزمون های همبستگی پیرسون و اسپیرمن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: میزان اینترفرون گاما در مبتلایان به لیکن پلان دهانی و افراد سالم به ترتیب، $(4/48 \pm 4/3)$ و $(3/54 \pm 2/7)$ و میزان اینترلوکین ۴ به ترتیب $(3/28 \pm 11/07)$ و $(2/86 \pm 6/3)$ بود. $(P = 0.06)$ و $(P = 0.07)$ و تفاوت معنی داری بین دو گروه دیده نشد.

متغیرهای فوق در لیکن پلان رتیکولر و اروزیو نیز تفاوت معنی داری نداشت. $(P = 0.2)$

نتیجه گیری: به نظر می رسد تغییرات اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ بزاقی نقشی در پاتولوژی لیکن پلان دهانی ندارد.

کلید واژه ها: لیکن پلان دهانی، اینترلوکین-۴، اینترفرون گاما

وصول مقاله: ۹۱/۱۱/۱۸ اصلاح نهایی: ۹۱/۱۰/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۱/۷/۴

مقدمه:

باشند و شیوع لیکن پلان دهانی نیز بین ۰/۱ تا ۲/۲ درصد و در سالین ۳۰-۶۰ سال گزارش شده است. اگرچه علت این بیماری نامعلوم است اما از لحاظ هیستوپاتولوژیکی، دژنره یا انحطاط اپیتلیوم سلول بازال بعنوان علت احتمالی آن مطرح شده است.^(۱) OLP از نظر بالینی نمودهای متفاوتی دارد اما عمدتاً به سه صورت رتیکولار، اروزیو و بولوز دیده می شود که شکل رتیکولار آن شایع تر از سایر اشکال است.^(۱-۴) هر چند در یک مطالعه نوع اروزیو بعنوان رایج ترین شکل OLP مطرح شده است. از نظر میکروسکوپی OLP بوسیله هایپرکراتوزیس، دژنراسیون سلول های قاعده ای مخاط دهان، ضخیم شدگی غشای پایه و تجمع لنفوسيت های زیر مخاطی مشخص می

لیکن پلان دهانی (OLP)، یک بیماری نسبتاً شایع و مزمن پوستی- مخاطی است که غالباً مخاط دهان را گرفتار می کند.

^(۱) لیکن پلان عموماً یک بیماری ایمونولوژیک در نظر گرفته می شود که از نظر میکروسکوپیک شبیه به یک واکنش ازدیاد حساسیت با دخالت سلول های T می باشد.^(۲) عواملی چون استرس، دیابت، هپاتیت C، ترومما و ازدیاد حساسیت به دارو و فلزات می توانند کوفاکتورهای ایجاد کننده لیکن پلان باشند. اکثر بیماران مبتلا به لیکن پلان، بالغین میان سال می باشند. زنان نیز به نسبت ۳ به ۲، بیشتر از مردان گرفتار می شوند.^(۳) در حدود ۱ درصد جمعیت، دارای لیکن پلان پوستی می

ممکن است بیماری‌های خودایمنی در ارگان‌های مشخصی ایجاد کند.^(۸) همچنین فعال شدن نامناسب سلول‌های Th2 به شروع بیماری‌های آتوپیک و آلرژیک کمک می‌کند.^(۸,۹) بنابراین نظریه عدم تعادل فعالیت Th2/Th1 عنوان یک مکانیسم بیماری‌های التهابی/خودایمنی مطرح است و نسبت اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ به عنوان نشان دهنده وضعیت تمایز Th2/Th1 حائز اهمیت می‌باشد.^(۹)

Khan و همکاران افزایش بیان اینترفرون گاما مترسخه از Tcell Rhodus را در ضایعات OLP نشان دادند.^(۱۰) همکاران نشان دادند که سایتوکاین‌های التهابی در سطوح افزایش یافته‌ای در مایعات دهانی بیماران با OLP یافت می‌شوند.^(۱۱) Simark-Mattson و همکاران تنها در mRNA درصد یا کمتر از سلول‌های بافتی لیکن پلان دهانی، مثبت اینترفرون گاما را یافتند که بروز پایین این ماده را نشان می‌دهد.^(۱۲) با توجه به یافته‌های متفاوت مطالعات قبلی، در این مطالعه به بررسی میزان اینترلوکین ۴ و اینترفرون گاما در مبتلایان به OLP پرداختیم.

مواد و روش‌ها:

این تحقیق یک مطالعه موردی-شاهدی بود که پس از تایید کمیته اخلاق، طی سالهای ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ در دانشکده دندانپزشکی بابل بر روی بزرگ ۳۰ فرد مبتلا به لیکن پلان دهانی که تشخیص قطعی آن از طریق بیوپسی تأیید شده بود و بزرگ ۵۴ فرد سالم که در معاینه کلینیکی فاقد هر نوع ضایعه مخاطی بودند، انجام شد. عدم ابتلا به هر نوع بیماری سیستماتیک و عدم استعمال سیگار و همچنین عدم وجود ضایعه بافت نرم دهان در ۳ ماه گذشته معیارهای ورود به مطالعه بودند.

افراد برای یک ساعت قبل از زمان نمونه گیری (ساعت ۸-۱۲)، از خوردن، آشامیدن و جویدن آدامس منع شدند و سپس بزرگ خود را قورت داده و سر خود را به سمت جلو چرخانده و تمام بزرگ خود را برای مدت ۵ دقیقه بدون قورت دادن در لوله‌های فالکون استریل ۵۰ سی سی ریختند. سپس در سانتریفیوژ در

شود.^(۱) علت دقیق بیماری OLP ناشناخته است. مشکلات سیستم ایمنی سلولی با بیماری زایی OLP مرتبط بوده است. داده‌های کنونی نشان می‌دهند که OLP یک بیماری خودایمنی سلول واسطه T است که در آن سلول‌های T کشنده CD8+ عليه سلول‌های پوششی دهان حمله می‌کنند.^(۳) اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ سایتوکاین‌های شاخص لیکن پلان دهانی دخیل می‌باشند.^(۴) اینترلوکین ۴ محرك گسترش سلولهای Th2 از سلولهای تی CD4+ است و عنوان یک عامل رشد اتوکراین برای سلولهای Th2 تمایز یافته عمل می‌کند.^(۵)

نقش اینترفرون گاما در ایمنی وابسته به سلول علیه میکروب‌های درون سلولی مهم است. تا به امروز نتیجه مطالعات بر روی هر دو سایتوکاین در لیکن پلان دهانی متناقض بوده است.^(۵,۶) بنابراین، منطقی است با استفاده از یک روش کاملاً کمی میزان اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ در ضایعات لیکن پلان دهانی بررسی شود با این کار نقش واقعی تری از آنها در بافت‌های موضعی لیکن پلان دهانی یافت می‌شود.^(۶) سلول‌های تی CD4+ انواع مشخصی از سایتوکاین‌ها را تولید و به واسطه آن‌ها پاسخ‌های ایمنی متفاوتی در OLP ایجاد می‌گردد.^(۷) نشان داده شده که اینترفرون گاما به عنوان سایتوکاین شاخص Th1 و اینترلوکین-۴ به عنوان سایتوکاین شاخص Th2 در یکسری از بیماری‌های التهابی خود ایمنی اثر مهاری متقابل از خود نشان می‌دهند.^(۵) اینترلوکین ۴ برای تمایز سلول‌های Th2 ضروری است و تنظیم کننده تولید آنتی بادی و پاسخ‌های ایمنی مسئول در التهابات موکزال موضعی می‌باشد.^(۴) هنوز مشخص نشده است که این طرح مهاری در پاتوژن OLP وجود دارد یا خیر.^(۶) اینترفرون گاما در فعال کردن سلول‌های تی سایتوکسیک نقش دارد و در شروع و مزمن شدن OLP تأثیر گذار است و پلی مورفیسم ژنتیکی اینترفرون گاما می‌تواند به عنوان یک عامل خطرساز مهم در شروع بیماری نقش داشته باشد.^(۷) پیامدهای پاتولوژیک بی نظمی در پاسخ ایمنی سلول‌های Th1 یا فعال شدن بیش از اندازه آن،

جدول ۱- میزان شاخص های γ -IFN و IL-4 بر حسب گروه های مورد مطالعه

شاخص ها	تعداد = ۵۴	تعداد = ۳۰	مورد آزمون من وینتی
IFN- γ	۴/۴۸±۴/۳۷	۲/۵۱±۲/۷۲	P = ۰/۸۷
IL-4	۲/۲۸±۱۱/۰۷	۲/۸۶±۶/۳۳	P = ۰/۰۶

همانگونه که در جدول فوق مشاهده می شود اختلاف میانگین غلظت اینترلوکین ۴ ، بین گروه مبتلا به لیکن پلان دهانی و گروه کنترل معنادار نبود. (جدول ۱)

جدول ۲- میزان شاخص های γ -IFN و IL-4 بر حسب انواع بالینی لیکن پلان دهانی

شاخص ها	لیکن پلان رتیکولر	لیکن پلان اروزیو	آزمون من وینتی
IFN- γ	۳/۲۷±۲/۹۴	۳/۹۹±۲/۲۸	P = ۰/۲۷
IL-4	۳/۰۴±۵/۶۴	۲/۴۹±۷/۸۷	P = ۰/۲۲

همچنین از نظر میزان این دو عامل بین لیکن پلان رتیکولر و اروزیو نیز تفاوت معناداری دیده نشد. ($P=0/2$) همچنین نتیجه آزمون همبستگی پیرسون برابر $0/286$ بود. ($P=0/008$) و ضریب همبستگی اسپیرمن برابر $0/142$ بود. ($P=0/196$)

بحث

در مطالعه حاضر، میزان اینترفررون گاما در بزاق مبتلایان به OLP کمی پایین تر از گروه کنترل بود و همچنین میزان اینترلوکین ۴ در بزاق بیماران مبتلا به OLP در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد، اما تفاوت از نظر آماری معنی دار

شاید 4 درجه سانتیگرادبا سرعت 6000 دوردردیقه، به مدت 20 دقیقه سانتریفیوژ شدن. هر نمونه به 2 کرایوتیوب $1/5$ میلی لیتری منتقل شد و در در دمای -80 - درجه جهت آنالیز نهایی نگهداری شدند. سپس تمام نمونه ها جهت تعیین غلظت اینترلوکین 4 ، اینترفررون گاما، با کیت الایزا - Bender med system - ساخت کشور آمریکا، آزمایش شدند. روش کار به طور خلاصه بدین ترتیب بود. اضافه کردن Assay buffer در مورد کیت اینترلوکین 4 و Diluent در مورد کیت اینترفررون گاما، اضافه کردن کونزوگه اضافه کردن HRP- Streptavidin ، اضافه کردن TMB سوسترا، اضافه کردن stop solution و در نهایت خوانده شدن در طول موج 450 نانومتر و 620 نانومتر توسط ELISA reader و ارایه نتایج بر حسب پیکوگرم بر میلی لیتر. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS17 مورد آنالیز قرار گرفت. بدین منظور از آزمون Mann-U- Whitney و ضرایب همبستگی پیرسون و اسپیرمن استفاده شد. ($P < 0/05$) به عنوان معیار معنی دار بودن نتایج آماری در نظر گرفته شد.

یافته ها:

در این مطالعه 84 نمونه مربوط به 30 بیمار دارای لیکن پلان دهانی 20 موردلیکن پلان رتیکولر و 10 مورد لیکن پلان اروزیو) و 54 فرد سالم بررسی شدند و سن مبتلایان به لیکن پلان دهانی $8/4$ $45/2\pm 10/4$ سال و سن افراد سالم $42/3\pm 61$ درصد زن و 39 درصد مرد و در گروه شاهد 61 درصد زن و $36/7$ درصد مرد بودند. ($P < 0/2$) نمونه ها از لحاظ سن و جنس در دو گروه تفاوت آماری نداشتند. محل ضایعه لیکن پلان در گروه مورد $26/7$ درصد زبان و $73/3$ درصد مخاط گونه بوده است

تحقیق حاضر می‌باشد.^(۱۳) تفاوت مشاهده شده ممکن است به خاطر تفاوت در کیت‌های استفاده شده وجود آنژیم‌هایی که سبب اختلال در عملکرد کیت و واکنش آنتی‌زن – آنتی‌بادی شده است، باشد. **Xiao** و همکارانش افزایش اینترلوکین ۴ در بزاق بیماران مبتلا به **OLP** را نشان دادند که می‌تواند نقش احتمالی آن را پاتوژن **OLP** نشان دهد.^(۶)

Liu و همکارانش میزان بیشتری از اینترلوکین ۴ در بزاق مبتلایان به **OLP** ارتیماتوز/ اولسراتیو در مقایسه با گروه رتیکولر را مشاهده کردند که این یافته متفاوت از نتایج این تحقیق است.^(۱۸) تفاوت مشاهده شده شاید به دلیل تفاوت تعداد نمونه‌های این دو تحقیق وابتلای بیشتر نمونه‌های آنها به لیکن پلان دهانی نوع اروزی‌بوده باشد.

نتیجه گیری:

با توجه به یافته‌های این مطالعه و عدم مشاهده تفاوت معنی دار بین میزان اینترفرون گاما و اینترلوکین ۴ در بزاق مبتلایان به لیکن پلان دهانی و افراد سالم، به نظر نمی‌رسد این دو فاکتور بزاقی در پاتوژن لیکن پلان دخیل باشند. با توجه به نتایج متفاوت سایر مطالعات انجام تحقیقات دیگر در زمینه شناسایی نقش مدیاتورها در نمونه‌های بافتی و بزاقی بیماران مبتلا به لیکن پلان لازم می‌باشد.

تقدیروتشکر:

این مقاله حاصل طرح مصوب دانشگاه علوم پزشکی بابل به شماره ۸۱۲۱۱۷۶ در دانشکده دندانپزشکی بوده و کلیه هزینه‌ها از جانب معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه پرداخت شده است که جا دارد کمال تشکر بعمل آید. همچنین از آقای محسن آفاجانپور که زحمت انجام تست الایزا را بعهده داشتند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

نبود. این امر شاید به تعداد نمونه‌ها و تعلق بیشتر آنها به نوع رتیکولر مربوط باشد.

لیکن پلان دهانی یک بیماری مزمن التهابی است که با پاسخ ایمنی سلول‌های **T** علیه سلول‌های اپی تلیالی شناخته می‌شود.^(۶)

نتایج مطالعه **Yamamoto** و همکارانش مشابه مطالعه حاضر می‌باشد. آن‌ها نیز میزان کمتر اینترفرون گاما را در مبتلایان به **OLP** در مقایسه با افراد سالم مشاهده کردند که این کاهش معنی دار نبود، با این تفاوت که تحقیق آن‌ها بر روی خون افراد انجام شده بود.^(۱۳) نتایج مطالعه **Pekiner** و همکاران نیز مشابه تحقیق حاضر بود ولی بر روی سرم بیماران انجام شده بود.^(۱۴)

نتایج مطالعه **Karagouni E** و همکارانش متفاوت از مطالعه حاضر بود. آنها مطالعه‌ای در مورد تغییر در عملکرد سلول‌های مونونوکلئار در خون و سایتوکاین‌های سرم ۳۱ بیمار با لیکن پلان دهانی انجام دادند و با ۲۳ مورد سالم مقایسه کردند. آنها دریافتند اینترفرون گاما و اینترلوکین ۲ و اینترلوکین ۶ در خون بیماران **OLP** کاهش معنی داری می‌یابد.^(۱۵)

نتایج مطالعه **Simark-Mattson** و همکارانش تنها در ۱ درصد یا کمتر از سلول‌های بافت ضایعات **mRNA**, **OLP** مثبت اینترفرون گاما یافتند که بروز پایین این ماده را نشان می‌دهد که می‌تواند با یافته ما همخوانی داشته باشد^(۱۶) **Xie** و همکاران افزایش سطح **IL-17** و کاهش سطح اینترفرون گاما را در سرم مبتلایان به لیکن پلان دهانی در مقایسه با افراد سالم، مشاهده کردند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.^(۱۷)

نتایج مطالعه **Khan** و همکارانش مشخص کردند که سلول‌های تی در ضایعات **OLP**، اینترفرون گاما ترشح می‌کنند اما ترشح اینترلوکین ۴، اینترلوکین ۱۰، **TGF-** مشاهده نشد. یافته قسمت اول تحقیق آنها متضاد با نتایج این تحقیق است.^(۱۰)

نتایج مطالعه **Yamamoto** و همکارانش افزایش معنی داری در اینترلوکین ۴ در نمونه‌های بافت ضایعه و افزایش خفیف میزان اینترلوکین ۴ را در بزاق مبتلایان نشان دادند که یافته آنها متضاد با نتایج

References:

- 1- Neville Bw , Damm DD, AlLen C. Bouquot JE .Oral and Maxillofacial Pathology, 3nd ed .Philadelphia:W.B.Saunders ; 2009.p: 782-788.
- 2- RegeziJA,Scuibba JJ, Jordan RCK. Oral Pathology.5nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2008.p: 98.
- 3- Ismail SB, Kumar SK, Zain RB.Oral Lichen Planus and LichenoidReactions:Ethiopathogenesis,Diagnosis,Malignanttransformation:Review. J Oral Sci. 2007 Jun;49(2):89-106.
- 4- Abol K.A. Cellular and Molecular Immunology, 1nd ed. Hayan Co; 2005.p:253-255.
- 5- NeurathMF,FionttoS,GlimcherLH.The role of Th1/Th2 Polarization in Mucosal Immunity . Nat Med. 2002 Jun;8(6):567-73
- 6- Tao XA, Li CY, Rhodus NL, Xia J, Yang XP, Cheng B. Simultaneous detection of INF-gamma and IL-4 in lesionaltissuses and whole unstimulated saliva from paients with oral lichen planus . J Oral Pathol Med. 2008 Feb;37(2):83-7
- 7- Ansel KM, Lee DU, Rao A. An epigenetic view of helper T cell differentiation. Nat Immunol. 2003 Jul;4(7):616-23.
- 8- Ghoreschi K, Thomas P, Breit S, Dugas M, Mailhammer R, van Eden W, et al . Interleukin-4therapy of psoriasis induces Th2 reponses and improves human autoimmune disease . Nat Med. 2003 Jan;9(1):40-6
- 9- Kalogerakou F, Albanidou-Farmaki E, Markopoulos AK, Antoniades DZ. Detection of Tcellssecrtting Type 1 and Type2 cytokines in the peripheral boold of patients with oral lichen planus . Hippokratia. 2008;12(4):230-5.
- 10- Khan A.Farah CS, Savage NW,WalshLJ,HarbrowDJ,Sugerman PB.Th1 cytokines in oral lichen planus. J Oral Pathol Med. 2003 Feb;32(2):77-83.
- 11- Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Bowles W, Ho V, Ondrey F. A comparison of the pro-inflammatory, NF-kappaB-dependent cytokines: TNF-alpha, IL-1-alpha, IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients. Clin Immunol. 2005 Mar;114(3):278-83.
- 12- Simark-Mattsson C, Bergenholz G, Jontell M, Eklund C, Seymour GJ, Sugerman PB,etal. Distribution of interleukin-2, -4, -10, tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta mRNAs in oral lichen planus. Arch Oral Biol. 1999 Jun;44(6):499-507
- 13- Yamamoto T, Yoneda K, Ueta E, Hirota J, Osaki T. Serum cytokine levels in patients with oral mucous membrane disorders. J Oral Pathol Med. 1991 Jul;20(6):275-9.
- 14- Pekiner FN,DEmirel GY,Boralan MO, Ozbayrak S. Cytokine profiles in serum of patients with oral lichen planus. Cytokine. 2012 Dec;60(3):701-6.
- 15- Karagouni EE, Dotsika EN, SklavounouA.Alteration in peripheral boold mononuclear cell function and serum cytokines in oral lichen planus. J Oral Pathol Med. 1994 Jan;23(1):28-35.
- 16- Simark Mattsson C, Jontell M, Bergenholz G, Heyden M, Dahlgren UI. Distribution of interferon-gamma mRNA-positive cells in oral lichen planus lesions. J Oral Pathol Med. 1998 Nov;27(10):483-8.
- 17- Xie S, Ding L, Zong Z, Zhu S . Implications of Th1 and Th17 cells in pathogenesis of oral lichen planus. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 2012 Jun;32(3):451-7.
- 18- Liu W, Dan H, Wang Z, Jiang L, Zhou Y, Zhao M,etal. IFN-gamma and IL-4 in saliva of patients with oral lichen planus: A study in an ethnic chinese population. Inflammation. 2009 Jun;32(3):176-81