

## بررسی ارتباط سطح سایتوکین‌های التهابی اینترلوکین-۱۰ و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا با پاسخ ویرولوژیک به درمان در بیماران مبتلا به ویروس نقص ایمنی انسانی

### چکیده

دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۴ آنلاین: ۱۴۰۱/۰۲/۰۱

**زمینه و هدف:** علیرغم پیشرفت‌های بسیار، درمان کامل بیماری ایدز با چالش‌هایی از جمله مقاومت ویروسی و درمان ناموفق دارویی مواجه گردیده است. هدف این مطالعه بررسی تفاوت در پروفایل سایتوکینی در بیماران با درمان موفق و بیماران با درمان ناموفق جهت فهم بهتر سازوکار شکست درمان دارویی می‌باشد.

**روش بررسی:** ۶۹ بیمار مبتلا به ویروس نقص ایمنی انسانی که از مهر ۱۳۹۷ تا اسفند ۱۳۹۹ به مرکز بهداشت غرب تهران جهت درمان مراجعه کردند، در این مطالعه وارد گردیدند. تعداد سلول‌های CD4+ و همچنین بار ویروسی خونی بیماران به ترتیب با روش‌های فلوسایتومتری و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بی‌درنگ کمی (RT-qPCR) اندازه‌گیری گردید و براساس آن بیماران به دو گروه درمان موفق (۳۶ نفر) و درمان ناموفق (۳۳ نفر) تقسیم شدند. سپس سطح سرمی سایتوکین‌های فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) در آنان توسط روش الیزا اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج آزمایشات نشان‌دهنده این بود که سطح فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا (TNF- $\alpha$ ) در بیماران گروه درمان ناموفق به‌صورت قابل توجهی از بیماران گروه درمان موفق بالاتر بود (۱۰/۴۳±۱۰/۱۷ pg/ml) در مقابل (۵/۳۷±۵/۲۵ pg/ml) در سطح سرمی اینترلوکین-۱۰ (IL-10) بین دو گروه مورد مطالعه تفاوتی مشاهده نگردید. همچنین مدل‌های رگرسیون خطی نشان داد که در بیماران با درمان ناموفق، رژیم درمانی مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی (NNRTI)، بر میزان سطح سرمی IL-10 تاثیرگذار می‌باشد (ضریب رگرسیون ۱۰/۸۸ (P=۰/۰۳، (CI: ۱/۳۲-۲۰/۴۵).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این مطالعه نقش بالقوه TNF- $\alpha$  را به‌عنوان فاکتور پیش‌التهابی در پیشرفت بیماری ایدز یا شکست درمان نشان می‌دهد. از این رو، مطالعات بیشتر در آینده جهت شفاف‌سازی این رابطه می‌تواند کمک بسزایی در پیشرفت دانش درمانی در مقابله با بیماری ایدز باشد.

**کلمات کلیدی:** ویروس نقص سیستم ایمنی، درمان ضدترتروویروس با فعالیت بالا، اینترلوکین-۱۰، فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا.

سعیده ابراهیمی<sup>۱</sup>، سعید کلانتری<sup>۲</sup>، سهیل رحمانی فرد<sup>۳</sup>، میترا کهندل<sup>۳</sup>، زهرا امیری<sup>۳</sup>، یوسف علی محمدی<sup>۴</sup>، سارا مینائیان<sup>\*۳</sup>

۱- گروه بیماری‌های عفونی و طب گرمسیری، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرج، کرج، ایران.

۲- گروه بیماری‌های عفونی و طب گرمسیری، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی، پژوهشکده ایمنولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.  
۴- مرکز تحقیقات سلامت، انستیتو سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، بیمارستان حضرت رسول اکرم، پژوهشکده ایمنولوژی و بیماری‌های عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی.

تلفن: ۰۲۱-۶۴۳۵۲۳۰۶

E-mail: sara.minaician@gmail.com

### مقدمه

سلول‌های CD4+T ایجاد می‌شود.<sup>۱</sup> سایتوکین‌ها نقش مهمی در ورود ویروس HIV به بافت‌های میزبان، پیشرفت بیماری و بروز عفونت‌های فرصت طلب دارند. عفونت HIV با فعال شدن سیستم ایمنی و تولید سایتوکین‌های پیش و ضدالتهابی آغاز می‌گردد. هنگامی

سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS) یک بیماری سیستم ایمنی است که در اثر عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) و کاهش

تصویر از مقدار تکثیر ویروس و آسیب سیستم ایمنی در طی درمان HAART بدهد.<sup>۱۰</sup>

براساس شواهد موجود بر نقش فاکتورهای التهابی سیستم ایمنی بر پیشرفت بیماری ایدز، هدف مطالعه حال حاضر بررسی و مقایسه میزان سطح سایتوکین‌های TNF- $\alpha$  و IL-10 بین بیماران مبتلا به HIV با درمان موفق و بیماران با درمان ناموفق به منظور فهم بهتر ارتباطات بین سیستم ایمنی، دارو و سیر بیماری می‌باشد.

## روش بررسی

جامعه مورد مطالعه: در مطالعه مقطعی (Cross-sectional) حال حاضر، ۶۹ بیمار مبتلا به HIV از بین مراجعه‌کنندگان به مرکز بهداشت غرب تهران (وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران) از سال ۱۳۹۷ تا سال ۱۳۹۹ انتخاب گردیدند و در این مطالعه وارد شدند.

بیماران از لحاظ میزان پاسخ به درمان و همچنین سطح فاکتورهای التهابی مورد بررسی قرار گرفته و براساس میزان پاسخ به درمان به دو گروه درمان موفق و درمان ناموفق تقسیم شدند. پاسخ به درمان براساس دستورالعمل‌های کشوری در رابطه با پاسخ به درمان ضد‌رتروویروس (ART) به اینگونه تعریف گردید که بیمارانی که پس از حداقل شش ماه درمان، بار ویروسی کمتر از ۲۰۰ copies/ml داشته‌اند درمانشان موفقیت‌آمیز و بیمارانی که پس از حداقل شش ماه درمان بار ویروسی بیشتر از ۲۰۰ copies/ml داشته‌اند درمانشان ناموفق در نظر گرفته شد.

معیار ورود بیماران به مطالعه ابتلای قطعی به HIV و همکاری بیماران در نظر گرفته شد و معیارهای خروج از مطالعه نیز عدم تمایل به همکاری بیماران، مصرف داروهای موثر بر التهاب مانند کورتیکواستروئیدها، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAID) ها و استاتین‌ها و همچنین داشتن سابقه جراحی اخیر لحاظ گردید. داروهایی که برای بیماران در رژیم‌های درمانی مورد استفاده تجویز گردید شامل یک رژیم درمانی پایه براساس مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوزیدی (NRTI) (این رژیم پایه شامل یکی از داروهای Emtricitabine/Tenofovir، Lamivudine/Zidovudine، Lamivudine/Tenofovir، Tenofovir Alafenamide/ Emtricitabine و Lamivudine/Abacavir می‌باشد) بوده است. افزون‌براین براساس اینکه

که عفونت HIV باعث کاهش قابل توجه در تعداد لنفوسیت‌های CD4+T، نقص عملکرد لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها و همچنین اختلال در تولید سایتوکین‌ها گردد، نقص ایمنی ایجاد می‌شود.<sup>۲</sup>

افزون‌براین، سایتوکین‌ها نقش مهمی در کنترل هموستاز سیستم ایمنی بازی می‌کنند و عفونت HIV باعث به هم‌ریختگی در پروفایل سایتوکینی می‌شود.<sup>۳</sup>

مطالعات پیشین نشان داده است که تداخل بین گیرنده‌های gp120 و سیگنالینگ منجر به تولید چندین سایتوکین و کموکاین از جمله فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) می‌شود که از عوامل دخیل در آسیب‌شناسی بیماری ایدز به حساب می‌آیند و در اغلب بیماران مبتلا به HIV-1 مشاهده می‌گردند.<sup>۴</sup> مطالعات پیشین به‌وضوح نشان داده است که افزایش سطح TNF- $\alpha$  و IL-10 در پلاسما با تکامل بیماری ایدز مرتبط می‌باشد.<sup>۵</sup>

در طی سیر بیماری ترشح سایتوکین‌های سلول‌های T helper 1 مانند اینترلوکین-۲ (IL-2) و اینترفرون گاما (INF- $\gamma$ ) کاهش پیدا می‌کند.<sup>۶</sup> نقش این سایتوکین‌ها فعال کردن ماکروفاژهاست که در از بین بردن عوامل بیماری‌زای داخل سلولی نقش دارند. بیشتر این سایتوکین‌ها به‌عنوان شاخصه پیشرفت بیماری و ارزیابی پاسخ به درمان استفاده می‌شوند.<sup>۷</sup>

در مقابل تولید سایتوکین‌های سلول‌های T Helper 2 مانند اینترلوکین-۴ (IL-4) و IL-10 و سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین-۶ (IL-6)، اینترلوکین-۱ (IL-1)، اینترلوکین-۸ (IL-8) و TNF- $\alpha$  افزایش پیدا می‌کند.<sup>۸</sup>

این تولید غیرعادی سایتوکینی باعث آغاز بیماری‌زایی و اختلال در ایمنی سلولی می‌شود.<sup>۹</sup> در مطالعات پیشین اثبات شده است که تکثیر ویروس HIV در نتیجه بر هم خوردن تعادل سایتوکین‌های پیش‌التهابی که تکثیر ویروس را افزایش می‌دهند و سایتوکین‌های ضدالتهابی و کموکاین‌ها که تکثیر ویروس را مهار می‌کنند می‌باشد. البته لازم به ذکر است که نقش پیش‌آگهی دهنده و بیماری‌زای این سایتوکین‌ها در عفونت HIV همچنان نامشخص باقی مانده است. از طرف دیگر، تاثیر رژیم‌های درمانی "درمان ضد‌رتروویروس با فعالیت بالا" (HAART) ممکن است از طریق ایجاد تعادل در میزان این سایتوکین‌ها باشد. ارزیابی میزان این سایتوکین‌ها می‌تواند یک

(Kiel, Germany)، براساس پروتکل کیت و با استفاده از منحنی استاندارد اندازه‌گیری شدند.

جهت آنالیز داده‌های کمی، با توجه به توزیع آنها از Independent t-test samples استفاده گردید و به منظور بررسی ارتباط بین متغیرهای کیفی از Chi squared test یا Fisher's exact test استفاده شد. همچنین از آنالیز رگرسیون خطی تک متغیره و چند متغیره جهت بررسی عوامل موثر بر متغیرهای مورد مطالعه استفاده شد. سطح معناداری برای تمامی آزمون‌های آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی تحلیل‌های آماری توسط SPSS software, version 20 (IBM SPSS Armonk, NY, USA) انجام گردید.

## یافته‌ها

در مطالعه حال حاضر ۶۹ بیمار مبتلا به HIV مورد بررسی قرار گرفتند. براساس اهداف مطالعه این بیماران براساس تعیین میزان پاسخ به درمان به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل بیمارانی بود که پس از طی دوره درمان حداقل شش ماه بار ویروسی خونی در آنها به سطح غیرقابل تشخیص رسیده و در نتیجه درمان آنان موفقیت‌آمیز تلقی گردیده بود (۳۶ نفر). گروه دوم شامل بیمارانی بود که علیرغم دریافت دارو به مدت شش ماه، بار ویروسی خونی در آنها کاهش نیافته یا قابل تشخیص بود (۳۳ نفر). آنالیز داده‌های اپیدمیولوژیک و سابقه بیماران نشان داد که گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ سن (۴۳/۶۲±۱۰/۱۵) سال در مقابل (۳۸/۹۱±۱۰/۰۱) سال به ترتیب برای گروه درمان ناموفق و درمان موفق، و جنس ۲۵ (۷۵/۸٪) در مقابل ۲۳ (۶۳/۹٪) به ترتیب برای گروه درمان ناموفق و درمان موفق، (P=۰/۶۳) با یکدیگر تفاوتی نداشتند.

همچنین بررسی سابقه بیماری در دو گروه مورد مطالعه نیز نشان داد که این بیماران از لحاظ وجود عفونت فعال یا سابقه هپاتیت B، C، سل و همچنین وجود دیگر عفونت‌های فعال در حین مطالعه، دریافت درمان پنومونی پونوموسیستیس (Pneumocystis pneumonia) (PCP) و مصرف مواد مخدر با یکدیگر تفاوت معناداری نداشتند. افزون‌براین، گروه‌ها از لحاظ طول دوره بیماری و همچنین مدت زمانی که تحت درمان بوده‌اند نیز با یکدیگر تفاوت معناداری نداشتند (جدول ۱).

کدامیک از داروهای Dolutegravir, Efavirenz, Atazanavir/Ritonavir به رژیم درمانی اضافه گردیده است، رژیم‌های درمانی به ترتیب به سه گروه مهارکننده پروتئاز (PI-base)، مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی (NNRTI) و مهارکننده اینتگرز (Integrase-base) تقسیم شده‌اند.

مطالعه حال حاضر به طور کامل توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران بررسی و تایید و با کد اخلاق IR.IUMS.FMD.REC.1399.406 ثبت گردیده است.

بررسی تعداد سلول‌های CD4<sup>+</sup> و تعیین بار ویروسی: تعداد سلول‌های CD4<sup>+</sup> در خون بیماران با استفاده از روش فلوسایتومتری اندازه‌گیری گردید. به طور خلاصه، از بیماران نمونه خون در ظروف حاوی ضدانعقاد EDTA دریافت گردید و این نمونه‌ها ظرف حداکثر دو ساعت، مستقیماً توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال کژوگه (Immunotech, Quebec, Canada) رنگ‌آمیزی شدند. پس از این مرحله، نمونه‌ها توسط دستگاه BD FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, San Jose California, USA) آنالیز گردیده و تعداد دقیق سلول‌های CD4<sup>+</sup> از طریق ضرب درصد سلول‌های مثبت در تعداد کل لنفوسیت‌ها تعیین گردید. میزان بار ویروسی در خون بیماران نیز توسط کیت Cobas TaqMan HIV-1 Test (COBAS Cobas TaqMan; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ) تعیین گردید. میزان حداقل حساسیت تشخیص این کیت ۲۰ کپی در میلی‌لیتر می‌باشد و در مطالعه حال حاضر مقادیر کمتر از این میزان (غیرقابل تشخیص توسط کیت) به صورت قراردادی صفر در نظر گرفته شدند.

اندازه‌گیری فاکتورهای التهابی IL-10 و TNF- $\alpha$ : جهت اندازه‌گیری سطح سرمی IL-10 و TNF- $\alpha$ ، نمونه‌های خون وریدی از بیماران دریافت گردید و در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از منعقد شدن خون، بمنظور جداسازی سرم، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه در سانتریفیوژ قرار داده شدند. پس از انجام این مرحله بلافاصله سرم از نمونه جدا گردید و در دمای ۸۰ °C- تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. میزان سرمی IL-10 و TNF- $\alpha$  با استفاده از روش الایزا و به ترتیب توسط کیت‌های TNF-alpha human و Interleukin-10 human ELISA-DE4699 (Demeditec Diagnostics GmbH, از شرکت ELISA-DE4641)

همچنین رژیم‌های دارویی مصرف‌شده بر افزایش سطح TNF- $\alpha$  سرمی در بیماران با درمان ناموفق، داده‌ها در قالب مدل‌های رگرسیون خطی تک‌متغیره و چندمتغیره مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تاثیر بار ویروسی در مدل تک‌متغیره بر سطح TNF- $\alpha$  موجود در سرم از لحاظ آماری معنادار است (ضریب رگرسیون  $10^{-5} \times 3/73$  -  $10^{-5} \times 6/40$ ، CI:  $10^{-5} \times 1/00$  -  $10^{-5} \times 9/95$ ،  $P=0/01$ )، گرچه این تاثیر از لحاظ بالینی ناچیز می‌باشد (ضریب رگرسیون  $10^{-5} \times 3/73$ ) (جدول ۳). با این حال مشاهده گردید که در مدل چند متغیره، پس از در نظر گرفتن رژیم درمانی دریافتی، سن و جنس، میزان بار ویروسی بر سطح سرمی TNF- $\alpha$  بی‌تاثیر می‌باشد (جدول ۳). همچنین لازم به ذکر است که مدل‌های آماری مشابهی نیز جهت بررسی تاثیر نوع رژیم درمانی دریافتی بر سطح سرمی TNF- $\alpha$  در بیماران با درمان ناموفق، به‌کار گرفته شد که در هیچ‌یک از مشاهدات تاثیر معناداری رؤیت نگردید (جدول ۴). افزون‌براین تاثیر بار ویروسی و رژیم‌های دارویی مصرف شده بر سطح IL-10 سرمی در بیماران با درمان ناموفق نیز بررسی گردید و نتایج مدل چند متغیره نشان داد که رژیم درمانی NNRTI، بر میزان سطح سرمی IL-10 تاثیر گذار می‌باشد ضریب رگرسیون  $10/88$  -  $20/45$  -  $1/32$ ، CI:  $9/95$ ،  $P=0/03$ ، نتایج کامل مدل‌های آماری بررسی شده در جداول ۳ و ۴ قابل مشاهده است.

از آنجایی‌که بیماران وارد شده در مطالعه تحت درمان با رژیم درمانی یکسانی نبودند، گروه‌های مطالعه از لحاظ وجود یا عدم وجود تفاوت در رژیم درمانی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان‌دهنده این بود که دو گروه مورد مطالعه از لحاظ دریافت رژیم درمانی بر پایه NNRTI و Integrase تفاوتی با یکدیگر نداشتند اما مشخص گردید که تعداد بیشتری از بیماران حاضر در گروه درمان ناموفق (هفت بیمار (۲۱/۹٪) در گروه درمان ناموفق در مقابل یک بیمار (۲/۹٪) در گروه درمان موفق، ( $P=0/02$ )، رژیم بر پایه PI دریافت کرده‌اند (جدول ۲). شایان ذکر است که گروه‌های تحت مطالعه از لحاظ تعداد سلول‌های CD4 خونی و همچنین آزمون‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات ترانس‌آمیناز (AST) نیز تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند. نتایج آزمایشات الیزا نمایان ساخت که سطح سرمی TNF- $\alpha$  در بیمارانی که درمان ناموفق داشته‌اند بیشتر از بیمارانی بود که درمان در آنان موفقیت‌آمیز بوده است ( $10/17 \pm 10/43$  pg/ml در مقابل  $5/37 \pm 5/25$  pg/ml،  $P=0/01$ ) این در حالی است که در سطح سرمی IL-10 بین دو گروه مورد مطالعه ( $6/71 \pm 6/21$  pg/ml در مقابل  $4/62 \pm 4/19$  pg/ml) به‌ترتیب برای گروه درمان ناموفق و درمان موفق، ( $P=0/39$ ) تفاوتی مشاهده نگردید (جدول ۲). در مرحله بعد جهت بررسی تاثیر بار ویروسی و

جدول ۱: ویژگی‌های فردی و سابقه بیماری‌های بیماران وارد شده در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	درمان موفق (n=۳۶)	درمان ناموفق (n=۳۳)	P
سن*	۳۸/۹۱±۱۰/۰۱	۴۳/۶۲±۱۰/۱۵	۰/۰۶
جنس (مرد)**	۲۳(۶۳/۹)	۲۵(۷۵/۸)	۰/۶۳
وجود یا سابقه هپاتیت B**	۰	۱(۳/۱)	۰/۴۸
وجود یا سابقه هپاتیت C**	۴(۱۱/۴)	۶(۱۸/۸)	۰/۴
وجود یا سابقه سل**	۲(۵/۷)	۲(۶/۳)	۱
سایر عفونت‌های فعال**	۱(۲/۹)	۳(۹/۴)	۰/۳۴
PCP**	۵(۱۴/۳)	۱۰(۳۱/۳)	۰/۱
مصرف مواد مخدر**	۵(۱۴/۳)	۴(۱۲/۵)	۱
دوره بیماری*	۶/۰۶±۴/۳۶	۶/۸۶±۴/۸۳	۰/۵
دوره درمان*	۵/۲±۳/۶۰	۵/۳±۳/۶۵	۰/۹۶

آزمون آماری: \* داده‌های کمی از Independent samples t-test و \*\* داده‌های کیفی از Chi square test استفاده گردیده است. نتایج متغیر "سن"، "دوره بیماری" و "دوره درمان" به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان گردیده و سایر متغیرها به‌صورت تعداد (درصد از کل) نشان داده شده‌اند...  $P<0/05$  معنادار در نظر گرفته شد. PCP پنهونی پنهونیستیس.

جدول ۲: رژیم‌های درمانی دریافتی و شاخص‌های آزمایشگاهی در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	درمان موفق (n=۳۶)	درمان ناموفق (n=۳۳)	P
نوع رژیم درمانی			
**NNRTI-base	۳۰ (۸۵/۷)	۲۲ (۶۸/۸)	۰/۱
**PI-base	۱ (۲/۹)	۷ (۲۱/۹)	۰/۰۲
**Integrase-base	۵ (۱۴/۳)	۷ (۲۱/۹)	۰/۴۲
بار ویروسی*	۰	۳۶۴۰۴/۹۰±۱۲۳۰۸۳/۰۳	<۰/۰۱
تعداد سلول‌های CD4*	۷۴۹/۰۲±۳۴۶/۸۸	۶۶۴/۳۷±۳۴۲/۱۴	۰/۳۲
*ALT	۳۷/۶۰±۳۲/۷۰	۳۴/۹۰±۱۹/۹۸	۰/۷۰
*AST	۳۲/۱۴±۳۳/۲۷	۲۸/۶۲±۱۳/۹۳	۰/۵۸
*TNF- $\alpha$	۵/۳۷±۵/۲۵	۱۰/۴۳±۱۰/۱۷	۰/۰۱
*IL-10	۵/۷۱±۶/۲۱	۴/۶۲±۴/۱۹	۰/۳۹

آزمون آماری: \* داده‌های کمی Independent samples t-test. \*\* داده‌های کیفی Chi square test. فراوانی رژیم‌های درمانی در هر گروه به‌صورت تعداد (درصد از کل) و دیگر متغیرها به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار بیان گردیده است. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

NNRTI-base، رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده ترانس‌کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی، PI-base، رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده پروتئاز (Integrase base (Protease inhibitors)، رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده اینتگراز (Integrase inhibitors, INIs)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase, AST)، آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase, ALT)، فاکتور نکروز توموری آلفا (Tumour Necrosis Factor alpha, TNF alpha)، اینترلوکین ۱۰ (Interleukin 10, IL-10).

جدول ۳: مدل رگرسیون خطی تک‌متغیره و چندمتغیره جهت بررسی تاثیر بار ویروسی بر سطح TNF- $\alpha$  و IL-10 سرمی در بیماران با درمان ناموفق

TNF- $\alpha$	مدل تک‌متغیره			مدل چندمتغیره (داروهای درمانی+سن+جنس)		
	B	P	CI %۹۵	B	P	CI %۹۵
Viral load	۳/۷۳×۱۰ <sup>-۵</sup>	۰/۰۱	۶/۴۰×۱۰ <sup>-۵</sup> -۱/۰۰×۱۰ <sup>-۵</sup>	۲/۴۰×۱۰ <sup>-۵</sup>	۰/۲۰	۶/۲۰×۱۰ <sup>-۵</sup> -(-۱/۴۰)×۱۰ <sup>-۵</sup>
IL-10						
Viral load	-۳/۶۷×۱۰ <sup>-۶</sup>	۰/۵۵	۹×۱۰ <sup>-۶</sup> -(-۱/۶۰)×۱۰ <sup>-۵</sup>	-۱/۰۳×۱۰ <sup>-۵</sup>	۰/۱۸	۵×۱۰ <sup>-۶</sup> -(-۲/۶۰)×۱۰ <sup>-۵</sup>

اینترلوکین ۱۰ (IL-10)، Viral load، بار ویروسی در خون، B، ضریب رگرسیون. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۴: مدل رگرسیون خطی تک‌متغیره و چندمتغیره جهت بررسی تاثیر رژیم‌های دارویی مصرف‌شده بر سطح TNF- $\alpha$  و IL-10 سرمی در بیماران با درمان ناموفق

TNF- $\alpha$	مدل تک‌متغیره			مدل چندمتغیره (داروهای درمانی+سن+جنس)		
	B	P	CI %۹۵	B	P	CI %۹۵
NNRTI-based	۱۴/۶۳	۰/۱۴	۳۴/۳۳-(-۵/۰۶)	۱۰/۸۱	۰/۳۴	۳۳/۶۸-(-۱۲/۰۵)
PI-based	۱۱/۹۳	۰/۱۲	۲۷/۲۶-(-۳/۴۰)	۶/۴۳	۰/۴۸	۲۴/۸۷-(-۱۲/۰۱)
Integrase based	۰/۱۲	۰/۹۸	۱۵/۴۵-(-۱۵/۲۱)	۱/۲۱	۰/۸۷	۱۶/۹۷-(-۱۴/۵۳)
IL-10						
NNRTI-based	۷/۵۹	۰/۰۷	۱۵/۹۹-(-۰/۸۰)	۱۰/۸۸	۰/۰۳	۲۰/۴۵-۱/۳۲
PI-based	۴/۶۷	۰/۱۵	۱۱/۲۱-(-۱/۸۶)	۷/۵۴	۰/۰۶	۱۵/۲۶-(-۰/۱۶)
Integrase based	۵/۳۱	۰/۱۰	۱۱/۲۵-(-۱/۲۲)	۵/۷۷	۰/۰۸	۱۲/۳۶-(-۰/۸۱)

base رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده ترانس‌کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی، PI-base، رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده پروتئاز، Integrase base رژیم درمانی بر پایه داروهای مهارکننده اینتگراز، IL-10، اینترلوکین ۱۰، B، ضریب رگرسیون. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

## بحث

نتایج آنالیز مدل‌های رگرسیون در مطالعه حال حاضر نشان‌دهنده آن بود که با این‌حال که تفاوت معناداری در سطح IL-10 در بیماران با درمان موفق و بیماران با درمان ناموفق مشاهده نگردید اما داروهای NNRTI ارتباط مستقیم با سطح سرمی IL-10 در بیماران دارد. نتایج از این قبیل نیز در گذشته گزارش شده است به‌طور مثال مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط Espindola انجام گردید نشان داد که بیمارانی که با داروهای خط اول HAART تحت درمان بودند، سطح سایتوکین‌های آنان به سطح نرمال بازگشت این درحالی‌است که بیمارانی که با داروهای خط دوم HAART تحت درمان بودند همچنان در یک حالت التهابی باقی ماندند و سطح سایتوکین‌های آنان با بیماران درمان نشده برابر بود.<sup>۱۵</sup>

عامل مهم دیگری که می‌تواند بر میزان سایتوکین‌های خونی این بیماران تاثیرگذار باشد، عفونت همزمان با ویروس هپاتیت B یا C و یا عفونت‌هایی چون CMV و همچنین اختلال در سطح CD4 و CD8 می‌باشند.<sup>۱۶</sup> در مطالعه‌ای بر روی ۳۲۷ بیمار زن مبتلا به HIV که به مدت دو الی چهار سال طی دوره درمان تحت نظر بودند انجام گردید، گزارش شد که سطح IL-10 در این بیماران با تعداد سلول‌های CD4 اندازه‌گیری شده در ابتدای مطالعه رابطه مستقیم دارد.<sup>۱۷</sup> همچنین در مطالعه دیگری مشاهده گردید که مقادیر بالای ویتامین D با میزان بالای سایتوکین‌های پیش‌التهابی رابطه مستقیم دارد و این ارتباط می‌تواند عامل خطری برای سلامت بیماران به‌حساب آید.<sup>۱۸</sup> افزون‌براین عوامل دیگر غیرمرتبط با HIV نیز می‌توانند به‌عنوان عامل موثر مطرح باشند مانند دیابت تیپ ۲، استئوپروز (Osteoporosis)، سرطان و غیره که باعث تداوم فعالیت سیستم ایمنی و التهاب در بدن می‌باشند.<sup>۱۹</sup> بررسی نتایج مطالعات انجام شده و نتایج مطالعه حال حاضر نمایانگر پیچیدگی ارتباط بین فاکتورهای التهابی، داروهای درمانی و سیر بیماری ایدز و فاکتورهای مداخله‌کننده در این بیماری می‌باشد و اهمیت تلاش جهت شناخت این ارتباطات را بیش از پیش مشخص می‌سازد. در بیماران مورد مطالعه ما از نظر میانگین CD4 و بیماری زمینه‌ای تفاوتی در دو گروه با و بدون پاسخ مناسب به درمان وجود نداشت و تنها تفاوت معنادار در دو گروه بار ویروسی بوده است. این یافته‌ها نقش بالقوه TNF آلفا را به‌عنوان فاکتور پرواینفلاماتوری (Pro-inflammatory) در پیشرفت بیماری HIV یا شکست درمان نشان داد.

در گذشته نه‌چندان دور، به‌علت فقدان داروها و روش‌های درمانی کارآمد، ابتلا به ویروس HIV و بیماری ایدز با درصد مرگ‌ومیر بسیار بالایی همراه بود اما در دهه‌های اخیر با افزایش شناخت بشر نسبت به ویروس HIV، داروهای مختلفی آزمایش و در نهایت به چرخه درمان وارد گردیدند که در نتیجه آن مرگ‌ومیر ناشی از بیماری ایدز به طرز چشمگیری کاهش یافت و حتی هدف دستیابی به طول عمر طبیعی برای این بیماران تحقق یافت. با این‌حال امروزه علیرغم پیشرفت‌های به‌دست آمده کماکان چالش‌های جدی در راه درمان کامل این بیماری وجود دارد مانند مقاومت ویروسی به دارو و شکست درمان‌های دارویی در بیماران. از این‌رو مطالعه عوامل و نشانه‌های شکست درمان در بیماران جهت ریشه‌کن کردن این بیماری بسیار حیاتی است. در این مطالعه سطح سایتوکین‌های التهابی در بیماران HIV تحت درمان با رژیم HAART در دو گروه با درمان موفق و بیماران با شکست ویرولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه نشان داد سطح TNF آلفا در بیمارانی که شکست ویرولوژیک داشته‌اند به‌طور معناداری نسبت به بیماران با درمان موفق بالاتر است این درحالی‌است که در سطح اینترلوکین ۱۰ در دو گروه بیماران تفاوتی مشاهده نگردید.

تصور کنونی جامعه پزشکی به اینگونه است که HAART عموماً باعث کاهش فعالیت ایمنی و سطح مارکرهای التهابی می‌شود همانطور که در مورد IL-10 و TNF- $\alpha$  در مطالعات مختلف نشان داده شده است.<sup>۱۱، ۱۲</sup> با این‌حال، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که این مارکرها در بسیاری از بیماران HIV ممکن است بالا باقی بماند به‌طور مثال در مطالعه‌ای که توسط Osuji et al انجام شد مشاهده گردید که سطح سرمی TNF- $\alpha$ ، در بیماران حتی تا ۱۲ ماه پس از شروع درمان با HAART همچنان در سطح بالاتری از گروه کنترل باقی ماند. این درحالی‌است که سطح سرمی IL-10 پس از گذشت ۱۲ ماه از شروع درمان به حالت نرمال بازگشته بود.<sup>۱۳</sup>

بالا بودن مداوم التهاب در بیماران مبتلا HIV تحت درمان با HAART در اثر چندین مکانیسم می‌توان توجیه شود نظیر: تکثیر مداوم ویروس در بافت‌های مختلف مانند گره‌های لنفی و سیستم گوارش و همچنین افزایش میزان لیپوپولی‌ساکاریدها.<sup>۱۴</sup>

مصوب دانشگاه و خدمات بهداشتی درمانی ایران در سال ۱۳۹۷ و کد  
 ۱۵۴۳۲ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات  
 بهداشتی درمانی ایران اجرا شده است.

سپاسگزارى: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت  
 عنوان "مقایسه ارتباط سطح سایتوکین‌های التهابی (CRP کمی،  
 اینترلوکین ۱۰، TNF $\alpha$ ) با پاسخ ویرولوژیک در بیماران HIV مثبت"

## References

1. Capeau J. Premature Aging and Premature Age-Related Comorbidities in HIV-Infected Patients: Facts and Hypotheses. *Clin Infect Dis* 2011;53(11):1127-9.
2. Akase IE, Musa BOP, Obiako RO, Ahmad Elfulatiy A, Mohammed AA. Immune Dysfunction in HIV: A Possible Role for Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in HIV Staging. *J Immunol Res* 2017;2017:4128398.
3. Ramana K. Effect of highly active antiretroviral therapy (HAART) on human immunodeficiency virus disease pathogenesis and progression. *Am J Public Health Res* 2014;2(3):68-74.
4. Herbein G, Khan KA. Is HIV infection a TNF receptor signalling-driven disease? *Trends Immunol* 2008;29(2):61-7.
5. Rizzardi GP, Barcellini W, Tambussi G, Lillo F, Malnati M, Perrin L, et al. Plasma levels of soluble CD30, tumour necrosis factor (TNF)-alpha and TNF receptors during primary HIV-1 infection: correlation with HIV-1 RNA and the clinical outcome. *AIDS* 1996;10(13):F45-50.
6. Tudela E, Singh M, Lagman M, Ly J, Venketaraman V. Cytokine levels in plasma samples of individuals with HIV infection. *Austin J Clin Immunol* 2014;1(1):5.
7. Tateyama M, Fukutake K, Harroti T, Ohmoto Y, editors. Disregulation of cytokine production as new surrogate marker in HIV-1 infection. International Conference on AIDS AIDS; 1999.
8. Kaur R, Dhakad M, Goal R, Bhalla P, Dewan R. Study of TH1/TH2 cytokine profiles in HIV/AIDS patients in a tertiary care hospital India. *J Med Microbiol Diagn* 2016;5(214):2161-0703.1000214.
9. Kedzierska K, Crowe SM. Cytokines and HIV-1: interactions and clinical implications. *Antivir Chem Chemother* 2001;12(3):133-50.
10. Hileman CO, Funderburg NT. Inflammation, Immune Activation, and Antiretroviral Therapy in HIV. *Curr HIV/AIDS Rep* 2017;14(3):93-100.
11. Haissman JM, Vestergaard LS, Sembuche S, Erikstrup C, Mmbando B, Mtullu S, et al. Plasma cytokine levels in Tanzanian HIV-1-infected adults and the effect of antiretroviral treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;52(4):493-7.
12. Sachdeva RK, Wanchu A, Bagga R, Malla N, Sharma M. Effect of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors on cytokine, chemokine, and immunoglobulin profiles in serum and genital secretions of HIV-infected women. *J Interferon Cytokine Res* 2010;30(5):299-310.
13. Osuji FN, Onyenekwe CC, Ahaneku JE, Ukibe NR. The effects of highly active antiretroviral therapy on the serum levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in HIV infected subjects. *J Biomed Sci* 2018;25(1):88.
14. Crane M, Avihingsanon A, Rajasuriar R, Velayudham P, Iser D, Solomon A, et al. Lipopolysaccharide, immune activation, and liver abnormalities in HIV/hepatitis B virus (HBV)-coinfecting individuals receiving HBV-active combination antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2014;210(5):745-51.
15. Espindola MS, Lima LJ, Soares LS, Cacemiro MC, Zambuzi FA, de Souza Gomes M, et al. Dysregulated Immune Activation in Second-Line HAART HIV+ Patients Is Similar to That of Untreated Patients. *PLoS One* 2015;10(12):e0145261261.
16. Ometto L, De Forni D, Patiri F, Trouplin V, Mammano F, Giacomet V, et al. Immune reconstitution in HIV-1-infected children on antiretroviral therapy: role of thymic output and viral fitness. *AIDS* 2002;16(6):839-49.
17. Villacres MC, Kono N, Mack WJ, Nowicki MJ, Anastos K, Augenbraun M, et al. Interleukin 10 responses are associated with sustained CD4 T-cell counts in treated HIV infection. *J Infect Dis* 2012;206(5):780-9.
18. Ganguango LMA, Kohorn LB, Chow DC, Keating SM, Norris PJ, Nagamine LS, et al. High 25-hydroxyvitamin D is associated with unexpectedly high plasma inflammatory markers in HIV patients on antiretroviral therapy. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(43):e5270.
19. Alcaide ML, Parmigiani A, Pallikkuth S, Roach M, Freguja R, Della Negra M, et al. Immune activation in HIV-infected aging women on antiretrovirals--implications for age-associated comorbidities: a cross-sectional pilot study. *PLoS One* 2013;8(5):e63804.

## Evaluation of relationship between the level of inflammatory cytokines Interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha with virologic response to treatment in patients with HIV

Saedeh Ebrahimi M.D.<sup>1</sup>  
Saeed Kalantari M.D.<sup>2</sup>  
Soheil Rahmani Fard M.Sc.<sup>3</sup>  
Mitra Kohandel M.Sc.<sup>3</sup>  
Zahra Amiri B.Sc.<sup>3</sup>  
Yousef Alimohamadi Ph.D.<sup>4</sup>  
Sara Minaeian Ph.D.<sup>3\*</sup>

1- Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Faculty of Medicine, Karaj University of Medical Sciences, Karaj, Iran.

2- Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Health Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Tehran, Iran.  
Tel: +98-21-64352306  
E-mail: sara.minaeian@gmail.com

### Abstract

Received: 12 Jan. 2022 Revised: 19 Jan. 2022 Accepted: 13 Apr. 2022 Available online: 21 Apr. 2022

**Background:** Despite the considerable advances in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) treatment and management, finding the cure for this disease has been hindered by emerging challenges such as virus resistance and treatment failures. The purpose of this study is to compare the cytokine profiles of patients with successful treatment and patients with unsuccessful treatment to gain a better understanding of treatment failure mechanisms.

**Methods:** Sixty-nine human immunodeficiency virus (HIV) positive patients who were referred to the west health center of Tehran between September 2018 and March 2021 were included in this study. Blood CD4+ cell count and viral load was measured using the flow cytometry and quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) methods respectively. Based on the viral load test results patients were divided into successful treatment (viral load < 200 copies/ml, n=36) and unsuccessful treatment (viral load > 200 copies/ml, n=33) groups. Subsequently, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-10 (IL-10) serum levels were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

**Results:** Analysis of data revealed that there was no difference in demographic data, medical history and clinical laboratory test results between the study groups. Elisa test results showed that serum TNF- $\alpha$  levels were significantly higher in the unsuccessful treatment group compared to the successful treatment group ( $10.43 \pm 10.17$  vs  $5.37 \pm 5.25$ ,  $P=0.01$ ) but no differences were observed in IL-10 levels between the study groups. Furthermore, age and sex-adjusted linear regression models showed that non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTI)-based treatment regimen is positively associated with serum IL-10 levels in patients with unsuccessful treatment (B coefficient 10.88 (95% CI: 1.32-20.45),  $P=0.03$ ). Moreover, based on the results of the linear regression models, no relationship between HIV viral load and serum IL-10 and TNF- $\alpha$  level was observed.

**Conclusion:** Results of this study showcased the importance of TNF- $\alpha$  in disease progression and treatment failure. Further future studies regarding this relationship can provide vital information in AIDS treatment research.

**Keywords:** HIV, highly active antiretroviral therapy, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha.