

## ارتباط غلظت اینترلوکین‌های ۶، ۱۷ و ۲۳ با عفونت هلیکوباکتریلوری گوش میانی در اوتیت مدیا

## چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۸ آنلاین: ۱۳۹۴/۰۱/۲۴

**زمینه و هدف:** هلیکوباکتریلوری با بروز بیماری‌های مختلف به‌ویژه اختلالات گوارشی ارتباط دارد و در ترشحات گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت مدیا نیز دیده می‌شود. تشخیص بالینی عفونت هلیکوباکتریلوری از طریق روش‌های مختلف انجام می‌شود و روش‌های تشخیصی جدید تحت مطالعه قرار دارند. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط بین غلظت اینترلوکین‌های ۶، ۱۷ و ۲۳ با آلودگی به عفونت هلیکوباکتریلوری در ترشحات گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت مدیا با افیوژن اجرا گردید.

**روش بررسی:** ۴۰ بیمار مبتلا به اوتیت مدیا با افیوژن مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران از اسفند ماه ۱۳۹۱ تا مرداد ۱۳۹۳ در این مطالعه مقطعی وارد شدند. کلیه بیماران تحت عمل جراحی میرنگوتومی همراه با تعبیه لوله ونتیلیسیون قرار گرفتند و نمونه ترشحات آسپیره شده گوش میانی تحت آزمایش قرار گرفت. غلظت اینترلوکین‌های ۶، ۱۷ و ۲۳ با استفاده از روش الیزا اندازه‌گیری شد و این مقادیر با نتایج آزمون Polymerase chain reaction (PCR) هلیکوباکتریلوری مقایسه شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه ۲۲/۵٪ نمونه‌ها دارای آزمون PCR مثبت بود. در مجموع نمونه‌ها، IL-6 دارای غلظت pg/ml  $۱۰/۱۱ \pm ۲/۹۵$ ، IL-17 دارای غلظت pg/ml  $۰/۹۱ \pm ۵/۸۹$  و IL-23 دارای غلظت pg/ml  $۱/۳۴ \pm ۴/۰۷$  بود. سطح IL-6 در بیماران PCR مثبت pg/ml  $۶/۴۰ \pm ۲۲/۲۹$  و بیماران PCR منفی pg/ml  $۳/۸۸ \pm ۶/۱۶$  بود که دو گروه تفاوت معنادار بود. ( $P=۰/۰۱$ ) سطح IL-17 در بیماران PCR مثبت pg/ml  $۱/۲۹ \pm ۶/۱۶$  و بیماران PCR منفی pg/ml  $۱/۱۳ \pm ۵/۸۱$  بود که تفاوت معناداری نداشت ( $P=۰/۴۲$ ). سطح IL-23 در بیماران PCR مثبت pg/ml  $۳/۷۷ \pm ۶/۱۵$  و بیماران PCR منفی pg/ml  $۱/۳۳ \pm ۳/۴۲$  بود که تفاوت معناداری نداشت ( $P=۰/۲۷$ ).

**نتیجه‌گیری:** سطح اینترلوکین ۶ با عفونت هلیکوباکتریلوری گوش میانی در مبتلایان به اوتیت مدیا همراه با افیوژن ارتباط داشت. مطالعات بیشتر برای تعیین رابطه سائتوکین‌ها و عفونت هلیکوباکتریلوری در آینده پیشنهاد می‌شود.

**کلمات کلیدی:** اینترلوکین، هلیکوباکتریلوری، گوش میانی، اوتیت مدیا با افیوژن.

محمد فرهادی<sup>۱</sup>، احمد دانشی<sup>۱</sup>  
شیمیا جوادی‌نیا<sup>۲</sup>، محمد نبوی<sup>۳</sup>  
رامین عسگریان<sup>۲</sup>، محمود فرامرزی<sup>۲</sup>  
آذردخت طباطبایی<sup>۲\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.

۳- بخش ایمنولوژی و آلرژی، بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، مجتمع آموزشی و درمانی رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران.

تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۱۶۰۴۹

E-mail: cpidir@gmail.com

## مقدمه

اوتیت‌مدیای با افیوژن (OME) Otitis media with effusion به وجود ترشحات گوش میانی بدون وجود علائم عفونت حاد اطلاق می‌شود که اغلب به دنبال یک عفونت حاد گوش میانی ایجاد

می‌شود.<sup>۱</sup> عامل باکتریایی در یک‌سوم از نمونه ترشحات گوش میانی مبتلایان به اوتیت‌مدیای با افیوژن یافت می‌شود که این عوامل شامل استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفلوآنزا، موراکسلا کاتارالیس و گروه‌های دیگری از باکتری‌ها از جمله سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوک‌های گروه آلفا و باکتری‌های بی‌هوازی است.<sup>۲-۴</sup>

روش به عنوان ابزار بالینی برای تشخیص گوارشی هلیکوباکتریپیلوری نامناسب باشد.<sup>۱۵</sup>

از این رو امروزه سایر روش‌های تشخیصی متنوع و دقیق به منظور تشخیص عفونت هلیکوباکتریپیلوری تحت مطالعه قرار دارند. اندازه‌گیری سطوح سایتوکین‌های موجود در سرم و یا ترشحات مختلف بیماران مشکوک به عفونت و مقایسه این سطوح با مقادیر طبیعی از جمله روش تشخیصی در بسیاری از عفونت‌ها محسوب می‌شود و بر این اساس، نقش هلیکوباکتریپیلوری در تولید سایتوکین‌های مختلف از جمله IL-17، IL-23، IL-1 $\beta$ ، IL-6، Interferon gamma (INF- $\gamma$ ) و Tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) در بیماری ارگان‌های مختلف مطالعه شده است.<sup>۱۶-۱۸</sup> اینترلوکین ۶ یک سایتوکین فاز حاد است که به دنبال عفونت‌های ویروسی و باکتریایی ایجاد می‌شود و از طرفی در تولید اینترلوکین ۱۷ نیز نقش دارد.<sup>۱۹-۲۱</sup>

اینترلوکین ۶ در التهاب مزمن معده توسط مونوسیت و ماکروفاژ ترشح می‌شود و با وجود هلیکوباکتریپیلوری در موکوس معده و دوازدهه ارتباط دارد.<sup>۲۲-۲۶</sup> در یک مطالعه، نوزادان دارای آنتی‌ژن مدفوعی هلیکوباکتریپیلوری در مقایسه با نوزادان فاقد این آنتی‌ژن دارای مقادیر بالاتر اینترلوکین ۶ در مایع مغزی- نخاعی بودند.<sup>۲۷</sup> اینترلوکین ۱۷ نوعی سایتوکین پیش‌التهابی است و نقش مهمی در کموتاکسی نوتروفیل‌ها دارد.

همچنین با بسیاری از بیماری‌های التهابی مزمن از جمله آرتریت روماتوئید، مولتیپل اسکلروز و همچنین گاستریت مزمن ناشی از هلیکوباکتریپیلوری ارتباط دارد.<sup>۲۸-۳۲</sup> و نقش مهمی در عواقب عفونت‌های مرتبط با هلیکوباکتریپیلوری ایفا کند.<sup>۱۹</sup> اینترلوکین ۲۳ در دفاع میزبان علیه عفونت‌های ویروسی، باکتریایی و قارچی مانند عفونت‌های پاکس ویروسی، کلبسیلایی و عفونت کاندیدا آلبیکنس نقش اساسی ایفا می‌کند.<sup>۳۳،۳۴</sup> و غلظت آن در سرطان معده ناشی از هلیکوباکتر و بیماری‌های التهابی روده به شدت افزایش می‌یابد.<sup>۳۵،۳۶</sup> در عفونت‌های گوارشی ناشی از هلیکوباکتریپیلوری، اینترلوکین ۲۳ تولید می‌شود و به همراه اینترلوکین ۶ موجب القای تولید اینترلوکین ۱۷ می‌گردد.<sup>۳۶-۳۹</sup>

پس از ایجاد عفونت‌های باکتریایی در گوش میانی و در مراحل حاد بیماری، ترشح اینترلوکین‌های ۱ و ۶ موجب بروز التهاب و

هلیکوباکتریپیلوری نیز از جمله این عوامل محسوب می‌شود. این باکتری گرم منفی میکروآئروفیلیک با بیماری‌های مختلف دستگاه گوارش از جمله گاستریت مزمن، زخم معده، زخم اثنی‌عشر و کارسینوم معده ارتباط دارد<sup>۵</sup> و همچنین عوارض خارج دستگاه گوارش شامل اختلالات تنفسی و عروقی و خودایمنی نیز می‌کند.<sup>۶</sup> هلیکوباکتریپیلوری می‌تواند گوش میانی را نیز درگیر کند، به طوری که این باکتری در ۶۶٪ از ترشحات گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت در برخی مطالعات وجود داشته است.

برای پاتوژنیسیته هلیکوباکتریپیلوری در گوش میانی دو فرضیه مطرح می‌باشد. اول آنکه نواحی آدنوئید، شیپور استاش، لوزه‌ها و مخاط بینی مکان‌های مناسبی هستند که این باکتری توانایی رشد و تکثیر و بیماری‌زایی دارند. فرضیه دوم بر نقش رفلکس در انتقال این باکتری از دستگاه گوارش به سیستم تنفسی فوقانی و گوش میانی تاکید دارد، چرا که آنزیم‌های گوارشی از ترشحات گوش میانی به دست آمده است.<sup>۷-۱۰</sup> تشخیص زودرس عفونت هلیکوباکتریپیلوری در گوش میانی به دلیل احتمال ایجاد عوارض شدید ناشی از این باکتری اهمیت زیادی دارد. امروزه از چندین روش برای تشخیص عفونت هلیکوباکتریپیلوری استفاده می‌شود که همگی مزایا و عوارضی دارند.<sup>۱۱</sup>

روش زنجیره واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) مهمترین این روش‌ها محسوب می‌شود که می‌تواند با حساسیت بالا برای تشخیص حضور تعداد بسیار کمی از این ارگانیزم در نمونه بیوپسی یا مایعات معده به کار رود.<sup>۱۲</sup> از طرف دیگر، گزارشات مختلف نشان می‌دهد که استفاده بالینی از آزمون PCR هر چند پرهزینه است ولی اغلب برای تشخیص آزمایشگاهی ارگانیزم و همچنین مطالعات اپیدمیولوژیک مناسب است.<sup>۱۳</sup>

روش PCR در مجموع در بسیاری از مطالعات قادر به تشخیص بالینی هلیکوباکتریپیلوری به نحو کامل نبوده است. امروزه این روش به دلیل عدم دسترسی به کیت‌های مورد نیاز در اکثر آزمایشگاه‌ها، برای امور بالینی تشخیص هلیکوباکتریپیلوری انجام نمی‌شود و عمدتاً در تحقیقات در زمینه هلیکوباکتر کاربرد دارد.<sup>۱۴</sup> در برخی مطالعات نیز، با وجود اینکه این روش نوعی ابزار کیفی و حساس برای تشخیص هلیکوباکتریپیلوری در دستگاه گوارش شناخته شده، اما عدم وجود تجزیه و تحلیل کمی هلیکوباکتریپیلوری موجب شده است تا این

مرکز انجام گرفت. نمونه ترشحات به وسیله روش الیزا-Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) و با استفاده از کیت Nima Pouyesh Teb Co., Tehran, Iran مورد آزمایش قرار گرفت و غلظت اینترلوکین‌های ۶، ۱۷ و ۲۳ (pg/ml) اندازه‌گیری شد. همچنین کلیه نمونه ترشحات بیماران تحت آزمون PCR برای تشخیص هلیکوباکتری پیلوری قرار گرفتند.

نتایج آزمایش الیزا به همراه نتایج PCR در فرم جمع‌آوری داده‌ها ثبت گردید. در نهایت کلیه نتایج آزمایشات توسط همکار پژوهش با SPSS software, version 19 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) مورد تحلیل آماری قرار گرفت. از آزمون‌های توصیفی برای تعیین مشخصات بیماران مانند جنسیت و سن، علت مراجعه، غلظت اینترلوکین‌ها و گروه‌بندی بیماران بر اساس نتیجه آزمون PCR استفاده شد. غلظت اینترلوکین‌ها با استفاده از میانگین و انحراف معیار و نتایج PCR (مثبت و منفی از نظر هلیکوباکتری پیلوری) با کاربرد درصد فراوانی نتایج تعیین شد.

از آزمون‌های تحلیلی به منظور مقایسه دو گروه PCR مثبت و منفی برای هلیکوباکتری پیلوری از لحاظ غلظت هر یک از اینترلوکین‌ها و سایر مشخصات بیماران استفاده گردید. سطوح هر یک از اینترلوکین‌ها بین دو گروه PCR مثبت و منفی برای هلیکوباکتری پیلوری از طریق Independent samples t-test مورد مقایسه قرار گرفت. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی شد.

## یافته‌ها

در مجموع ۴۰ بیمار مبتلا به اوتیت‌مدیای با افیوژن با دامنه سنی بین ۹ ماه تا ۴۲ سال و میانگین و انحراف معیار سن  $8/39 \pm 9/31$  سال وارد مطالعه شدند که ۶۵٪ (۲۶ نفر) آنها مرد و ۳۵٪ (۱۴ نفر) زن بودند.

شایعترین دلیل مراجعه بیماران، کاهش شنوایی با فراوانی ۳۵٪ موارد بود. همچنین ۹ نفر (۲۲/۵٪) مبتلا به بیماری همزمان، دو نفر (۵/۱٪) دچار درگیری سینوسی همزمان، ۱۹ نفر (۴۷/۵٪) کاندید عمل جراحی مرتبط با اوتیت‌مدیا و ۲۶ نفر (۶۵٪) دارای سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک اخیر بودند. نتیجه آزمون PCR برای تشخیص هلیکوباکتری پیلوری در ۹ نفر از بیماران (۲۲/۵٪) مثبت و در ۳۱ نفر

ترشح سایتوکین‌های دیگر و تجمع سلول‌های التهابی می‌شود.<sup>۱۹-۲۱</sup> از این رو به نظر می‌رسد اندازه‌گیری این سایتوکین‌ها در اوتیت‌مدیای با افیوژن ناشی از هلیکوباکتری پیلوری، ما را قادر به پیش‌بینی سیر بالینی بیماری کند.

از طرفی به دلیل محدودیت در مطالعات، ارتباط سایتوکین‌ها با عفونت هلیکوباکتری پیلوری در گوش میانی نامشخص است. بنابراین برای محاسبه ارزش تشخیصی این سایتوکین‌ها در پیش‌بینی عفونت هلیکوباکتری پیلوری و تعیین نقطه برش (Cut off) برای سطح این سایتوکین‌ها، لازم است تا مطالعات گسترده در این زمینه انجام گیرد. این پژوهش با هدف تعیین غلظت اینترلوکین‌های ۶، ۱۷ و ۲۳ در ترشحات گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت‌مدیای با افیوژن و مقایسه غلظت این سایتوکین‌ها بین بیماران دارای عفونت و بدون عفونت هلیکوباکتری پیلوری اجرا گردید.

## روش بررسی

در این پژوهش از نوع تحلیلی و مقطعی که طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۳ اجرا شد، پس از موافقت مسئولین نمونه‌گیری به روش غیراحتمالی آسان از بین بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک گوش، گلو و بینی در بیمارستان‌های امیراعلم، فیروزگر، امیرالمومنین (ص) و حضرت رسول اکرم (ص) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

کلیه نمونه‌های این پژوهش مبتلا به اوتیت‌مدیای دارای افیوژن و کاندید تعبیه لوله و نتیلایسیون بودند. پس از دریافت رضایت‌نامه کتبی و توجیه طرح از سوی پژوهشگر ۴۰ بیمار دارای شرایط وارد مطالعه شدند و تحت عمل جراحی میرنگوتومی همراه با تعبیه لوله و نتیلایسیون به منظور جمع‌آوری ترشحات گوش میانی قرار گرفتند. عمل جراحی به دلیل رعایت شرایط استریل و عدم ایجاد خطای انسانی توسط متخصص مربوط به مراکز نامبرده انجام گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده در شرایط مناسب شامل دمای  $76^{\circ}\text{C}$  در مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران نگه‌داری شد تا حجم نمونه تکمیل گردد.

به دلیل ایجاد سطوح متعدد اینترلوکین‌ها در گزارشات آزمایشگاهی مختلف، آنالیز کلیه نمونه‌های طرح در آزمایشگاه همان

جدول ۱: فراوانی سن و سطح IL-6، IL-17 و IL-23 در دو گروه بیماران با آزمون PCR مثبت (وجود هلیکوباکتریپیلوری) و بیماران با آزمون PCR منفی (فاقد هلیکوباکتریپیلوری)

IL-23		IL-17		IL-6		سن		نتیجه PCR
انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
۳۷۷	۶/۱۵	۱/۲۹	۶/۱۶	۶/۴۰	۲۲/۲۹	۳/۷۴	۵/۲۳	PCR مثبت (وجود هلیکوباکتریپیلوری)
۱/۳۳	۳/۴۲	۱/۱۳	۵/۸۱	۳/۸۸	۶/۱۶	۸/۱۴	۸/۸۴	PCR منفی (بدون وجود هلیکوباکتریپیلوری)
۰/۲۷		۰/۴۲		۰/۰۱		۰/۲۱		P*

\*آزمون آماری: Student's t-test، مقادیر  $P < 0.05$  معنادار می باشد.

هلیکوباکتریپیلوری (نتیجه مثبت PCR) اجرا گردید و در نهایت نتیجه گیری شد که تولید اینترلوکین ۶ با ایجاد عفونت هلیکوباکتریپیلوری رابطه دارد، اما ارتباط بین سطوح اینترلوکین های ۱۷ و ۲۳ با این عفونت دیده نشد. در این پژوهش، فراوانی عفونت هلیکوباکتریپیلوری در ترشحات گوش میانی ۲۲/۵٪ گزارش شد. در مطالعه حاضر از روش PCR به عنوان ابزار تشخیصی به منظور تعیین ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری استفاده شد و بر اساس مطالعات، این روش برای تشخیص DNA باکتریایی دارای حساسیت بالایی است.<sup>۱۱، ۱۲ و ۱۶</sup>

برخی مطالعات دیگر نیز به دلیل ماهیت میکروآتروفیل این باکتری و ایجاد مشکل در جداسازی و همچنین وجود حالت غیرقابل کشت ارگانسیم، روش کشت هلیکوباکتریپیلوری در مایعات بیولوژیک را با وجود دقت زیاد این روش، نامناسب دانسته و به انجام PCR توصیه می کنند<sup>۱۳ و ۱۴</sup> در این مطالعه، غلظت اینترلوکین ۶ در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری نسبت به بیماران بدون عفونت بالاتر بود، اما غلظت اینترلوکین ۱۷ و ۲۳ به وجود عفونت هلیکوباکتریپیلوری ارتباطی نداشت.

به عبارتی، عفونت هلیکوباکتریپیلوری با افزایش تولید اینترلوکین ۶ رابطه داشت. ترشح بالای اینترلوکین ۶ در عفونت و التهاب گوش میانی در بسیاری از تحقیقات دیده شده است. همانگونه که در مقدمه گفته شد، اینترلوکین های ۱، ۶ و ۲۳ از جمله سایتوکین های پیش التهابی محسوب می شوند و به نظر می رسد به دنبال عفونت های باکتریایی و در روند بروز التهاب در گوش میانی، ترشح اینترلوکین های ۱ و ۶ آغاز شود.<sup>۱۸ و ۲۰-۲۸</sup>

(۷۷/۵٪) منفی بود و به عبارتی ۲۲/۵٪ از کل نمونه های تحت بررسی به عفونت هلیکوباکتریپیلوری در گوش میانی مبتلا بودند. میانگین و انحراف معیار سطح اینترلوکین ۶ در ترشحات گوش میانی مجموع بیماران مورد مطالعه  $10/11 \pm 2/95$  بود. میانگین و انحراف معیار سطح اینترلوکین ۱۷ در ترشحات گوش میانی مجموع بیماران مورد مطالعه  $5/89 \pm 0/91$  بود.

میانگین و انحراف معیار سطح اینترلوکین ۲۳ در ترشحات گوش میانی مجموع بیماران مورد مطالعه  $4/07 \pm 1/34$  بود. میانگین و انحراف معیار سن بیماران دارای آزمون PCR مثبت  $5/23 \pm 3/74$  سال و بیماران دارای آزمون PCR منفی  $8/84 \pm 8/14$  سال بود. بین دو گروه از لحاظ سن تفاوت معناداری مشاهده نشد ( $P=0/21$ ).

میانگین سطح اینترلوکین ۶ بین دو گروه بیماران دارای آزمون PCR مثبت و منفی از نظر هلیکوباکتریپیلوری، دارای تفاوت معنادار آماری بود ( $P=0/01$ ). میانگین سطح اینترلوکین ۱۷ بین دو گروه بیماران دارای آزمون PCR مثبت و منفی از نظر هلیکوباکتریپیلوری، تفاوت معنادار آماری نداشت ( $P=0/42$ ). میانگین سطح اینترلوکین ۲۳ بین دو گروه بیماران دارای آزمون PCR مثبت و منفی از نظر هلیکوباکتریپیلوری، تفاوت معنادار آماری نداشت ( $P=0/27$ ).

## بحث

پژوهش حاضر به منظور تعیین غلظت اینترلوکین ۶، ۱۷ و ۲۳ در ترشحات آسپیره شده گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت مدیای همراه با افیوژن و بررسی رابطه این غلظت با وجود عفونت

خرگوش باعث التهاب گوش میانی شد و سطح برخی سایتوکین‌ها از جمله اینترلوکین ۱۷ به‌طور کاملاً معناداری در این گروه افزایش یافت که نشان‌دهنده‌ای تغییر الگوی ایمنونوشیمیایی سایتوکین‌ها توسط پاتوژن‌های موجود در محتویات معده است.<sup>۴۷</sup> علاوه بر عفونت گوش میانی، ارتباط سطح اینترلوکین ۱۷ با عفونت هلیکوباکتریلوری در برخی مطالعات اشاره شده است.<sup>۳۱،۳۲،۳۳</sup> همچنین افزایش سطح اینترلوکین ۲۳ در عفونت‌های گوارشی، بیماری‌های التهابی روده و برخی از عفونت‌های هلیکوباکتریلوری در تحقیقات مختلف نشان داده شده است.<sup>۳۱-۳۳ و ۳۸</sup>

در پژوهش حاضر، عدم تعیین ارتباط بین غلظت اینترلوکین‌های ۱۷ و ۲۳ با وجود عفونت هیلوباکتر می‌تواند به دلایل مختلفی باشد. از علل احتمالی می‌توان به میانگین پایین سنی (حدود ۹ سال) نمونه‌های پژوهش حاضر اشاره کرد که موجب کاهش توانایی مطالعه برای یافتن تفاوت آماری معنادار بین بیماران دارای عفونت (نتیجه مثبت PCR) و فاقد عفونت می‌گردد.

پیشنهاد می‌شود تا مطالعات مشابه آینده با تعداد بیشتر نمونه و در شرایط دقیق آزمایشگاهی اجرا گردد. همچنین انجام مطالعات در نمونه‌های وسیع از مناطق مختلف و شرایط جنسی، سنی و نژادی متفاوت موجب بهبود قابلیت تعمیم نتایج حاصل به کل بیماران مبتلا به عفونت گوش میانی می‌گردد. در مجموع چنین نتیجه‌گیری می‌شود که غلظت اینترلوکین ۶ در بیماران دارای آزمون PCR مثبت (ابتلا به عفونت هلیکوباکتریلوری) افزایش داشت و می‌توان با شناسایی واسطه‌های التهابی مرتبط با عفونت‌های گوش میانی، از آنها به‌عنوان مارکر عفونت در آینده بهره گرفت.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پروژه تحقیقاتی مرکز تحقیقات ENT رسول اکرم (ص) با کد ۱۰۰۴۱ وابسته به معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران می‌باشد و از کارکنان بیمارستان‌های امیراعلم و فیروزگر و رسول اکرم (ص) و مرکز تحقیقات بیماری‌های کودکان رسول اکرم (ص) که در این پروژه همکاری داشته‌اند قدردانی و سپاسگزاری می‌شود. از حمایت کارکنان اتاق عمل گوش، گلو و بینی در بیمارستان‌های امیراعلم، فیروزگر، امیرالمومنین (ص) و حضرت رسول اکرم (ص) و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان وابسته به معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

اینترلوکین ۶ به‌عنوان یک سایتوکین مقدم در موقع بروز اوتیت میانی، می‌تواند تشدید عفونت و تخریب استخوان‌های گوش میانی را نیز باعث گردد. در پژوهش Kuczkowski و همکارانش، افزایش ابراز سایتوکین‌های TNF، IL-1، IL-6 و IL-10 در بیوپسی بافت گوش میانی پس از جراحی اثبات شد.<sup>۴۲</sup> Stol و همکارانش، سطوح سایتوکین‌ها در نمونه ترشحات آسپیره گوش میانی را در کودکان زیر پنج سال مبتلا به عفونت گوش میانی کاندید تعبیه لوله ونتیلاسیون، بررسی نمودند و نشان دادند که افزایش سطح این سایتوکین‌ها از جمله اینترلوکین ۶ در عفونت‌های گوش میانی از نوع باکتریایی در مقایسه با انواع ویروسی، بالاتر است و این غلظت با Bacterial load نیز رابطه مستقیم دارد.<sup>۴۱</sup>

در مطالعه Revai و همکاران، پلی‌مورفیسم خاصی از اینترلوکین ۶ با بروز و استعداد ابتلا به اوتیت‌مدیا رابطه داشته است.<sup>۴۴</sup> در پژوهش انجام شده توسط Patel Janak و همکاران، میزان سایتوکین‌های التهابی اینترلوکین‌های ۱ و ۶ و TNFα در ترشحات نازوفارنکس کودکان مبتلا به عفونت‌های حاد مجاری تنفسی اندازه‌گیری شد که نتایج نشان‌دهنده افزایش میزان سایتوکین‌ها در پی عفونت‌های گوش میانی بود.<sup>۴۵</sup>

مشابه با نتیجه مطالعه حاضر، رابطه بین افزایش ترشح اینترلوکین ۶ و وجود هلیکوباکتریلوری در خون و یا بافت‌های مختلف بدن در برخی تحقیقات گزارش شده است و بیشترین موارد این ارتباط در مخاط معده گزارش شده است،<sup>۲۲-۲۶</sup> هر چند پژوهش مناسبی در مورد نقش این باکتری با ترشح اینترلوکین ۶ که منحصر به عفونت‌های گوش میانی باشد، یافت نشد. مطالعه حاضر قادر به تعیین ارتباط بین اینترلوکین‌های ۱۷ و ۲۳ با عفونت هلیکوباکتریلوری نبود، که با نتایج برخی پژوهش‌ها موجود متناقض است. در آن مطالعات دیده شده است که باکتری‌های زنده و یا اجزای باکتریایی در نهایت موجب ترشح اینترلوکین‌های ۱، ۶، ۸ و TNFα می‌شوند که موجب فراخوانی سلول‌های التهابی و در نتیجه ترشح اینترلوکین ۱۷ و ۲۳ در مراحل بعدی می‌شوند.<sup>۴۶،۴۸</sup>

در مطالعه Stol و همکارانش، علاوه بر اینترلوکین ۶، سطح اینترلوکین ۱۷ در نمونه ترشحات آسپیره گوش میانی کودکان کاندید تعبیه لوله ونتیلاسیون، افزایش یافت.<sup>۴۱</sup> در مطالعه Basoglu و همکارانش، تزریق مستقیم محتویات معده به داخل گوش میانی

## References

1. Teele DW, Klein JO, Chase C, Menyuk P, Rosner BA. Otitis media in infancy and intellectual ability, school achievement, speech, and language at age 7 years. Greater Boston Otitis Media Study Group. *J Infect Dis* 1990;162(3):685-94.
2. Bluestone CD, Stephenson JS, Martin LM. Ten-year review of otitis media pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11(8 Suppl):S7-11.
3. Poetker DM, Lindstrom DR, Edmiston CE, Krepel CJ, Link TR, Kerschner JE. Microbiology of middle ear effusions from 292 patients undergoing tympanostomy tube placement for middle ear disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69(6):799-804.
4. Brook I, Yocum P, Shah K, Feldman B, Epstein S. Microbiology of serous otitis media in children: correlation with age and length of effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110(1):87-90.
5. Marshall B. Helicobacter pylori: 20 years on. *Clin Med* 2002;2(2):147-52.
6. Kanbay M, Kanbay A, Boyacioglu S. Helicobacter pylori infection as a possible risk factor for respiratory system disease: a review of the literature. *Respir Med* 2007;101(2):203-9.
7. Ozdek A, Cirak MY, Samim E, Bayiz U, Safak MA, Turet S. A possible role of Helicobacter pylori in chronic rhinosinusitis: a preliminary report. *Laryngoscope* 2003 Apr;113(4):679-82.
8. Tasker A, Dettmar PW, Panetti M, Koufman JA, P Birchall J, Pearson JP. Is gastric reflux a cause of otitis media with effusion in children? *Laryngoscope* 2002;112(11):1930-4.
9. Agirdir BV, Bozova S, Derin AT, Turhan M. Chronic otitis media with effusion and Helicobacter pylori. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006;70(5):829-34.
10. Bitar M, Mahfouz R, Soweid A, Racoubian E, Ghasham M, Zaatari G, et al. Does Helicobacter pylori colonize the nasopharynx of children and contribute to their middle ear disease? *Acta Otolaryngol* 2006;126(2):154-9.
11. Fujimaki S, Sato N, Hoshino A, Ebina H, Funato T, Kawamura T, et al. The detection of Helicobacter pylori by PCR in gastric diseases. *Rinsho Byori* 1993;41(12):1328-32.
12. Shimada T, Ohtsuka Y, Endoh M, Yoshiura K, Yoneda M, Hiraishi H, et al. Diagnosis of H. pylori infection by PCR. *Nihon Rinsho* 2001;59(2):280-5.
13. Teramae N, Kodama T. Detection of Helicobacter pylori by polymerase chain reaction. *Nihon Rinsho* 1993;51(12):3176-81.
14. Ho GY, Windsor HM. Accurate diagnosis of Helicobacter pylori. Polymerase chain reaction tests. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;29(4):903-15.
15. Tiveljung A, Borch K, Jonasson J, Mårdh S, Petersson F, Monstein HJ. Identification of Helicobacter in gastric biopsies by PCR based on 16S rDNA sequences: a matter of little significance for the prediction of H. pylori-associated gastritis? *J Med Microbiol* 1998;47(8):695-704.
16. Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GN. Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with Helicobacter pylori infection. *Scand J Gastroenterol* 1994;29(5):425-9.
17. Sawai N, Kita M, Kodama T, Tanahashi T, Yamaoka Y, Tagawa Y, et al. Role of gamma interferon in Helicobacter pylori-induced gastric inflammatory responses in a mouse model. *Infect Immun* 1999;67(1):279-85.
18. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *J Immunol* 1998;160(7):3513-21.
19. Shiomi S, Torie A, Imamura S, Konishi H, Mitsufuji S, Iwakura Y, et al. IL-17 is involved in Helicobacter pylori-induced gastric inflammatory responses in a mouse model. *Helicobacter* 2008;13(6):518-24.
20. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441(7090):235-8.
21. Yang XO, Panopoulos AD, Nurieva R, Chang SH, Wang D, Watowich SS, et al. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem* 2007;282(13):9358-63.
22. Odenbreit S, Linder S, Gebert-Vogl B, Rieder G, Moran AP, Haas R. Interleukin-6 induction by Helicobacter pylori in human macrophages is dependent on phagocytosis. *Helicobacter* 2006;11(3):196-207.
23. Lu H, Wu JY, Kudo T, Ohno T, Graham DY, Yamaoka Y. Regulation of interleukin-6 promoter activation in gastric epithelial cells infected with Helicobacter pylori. *Mol Biol Cell* 2005;16(10):4954-66.
24. Ando T, Kusugami K, Ohsuga M, Ina K, Shinoda M, Konagaya T, et al. Differential normalization of mucosal interleukin-8 and interleukin-6 activity after Helicobacter pylori eradication. *Infect Immun* 1998;66(10):4742-7.
25. Gobert AP, Bambou JC, Werts C, Balloy V, Chignard M, Moran AP, et al. Helicobacter pylori heat shock protein 60 mediates interleukin-6 production by macrophages via a toll-like receptor (TLR)-2-, TLR-4-, and myeloid differentiation factor 88-independent mechanism. *J Biol Chem* 2004;279(1):245-50.
26. Stromberg E, Edebo A, Svennerholm AM, Lindholm C. Decreased epithelial cytokine responses in the duodenal mucosa of Helicobacter pylori-infected duodenal ulcer patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10(1):116-24.
27. Stray-Pedersen A, Vege A, Rognum TO. Helicobacter pylori antigen in stool is associated with SIDS and sudden infant deaths due to infectious disease. *Pediatr Res* 2008;64(4):405-10.
28. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 1999;103(9):1345-52.
29. Luzzza F, Parrello T, Monteleone G, Sebkova L, Romano M, Zarrilli R, et al. Up-regulation of IL-17 is associated with bioactive IL-8 expression in Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa. *J Immunol* 2000;165(9):5332-7.
30. Sebkova L, Pellicano A, Monteleone G, Grazioli B, Guarnieri G, Imeneo M, et al. Extracellular signal-regulated protein kinase mediates interleukin 17 (IL-17)-induced IL-8 secretion in Helicobacter pylori-infected human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2004;72(9):5019-26.
31. Luzzza F, Parrello T, Monteleone G, Sebkova L, Romano M, Zarrilli R, et al. Up-regulation of IL-17 is associated with bioactive IL-8 expression in Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa. *J Immunol* 2000;165(9):5332-7.
32. Vanaudenaerde BM, Wuyts WA, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, Demedts MM, Verleden GM. Interleukin-17 stimulates release of interleukin-8 by human airway smooth muscle cells in vitro: a potential role for interleukin-17 and airway smooth muscle cells in bronchiolitis obliterans syndrome. *J Heart Lung Transplant* 2003;22(11):1280-3.
33. Happel KI, Dubin PJ, Zheng M, Ghilardi N, Lockhart C, Quinton LJ, et al. Divergent roles of IL-23 and IL-12 in host defense against Klebsiella pneumoniae. *J Exp Med* 2005;202(6):761-9.
34. Kohyama S, Ohno S, Isoda A, Moriya O, Belladonna ML, Hayashi H, et al. IL-23 enhances host defense against vaccinia virus infection via a mechanism partly involving IL-17. *J Immunol* 2007;179(6):3917-25.
35. Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest* 2006;116(5):1310-6.

36. Khamri W, Walker MM, Clark P, Atherton JC, Thursz MR, Bamford KB, et al. *Helicobacter pylori* stimulates dendritic cells to induce interleukin-17 expression from CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *Infect Immun* 2010;78(2):845-53.
37. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007;8(9):942-9.
38. Caruso R, Fina D, Paoluzi OA, Del Vecchio Blanco G, Stolfi C, Rizzo A, et al. IL-23-mediated regulation of IL-17 production in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Eur J Immunol* 2008;38(2):470-8.
39. Kranzer K, Söllner L, Aigner M, Lehn N, Deml L, Rehli M, et al. Impact of *Helicobacter pylori* virulence factors and compounds on activation and maturation of human dendritic cells. *Infect Immun* 2005;73(7):4180-9.
40. Kisa O, Albay A, Mas MR, Celasun B, Doganci L. The evaluation of diagnostic methods for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;43(4):251-5.
41. Stol K, Diavatopoulos DA, Graamans K, Engel JA, Melchers WJ, Savelkoul HF, et al. Inflammation in the middle ear of children with recurrent or chronic otitis media is associated with bacterial load. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31(11):1128-34.
42. Kuczkowski J, Sakowicz-Burkiewicz M, Izycka-Świeszewska E, Mikaszewski B, Pawelczyk T. Expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-6 and interleukin-10 in chronic otitis media with bone osteolysis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2011;73(2):93-9.
43. Ramakrishnan K, Sparks RA, Berryhill WE. Diagnosis and treatment of otitis media. *Am Fam Physician* 2007;76(11):1650-8.
44. Revai K, Patel JA, Grady JJ, Nair S, Matalon R, Chonmaitree T. Association between cytokine gene polymorphisms and risk for upper respiratory tract infection and acute otitis media. *Clin Infect Dis* 2009;49(2):257-61.
45. Patel JA, Nair S, Revai K, Grady J, Chonmaitree T. Nasopharyngeal acute phase cytokines in viral upper respiratory infection: impact on acute otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28(11):1002-7.
46. Emonts M, Veenhoven RH, Wiertsema SP, Houwing-Duistermaat JJ, Walraven V, de Groot R, et al. Genetic polymorphisms in immune response genes TNFA, IL6, IL10, and TLR4 are associated with recurrent acute otitis media. *Pediatrics* 2007;120(4):814-23.
47. Başoğlu MS, Eren E, Aslan H, Kolatan HE, Ozbay C, Inan S, et al. Increased expression of VEGF, iNOS, IL-1 $\beta$ , and IL-17 in a rabbit model of gastric content-induced middle ear inflammation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012;76(1):64-9.

## Association between concentration of interleukin-6, 17 and 23 and Helicobacter pylori infection in otitis media with effusion

Mohammad Farhadi M.D.<sup>1</sup>  
 Ahmad Daneshi M.D.<sup>1</sup>  
 Shima Javadi-Nia M.D.<sup>2</sup>  
 Mohammad Nabavi M.D.<sup>3</sup>  
 Ramin Asgarian M.D.<sup>2</sup>  
 Mahmood Faramarzi M.Sc.<sup>2</sup>  
 Azardokh Tabatabaie M.Sc.<sup>2\*</sup>

1- ENT-Head and Neck Research Center, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Immunology and Allergy, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Niayesh St., Sattarkhan Ave., Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.  
 Tel: +98- 21- 66516049  
 E-mail: cpidir@gmail.com

### Abstract

Received: 07 Sep. 2014 Accepted: 17 Feb. 2015 Available online: 13 Apr. 2015

**Background:** Helicobacter pylori (H. pylori) cause various diseases especially gastrointestinal disorders. Clinical diagnosis of H. pylori infection can be done in different ways, and new diagnostic methods are under study. This study aimed to assess the levels of interleukin (IL) 6, 17 and 23 in the middle ear effusion of patients with otitis media, and the association between these levels with H. pylori infection.

**Methods:** This cross-sectional study conducted in 40 patients who nominated for ventilation tube (VT) placement due to otitis media with effusion, and admitted to ear, nose, and throat (ENT) clinics of Tehran University of Medical Sciences from March 2012 to August 2013. All of patients underwent myringotomy with VT insertion, and then aspirated effusion sample was tested. H. pylori infection diagnosed by polymerase chain reaction (PCR) and bacterial culture. The concentration of IL-6, IL-17 and IL-23 measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of each interleukins were compared between the two positive and negative PCR groups.

**Results:** In all of samples, PCR test result was positive in 22.5%. The mean and standard deviation of IL-6 level was  $10.11 \pm 2.95$ , IL-17 was  $5.89 \pm 0.91$  and IL-23 was  $4.07 \pm 1.34$ . The mean  $\pm$  standard deviation (SD) of IL-6 level in patients with a positive PCR (H. pylori) was  $22.29 \pm 6.40$  and in patients with a negative PCR was  $6.16 \pm 3.88$  that difference was significant ( $P=0.01$ ). The mean  $\pm$  SD of IL-17 level in patients with a positive PCR was  $6.16 \pm 1.29$  and in patients with a negative PCR was  $5.81 \pm 1.13$  that difference was not significant ( $P=0.42$ ). The mean  $\pm$  SD of IL-23 level in patients with a positive PCR was  $6.15 \pm 3.77$  and in patients with a negative PCR was  $3.42 \pm 1.33$  that difference was not significant ( $P=0.27$ ).

**Conclusion:** According to finding, association between H. pylori infection and increased levels of IL-6 in the middle ear effusion was approved. It is recommended to conduct researches aimed to identify other cytokines as inflammatory markers.

**Keywords:** helicobacter pylori, interleukin, middle ear, otitis media with effusion.