

## افزایش سطوح سایتوکاین های التهابی IL-6 و TNF- $\alpha$ در سرم بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر

مرضیه عزیزیان<sup>۱</sup>، حبیب اله ترکی<sup>۲</sup>، اسد میرزایی<sup>۳\*</sup>

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد (سلامی) واحد اراک، اراک، ایران  
(۲) مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، هرمزگان، ایران  
(۳) گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴

### چکیده

**مقدمه:** سندرم روده تحریک پذیر (IBS) عارضه ای با درد شکمی و ناراحتی روده ای است. مطالعات اخیر نشان می دهند که سیستم ایمنی در پاتوژنز این بیماری دخیل می باشد. از سایتوکاین های مهم هدایت کننده سیستم ایمنی که ممکن است در ایمونوپاتوژنز بیماری نقش ایفا کنند؛ می توان TNF- $\alpha$  و IL-6 را نام برد. هدف مطالعه حاضر بررسی سطوح سرمی این سایتوکاین ها در بیماران مبتلا به IBS بود.

**مواد و روش ها:** مطالعه به صورت مورد-شاهدی بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به IBS (گروه مورد) و ۴۰ فرد دارای علائم بیماری مذکور که از نظر ابتلا به IBS منفی گزارش گردیدند (گروه شاهد) انجام شد. مقادیر سرمی سایتوکاین های TNF- $\alpha$  و IL-6 به روش ایمونواسی (الایزا) اندازه گیری گردید. مقادیر سرمی سایتوکاین های مذکور در دو گروه تحت مطالعه نیز با روش آزمون t مستقل با هم مقایسه شد.

**یافته های پژوهش:** نتیجه این مطالعه حاکی از آن بود که میانگین سطوح سرمی TNF- $\alpha$  و IL-6 در افراد دارای سندرم روده تحریک پذیر به طور معنی داری نسبت به افراد با بیماری های گوارشی اما فاقد سندرم روده تحریک پذیر بالاتر است ( $P=0.0001$ ) و با استفاده از روش ناپارامتری اسپیرمن، مقادیر سرمی سایتوکاین های TNF- $\alpha$  ( $P=0.000$ ,  $\rho=0.788$ ) و IL-6 ( $P=0.000$ ,  $\rho=0.799$ ) ارتباط معنی دار و قوی با بروز IBS نشان دادند.

**بحث و نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که مقادیر سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  در افراد مبتلا به IBS به طور معنی داری بیشتر از افراد شاهد است و سطوح سرمی این دو فاکتور با پاتوژنز بیماری IBS ارتباط دارند.

**واژه های کلیدی:** سندرم روده تحریک پذیر، ایترلوکین، فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا، الایزا

\* نویسنده مسئول: گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

Email: amirzaei@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

بیماری سندرم روده تحریک پذیر عارضه ای است که باعث تغییر در عملکرد روده شده، با درد شکمی و ناراحتی روده ای همراه است. در این بیماری واکنش روده به محرک های روده ای یا محرک های روانی به شدت بالا می رود و منجر به درد و ناراحتی در این اندام می شود (۱). هر چند که بیماری در تمام رده های سنی دیده می شود ولی روش های درمانی مختلف در بالغین بیشتر مورد توجه است. بر اساس مطالعات انجام شده استعداد ابتلا به این بیماری در زنان بیشتر از مردان می باشد. متأسفانه علی رغم بالا بودن شیوع بیماری و عوارض اقتصادی و اجتماعی آن، اتیولوژی و پاتوژنز بیماری هم چنان ناشناخته مانده است. استرس های روحی-روانی، جنس، دوران جوانی، سوء مصرف مواد دارویی یا روانی، درد کولیک، ابتلا به انگل بلاستوسیتیس هومینیس در دوران نوزادی، تغییرات روده بزرگ و کوچک به دنبال عفونت روده ای، تروما و عوامل ارثی به عنوان عوامل اتیولوژیک بیماری گزارش شده اند (۲-۵). محققان نشان داده اند که سیستم ایمنی در پاتوژنز این بیماری نیز دخیل می باشد و سایتوکاین ها و پروتئین های ترشح شده توسط سلول های ایمنی ذاتی و تطبیقی بر سیر بیماری اثرگذارند (۶). سایتوکاین ها به عنوان پیام رسان های سیستم ایمنی نقش ایفا می کنند (۷). TNF- $\alpha$  و IL-6 واسطه های اصلی پاسخ التهابی حاد می باشد. اگر چه سلول های T تحریک شده با آنتی ژن، سلول های کشنده طبیعی و ماست سل ها می توانند پروتئین های IL-6 و TNF را ترشح کنند، اما منبع سلولی اصلی فاگوسیت کننده های تک هسته ای فعال شده می باشد (۸). بررسی بیان و نقش فاکتورهای التهابی در IBS در حال پیگیری است و امروزه موضوع بسیاری از تحقیقات می باشد (۹-۱۱). هدف از این پژوهش بررسی سطوح سرمی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در مبتلایان به IBS در مقایسه با گروه شاهد (کنترل سالم از نظر ابتلا به IBS) می باشد.

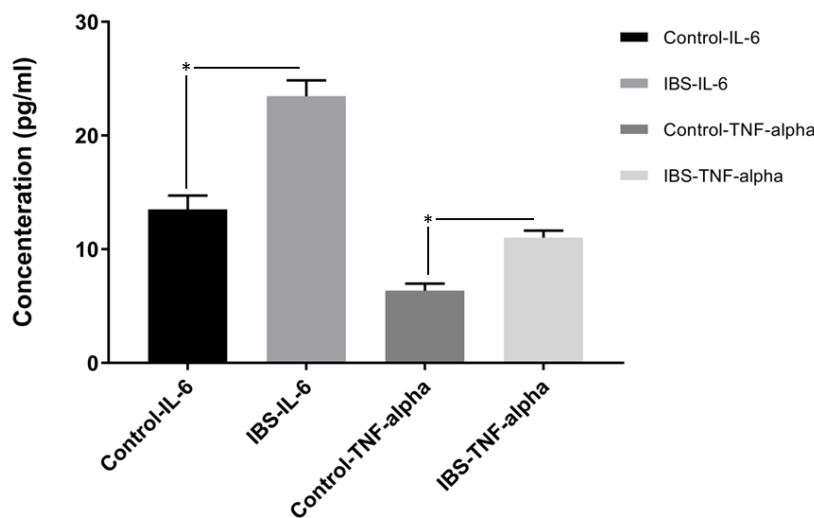
در این مطالعه مورد-شاهدی ۴۰ بیمار مبتلا به IBS که به صورت متوالی به بیمارستان شهید مصطفی خمینی ایلام مراجعه کرده بودند و بیماری آن ها بر اساس یافته های بالینی محرز گردیده بود به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. علاوه بر این، ۴۰ فرد دارای علائم بیماری مذکور که از نظر ابتلا به IBS منفی بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. افراد گروه شاهد و مورد از لحاظ سن و جنس با هم مطابقت داده شدند (شکل شماره ۱). از همه افرادی که در این مطالعه شرکت کردند، رضایت نامه آگاهانه کتبی دریافت گردید و مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه (شماره کمیته اخلاق دانشگاه EC/92/H/132) مورد تایید قرار گرفت. افراد مبتلا به انواع بدخیمی های گوارشی و هم چنین افرادی که از داروهای ضد التهابی مصرف می کردند از مطالعه خارج گردیدند. از همه افراد تحت مطالعه در شرایط ناشتا، ۵ سی سی خون وریدی تهیه گردید. سپس سرم ها جمع آوری شدند و تا زمان سنجش های ایمنولوژی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. مقادیر سرمی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز توموری آلفا با روش الایزای ساندویچی و توسط کیت های تجاری مربوطه (ab46027 برای اینترلوکین ۶ و ab46087 برای فاکتور نکروز توموری آلفا؛ از شرکت ABCAM کشور انگلیس) و مطابق دستورالعمل کیت سنجش گردیدند. داده های مطالعه با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تحت آنالیز آماری قرار گرفتند. برای مقایسه مقادیر سرمی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز توموری آلفا بین گروه شاهد و مورد، از آزمون آماری t مستقل استفاده گردید. سطح معنی داری آماری در این مطالعه کمتر از  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. هم چنین به منظور بررسی همبستگی بین بروز بیماری IBS و سطوح سرمی هر سایتوکاین از آزمون ناپارامتری اسپیرمن استفاده شد و سطح معنی داری آماری کمتر از  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

#### یافته های پژوهش

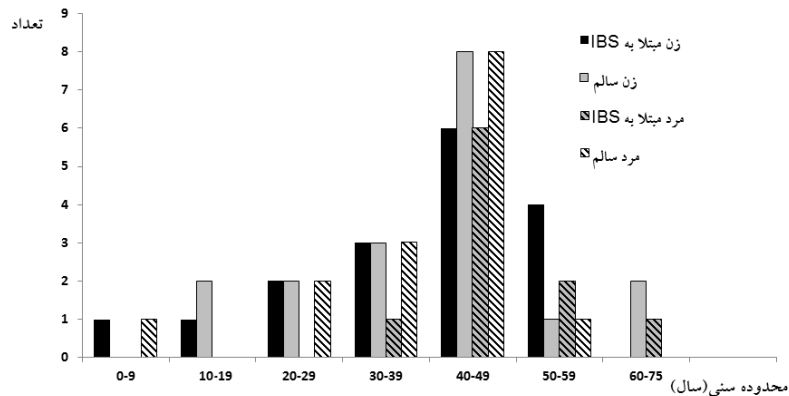
در مجموع هشتاد نمونه سرم (۴۰ نفر بیمار مبتلا به IBS و ۴۰ نفر شاهد) برای اندازه گیری میزان IL-6 و TNF- $\alpha$  با تکنیک الایزا مورد بررسی قرار گرفتند.

گردید. میزان اینترلوکین ۶ در گروه IBS و گروه کنترل به ترتیب  $23/436 \pm 0/669$  و  $13/499 \pm 0/603$  پیکوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد (شکل شماره ۲) که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P=0.00001$ ). هم چنین، میزان فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا در گروه IBS و گروه کنترل به ترتیب  $11/058 \pm 0/297$  و  $6/362 \pm 0/306$  پیکوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد (شکل شماره ۲) و این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P=0.00001$ ). با استفاده از روش همبستگی ناپارامتری اسپیرمن، مقادیر سرمی سایتوکاین های  $TNF-\alpha$  ( $\rho=0.788$ ,  $P=0.000$ ) و IL-6 ( $\rho=0.799$ ,  $P=0.000$ ) ارتباط معنی دار و قوی با بروز IBS نشان دادند.

مقادیر ضریب تغییرات درون سنجی و برون سنجی برای اینترلوکین ۶ به ترتیب ۳ درصد و ۷ درصد بود. به همین ترتیب، این مقادیر برای فاکتور نکروز توموری آلفا به ترتیب ۴ درصد و ۶ درصد بود. کمترین میزان  $TNF-\alpha$  در سرم بیماران مبتلا به IBS برابر با  $6/65$  پیکوگرم بر میلی لیتر و در افراد شاهد  $2/7$  پیکوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد و بیشترین میزان در افراد مورد  $13/68$  پیکوگرم بر میلی لیتر و برای گروه شاهد  $9/52$  پیکوگرم بر میلی لیتر بود. هم چنین کمترین میزان IL-6 در سرم بیماران مبتلا به IBS برابر با  $14/61$  پیکوگرم بر میلی لیتر و در افراد شاهد برابر با  $1/28$  پیکوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. بالاترین میزان آن در افراد مورد  $29/21$  پیکوگرم در میلی لیتر و در افراد شاهد  $19/26$  پیکوگرم بر میلی لیتر سنجش



شکل شماره ۱. نمودار دموگرافیک جمعیت بیمار و کنترل با توجه به محدوده سنی و جنسیت



شکل شماره ۲. مقادیر سرمی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا در بیماران مبتلا به IBS و گروه شاهد. همان طوری که مشاهده می شود مقادیر سرمی این سایتوکاین ها در بیماران مبتلا به IBS به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد است ( $P=0.0001$ ). میزان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) اینترلوکین ۶ در گروه IBS و گروه کنترل به ترتیب  $23/436 \pm 0/669$  و  $13/499 \pm 0/603$  پیکوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P=0.00001$ ). هم چنین، میزان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا در گروه IBS و گروه کنترل به ترتیب  $11/058 \pm 0/297$  و  $6/362 \pm 0/306$  پیکوگرم در میلی لیتر بود و این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار شد ( $P=0.00001$ ). علامت \* نشان دهنده اختلاف معنی دار بین دو گروه مورد مقایسه می باشد.

### بحث و نتیجه گیری

پاتوفیزیولوژی بیماری سندرم روده تحریک پذیر هنوز به خوبی شناخته نشده است. در این مطالعه میزان سطح سرمی سایتوکاین های IL-6 و TNF- $\alpha$  در بیماری سندروم روده تحریک پذیر مورد بررسی قرار گرفت. هدف این تحقیق بر آن بود تا دو فاکتور مهم ایمنی یعنی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده توموری-آلفا را در سرم بیماران مبتلا به بیماری IBS را سنجش کند. نتایج نشان داد که بین دو گروه مورد مطالعه یعنی بیمار و شاهد در سطوح سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  از لحاظ آماری اختلاف معنی دار وجود دارد و با استفاده از روش ناپارامتری اسپیرمن، مقادیر سرمی سایتوکاین های IL-6 و TNF- $\alpha$  از لحاظ آماری ارتباط معنی دار و قوی با بروز IBS نشان دادند. تا به حال، چندین مکانیسم پیشنهادی برای پاتوژنز بیماری سندرم روده تحریک پذیر ارائه شده است که می توان از بین آن ها به تغییر در نحوه تحرک روده، بیش حساسی و اسپرال، به هم خوردن تعادل ارتباط بین دستگاه روده ای با مغز، استرس و فاکتورهای روان شناختی اشاره کرد (۱۴-۱۲). از طرف دیگر، مطالعات اخیر دلالت بر وجود التهاب در موکوس روده بزرگ در این بیماران دارد که شواهد آن شامل افزایش

لنفوسیت ها، ماست سل ها و سلول های انتروکرومافین است (۱۵،۱۶). علاوه بر این، تغییرات دیگر تنظیم سیستم ایمنی شامل سطوح پایین تر سرمی IL-10 و افزایش TNF-alpha نیز در این بیماران گزارش گردیده است (۱۷). با نتایج این تحقیق در مورد افزایش معنی دار غلظت سرمی TNF-alpha با نتایج حاصله در این مطالعه هم خوانی دارد و هر دو تأییدکننده افزایش این فاکتور در بیماران در مقایسه با گروه کنترل هستند. علاوه بر تعیین سطح سرمی، پژوهش دیگری بر روی پلی مورفیسم ژن TNF-alpha نیز صورت گرفته است که نشان می دهد که در یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (-308G/A) اختلاف معنی داری بین گروه مبتلا به IBS و گروه کنترل سالم وجود ندارد (۱۸). به نظر می رسد افزایش غلظت سرمی این فاکتور پروتئینی وابسته به مسیرهایی غیر از اختلافات ژنتیکی بر روی این ژن باشد و یا این که نقاط بازی دیگری از اختلاف ژنتیکی باید مورد بررسی قرار گیرد. فاکتور دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، سطوح سرمی اینترلوکین ۶ بود. مطالعه حاضر نشان داد که سطوح سرمی IL-6 نیز در بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر نیز در مقایسه با گروه کنترل سالم بیشتر است. مطالعه اخیر توسط Timothy

اما در حالت خودایمنی با شناسایی آنتی ژن های خودی بیماری خود ایمنی اتفاق می افتد. از جانب دیگر تمایز به Th2 منجر به ترشح سایتوکاین هایی نظیر IL-4 می شود که به نوبه خود با تاثیر بر لنفوسیت B منجر به تمایز این سلول ها به پلاسما سل و ترشح آنتی بادی می شود. از دیگر رده های سلولی کمکی می توان سلول های T تنظیمی را نام برد. این سلول ها با ترشح IL-10 منجر به سرکوب پاسخ ایمنی می شوند و نقش مهمی بر سیستم ایمنی دارند و بدین گونه مانع از واکنش بیش از حد سیستم ایمنی و آسیب زدن به بافت های خودی می شوند. مطالعات قبلی نشان می دهد که سلول های سیستم ایمنی از جمله سلول های T نقش فعالی در حین بیماری زایی IBS دارند (۲۳). شناسایی این رده های سلولی فعال (نظیر Th1 و یا دیگر رده ها) و نیز فاکتورهای مترشحه از آن و اینترلوکین های دخیل در سیر و روند بیماری می تواند راهگشای درمان در آینده باشد. اینترلوکین ۶ سایتوکاینی است که در هر دو ایمنی ذاتی و تطبیقی فعالیت دارد. این سایتوکاین توسط فاگوسیت های تک هسته ای، سلول های اندوتلیال عروق، فیبروبلاست ها و سایر سلول ها در پاسخ به میکروب ها و دیگر سایتوکاین ها  $TNF-\alpha$  ساخته می شود. ساخت این سایتوکاین توسط برخی از سلول های T فعال شده نیز صورت می گیرد (۲۴). در هر صورت این سایتوکاین تولید شده می تواند بر سلول T بکر اثر کرده و تعادل بین دو رده سلولی Treg/Th17 را تعیین کند (۲۵). این اینترلوکین می تواند قطبی شدن سلول T بکر را از T تنظیمی به سمت T اجرایی ترشح کننده IL-17 (Th17) منحرف کند و تعداد سلول های T سرکوبگر پاسخ های ایمنی در دستگاه گوارشی را کاهش دهد و بنا بر این بیماری خود ایمنی را در این جایگاه آناتومیکی تحریک کند. در سرم بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر سطوح اینترلوکین های التهابی افزایش می یابد. افزایش معنی دار در سطوح IL-6 و  $TNF-\alpha$  در خون بیماران IBS ممکن است ناشی از تقویت پاسخ ایمنی سلولی در اثر افزایش تولید سایتوکاین پیش التهابی در آن افراد مبتلا به IBS است. پژوهش های اخیر نشان داده است که فاکتور نکروز

G. Dinan نیز این یافته را تأیید می نماید (۱۹). از طرف دیگر، محققان نشان دادند که با استفاده از داروی محرک اعصاب می توان سطوح IL-6 و هورمون رشد در بیماران مبتلا به IBS را در مقایسه با گروه کنترل بیشتر افزایش داد، در حالی که سطوح IL-10 و IL-8 بدون تغییر خواهد ماند. از طرف دیگر، استفاده از داروهای ضد مومسکارینی مانع از افزایش سطوح فاکتور التهابی IL-6 و هورمون رشد گردید (۱۹). این شواهد حاکی از تحت تاثیر بودن سیستم ایمنی توسط سیستم عصبی است و نشان می دهد که دلیل ترشح بیش از حد نرمال IL-6 می تواند توسط اثر میانجی عصبی استیل کولین باشد، هر چند که این نکته در تحقیق حاضر بررسی نشد. در حقیقت علائم بالینی ایجاد شده در سیر بیماری IBS را به افزایش عوامل التهابی مرتبط می دانند. حتی نشان داده شده است که ترشح سایتوکاین های پیش التهابی از سلول های ایمنی خون محیطی در پاسخ به اندوتوکسین آزاد شده از باکتری ها موجب تقویت این پاسخ های التهابی در افراد مبتلا می گردد (۲۱، ۲۰). مکانیسم عمل این سایتوکاین ها به دلیل اثر آنه بر تنظیم سلول های T در جهت افزایش واکنش های خودایمنی در روده می باشد. سلول های T کمکی بکر (naive T helper) در مواجهه با آنتی ژن های بیگانه ارائه شده توسط سلول های دندریتیک قطبی شده و به انواعی از سلول های کمک کننده تبدیل می شوند. از جمله این سلول ها می توان سلول های Th1 و Th2 و Th17 و T تنظیمی (regulatory) را نام برد. قطبی شدن سلول T بکر به سلول های ذکر شده متأثر از نیچ (niche) سلولی می باشد که خود شامل انواعی از اینترلوکین ها و دیگر پروتئین های ترشح شده در محیط پیرامونی این سلول ها است. امروزه مشخص شده است که تمایز به یک رده سلولی خاص می تواند پاتوژن یک بیماری را تحریک و یا حتی مهار کند. برای مثال نشان داده شده است که تمایز به سلول های Th1 تحریک کننده بیماری مولتیپل اسکلروز می باشد (۲۲) چون که این سلول ها در حالت طبیعی ترشح  $IFN-\gamma$  (اینترفرون - گاما) و فعال سازی ماکروفاژها و فاگوسیتوز با باکتری ها داخل سلولی و پروتوزواها مبارزه می کنند

دهنده توموری توسط سلول های مونوسیت مزانتریک ترشح شده و تمایز سلول T بکر را به سلول های Th1 افزایش می دهد (۲۶). هم چنین این فاکتور می تواند با عمل سینرژیک اینترفرون- $\gamma$  سلول های استرومایی مغز استخوان را به سلول های Th1 تمایز دهد (۲۷). بنا بر این می توان نتیجه گرفت که نقش سیستم التهابی در زمینه روده سندرم تحریک پذیر نقش فعالی است. هر چند که در این مطالعه سطوح سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  اختلاف معناداری با گروه کنترل داشت اما بررسی سیر تحقیقات پیشین در زمینه سطوح سرمی این سایتوکاین ها در بیماران مبتلا به IBS نتایج ضد و نقیضی را مطرح می نمود که به چندی از مهم ترین آن ها اشاره می شود. مطالعه ای که توسط R. Vázquez-Frias و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت پذیرفت هر چند که سطوح IL-6 را مورد بررسی قرار نداد اما در مورد فاکتور TNF- $\alpha$  نشان داد که هیچ اختلاف معناداری بین گروه مبتلا به IBS و گروه کنترل وجود ندارد (۲۸) و ذکر این نکته ضروری است که تعداد بیماران در این مطالعه (۱۵ نفر) کمتر از مطالعه حاضر (۴۰ نفر) بود. اما مطالعه ای که توسط Sean M P Bennet و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت نشان داد که افزایش در سطوح سرمی این دو

سایتوکاین در بیماران مبتلا به IBS در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری معنادار نیست (۲۹). هر چند در مطالعه ای که توسط Seyedmehdi Seyedmirzaee و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام شد سطوح سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  در بیماران مبتلا به IBS به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود (۳۰) و این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم خوانی دارد. از حیث نوآوری می توان گفت که مطالعه حاضر سعی بر آن داشت تا علی رغم چندگانگی گزارشات در این زمینه بتواند به بیشتر مشخص شدن سطوح این دو سایتوکاین در سرم افراد مبتلا به IBS کمک کننده باشد. این مطالعه نشان داد که مقادیر سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  در افراد مبتلا به IBS به طور معنی داری بیشتر از افراد شاهد است و سطوح سرمی این دو فاکتور با پاتوژن بیماری IBS ارتباط دارند. به نظر می رسد برای رفع نقایض احتمالی و نتیجه گیری کلی تر از تحقیقات در زمینه این دو فاکتور التهابی و رفع ابهام در مورد افزایش یا کاهش سطوح آن ها باید حجم نمونه بسیار افزایش یابد یا آن که نتایج حاصله به صورت متا آنالیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند.

کد/خلاق: EC/92/H/132

#### References

1. Lembo AJ, Lacy BE, Zuckerman MJ, Schey R, Dove LS, Andrae DA, et al. Eluxadoline for irritable bowel syndrome with diarrhea. *New England J Med* 2016; 374:242-53. doi: 10.1056/NEJMoa1505180
2. Thompson JR. Is irritable bowel syndrome an infectious disease? *World J Gastroenterol* 2016;22:1331. doi: 10.3748/wjg.v22.i4.1331
3. Ju T, Naliboff BD, Shih W, Presson A, Liu C, Gupta A, et al. trauma severity and lack of confiding in others increases risk of having Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology* 2017;152: 711-2. doi:10.1016/S0016-5085(17)32482-4
4. Rostami A, Riahi SM, Haghghi A, Saber V, Armon B, Seyyedtabaei SJ. The role of Blastocystis sp. and Dientamoeba fragilis in irritable bowel syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Parasitol*

- Res2017;116:2361-71. doi: 10.1007/s00436-017-5535-6
5. Defrees DN, Bailey J. Irritable Bowel Syndrome epidemiology pathophysiology diagnosis and treatment. *Prim Care* 2017;44:655-71. doi: 10.1016/j.pop.2017.07.009
6. Boyer J, Saintpaul MC, Dadone B, Patouraux S, Vivinus MH, Ouvrier D, et al. Inflammatory cell distribution in colon mucosa as a new tool for diagnosis of irritable bowel syndrome a promising pilot study. *Neurogastroenterol Motil* 2017;2:23-8. doi: 10.1111/nmo.13223
7. Patel SR, Singh A, Misra V, Misra SP, Dwivedi M, Trivedi P. Levels of interleukins 2, 6, 8 and 10 in patients with irritable bowel syndrome. *Indian J Pathol Microbiol* 2017;60:385. doi: 10.4103/IJPM.IJPM\_544\_16

8. Alcamo A, Carroccio A, Liberto D, Presti EL, Fayer F, Dieli F, et al. Predominance of type 1 innate lymphoid cells in the rectal mucosa of patients with non-celiac wheat sensitivity: Reversal after a wheat-free diet. *Clin Trans Gast*2016;7:178. doi: e17810.1038/ctg.2016.35
9. Scully P, Mckernan DP, Keohane J, Groeger D, Shanahan F, Dinan TG, et al. Plasma cytokine profiles in females with irritable bowel syndrome and extra intestinal comorbidity. *Am J Gastroenterol*2010;105:2235-43. doi: 10.1038/ajg.2010.159
10. Goral V, Kucukoner M, Buyukbayram H. Mast cells count and serum cytokine levels in patients with irritable bowel syndrome. *Hepat Gastroenterol*2010;57:751-4.
11. Bashashati M, Rezaei N, Shafieyoun A, Mckernan DP, Chang L, Ohman L, et al. Cytokine imbalance in irritable bowel syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Neurogastroenterol Motil*2014;26:1036-48. doi: 10.1111/nmo.12358
12. Hasler WL. Traditional thoughts on the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 2011;40:21-43. doi: 10.1016/j.gtc.2010.12.004
13. Surdeablaga T, Baban A, Dumitrascu DL. Psychosocial determinants of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012;18:616-26. doi: 10.3748/wjg.v18.i7.616
14. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek S. Stress and the gut pathophysiology clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiol Pharmacol*2011;62:591-9.
15. Ford AC, Talley NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: a systematic review. *J Gastroenterol*2011;46:421-31. doi: 10.1007/s00535-011-0379-9
16. Schmulson M, Chey WD. Abnormal immune regulation and low grade inflammation in IBS does one size fit all? : *Nature Publ Group* 2012;3:123-7. doi: 10.1038/ajg.2011.427
17. Schmulson M, Pulido D, Rodriguez O, Morales N, Martinez R, Gutierrez MC, et al. Lower serum IL 10 Is an independent predictor of IBS among volunteers in Mexico. *Am J Gastroenterol*2012;107:747-53. doi: 10.1038/ajg.2011.484
18. Schmulson M, Pulido D, Rodriguez Ó, Morales N, Martinez R, Gutierrez MC, et al. IL10 and TNF alpha polymorphisms in subjects with irritable bowel syndrome in Mexico. *Rev Espanol Patol Dig* 2013;105:392-9. doi: 10.4321/S1130-01082013000700004
19. Dinan TG, Clarke G, Quigley EM, Scott LV, Shanahan F, Cryan J, et al. Enhanced cholinergic mediated increase in the pro inflammatory cytokine IL6 in irritable bowel syndrome role of muscarinic receptors. *Am J Gastroenterol*2008;103:2570. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.01871.x
20. Liebrechts T, Adam B, Bredack C, Roth A, Heinzl S, Lester S, et al. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*2007;132:913-20. doi: 10.1053/j.gastro.2007.01.046
21. Manchin H, Hsunchin C, Tsungchieh Y, Mingwei L, Jinglong H. Investigation of Interleukin-10 promoter polymorphisms and interleukin-10 levels in children with irritable bowel syndrome. *Gut Liver* 2013; 7: 430-36. doi: 10.5009/gnl.2013.7.4.430
22. Fletcher J, Lalor S, Sweeney C, Tubridy N, Mills K. T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Exp Immunol* 2010;162:1-11. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04143.x
23. Ohman L, Isaksson S, Lindmark AC, Posserud I, Stotzer PO, Strid H, et al. Tcell activation in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009;104:1205-12. doi: 10.1038/ajg.2009.116
24. Polster A, Tessier A, Le Neve B, Törnblom H, Ohman L, Simren M, et al. Global cytokine profiles and association with clinical characteristics in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2016;111:1165. doi: 10.1038/ajg.2016.223
25. Kimura A, Kishimoto T. IL6 regulator of Treg/Th17 balance. *European J Immunol* 2010;40:1830-5. doi: 10.1002/eji.201040391
26. Jin P, Zhao Y, Liu H, Chen J, Ren J, Jin J, et al. Interferony and tumor necrosis

- factor $\alpha$  polarize bone marrow stromal cells uniformly to a Th1 phenotype. *Sci Rep* 2016;6:26345. doi: 10.1038/srep26345
27. Munoz L, Albillos A, Nieto M, Reyes E, Lledo L, Monserrat J, et al. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF $\alpha$  production first steps to systemic inflammation in Rats with cirrhosis. *Hepatology* 2005;42:411-9. doi: 10.1002/hep.20799
28. Vazquezfrias R, Gutierrezreyes G, Urbanreyes M, Velazquez N, Fortoul TI, Lopez A, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine profile in pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Rev Gastroenterol Mexico* 2015;80:6-12. doi: 10.1016/j.rgm.2014.11.001
29. Bennet SM, Polster A, Tornblom H, Isaksson S, Capronnier S, Tessier A, et al. Global cytokine profiles and association with clinical characteristics in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2016;111:1165-76. doi: 10.1038/ajg.2016.223
30. Seyedmirzaee S, Hayatbakhsh MM, Ahmadi B, Baniyadi N, Bagherirafsanjani AM, Nikpoor AR, et al. Serum immune biomarkers in irritable bowel syndrome. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2016;40:631-7. doi: 10.1016/j.clinre.2015.12.013



## Elevated Serum Levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ in Patients with Irritable Bowel Syndrome

Azizian M<sup>1</sup>, Turki H<sup>2</sup>, Mirzaei A<sup>3\*</sup>

(Received: April 4, 2018

Accepted: March 5, 2019)

### Abstract

**Introduction:** Irritable bowel syndrome (IBS) is accompanied by abdominal pain and intestinal discomforts. A line of evidence shows that the immune system plays important roles in the pathogenesis of the disease. Two main cytokines directing the immune system are IL-6 and TNF- $\alpha$  which may play a role in the immunopathogenesis of this disease. The present study aimed at investigating the serum levels of these cytokines in patients suffering from IBS.

**Materials & Methods:** This comparative case-control study was conducted on 40 patients suffering from IBS (case group) and 40 people who were affected by the symptoms of gastrointestinal disorders but not suffering from IBS (control group). The serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 cytokines were measured using enzyme-linked immunosorbent assay. The amount of the above-mentioned cytokines was

compared using independent-t-test in both groups. *Ethics code:* EC/92/H/132

**Findings:** The results showed significantly higher levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in IBS patients, compared to those in the control group ( $P=0.0001$ ). According to the results obtained from the Spearman rank correlation coefficient, there was a strong correlation between the serum levels of IL-6 ( $P=0.799$ ,  $P=0.000$ ) and TNF- $\alpha$  ( $P=0.788$ ,  $P=0.000$ ) cytokines with IBS development.

**Discussion & Conclusions:** This study shows that serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 cytokines are significantly higher in the case group with IBS. Moreover, there is an association between serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  with the pathogenesis of IBS.

**Keywords:** Enzyme-linked immunosorbent assay, Interleukin-6, Irritable bowel syndrome, Tumor necrosis factor- $\alpha$

1. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

2. Infectious and Tropical Diseases Research Center, Health Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Hormozgan, Iran

3. Dept of Medical Parasitology, Paramedical Faculty, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

\*Corresponding author Email: amirzaei@yahoo.com