

## نقش ماتریکس‌های متالوپروتئیناز در ایجاد کاویته و تشخیص سل ربوی

## چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۵ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۲ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۸/۰۱/۳۰

**زمینه و هدف:** ماتریکس‌های متالوپروتئیناز (Matrix metalloproteases, MMP) پروتئین‌های چند زنجیره‌ای هستند که نقش آن‌ها در التیام زخم و تعمیر بافت است. در سل، MMPها باعث تخریب بیش از حد بافت ریه و ایجاد کاویته می‌شوند. هدف این مطالعه، بررسی سهم MMPs در آسیب بافتی ریه در سل بود.

**روش بررسی:** در این پژوهش مورد-شاهدی، نمونه‌ی پلاسمای افراد سالم، بیماران علامت‌دار تنفسی و بیماران سل در بیمارستان‌های علی‌بن ابیطالب (ع) و بوعلی شهر زاهدان از اردیبهشت ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ۱۳۹۷ با روش نمونه‌گیری در دسترس، مورد بررسی قرار گرفت. بیماران به دو گروه مبتلا به سل و کنترل تقسیم شدند و سطح MMPs به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) در نمونه پلاسمای دو گروه اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** در پژوهش کنونی ۳۸۴ نفر شامل ۱۲۳ نفر کنترل سالم، ۱۰۷ نفر کنترل علامت‌دار تنفسی بدون سل و ۱۵۴ نفر بیمار مبتلا به سل بررسی شد. سطح MMPs در گروه سل و گروه علامت‌دار تنفسی بالاتر از گروه سالم بود. میانگین MMP-8 به‌طور معناداری در بین دو گروه متفاوت بود ( $P < 0.001$ ). در این مطالعه حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت و منفی، در نمونه MMP-8 پلازما در تشخیص بیماری سل از افراد غیر سلی در  $MMP-8_{cutoff\ point} = 6650\ pg/ml$  به ترتیب  $78/2\%$ ،  $50\%$  و  $93\%$  به‌دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** دو کلاژناز، MMP-1 و MMP-8، در سل فعال بودند، اما MMP-8 به‌طور خاص در سل در مقایسه با هر دو گروه علامت‌دار و کنترل‌های سالم بالاتر بود. غلظت MMP-1,3,8,9 در مردان بیشتر از زنان بود. همچنین درگیری ریه به‌صورت حفره رویی با سطح MMP پلازما مرتبط بود.

**کلمات کلیدی:** پژوهش‌های مورد-شاهدی، ماتریکس متالوپروتئیناز، میکوباکتریوم توبرکلوسیز، حفره رویی.

عباسعلی نیازی<sup>۱</sup>، شیما جوانبخت<sup>۲</sup>  
نزارعلی مولایی<sup>۳</sup>، محمدکاظم مومنی<sup>۳</sup>  
مصیب شهریار<sup>۳</sup>، مهدی نوراله‌زاده<sup>۳\*</sup>

۱- گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.  
۲- بیمارستان علی‌بن ابیطالب (ع)، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.  
۳- گروه بیماری‌های ریه، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، بلوار جنت‌آباد، خیابان سیدخندان، پلاک ۱۱.

تلفن: ۰۲۱-۴۴۳۶۶۹۰

E-mail: mehdi.nourallahzadeh@gmail.com

## مقدمه

ماتریکس‌های متالوپروتئیناز (Matrix metalloproteases, MMP) مدیاتورهای مهمی در پاسخ التهابی و تخریب بافت در بیماری سل هستند. گروهی از پروتئینازها، وابسته به روی می‌باشند که توانایی تنظیم پاسخ سایتوکین‌ها را نیز دارند. برای نمونه: MMP-2، MMP-3، MMP-8 می‌توانند IL-1B را فعال کرده و باعث افزایش التهاب شوند. کلاس‌بندی MMPs براساس ویژگی سوپسترای آن‌هاست. برای نمونه

کلاژنازها (MMP-1، MMP-8، MMP-13) در تایپ ۱ قرار می‌گیرند، درحالی‌که ژلاتینازها (MMP-2، MMP-9) در تایپ ۴ قرار می‌گیرند.<sup>۱</sup> در دو مطالعه انجام‌شده، نشان داده شد که ترشح بالای MMP-8 در انعکاسی از توانایی قابل توجه مایکوباکتریوم توبرکلوسیز در القای پاسخ التهابی شدید میزبان اتفاق می‌افتد و ممکن است نشان‌دهنده درگیری ریه در تشکیل گرانولوما در پاسخ به این ارگانیسم باشد. مونوسیت‌ها و ماکروفاژها به‌علاوه سلول‌های پارانشیمال فضای پلور مانند فیبروبلاست‌ها و سلول‌های مزوتلیال،

التهابی. در این مطالعه با توجه به معیارهای ورود و خروج در طی یک دوره ۳۶ ماهه از سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۷ در بیمارستان‌های علی‌بن ابیطالب (ع) و بوعلی شهر زاهدان، تعداد ۳۸۴ فرد شرکت کرده‌اند که با فراوانی ۱۲۳ نفر کنترل سالم، ۱۰۷ نفر کنترل علامت‌دار و ۱۵۴ بیمار مبتلا به سل ریوی فعال بودند. میانگین سنی آن‌ها برابر با (۹۵CI)٪: ۶۷/۵-۲۳) ۳۸/۵ سال بود و توزیع جنسیتی به صورت ۱۶۵ نفر مرد و ۲۱۹ نفر زن بود. افراد به‌طور داوطلب وارد مطالعه شدند و موازین اخلاق پزشکی در نمونه‌گیری خون و روند ثبت و آنالیز داده‌ها در نظر گرفته شد. پس از جداسازی پلازما در نمونه‌های به‌دست‌آمده، از هر نمونه ۲ ml جهت سانتریفیوژ با دور ۳۴۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه که نمونه به‌دست‌آمده از سانتریفیوژ جهت آزمایشات MMPs با تکنیک الایزا و براساس دستورکار کیت اندازه‌گیری شد. نمونه‌های ریوی جدا شده تا زمان تکمیل تعداد نمونه و آنالیزهای بعدی در یخچال با دمای °C -۷۰ ذخیره شد.

برای اندازه‌گیری MMPs به‌روش الایزا در مایع پلور از Human MMPs ELISA Kit (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) استفاده شد. انجام تست بر اساس دستورکار کیت توسط تکنسین آزمایشگاه به‌شرح زیر می‌باشد. آنتی‌بادی پلی‌کلونال MMPs به سطح میکروپلیت متصل شده است. نمونه‌های پلازما به میکروپلیت اضافه می‌گردد و پلیت در حرارت اتاق برای ۹۰ دقیقه انکوباسیون شده سپس اضافه کردن آنتی‌بادی که با بیوتین کونژوگه شده است به هر چاهک و دوباره انکوباسیون در دمای اتاق برای ۶۰ دقیقه سپس پلیت با بافر شسته شده و پس از آن کمپلکس Avidin-biotin-peroxidase به چاهک اضافه می‌شود. دوباره انکوباسیون در دمای اتاق برای ۳۰ دقیقه و شست‌وشو با بافر صورت می‌گیرد. سپس به پلیت HRP اضافه می‌شود. این معرف قادر است به بیوتین کونژوگه شده متصل گردد. پس از آن سوسترایی که قادر است با HRP وارد واکنش گردد به چاهک‌ها اضافه شده و انکوباسیون پلیت در دمای اتاق برای ۲۵-۲۰ دقیقه که منجر به ایجاد رنگ آبی شده و میزان رنگ تولید شده بستگی به میزان MMPs موجود در نمونه دارد. برای خاتمه آزمایش از محلول متوقف‌کننده استفاده شده و میزان MMPs نمونه بر اساس منحنی استاندارد کیت، اندازه‌گیری شد.

از آمار توصیفی جهت بیان میانگین و از منحنی ROC برای تعیین Cut off point با SPSS software, version 24 (IBM SPSS)

ممکن است غلظت بالای MMP-8 را ترشح کنند.<sup>۳،۲</sup> شناخت مکانیزم‌های بیماری، برای به‌دست آوردن رویکردهای درمانی جدید، ضروری است.<sup>۴</sup> تخریب بافت مشخصه سل است و این تخریب نتیجه پاسخ فعالیت سیستم ایمنی میزبان به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb) است.<sup>۵-۷</sup> در نتیجه‌ی پاسخ سیستم ایمنی به باسیل سل، در ماتریکس خارج سلولی ریه (Extracellular matrix, ECM) کاپوته تشکیل می‌شود که منجر به مرگ‌ومیر و افزایش انتقال بیماری می‌شود.<sup>۸</sup> این مهم به‌خوبی ضرورت انجام این پژوهش را روشن می‌سازد. در این پژوهش، بر نقش یک گروه از آنزیم‌های شناخته‌شده به‌عنوان ماتریکس متالوپروتیناز (MMPs) در تخریب بافت ریه تمرکز شده است. می‌توان با تعدیل فعالیت MMPها، از فعالیت شدید آن‌ها در بیماری سل جلوگیری نمود و در نتیجه از تخریب بیش از حد بافت ریه در دوره فعال بودن سل پیشگیری نمود.<sup>۹،۱۰</sup> هدف از این پژوهش بررسی نقش MMPها در ایجاد حفره ریوی و ارزش تشخیصی آن‌ها در کمک به تشخیص یا غربالگری سل ریوی بود.

## روش بررسی

پژوهش کنونی، یک مطالعه مورد-شاهدی است که از اردیبهشت ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ۱۳۹۷ در دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، بیمارستان‌های بوعلی و علی‌بن ابیطالب (ع) تحت نظارت و حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری و شماره ثبت تحقیق ۷۶۹۹ مورخه ۹۵/۲/۱۲ و تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زاهدان با کد اخلاق IR.ZAUMS.REC.1395.41 انجام شد.

افراد در دو جامعه سلی و غیرسلی به‌صورت مطالعه مورد-شاهد با روش نمونه‌گیری در دسترس مورد مطالعه قرار گرفتند. بیماران مبتلا به سل حداقل یکی از معیارهای زیر را برای ورود به مطالعه داشتند: ۱- اسامیر مثبت خلط برای باسیل اسید فاست در میکروسکوپ نوری، ۲- کشت خلط مثبت برای Mtb، ۳- ویژگی‌های بالینی بسیار قوی مبتنی بر سل همراه با ویژگی‌های تشخیصی در رادیوگرافی قفسه‌سینه و شروع درمان سل توسط پزشک. معیارهای خروج از مطالعه شامل بیمارانی بود که پس از اقدامات تشخیصی علت علائم تنفسی در آن‌ها مشخص نشد و همچنین بیماران دیابتی و کلیوی به‌دلیل ایجاد اختلال در فرآیندهای

## یافته‌ها

جامعه تحت مطالعه شامل ۱۲۳ نفر کنترل سالم، ۱۰۷ نفر کنترل علامت‌دار و ۱۵۴ نفر بیمار مبتلا به سل ریوی فعال بودند (جدول ۱). گروه‌های سالم و علامت‌دار به‌طور سنی کمابیش با هم برابر بودند، اما گروه بیماران سل به‌طور معناداری پیرتر از دو گروه دیگر بود.

Armonk, NY, USA) آنالیز شد و در نهایت به‌دلیل تغییرات معنادار MMP-8 در بیماران سلی، حساسیت و ویژگی برای تست MMP-8 تعیین شد و جهت تعیین وجود یا عدم اختلاف در میانگین میزان فاکتورهای اندازه‌گیری شده در بین دو گروه سل و غیرسل از Student's t-test استفاده شد.  $P < 0.05$  به‌عنوان معنادار بودن در نظر گرفته شد.

جدول ۱: ویژگی‌های بیماران شرکت‌کننده در پژوهش کنونی برای آنالیز ماتریکس متالوپروتئیناز پلاسما

سالم		علامت‌دار		مبتلا به سل		مشخصات بیماران (شامل گروه‌های مورد بررسی و تعداد آن‌ها بر حسب درصد و نفر)	
نفر	درصد	نفر	درصد	نفر	درصد		
۱۲۳	۳۱	۱۰۷	۲۹	۱۵۴	۴۰	تعداد بیماران	
(بروز جمعی ۴۰-۲۳؛/۹۵)		(بروز جمعی ۶۷/۵-۲۴/۵؛/۹۵)		(بروز جمعی ۵۸-۲۲؛/۹۵)		متوسط سن (سال)	
۴۲:۸۱	۳۴:۶۶	۳۶:۷۱	۳۳:۶۷	۸۷:۶۷	۵۶:۴۴	نسبت مرد به زن (نسبت درصد-نسبت نفرات)	مرد زن
-	-	-	-	۱۴۷	۹۵	اسمیر	مثبت
-	-	۱۰۷	۱۰۰	۷	۴/۵		منفی
-	-	-	-	۱۴۶	۹۴	کشت	مثبت
-	-	۱۰۷	۱۰۰	۸	۵/۳		منفی
۴	۳	۱۹	۱۷	۳۴	۲۳	سل پیشین	
۲۵/۸۶ (۵/۱ ±)		۲۴/۱۵ (۴/۳ ±)		۲۱/۶۶ (۲/۳ ±)		متوسط توده بدنی ( $\text{kg/m}^2 \pm$ انحراف معیار)	
۴۲	۳۵	۱۰۷	۱۰۰	۱۵۴	۱۰۰	علائم بیمار	سرفه
۲	۲	۲۸	۲۶	۷۱	۲۷		هموپتیزی
۱۷	۱۴	۵۲	۴۶	۹۳	۶۲		تب
۴۰	۳۳	۷۲	۶۶	۱۲۳	۸۱		کاهش وزن
۲۳	۱۹	۵۷	۵۲	۱۰۹	۷۲		کاهش اشتها
-	-	۱۱	۱۰/۲	۱۳۱	۸۵/۰۶	کالوتیه ریوی	
-	-	-	-	۳	۱/۹	سل مقاوم به دارو	
-	-	(بروز جمعی ۱۰-۱؛/۹۵)		(بروز جمعی ۳۰-۱؛/۹۵)		بروز علائم (متوسط تعداد روز)	

MMP-1,3,8,9 به‌طور جداگانه برای هر جنس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت تا اطمینان حاصل شود که سطح بالای مشاهده نشده است. با تجزیه و تحلیل وابسته به جنس، غلظت MMP-1 در هر دو گروه TB فعال و علامت‌دار در مقایسه با گروه کنترل سالم در مردان افزایش داشت (0/05، 0/01).  $P < 0/01$ . با این حال در زنان، تنها در سل‌های فعال نسبت به کنترل‌های سالم افزایش نشان داد ( $P < 0/01$ ).

غلظت MMP-8 در سل فعال در مقایسه با گروه علامت‌دار و کنترل‌های سالم در هر دو جنس بیشتر بود. غلظت پلاسماهایی MMP-3 و MMP-10 هیچ تفاوت معناداری بین سه گروه بالینی برای جنس‌ها به‌صورت جداگانه نشان نداد. تجزیه و تحلیل Receiver operating characteristic (ROC) با استفاده از MMP-8 به‌عنوان یک متغیر واحد انجام شد. تا مشخص شود که آیا کمک‌کننده تمایز سل‌های فعال از بیماران علامت‌دار (علایم مشکوک به بیماری سل، اما فعال بودن بیمار) است؟ چراکه MMP-8 بهترین پارامتری است که بین سل و سایر گروه‌ها اختلاف دارد. نقطه قطع برای MMP-8 با برش مطلوب برابر با  $\text{cutoff point} = 6650 \text{ pg/ml}$  MMP-8 با ویژگی  $78/2\%$  و حساسیت  $65/4\%$  به‌دست آمد.

## بحث

مطالعات پیشین MMPs را در محل اولیه بیماری، به جای گردش خون، با تجزیه و تحلیل بیوپسی خلط و ریه ارزیابی کرده‌اند. یک مطالعه اولیه نشان داد که در دو بیمار مبتلا به سل فعال در مقایسه با یک کنترل واحد، MRP-9 mRNA اندازه‌گیری شده بالا بود.<sup>۱۴</sup> آنالیز ایمنونوهیستوشیمی نشان داد که MMP-1 هم در ماکروفازهای گرانولومای سل و هم در مجاورت سلول‌های اپیتلیال وجود دارد.<sup>۱۵</sup> غلظت پلاسمایی MMP-1,2,3,8 در خلط القاشده در بیماران مبتلا به سل ریوی افزایش یافت.<sup>۱۷</sup> بیمارانی که کاویته ریوی داشتند دارای غلظت پلاسمایی MMP بالاتری بودند که با نتایج تحقیقات پیشین همخوانی دارد. غلظت MMP-1 و MMP-2 با میزان نفوذ در رادیوگرافی قفسه‌سینه، همبسته بودند و در بیماران دارای کاویتاسیون بیشتر بود.<sup>۱۸،۱۹</sup>

بنابراین، در این مطالعه از MMPهای فعال، که در آن غلظت کلاژناز MMP-1 و MMP-8 افزایش یافته باشد، هماهنگی‌هایی با

(میانگین ۴۸/۵ سال در مقابل گروه سالم با ۳۱ سال،  $P < 0/05$ ). در گروه کنترل سالم و علامت‌دار بالینی نسبت زنان بیشتر بود و نسبت مردان در گروه سل فعال (۵۶٪) بیشتر بود.<sup>۱۲،۱۱</sup>

۹۵٪ بیماران مبتلا به سل فعال، اسمیر خلط مثبت بودند. تمامی گروه علامت‌دار، اسمیر و کشت منفی بودند. بیماران مبتلا به سل فعال دارای شاخص توده بدنی پایین (BMI) در مقایسه با کنترل علامت‌دار و کنترل سالم (۲۱/۶۶ در گروه سلی در مقابل ۲۴/۱۵ در گروه علامت‌دار و ۲۵/۸۶ در گروه سالم با  $P < 0/001$ ) بودند.

کنترل‌های علامت‌دار و بیماران مبتلا به سل فعال از نظر تعداد روز بروز علایم بالینی با هم همپوشانی داشتند، اما متوسط طول مدت در گروه سل، طولانی‌تر بود (متوسط هفت روز در گروه سلی در مقایسه با دو روز در گروه علامت‌دار).

سطح MMP-1,3,7,8,9,10 در پلاسماهای همه گروه بیماران گروه کنترل اندازه‌گیری شد. MMP-1 در هر دو گروه سل ریوی فعال و گروه علامت‌دار بالینی در مقایسه با گروه شاهد سالم افزایش یافت (0/01، 0/01).  $P < 0/01$ ، اما بین گروه TB فعال و گروه علامت‌دار تفاوت چندانی وجود ندارد.<sup>۱۳</sup> غلظت MMP-8 به‌طور خاص در پلاسماهای بیماران مبتلا به سل فعال در مقایسه با گروه علامت‌دار و همچنین کنترل سالم افزایش یافته است ( $P < 0/001$ ) ولی بین گروه علامت‌دار و گروه کنترل‌های سالم تفاوت چندانی وجود ندارد. غلظت MMP-7 در هر دو گروه سل ریوی فعال و علامت‌دار نسبت به شاهد سالم افزایش یافته (در هر دو  $P < 0/01$ ) است، اما بین TB فعال و علامت‌دار، تفاوت وجود ندارد. با این حال MMP-7 پلاسما تنها در بخش کوچکی از بیماران مبتلا به سل افزایش می‌یابد. غلظت MMP-9 در سل‌های فعال فقط در مقایسه با کنترل‌های سالم افزایش یافت (0/05).  $P < 0/05$ ، اختلاف آماری معناداری بین MMP-9 بین TB فعال و گروه کنترل علامت‌دار یا کنترل علامت‌دار و کنترل سالم وجود ندارد. غلظت MMP-3 و MMP-10 اختلاف بین هر یک از گروه‌ها را نشان نمی‌دهند. بنابراین، MMPهایی که در گروه TB سطح بالایی داشتند، MMP-1,7,8,9 بود، اما MMP-8 بیشترین میزان را در TB در مقایسه با گروه علامت‌دار داشت.

در گروه مورد تجزیه و تحلیل مطالعه کنونی، غلظت MMP-1,3,8,9 به‌طور مشابه در مردان بیشتر بود. گروه سل فعال دارای درصد بالایی از مردان و گروه کنترل علامت‌دار بیشتر از زنان بود. بنابراین سطوح

مطالعه کنونی، ارتباط نزدیک MMP-8 با MMP-9 نشان می‌دهد که نوتروفیل‌ها منبع اولیه MMP-8 در پلاسمای بیماری سل هستند. این مطابق با یک مفهوم در حال ظهور پاتولوژی مبنی بر فعالیت نوتروفیل تحت کنترل ریه در سل ریوی است.<sup>۲۴</sup>

در پژوهش کنونی اختلاف جنسی در مهاجرت‌های MMP در داخل گروه‌های خود مشاهده شد. یافته‌های پژوهش کنونی نشان داد که مردان بیشتر و اغلب پاسخ التهابی مضرتر به عفونت نسبت به زنان دارند.<sup>۲۵</sup> یک مکانیسم پیشنهادی این است که هورمون‌های جنسی مردانه آسیب‌زننده و هورمون‌های جنسی زنانه محافظت‌کننده هستند.<sup>۲۶</sup> به‌عنوان نمونه در سپسیس، میزان مرگ‌ومیر مردان می‌تواند تا ۷۰٪ در مقایسه با ۲۶٪ در زنان باشد، و مردان دارای سطح بالای از Pro-inflammatory TNF $\alpha$  هستند، اما سطح سرمی IL-10 که تعدیل‌کننده و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است، در مردان پایین‌تر است. یافته‌های نوتروفیل در زنان نشان می‌دهد که کاهش MMP-9 و TNF $\alpha$  در دوره چرخه قاعدگی هنگامی که میزان استروژن بالاتر باشد، بیان می‌شود.<sup>۲۷</sup> در یکی از مطالعات با اشاره خاص به میکوباکتریوم، M-marinum که موش‌های نر را آلوده کرده بود، نشان داده شد که ضایعات التهابی گرانولوماتوز متعدد و بار باکتریایی بالا در ریه‌های نرها در سه هفته پس از عفونت به‌طور کامل مشهود است، درحالی‌که موش‌های ماده با چند ضایعه کوچک پارانشیمی و بار باکتریایی پایین‌تر، در نتیجه ریه سالم‌تری داشتند. یافته‌ها در موش‌های نر و ماده در مقایسه با نرهایی که تستوسترون آن‌ها تعدیل شد قابل تامل است. در صورت تضعیف تستوسترون در نرها، باکتری‌ها کشته شدند و ریه به حالت اولیه برگشت.<sup>۲۸</sup>

در مجموع نشان داده شد که سطح MMP-8 پلازما در سل‌های فعال ریوی افزایش یافته که نشان‌دهنده فعالیت بیش از حد کلاژناز در تخریب بافت در سل است. افزایش MMP-8 پلازما ویژه بیماران مبتلا به سل می‌باشد و در گروه علامت‌دار تنفسی یا سایر عفونت‌های تنفسی افزایش نمی‌یابد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی ارزش تشخیصی آدنوزین د آمیناز در مقایسه با ماتریکس متالوپروتئیناز-۸ در افتراق پلورال فیوزن سلی از غیرسلی" مصوب دانشگاه علوم پزشکی زاهدان در سال ۱۳۹۵ به کد ۷۶۹۹ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان اجرا شده است.

مطالعات خلط القا شده دارد، اما تفاوت مطالعات این است که در نمونه‌برداری از دو بخش، تفاوت وجود دارد. به‌نظر می‌رسد غلظت MMP-1 در خلط، بالاتر از دیگر MMPها باشد، درحالی‌که MMP-8 بهترین نشانگر در پلازما است، که نشان می‌دهد که تجزیه و تحلیل پلازما به‌طور کامل نشان‌دهنده وقایع Interstitial ریه نیست. جالب است که توجه داشته باشید که دو کلاژناز در پلازما افزایش یافته است، زیرا کلاژن فیبرولیز اولیه ساختار ECM ریه است و یافته‌های ما این فرضیه را تأیید می‌کند که فعالیت کلاژنولیتیک بیش از حد برای تخریب بافت مشاهده شده در سل ریوی بسیار مهم است.

مطالعه کنونی دو تفاوت اصلی با مطالعات دیگر دارد. اول اینکه تعداد زیادی از شرکت‌کنندگان را شامل می‌شود و دوم و مهمتر از همه اینکه، گروه کنترل دارای زیر گروه علامت‌دار تنفسی نیز می‌شود. این امر اجازه می‌دهد تا نتیجه‌گیری در مورد MMPs پلازما در TB به‌طور خاص در مقایسه با سایر عفونت‌های تنفسی بررسی شود.

از MMPها مورد مطالعه، MMP-8 به‌طور خاص در پلازما فقط در سل‌های فعال در مقایسه با سایر عفونت‌های تنفسی بالا می‌رود، درحالی‌که MMP-1 به‌طور غیر اختصاصی در عفونت تنفسی نیز افزایش یافت. با توجه به داده‌های پیشین منتشر شده در مورد MMP-1 در خلط القا شده در سل فعال، می‌توان در نظر گرفت که MMP-1 کمابیش به یک اندازه در پلاسمای گروه سل فعال و گروه کنترل‌های علامت‌دار افزایش یافته است.<sup>۱۶</sup> باین‌حال گروه کنترل علامت‌دار، علائمی را که با عفونت ریه مرتبط بود نشان می‌داد، هر چند سل تشخیص نهایی نبود. غلظت MMP دارای طیفی از نقش‌های مخرب غیربافتی هستند که در پاسخ ایمنی ذاتی اهمیت دارند. آن‌ها توانایی برهم زدن بالانس پروتئین‌های محافظ میزبان مانند گیرنده‌ها، سایتوکین‌ها و سیگنال‌های شیمیایی، و اثراتی مانند جذب لکوسیت‌ها را به محل عفونت، فعال‌سازی سلول‌های التهابی، ایجاد امواج القایی و افزایش فعالیت‌های میکروبی سیدال دارند.<sup>۲۱،۲۰</sup>

افزایش MMP-8 در TB فعال، نشان‌دهنده حضور فعالیت غیرطبیعی بیش از حد نوتروفیل در این بیماران است. نوتروفیل‌ها منبع اصلی سلولی MMP-8 هستند، هر چند ممکن است توسط سلول‌های دیگر نیز بیان شوند.<sup>۲۲</sup> لازم به یادآوری است که MMP-8 و MMP-9 در گرانول‌ها در داخل نوتروفیل‌ها ذخیره می‌شوند و آزاد شدن آن‌ها بر روی فعال‌سازی و تخریب سلولی رخ می‌دهد.<sup>۲۳</sup> در

## References

- Lay JC, Peden DB, Alexis NE. Flow cytometry of sputum: assessing inflammation and immune response elements in the bronchial airways. *Inhal Toxicol* 2011;23(7):392-406.
- Vatanserver S, Gelisgen R, Uzun H, Yurt S, Kosar F. Potential role of matrix metalloproteinase-2,-9 and tissue inhibitors of metalloproteinase-1,-2 in exudative pleural effusions. *Clin Invest Med* 2009;32(4):E293-300.
- Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M1, Rosochacki S1. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2016;31(sup1):177-83.
- Velayati AA, Masjedi MR1, Farnia P2, Tabarsi P1, Ghanavi J3, ZiaZarif AH1, et al. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. *Chest* 2009;136(2):420-5.
- Udwadia ZF, Amale RA, Ajbani KK, Rodrigues C. Totally drug-resistant tuberculosis in India. *Clin Infect Dis* 2012;54(4):579-81.
- Klopper M, Warren RM, Hayes C, Gey van Pittius NC, Streicher EM, Müller B, et al. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2013;19(3):449-55.
- Public Health England. Tuberculosis in England: 2017 report (presenting data to end of 2016) [Internet]. London: Tuberculosis Section, Centre for Infectious Disease Surveillance and Control, National Infection Service, PHE; 2016 [cited 2019 Mar 15]. Available from: [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/686185/TB\\_Annual\\_Report\\_2017\\_v1.1.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/686185/TB_Annual_Report_2017_v1.1.pdf)
- World Health Organization (WHO). Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. Geneva: WHO; 2017.
- Gandhi NR, Nunn P, Dheda K, Schaaf HS, Zignol M, van Soolingen D, et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a threat to global control of tuberculosis. *Lancet* 2010;375(9728):1830-43.
- Mavhu W, Dauya E, Bandason T, Munyati S, Cowan FM, Hart G, et al. Chronic cough and its association with TB-HIV co-infection: factors affecting help-seeking behaviour in Harare, Zimbabwe. *Trop Med Int Health* 2010;15(5):574-9.
- Lönnroth K, Williams BG, Cegielski P, Dye C. A consistent log-linear relationship between tuberculosis incidence and body mass index. *Int J Epidemiol* 2010;39(1):149-55.
- Mattey DL, Nixon NB, Dawes PT. Association of circulating levels of MMP-8 with mortality from respiratory disease in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2012;14(5):R204.
- Suojanen J, Salo T, Koivunen E, Sorsa T, Pirilä E. A novel and selective membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) inhibitor reduces cancer cell motility and tumor growth. *Cancer Biol Ther* 2009;8(24):2362-70.
- Gonzalez OY, Musher DM, Brar I, Furgeson S, Boktour MR, Septimus EJ, et al. Spectrum of bacille Calmette-Guérin (BCG) infection after intravesical BCG immunotherapy. *Clin Infect Dis* 2003;36(2):140-8.
- Elkington PT, Nuttall RK, Boyle JJ, O'Kane CM, Horncastle DE, Edwards DR, et al. Mycobacterium tuberculosis, but not vaccine BCG, specifically upregulates matrix metalloproteinase-1. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172(12):1596-604.
- Elkington PT, Emerson JE, Lopez-Pascua LD, O'Kane CM, Horncastle DE, Boyle JJ, et al. Mycobacterium tuberculosis up-regulates matrix metalloproteinase-1 secretion from human airway epithelial cells via a p38 MAPK switch. *J Immunol* 2005;175(8):5333-40.
- Walker NF, Clark SO, Oni T, Andreu N, Tezera L, Singh S, et al. Doxycycline and HIV infection suppress tuberculosis-induced matrix metalloproteinases. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185(9):989-97.
- Elkington P, Shiomi T, Breen R, Nuttall RK, Ugarte-Gil CA, Walker NF, et al. MMP-1 drives immunopathology in human tuberculosis and transgenic mice. *J Clin Invest* 2011;121(5):1827-33.
- Parks WC, Wilson CL, López-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2004;4(8):617-29.
- Taggart CC, Greene CM, Carroll TP, O'Neill SJ, McElvaney NG. Elastolytic proteases: inflammation resolution and dysregulation in chronic infective lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(10):1070-6.
- Van Lint P, Libert C. Matrix metalloproteinase-8: cleavage can be decisive. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17(4):217-23.
- Devy L, Huang L, Naa L, Yanamandra N, Pieters H, Frans N, et al. Selective inhibition of matrix metalloproteinase-14 blocks tumor growth, invasion, and angiogenesis. *Cancer Res* 2009;69(4):1517-26.
- Berry MP, Graham CM, McNab FW, Xu Z, Bloch SA, Oni T, et al. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature* 2010;466(7309):973-7.
- Hartog CM, Wermelt JA, Sommerfeld CO, Eichler W, Dalhoff K, Braun J. Pulmonary matrix metalloproteinase excess in hospital-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(4):593-8.
- Marriott I, Huet-Hudson YM. Sexual dimorphism in innate immune responses to infectious organisms. *Immunol Res* 2006;34(3):177-92.
- Smith JM, Shen Z, Wira CR, Fanger MW, Shen L. Effects of menstrual cycle status and gender on human neutrophil phenotype. *Am J Reprod Immunol* 2007;58(2):111-9.
- Kurowska-Stolarska M, Alivernini S, Ballantine LE, Asquith DL, Millar NL, Gilchrist DS, et al. MicroRNA-155 as a proinflammatory regulator in clinical and experimental arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(27):11193-8.
- Denkinger CM, Pai M. Point-of-care tuberculosis diagnosis: are we there yet? *Lancet Infect Dis* 2012;12(3):169-70.

## Role of metalloproteinase matrix in development of cavity and diagnosis of pulmonary tuberculosis

Abbasali Niyazi M.D.<sup>1</sup>  
Shima Javanbakht M.D.<sup>2</sup>  
Nezar Ali muolaie M.D.<sup>3</sup>  
Mohamad Kazem Momeni M.D.<sup>3</sup>  
Mosayeb Shahriyar M.D.<sup>3</sup>  
Mehdi Nourallahzadeh M.D.<sup>2\*</sup>

1- Department of Pathology, Cellular and Molecular Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

2- Ali Ibn Abitaleb Hospital, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

3- Department of Lung Diseases, Infectious Tropical Diseases Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

\* Corresponding author: No. 11, Seid Khandan St., Janat Abad Blvd., Tehran, Iran.  
Tel: +98 21 44436490  
E-mail: mehdi.nourallahzadeh@gmail.com

### Abstract

Received: 06 Nov. 2018 Revised: 13 Nov. 2018 Accepted: 09 Apr. 2019 Available online: 19 Apr. 2019

**Background:** Matrix metalloproteinases (MMPs) are multi-chain proteins that regulated by tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) and several other mechanisms. This Includes transcription regulation and protein form secretion. The roles of MMPs in wound healing and tissue repair. In tuberculosis (TB), the activity of MMPs is increased and TIMP inhibitors decrease activity. Therefore, in tuberculosis, MMPs cause excessive damage to the lung tissue and cavity formation.

**Methods:** In a case-control study, plasma samples of healthy controls, symptomatic respiratory tract controls and tuberculosis patients were evaluated by available sampling in Ali Ibn Abitaleb and Bouali Hospitals, Zahedan, Iran, from April 2015 to April 2018. Patients were divided into two groups: tuberculosis and control group and the level of MMPs were measured by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in plasma samples of the two groups. For MMP-8, which was important in the diagnosis of tuberculosis, a cutoff point was obtained.

**Results:** 384 people including 123 healthy controls. 107 non-tuberculosis, and 154 tuberculosis patients were examined; 230 patients in the control group and 154 patients in the tuberculosis group. Levels of MMPs in tuberculosis and symptomatic respiratory group were higher than healthy group. The mean of MMP-8 was significantly different between two groups ( $P < 0.001$ ). In this study, sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of plasma MMP-8 in detection of TB in non-TB patients in MMP-8 cutoff point=6650 pg/ml were 65.4%, 78.2%, 50%, and 93% respectively outcome. Significantly, the rate of pulmonary cavity was significantly higher in the TB group; Higher cavity, higher concentration of plasma MMPs.

**Conclusion:** In this study, first comprehensive analysis of MMPs was performed. Two collagenases, MMP-1 and MMP-8, were active in tuberculosis, but MMP-8 was specifically higher in tuberculosis than in both symptomatic and healthy controls. Level of MMP-1, 3, 8, 9 was higher in men than in women. The analysis of genders separately showed MMP-8 was increased in tuberculosis group in comparison with control group and MMP-1 group in both TB and symptomatic respiratory tract increased.

**Keywords:** case-control studies, matrix metalloproteinase, mycobacterium tuberculosis, thoracic cavity.