

## اندازه‌گیری میزان بیان ژن IL-17 در نمونه خون محیطی و خلط بیماران آسمی

## چکیده

رضا یزدانی<sup>۱</sup>مزدک گنجعلی‌خانی حاکمی<sup>۲\*</sup>رویا شرکت<sup>۳</sup>، عباس رضایی<sup>۱</sup>رحیم فراهانی<sup>۱</sup>، بهروز بیرانوند<sup>۴</sup>

۱- گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و

مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های نقص ایمنی

اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان،

ایران.

۴- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم

پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

\* نویسنده مسئول: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی

اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، اصفهان

۸۱۷۴۶-۷۳۴۶۱

تلفن: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۴۸۲

E-mail: mghakemi@med.mui.ac.ir

کلمات کلیدی: آسم، Th17، IL-17، mRNA.

دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۴ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۰۴ آنلاین: ۱۳۹۳/۹/۲۰

**زمینه و هدف:** آسم یک بیماری مربوط به راه‌های هوایی است که به‌صورت افزایش پاسخ‌دهی شبکه نای و نایژه‌ها به گروهی از تحریکات مشخص می‌شود. سلول Th17 با تولید IL-17 نقش مهمی در التهاب و بیماری‌های اتوایمیون و به‌احتمال زیاد در پاتوژنز آسم و آلرژی دارد.

**روش بررسی:** در این مطالعه مقطعی که بر روی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان الزهرا (س) اصفهان بخش بیماری‌های عفونی از خرداد تا اسفند ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسید، پس از استخراج mRNA از خلط و خون کامل ۲۳ بیمار آسمی و ۲۳ فرد سالم، cDNA آنها ساخته شد و میزان بیان ژن IL-17 با qPCR سنجیده شد. معیار ورود بیماران بر اساس معیار GINA و معیار خروج بیماران استفاده از هرگونه داروی استروئیدی تا سه هفته پیش از نمونه‌گیری و ابتلا به هرگونه عفونت راه‌های هوایی زبرین در همین بازدهی زمانی بود.

**یافته‌ها:** میزان بیان ژن IL-17 هم در خون ( $287 \pm 79$ ) در برابر ( $1/18 \pm 0/13$ ) و هم در خلط بیماران ( $64 \pm 28$ ) در برابر ( $0/9 \pm 0/1$ ) نسبت به افراد کنترل افزایش یافت که از لحاظ آماری معنادار بود (به‌ترتیب  $P < 0/001$  و  $P = 0/029$ ). همچنین میزان بیان ژن IL-17 در خون بیماران ( $287 \pm 79$ ) نسبت به میزان بیان این ژن در خلط بیماران ( $64 \pm 28$ ) به‌طور معناداری بیشتر بود ( $P < 0/001$ ) ولی میزان بیان این ژن در خون افراد سالم ( $1/18 \pm 0/13$ ) تفاوت معناداری با میزان بیان این ژن در خلط این افراد ( $0/9 \pm 0/1$ ) نداشت.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های ما نشان داد که افزایش میزان بیان ژن IL-17 در خون و خلط بیماران آسمی می‌تواند افزایش جمعیت نوتروفیل‌ها و فعال شدن نوتروفیل‌های ریوی را توجیه کند.

## مقدمه

در ایجاد بیماری نقش دارند.<sup>۱،۲</sup> پاسخ‌های وابسته به IgE موجب تظاهرات عمده پاتولوژیکی در بیماران آسمی می‌شود. با توجه به اینکه ارتباط میان آسم و آلرژی مدت زیادی است که شناخته شده است، اما مکانیسم این ارتباط هنوز به‌طور کامل روشن نیست.

به‌تازگی پیشرفت‌هایی در شناسایی و تعریف التهاب آلرژیک راه‌های هوایی و ارتباط آن با تظاهرات بالینی آسم حاصل شده است. این مطالعات نشان می‌دهد که التهاب قابل‌توجهی در نمونه‌های بیوپسی برونشیا بیمارانی مبتلا به آسم حتی در موارد خفیف وجود

آسم یک بیماری التهابی مربوط به راه‌های هوایی است که از طریق پاسخ بیش از حد شبکه نای و نایژه‌ها در پاسخ به برخی محرک‌ها و گرفتگی راه‌های هوایی شناسایی می‌شود.<sup>۱،۲</sup> علائم بالینی بیماری شامل تنگی نفس، سرفه و خس‌خس سینه می‌باشد. ریشه این بیماری در بیشتر افراد، در دوران کودکی است و عوامل ژنتیکی (آتوپی)، عوامل محیطی (ویروس‌ها)، آلرژن‌ها و برخوردهای شغلی

استفاده از هرگونه داروی استروئیدی سیستمیک تا سه هفته پیش از نمونه‌گیری و ابتلا به هرگونه عفونت راه‌های هوایی زبرین در همین بازدهی زمانی بود. معیار ورود افراد سالم نیز نداشتن هیچ‌گونه سابقه آسم و آلرژی بود. محاسبه حجم نمونه بر اساس فرمول تعیین حجم نمونه و جامعه آماری مورد استفاده در مطالعات مشابه شامل هر دو تیپ آتوپیک و غیرآتوپیک بوده و گروه کنترل از نظر سن و جنس متناسب با گروه مورد بود.<sup>۱۶</sup>

در ابتدا از هر فرد ۵ ml خون کامل در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA و همچنین نمونه خلط در ظرف استریل گرفته شد. نمونه خلط زیر میکروسکوپ با عدسی ۴۰ جهت اطمینان از خلط بودن نمونه بررسی گردید. بدین صورت که در نمونه خلط می‌بایست تعداد سلول‌های WBC در حدود ۱۰-۷ عدد در هر میدان میکروسکوپی و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال بیشتر از حدود پنج سلول در هر شان میکروسکوپ نباشد.

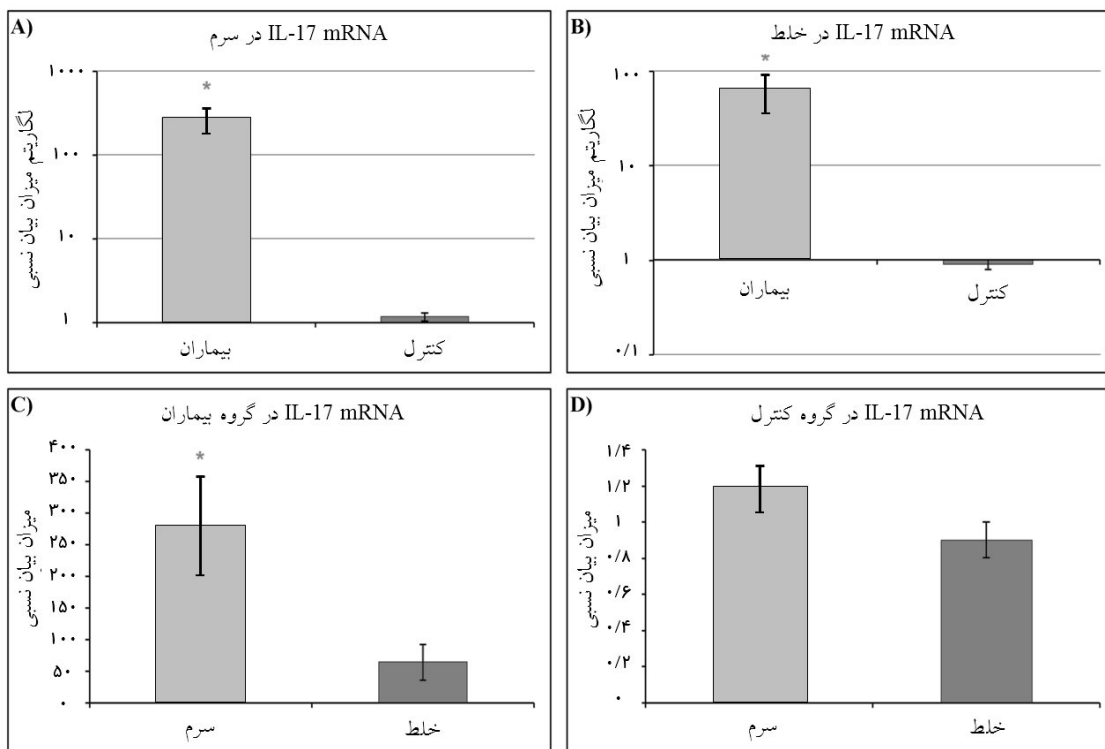
پس از نمونه‌گیری، خون کامل افراد (همراه با ضد انعقاد EDTA) و خلط ایشان در شرایط استاندارد (دمای °C ۲۰-) به آزمایشگاه مرکزی دانشکده پزشکی اصفهان منتقل شد و RNA نمونه‌های خون با استفاده از کیت GeneJET Whole Blood RNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, USA) و بر پایه دستورکار ارائه‌شده در کیت، استخراج شد، همچنین RNA نمونه‌های خلط با استفاده از کیت RNXTM- Plus Solution (SinaClon BioScience Co., Tehran, Iran) طبق دستورکار ارائه‌شده در کیت استخراج شد. همچنین RNA همه نمونه‌ها با استفاده از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, USA) به cDNA ترجمه شد. با استفاده از کیت SYBER Premix Ex Taq II (Takara Bio Inc., Shiga, Japan) و به روش Real-Time PCR، (پنج دقیقه در ۹۵ درجه (یک‌بار)، ۱۰ ثانیه در ۹۵ درجه و ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه (۴۰)) بار میزان بیان ژن IL-17 اندازه‌گیری شد و بیان آن در برابر بیان ژن ACTB بهینه‌سازی گردید. برای این کار از پرایمرهای آماده Hs-IL-17-1-SG QuantiTect (QIAGEN, USA) استفاده شد. در این پژوهش داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ و با کمک آزمون آماری Independent sample t-test مورد بررسی قرار گرفت.

دارد و این تغییرات التهابی سرتاسر راه‌های هوایی مرکزی و محیطی را درگیر نموده و اغلب با شدت بیماری تغییر می‌کند.<sup>۶،۷</sup> به‌همین دلیل بیماری آسم را به دو گروه آسم ائوزینوفیلی و غیرائوزینوفیلی (نوتروفیلیک) تقسیم کرده‌اند.<sup>۷</sup> در سال ۲۰۰۵ سومین زیرمجموعه سلول‌های T helper به نام Th17 شناخته شد.<sup>۹،۸</sup> سایتوکین اصلی این سلول‌ها IL-17 است و به‌نظر می‌رسد در مواردی که سلول‌های Th1 و Th2 ایمنی کاملی را در مقابل بعضی از میکروب‌ها (مانند باکتری‌های خارج سلولی و برخی قارچ‌ها) ایجاد نکرده‌اند، نقش داشته باشند.<sup>۱۰</sup>

نقش مهم سلول‌های Th17 در التهاب<sup>۱۱</sup> و بیماری‌های خودایمنی<sup>۱۲</sup> و همچنین نقش احتمالی سایتوکین IL-17 در پاتوژنز آلرژی و آسم در بررسی‌های اخیر نشان داده شده است.<sup>۱۳</sup> به‌نظر می‌رسد IL-17 علاوه بر اینکه در ایجاد آسم آلرژیک نقش دارد، چندین عملکرد در ریه داشته باشد، از جمله اینکه سلول‌های فیبروبلاست برونشیا انسان در پاسخ به تحریک با IL-17 در آزمایشگاه، IL-6، IL-8 و GRO- $\alpha$  را تولید می‌کنند.<sup>۱۴</sup> افزایش بروز IL-17 در ریه‌ها در جریان آسم ممکن است افزایش جمعیت و فعال شدن نوتروفیل‌های ریوی را توجیه کند.<sup>۱۵</sup> هدف از انجام مطالعه بررسی میزان بیان ژن IL-17 به‌عنوان سایتوکین اصلی Th17 در بیماران مبتلا به آسم بود که نقش مهمی در ایجاد التهاب دارند. چنانچه حضور و نقش سلول‌های Th17 در التهاب ایجاد شده در بیماری آسم اثبات شود، با تداخل در فعالیت این سلول‌ها یا محصولات آنها می‌توان جنبه‌های درمانی جدیدی را برای بیماری آسم ایجاد کرد.

## روش بررسی

در یک مطالعه مقطعی انجام شده بر روی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان الزهراء اصفهان از خرداد تا اسفند ۱۳۹۲، پس از استخراج mRNA از خلط و خون کامل ۲۳ بیمار آسمی و ۲۳ فرد سالم، cDNA آنها ساخته شد و میزان بیان ژن IL-17 با qPCR سنجیده شد. معیار ورود، بیماری‌رانی بودند که بر اساس معیار Global Initiative for Asthma (GINA) مبتلا به یکی از دو حالت بالینی متوسط و شدید آسم بوده و سن بالاتر از ۱۸ سال داشتند. معیار خروج بیماران



شکل ۱: اندازه‌گیری بیان ژن IL-17 در نمونه خلط و خون بیماران آسمی و افراد سالم با روش qRT-PCR

(A) میزان بیان ژن IL-17 در خون بیماران آسمی در مقایسه با افراد کنترل به صورت کاملاً معناداری ( $P < 0.05$ ) افزایش داشت. (B) میزان بیان ژن IL-17 در نمونه خلط بیماران آسمی در مقایسه با افراد کنترل به صورت کاملاً معناداری ( $P < 0.05$ ) افزایش داشت. (C) میزان بیان ژن IL-17 در نمونه خون بیماران آسمی نسبت به نمونه خلط آنها افزایش بیشتری داشته است و این تفاوت معنادار بوده است. (D) میزان بیان ژن سایتوکین‌های مورد مطالعه در نمونه خون افراد کنترل نسبت به خلط آنها تفاوت معناداری ندارد. نتایج به صورت لگاریتم میزان بیان نسبی mRNA  $\pm$  میانگین خطای معیار (SEM) از میانگین سه آزمایش یکسان گزارش شده‌اند.

### یافته‌ها

به میزان بیان این ژن در خلط این بیماران ( $64 \pm 28$ ) بیشتر بود (شکل ۱C). در این پژوهش، میزان بیان ژن IL-17 در سرم خون محیطی افراد سالم ( $1/18 \pm 0/13$ ) تفاوت معناداری با میزان بیان این ژن در خلط این افراد ( $0/9 \pm 0/1$ ) نداشت (شکل ۱D).

بر اساس آنالیز Independent sample t-test اختلاف معناداری میان سن و جنس دو گروه مشاهده نشد و دو گروه از این نظر با هم هماهنگ بودند. در این مطالعه نشان داده شد که میزان بیان ژن IL-17 در سرم خون محیطی بیماران دچار آسم ( $287 \pm 79$ ) به‌طور معناداری ( $P < 0.001$ ) بیشتر از میزان بیان این ژن در سرم خون محیطی افراد سالم ( $1/18 \pm 0/13$ ) بود (شکل ۱A).

میزان بیان ژن IL-17 در خلط بیماران دچار آسم ( $64 \pm 28$ ) نیز بیشتر از میزان بیان این ژن در خلط افراد سالم ( $0/9 \pm 0/1$ ) بود ( $P = 0/029$ ) (شکل ۱B). همچنین نشان دادیم که میزان بیان ژن IL-17 در سرم خون محیطی بیماران دچار آسم ( $287 \pm 79$ ) به‌طور معناداری ( $P < 0.001$ ) نسبت

جدول ۱: اطلاعات متغیر زمینه‌ای مربوط به افراد بیمار و افراد سالم

تعداد نمونه‌ها	میانگین سن	فراوانی دو جنس
۲۳	۳۲	بیماران آسمی
۲۳	۳۱	افراد کنترل
		مرد
		زن
		۱۰
		۱۳
		۱۱
		۱۲

دو گروه از نظر سن و جنس با هم هماهنگ می‌باشند.

## بحث

ژن مربوط به IL-17 در افراد مبتلا به فرم آلرژیک و غیرآلرژیک بیماری آسم افزایش معناداری دارد، اما بین این دو فرم تفاوتی مشاهده نشد.<sup>۱۷</sup> نتایج ما نیز با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت با این تفاوت که در مطالعه حاضر مقایسه بین آن دو فرم نیز انجام گردید. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش بیان IL-17 می‌تواند نقش مهمی را در بروز آسم همانند نقش در دیگر بیماری‌های التهابی داشته باشد.

همچنین در مطالعه حاضر میزان بیان ژن IL-17 در خون و خلط بیماران شکل ۱C و خون و خلط افراد نرمال شکل ۱D بررسی شد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میزان بیان ژن IL-17 در خون بیماران نسبت به خلط آنها بیشتر بود ( $P < 0.05$ ) (شکل ۱C)، هر چند که این تفاوت در مقایسه خون و خلط افراد سالم دیده نشد (شکل ۱D). این مسئله نشان می‌دهد سنجش IL-17 در خون بیماران نسبت به خلط آنها ارزش بیشتری دارد. دلیل این افزایش می‌تواند به‌علل زیر مربوط گردد: میزان بیشتر سلول‌های تولیدکننده IL-17 در خون نسبت به خلط بیماران، تجزیه mRNA این سایتوکین در خلط و یا به‌علت شرایط نامناسب حیات سلول‌های التهابی در خلط باشد.

به این ترتیب بر اساس مطالعات مختلف می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزایش بیان ژن IL-17 می‌تواند نقشی مهم در بروز بیماری آسم داشته باشد که به‌احتمال زیاد مشابه با همان نقشی است که در سایر بیماری‌های التهابی ایفا می‌کند. هر چند این یافته نیاز به بررسی‌های اختصاصی‌تر دارد. از طرفی چنانچه حضور و نقش سلول‌های Th17 در التهاب ایجادشده در بیماری آسم اثبات شود، با تداخل در فعالیت این سلول‌ها یا محصولات آنها می‌توان جنبه‌های درمانی جدیدی را برای بیماری آسم ایجاد کرد.

**سپاسگزاری:** این مطالعه حاصل نتایج بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان "بررسی میزان بیان ژن سایتوکین‌های زیرگروه‌های نوین سلول‌های T یاور در نمونه خلط و خون بیماران مبتلا به آسم و شمارش سلول‌های ILC2 در نمونه خون آنها، اصفهان" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان در سال ۱۳۹۲ با کد ۱۸۸۰۸۴ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان اجرا شده است. نویسندگان از کلیه همکاران و پرسنل گرامی بیمارستان الزهرا (س) و آزمایشگاه نوین اصفهان که در مراحل مختلف انجام پژوهش ما را یاری داده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

سلول‌های Th17 زیرگروهی از سلول‌های T یاور می‌باشند که در پاسخ به سایتوکین‌های التهابی مانند IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-21 تولید میزان زیادی IL-17 می‌کنند.<sup>۱۷</sup> IL-17 به‌عنوان یک سایتوکین مهم در واکنش‌های التهابی تاخیری مطرح است که با تحریک افزایش ترشح کموکین‌ها، زمینه فراخوانی مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به محل التهاب را فراهم می‌آورد. همچنین این اینترلوکین قادر است که ماکروفاژها و فیبرویلاست‌ها و حتی نوتروفیل‌ها را وادار به ترشح GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 کند.<sup>۱۸</sup> IL-17 به‌خاطر نقشی که می‌تواند در بسیاری از بیماری‌های التهابی مزمن مانند آرتریت روماتوئید، لوپوس و آسم داشته باشد مورد توجه قرار گرفته است و از آنجایی که این سایتوکین نقش التهابی دارد می‌تواند مورد هدف دارویی قرار گیرد. به‌عنوان نمونه Zhang و همکارانش نشان دادند که تیروکسید آرسنیک می‌تواند باعث کاهش بیان IL-17 و التهاب مجاری هوایی در موش‌های مبتلا به آسم شود.<sup>۱۹</sup>

در مطالعه حاضر، میزان بیان ژن IL-17 در خون محیطی و خلط بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم مورد سنجش قرار گرفت و افزایش چشمگیری در میزان بیان این ژن در خون و خلط بیماران نسبت به افراد کنترل دیده شد (به‌ترتیب  $P = 0.000$  و  $P = 0.029$ ) (شکل ۱A و شکل ۱B) که این افزایش از لحاظ آماری معنادار بود. در مطالعه Bullens و همکارانش نشان داده شد، IL-17 به‌طرز معناداری در نمونه خلط بیماران آسمی در مقایسه با افراد سالم افزایش نشان داد.<sup>۲۰</sup> همچنین طی یک بررسی دیگر Molet و همکارانش نشان دادند که این سایتوکین در نمونه خلط و لاواژ حبابچه‌های برونش بیماران آسمی در مقایسه با افراد کنترل افزایش معناداری داشت.<sup>۱۴</sup> همچنین در مطالعه‌ای که به‌تازگی صورت گرفت دیده شد، میزان بیان ژن IL-17 در خون کودکان مبتلا به فرم شدید آسم در مقایسه با فرم خفیف و متوسط آسم افزایش معناداری داشته است.<sup>۲۱</sup> یافته‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر در این زمینه به‌طور کامل هم‌راستا با این مطالعات بود.

همچنین در مطالعه حاضر تفاوت معناداری در بیان ژن IL-17 در بیماران مبتلا به آسم شدید نسبت به بیماران مبتلا به آسم متوسط مشاهده گردید که این تفاوت از نظر آماری معنادار بود (نتایج نشان داده نشده است). در بررسی Bullens و همکارانش نشان داده شد که

## References

- Berair R, Hollins F, Brightling C. Airway Smooth Muscle Hypercontractility in Asthma. *J Allergy (Cairo)* 2013;Article ID 185971.
- Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J* 2008;31(1):143-78.
- British Thoracic Society Scottish Intercollegiate Guidelines Network. British guideline on the management of asthma. *Thorax* 2008;63 Suppl 4:iv1-121.
- Kauffmann F, Demenais F. Gene-environment interactions in asthma and allergic diseases: challenges and perspectives. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(6):1229-40; quiz 1241-2.
- Boulet LP, Turcott H, Plante S, Chakir J. Airway function, inflammation and regulatory T cell function in subjects in asthma remission. *Can Respir J* 2012;19(1):19-25.
- Pumputiene I, Emuzyte R, Dubakiene R, Firantiene R, Tamosiunas V. T cell and eosinophil activation in mild and moderate atopic and nonatopic children's asthma in remission. *Allergy* 2006;61(1):43-8.
- Lee YJ, Kim KW, Choi BS, Sohn MH, Kim KE. Clinical characteristics of eosinophilic and noneosinophilic asthma in children. *Acta Paediatr* 2013;102(1):53-7.
- Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005;6(11):1123-32.
- Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005;6(11):1133-41.
- Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunol Rev* 2008;223:87-113.
- Yazdani R, Hakemi MG, Sherkat R, Homayouni V, Farahani R. Genetic defects and the role of helper T-cells in the pathogenesis of common variable immunodeficiency. *Adv Biomed Res* 2014;3:2.
- Ganjalkhani-Hakemi M, Yazdani R, Sherkat R, Homayouni V, Masjedi M, Hosseini M. Evaluation of the T helper 17 cell specific genes and the innate lymphoid cells counts in the peripheral blood of patients with the common variable immunodeficiency. *J Res Med Sci* 2014;19(Suppl 1):S30-5.
- Farahani R, Sherkat R, Hakemi MG, Eskandari N, Yazdani R. Cytokines (interleukin-9, IL-17, IL-22, IL-25 and IL-33) and asthma. *Adv Biomed Res* 2014;3:127.
- Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(3):430-8.
- Schmidt-Weber CB, Akdis M, Akdis CA. TH17 cells in the big picture of immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(2):247-54.
- Di Lorenzo G, Drago A, Pellitteri ME, Candore G, Colombo A, Potestio M, et al. Serum levels of soluble CD23 in patients with asthma or rhinitis monosensitive to Parietaria. Its relation to total serum IgE levels and eosinophil cationic protein during and out of the pollen season. *Allergy Asthma Proc* 1999;20(2):119-25.
- Wang YH, Voo KS, Liu B, Chen CY, Uygungil B, Spoede W, et al. A novel subset of CD4(+) T(H)2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. *J Exp Med* 2010;207(11):2479-91.
- Ganjalkhani Hakemi M, Ghaedi K, Andalib A, Hosseini M, Rezaei A. Optimization of human Th17 cell differentiation in vitro: evaluating different polarizing factors. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2011;47(8):581-92.
- Zhang L, Li K, Bing Ma L, Gong SB, Wang GY, Liu Y, et al. Effects and mechanism of arsenic trioxide on reversing the asthma pathologies including Th17-IL-17 axis in a mouse model. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2012;11(2):133-45.
- Bullens DM, Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Hellings PW, Dupont LJ, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res* 2006;7:135.
- Alyasin S, Karimi MH, Amin R, Babaei M, Darougar S. Interleukin-17 gene expression and serum levels in children with severe asthma. *Iran J Immunol* 2013;10(3):177-85.

## Evaluation of IL-17 gene expression in peripheral blood and sputum of asthma patients and healthy individuals

### Abstract

Received: 26 Oct. 2014 Accepted: 25 Nov. 2014 Available online: 11 Dec. 2014

Reza Yazdani Ph.D. Student<sup>1</sup>  
Mazdak Ganjalikhani Hakemi  
Ph.D.<sup>2\*</sup>  
Roya Sherkat M.D.<sup>3</sup>  
Abbas Rezaei Ph.D.<sup>1</sup>  
Rahim Farahani M.Sc.<sup>1</sup>  
Behrouz Beiranvand M.Sc.  
Student<sup>4</sup>

1- Department of Immunology,  
School of Medicine, Isfahan  
University of Medical Sciences,  
Isfahan, Iran.

2- Cellular and Molecular Immunology  
Research Center, School of  
Medicine, Isfahan University of  
Medical Sciences, Isfahan, Iran.

3- Acquired Immunodeficiency  
Research Center, Isfahan University  
of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4- Department of Biostatistics and  
Epidemiology, Kermanshah  
University of Medical Sciences,  
Kermanshah, Iran.

\* Corresponding author: Cellular and  
Molecular Immunology Research Center,  
Isfahan University of Medical Sciences,  
Isfahan 81746-73461, Iran.  
Tel: +98-31-3792-2482  
E-mail: mghakemi@med.mui.ac.ir

**Background:** Asthma as an airway disease is identified by increase network responsiveness of the trachea and bronchus to a specific stimulus. Th17 cells through production of IL-17 have important role in inflammation and autoimmune diseases. In some studies has been shown which IL-17 as major cytokine of Th17 probably has important role in the pathogenesis of allergy and asthma.

**Methods:** Total mRNA extracted from whole blood samples and sputum of 23 asthma patients and 23 normal controls. Then, total RNA was converted into cDNA according to the manufacturer's instructions. Finally, the transcript levels of IL-17 were quantified by the real-time quantitative PCR. Twenty-three patients with asthma were diagnosed and selected according to the global initiative for asthma (GINA) and none of the patients had taken the medication at least three week before sampling. Healthy individuals did not have any history of allergy, asthma and other inflammatory diseases at the time of sampling. All of experiments have done in Isfahan University of Medical Sciences, Iran during May to February, 2013.

**Results:** This study showed a significant increase in transcript levels of IL-17 in the blood ( $287 \pm 79$  versus  $1/18 \pm 0/13$ ) and sputum samples of the patients ( $64 \pm 28$  versus  $0/9 \pm 0/1$ ) in comparison with normal individuals ( $P= 0.000$ ,  $P= 0.029$  respectively). It also revealed that the expression levels of the cytokines in the serum samples of the asthmatics were significantly more than their levels in patient's sputum samples ( $P= 0.000$ ). However, there was no significant difference between the cytokines expression levels in serum samples and sputum samples of the controls ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** In this study, we showed which the expression of IL-17 was increased in serum and sputum of asthmatic patients compared to healthy controls, this could result in elevation of neutrophils population and activation of pulmonary neutrophil.

**Keywords:** asthma, IL-17, mRNA, Th17.