مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الحادي والعشرون - المجلد الرابع - علوم الحياة - آيار 2023 م
doi.org/10.52866/esj.2021.04.21.12

تقييم مستوى الانترلوكين 37 في مصل مرضى الحروق المصابين ببعض الأنواع البكتيرية في بغداد

أحمد هاشم عواد ، علي صالح حسين ، هيفاء محمود فهد
الجامعة العراقية / كلية التربية . العراق . بغداد

مستخلص:

تهدف الدراسة للتحري عن مستويات IL- 37 في مصل مرضى الحروق المصابين بالعدوى البكتيرية سواء كانت العدوى البكتيرية تسفر عن تسمم الدم Sepsis أو عدوى جروح الحروق فقط دون تسمم الدم . وعمل مقارنة بين مستويات IL- 37 في مرضى الحروق المتوفين ومرضى الحروق المتعافين (الأشخاص السليمين) (العينات القياسية) Standard samples ، ومقارنة المجموعتين (المتوفين والمتعافين) مع العينات القياسية . تم عزل وتشخيص البكتريا التي حصلنا عليها عن طريق المسحات Swabs وزرع الدم Blood culture بالطرائق التقليدية وجهاز الفايتك .

شملت الدراسة فحص عينات الدم من 200 شخص من مرضى الحروق ، تتراوح اعمارهم من 3 الى 69 سنة (92 ذكور و 108 إناث) (121 متعافين 79 متوفين)، وأخذ مسحات لهم من جروح الحروق المنتشرة في مناطق مختلفة من الجسم ، اذ تم أخذ 272 مسحة وزرعها وكانت نتيجة الزرع للبكتريا المعزولة 182 نامية growth و 90 غير نامية no growth . البكتريا النامية الـ (182)

كانت : 1 – 58 Pseudomonas aeruginosa عزلة 2 – 45 Acinetobacter baummannii عزلة
3 – 39 Klebseilla pneumonae عزلة 4 – 12 Staphylococcus aureus عزلة
5 – 11 Proteus mirabilis عزلة 6 – 7 Escherichia coli عزلات
7 – 6 Enterobacter cloacae عزلات 8 – Citrobacter freundii عزلات

تم عزل 30 عينة مصل أختيرت عشوائيا من العينات الـ 121 عينة الكلية للمتعافين و30 عينة مصل من الـ79 عينة الكلية للمتوفين كذلك شملت الدراسة فحص عينات دم 30 شخص كعينات قياسية تتراوح اعمارهم من 17 الى 58 سنة (14 ذكور 16 أناث) ليكون مجموع العينات الخاضعة للدراسة 90 عينة .

النتائج التي حصلنا عليها خلال الدراسة الحالية بينت ذلك حيث وجدنا ارتفاعاً ملحوظا في مستوى تركيز IL - 37 للمتعافين (من 79.04 الى 470.4 بيكو غرام / مليليتر) بمتوسط تركيز (96.89 ± 247.6 بيكو غرام / مليليتر) مقارنة مع تركيزه للعينات القياسية (السليمين) (من 84.35 الى 378.7 بيكو غرام / مليليتر) بمتوسط تركيز (71.33 ± 162.7 بيكو غرام / مليليتر) فالنتائج بينت فروق عالية المعنوية بين التركيزين وتحت مستوى احتمالية 0.05 > P إذ بلغت القيمة الاحتمالية 0.0248 .

بالنسبة للمتوفين كان متوسط التركيز لـ (IL-37) مرتفع بشكل كبير مقارنة بالعينات القياسية حيث كان متوسط التركيز (176.9 ± 377.7 بيكو غرام / مليليتر) ومتوسط التركيز للعينات القياسية (71.33 ± 162.7 بيكو غرام / مليليتر) فالفرق عالية المعنوية وتحت مستوى احتمالية 0.05 > P إذ بلغت القيمة الاحتمالية 0.0001> .

الكلمات المفتاحية: مرضى الحروق ، الالتهابات البكتيرية لمرضى الحروق ، أنترلوكين 37 .

Evaluation of the level of interleukin-37 in the serum of burn patients infected with some bacterial species in Baghdad

1Ahmed Hashem Awwad , 2Ali Salih Hussein
1&2AlIraqiaUniversity, College of Education , Baghdad , Iraq .

Abstract

The study aims to investigate the levels of IL-37 in the serum of burn patients with bacterial infection, whether the bacterial infection results in sepsis or infection of burn wounds only without sepsis. A comparison was made between IL-37 levels in deceased burn patients, recovered burn patients and healthy people (standard samples), and the two groups (deceased and recovered) were compared with standard samples. Isolation and identification of the bacteria that we obtained by swabs using traditional methods (culture dishes and phytic .apparatus) and blood culture

The study included examining blood samples from 200 burn patients, their ages ranged

المقدمة Introduction

يُعد IL-37 عضو في عائلة انترلوكيبن –1 (IL-1 family) بالمقابل يعتبر IL-37 فريدًا في عائلة (IL-1) من حيث أنه على عكس أفراد العائلة الآخرين ، اذ يقوم IL-37 بتثبيط المناعة الفطرية على نطاق واسع و يمكن أن ترتفع مستويات IL-37 لدى الاشخاص المصابين بأمراض التهابية وأمراض المناعة الذاتية autoimmune diseases إذ من المحتمل أن تعمل المستويات المرتفعة نسبياً على تنظيم و الحد من الالتهاب (Dinarello *et al* ., 2016)

من خلال الابحاث وجد ان IL-37 له آليات مضادة للالتهابات، حيث قدمت الأبحاث على مدى العقد الماضي رؤى تفصيلية حول الميكانيكية الأساسية لعمل IL-37 ، وسلطت الضوء على دوره الرئيسي في تثبيط ألالتهابات و الاستجابات المناعية الفطرية (Ca-valli & Dinarello , 2018). يتم إبراز أهمية IL-37 باعتباره سيتوكين مضاد للالتهابات من خلال العدد المتزايد من الدراسات و الابحاث (Santarelli *et al* ., 2021) .

تم اكتشاف IL-37 وتحديده أولاً على يد العالم Ku-mar وزملائه في عام 2000 . أطلق عليه اولا اسم (IL-1H4) في عام 2001 ، العالم دون وزملائه وجدوا أن هذا الببتيد هو السيتوكين السابع لعائلة (IL-1) لذلك أطلق عليه (IL-1F7). بعدها أُعيد تسميته الى IL-37 بجهود العالم نولد وآخرون. في السنوات الأخيرة، تم اكتشاف ادوار مهمة لـ IL-37 يلعبها في تنظيم و تطوير حالات الشفاء لمجموعة متنوعة من الأمراض الالتهابية وأمراض المناعة الذاتية autoimmune والأورام (Ding *et al* ., 2016).

الهيكل التركيبي للانترلوكين 37

Structure of IL-37

يعتبر IL-37 ببتيد غير ناضج ، ويتم تحويل الاجزاء البدائية المتماثلة isoform من حالة ببتيد غير نشطة إلى حالة نشطة عن طريق انقسام كاسباس ألاول أثناء التعبير ، وتنظم جميع الأنواع الفرعية بعضها البعض لتشكيل حالة مستقرة نسبيًا . يقع جين IL-37 البشري على الكروموسوم 2 بطول 3.617 kb . يبلغ وزنه الجزيئي حوالي (17 - 25 kDa). ويكون مشابه هيكليا لهيكل IL-1 . (Abulkhir *et al* ., 2017).

هناك خمسة نسخ لجين IL-37 البشري (IL-37a-e) ولكن دور كل منها مثل النشاط والوفرة لا يزال غير معروف، فالأشكال المتماثلة لـ a IL-37 و b و d تشترك في الايكسون الرابع والخامس والسادس و يقع النشاط خارج الخلية لـ IL-37 المتكون في هذه الايكسونات exons بينما يمكن أن ينشطر الايكسون الاول والثاني والثالث خارج الخلية بواسطة انزيم proteases .

تم العثور على جين IL-37 داخل الكتلة الجينية للـ (IL-1) على الكروموسوم 2q12-13 ويقع بالقرب من المناطق التنظيمية لـ IL-1α و. IL-1β عند تحفيز lipo-polysaccharide (LPS) للخلايا الوحيدة البشرية monocyte والبلاعم macrophages ، و يتم نسخ IL-1α و IL-1β و IL-37 في نفس الوقت (Ji , 2020) .

بدأت الدراسات بالتزايد حول فعالية IL-37 بعد العشر سنوات ألاخيرة من اكتشافه ولحد ألآن . كثير من الدراسات الهامة الأخيرة بينـــت أن IL-37 يلعب دورًا محوريًا في الحد من الالتهاب الفطري innate in-flammation وكذلك قمع المناعة المكتسبة acquired immunity . الأهم من ذلك، أن إنخفاض IL-37 في خلايا جسم الانسان يحد من إنتاج السيتوكينات التي تسببها مستقبلات (IL-1) والمستقبلات الشبيهة بالتول

Dinarello *et al* .,) Toll-like receptors (TLR) 2016) .

باستخدام الكيمياء المناعية immunohistochemis-try ، تبين أن بروتين (IL-37) يتم التعبير عنه بواسطة خلايا الدم الوحيدة البشرية، والبلعمية النسيجية، والخلايا الزليلية ، وخلايا اللوزتين B ، وخلايا البلازما، والخلايا الورمية، وكذلك الخلايا الظهارية للجلد، والكلى، والأمعاء human blood monocytes, tissue macrophages, synovial cells, tonsillar B cells, plasma cells, neoplastic cells, epithelial cells of the skin, kidney, and intestine (على التوالي) .

لا يتم التعبير عن IL-37 بشكل أساسي بواسطة خلايا الدم الوحيدة المأخوذة من الأشخاص الأصحاء، بل يتم تحفيزها بواسطة IL-1β أو منبهات TLR أو TGF-1 في الخلايا الكيراتينية البشرية (Smithrithee *et al* ., 2015)

منذ اكتشاف الوظيفة الفعالة المضادة للالتهابات لـ IL-37. تزايدت الأبحاث حول دورها في التسبب في المرض. مقارنة بالمواضيع الصحية، تم توثيق زيادة مستوياته المنتشرة بالجسم (المصل والبلازما) في العديد من حالات الالتهاب والمناعة الذاتية ، بما في ذلك التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid arthri-tis والتهاب الفقار اللاصق Ankylosing spondylitis وانتباذ بطانة الرحم Endometriosis والذئبة الحمامية الجهازية Systemic lupus erythematosus ومتلازمة غيلان باريه Guillain-Barré syndrome ومرض جريفز Graves' disease و التصلب المتعدد Multiple sclerosis (Santarelli *et al* ., 2021)، وكذلك في إصابة الحبل الشوكي Spinal cord injury حيث ترتبط مستوياته بشكل وثيق مع نشاط المرض (Chen *et al* ., 2020) .

من المحتمل أن تكون زيادة (IL-37) إحدى محاولات الجسم لتخفيف الالتهاب واستعادة التوازن المناعي. تم ملاحظة ارتفاع مستويات IL-37 المنتشرة في عدة أنواع من السرطانات (مثل سرطان المبيض الظهاري وسرطان المعدة epithelial ovarian cancer, gastric cancer (Zhang et al ., 2019).

بالمقابل، لوحظ انخفاض مستوى (IL-37) في بعض الأمراض الالتهابية، مثل مرض بهجت Be-hçet's disease ومرض التهاب الأمعاء (التهاب القولون التقرحي ومرض كرون Ulcerative colitis and Crohn's disease. ومن المثير للاهتمام ، في المرضى الذين يعانون من مرض التهاب الأمعاء ، تم ملاحظة زيادة الوفرة الموضعية في أنسجة القولون / الأمعاء (Li et al ., 2014 ; Imaeda et al., 2013) .

مستويات انترلوكين37 والتعبير عنه

Levels of IL-37 and its expression

المصادر الاولية لـ IL-37 هي الخلايا المناعية الفطرية المنتشرة في الجسم، بما في ذلك الخلايا الوحيدة والخلايا التغصنية والبلعمية (Conti *et al*., 2020). في ظل الظروف الصحية الطبيعية، يكون معدل عمليات التعبير عن بروتين IL-37 منخفض، حيث تم تحديد آلية عدم رضوخ تسلسل mRNA في منطقة ترميز IL-37 وبالتالي يتم تنظيم وتحديد عمل ووظيفة mRNA المسؤول عن انتاج IL-37 في ظل الظروف الطبيعية.

في الخلايا الوحيدة في الدم المحيطي peripheral blood mononuclear cells (PBMCs)، يتم تنظيم تعبير IL-37 عن طريق المنبهات الالتهابية مثل IL-1ß و IL-18 وعامل نخر الورم TNF وانترفيرون كاما interferon gamma (IFNγ) والمستقبلات الشبيهه بالتول toll-like receptor (TLR) (Santarelli *et al* ., 2021) .

يعتبر IL-37 مثبط قوي لإنتاج السيتوكين المحفز للالتهابات، على سبيل المثال لا الحصر TNF و IL-1ß و IL-6 وبالتالي، من المحتمل أن يعمل IL-37 كآلية تغذية راجعة سلبية للحد من الالتهاب المفرط، بالإضافة إلى ذلك، يعمل IL-37 على استعادة التوازن الأيضي للخلايا Cells metabolic homeostasis أثناء الالتهاب والحد من استهلاك التمثيل الغذائي للالتهاب المزمن. إحدى الآليات التي من خلالها يثبط IL-37 إنتاج السيتوكين المؤيد للالتهابات هي «إيقاف» التنشيط الأيضي في الخلايا الوحيدة. (Cavalli *et al* ., 2021)

يلعب إنترلوكين IL-37 دوراً وظيفياً مهماً في الحد من الالتهاب المفرط Excessive inflammation ويزداد تعبيره في العديد من حالات الالتهاب والمناعة الذاتية ويرتبط بنشاط المرض ، مما يشير إلى أنه يمكن أن يكون علامة حيوية للمرض (Santarelli *et al*., 2021)

المواد وطرائق العمل
and working methods Materials

تم جمع 200 مسحة من جروح الحروق من مرضى الحروق الذين تم إدخالهم إلى وحدة الحروق في مستشفيات مدينة بغداد، العراق. وتم زرع المسحات على أوساط مختلفة؛ تم تشخيص المستعمرات على أساس الخصائص المظهرية والزرعية وتم التعرف على البكتيريا من خلال التشخيص الزرعي والتصبيغ بصبغة كرام وإجراء بعض الاختبارات الكيموحيوية بالإضافة الى التشخيص بنظام الفايتك VITEK® 2 Compact Automated Systems . إجمالاً، كانت نتيجة البحث تتضمن ثمان عزلات بكتيرية متميزة، وتم تقييم مستوى IL-37 باستخدام عُدة إختبار أنتجتها الشركة الإنكليزية (MY BIOSOURCE)، وأجري الاختبار بنظام الأليزا (ELISA) .

النتائج و المناقشة
Results and discussion

من المعلوم ان IL-37 احد السايتوكينات المثبطة للالتهاب كما مر سابقا ولذلك سنجد ان تركيز IL-37 يزداد كلما ازداد معدل الإصابة والالتهاب. النتائج التي حصلنا عليها خلال الدراسة الحالية بينت ذلك حيث وجدنا ارتفاعاً ملحوظاً في مستوى تركيز IL-37 للمتعافين (يتراوح من 79.04 الى 470.4 بيكو غرام/ مليليتر) بمتوسط تركيز (96.89 ± 247.6 بيكو غرام/ مليليتر) (وحدة البيكو غرام / مليليتر = وحدة النانو غرام / ليتر، التي تتعامل بها الشركة المصنعة للمواد المختبرية) مقارنة مع تركيزه للعينات القياسية (السليمين) (يتراوح من 84.35 الى 378.7 بيكو غرام/ مليليتر) بمتوسط تركيز (71.33 ± 162.7 بيكو غرام/ مليليتر) فالنتائج بينت فروق عالية المعنوية بين التركيزين وتحت مستوى إحتمالية $P < 0.05$ إذ بلغت القيمة ألإحتمالية 0.0248 .

بالنسبة للمتوفين كان متوسط التركيز لـ IL-37 مرتفع بشكل كبير مقارنة بالعينات القياسية حيث كان متوسط التركيز (176.9 ± 377.7 بيكو غرام/ مليليتر) ومتوسط التركيز للعينات القياسية (71.33 ± 162.7 بيكو غرام / مليليتر) فالفرق عالية المعنوية وتحت مستوى إحتمالية $P < 0.05$ إذ بلغت القيمة الاحتمالية <0.0001

أما المقارنة بين متوسط التركيز لكل من المتعافين والمتوفين فكان هناك فرق بين التركيزين عالي المعنوية ايضا حيث بلغت القيمة الاحتمالية 0.0003 وهذه النتيجة تدل على الفرق الشاسع بين مستويات IL-37 في مجموعة المتوفين ذوو تسمم الدم ومجموعة المتعافين

ذوو زرع الدم السلبي. جدول رقم (1) وشكل رقم (1) يبين المستويات.

جدول رقم (1 –A-) يبين وجود الفروق المعنوية في مستوى فيتامين IL-37
لمجموعة المتوفين والمتعافين مقارنة بمجموعة العينات القياسية تحت مستوى إحتمالية P < 0.05

-A-	Mean IL-37 pg / ml ± SD Groups Vs . Cont.		
Cont.	Grpoup	Signft .	*P* value
162.7 ± 71.33	Recovered 247.6 ± 96.89	*	0.0248
	Decaeased 377.7 ± 176.9	**	< 0.0001

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

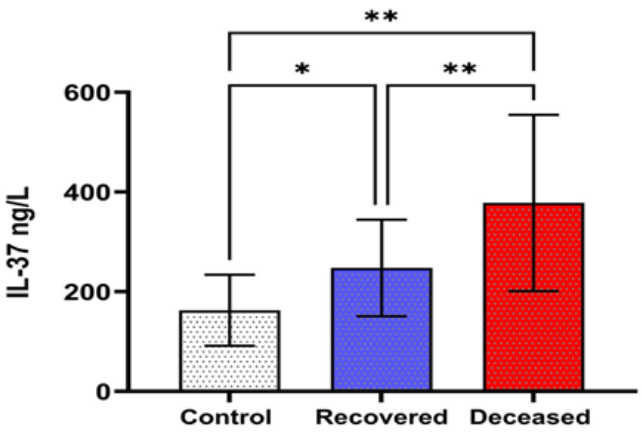
أما المقارنة بين متوسط التركيز لكل من المتعافين والمتوفين فكان التركيز في مجموعة المتوفين أعلى منه في مجموعة المتعافين و الفرق بين التركيزين عالي المعنوية ايضا حيث بلغت القيمة الاحتمالية 0.0003 . جدول رقم (1 - B-) والشكل رقم (1).

جدول (-1 B) يبين وجود الفروق المعنوية في مستوى فيتامين IL-37
فيما بين المجموعات تحت مستوى احتمالية P < 0.05 .

-B-	Mean V.D ng / ml ± SD Recovered Vs. Decaeased		
Recovered	Decaeased	Signft .	P value
196.89 ±247.6	176.9 ± 377.7	**	0.0003

NS=Non-significant, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

شكل رقم (1)
يبين الفروق المعنوية لمستوى تراكيز IL-37 في مجاميع المتعافين والمتوفين مقارنة مع العينات القياسية والفروق المعنوية فيما بين المجموعات وتحت مستوى إحتمالية
. P < 0.05



* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

تؤدي إصابة الحروق إلى حالة التهابية خاصة عن طريق إطلاق كل من البروتينات المسببة للالتهابات والمضادة للالتهابات. لا تسبب السيتوكينات الالتهابية الالتهاب الموضعي في موقع الإصابة فحسب، بل تحفز أيضاً الاستجابات الجهازية و ترتبط أيضاً المستويات المتزايدة من السيتوكينات المنشطة للالتهاب بارتفاع معدل الإصابة بعدوى ما بعد جراحة الحروق ويتم التحكم في الالتهاب عن طريق التوازن بين هذه الوسائط المضادة للالتهابات. قد يؤدي الإنتاج المتزامن للسيتوكينات المضادة للالتهابات إلى مواجهة تأثيرات السيتوكينات المسببة للالتهابات وتعديل شدة الاستجابة الالتهابية (Abdulazeem *et al*., 2016) .

الاستنتاجات Conclusions

يزداد تركيز IL-37 في مصل المرضى ذوو الالتهاب والعدوى البكتيرية والازدياد يكون بعلاقة طردية مع شدة الاصابة فوجدنا ان تركيزة في مجموعة المتعافين المصابين ببعض أنواع البكتريا في جروح الحروق كان مرتفعاً بالمقارنة مع مجموعة العينات القياسية. أما تركيزة في مجموعة مرضى الحروق المتوفين المشخص لديهم تسمم الدم بالإضافة الى زرع مسحات جروح الحروق الايجابي لهم ، كان مرتفعا جدا بالمقارنة مع كل من مجموعة المتعافين والعينات القياسية .

من جانب آخر يمكن أن يكون تقييم مستوى IL-37 في مصل المرضى مؤشراً لحالة المريض لاسيما المرضى الراقدين في وحدات العناية المركزة ، وبالتالي يمكن التنبؤ عن حالة المريض المستقبلية واتخاذ الاجراءات الاحترازية والصحية الممكنة .

المصادر References

1.Abdulazeem, L., Al-Dahmoshi, H. O., & Ali, J. A. (2016). Microbial Index and TNF-α, IL-4, CCL17 Level Among Burn Wound Infections in Hilla City, Iraq. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 9(3), 1095-1100.

2. Abulkhir, A., Samarani, S., Amre, D., Duval, M., Haddad, E., Sinnett, D., ... & Ahmad, A. (2017). A protective role of IL-37 in cancer: a new hope for cancer patients. *Journal of leukocyte biology*, 101(2), 395-406.

3. Cavalli G, Tengesdal IW, Gresnigt M, Nemkov T, Arts RJW, Dominguez-Andres J, et al.. The Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-37 Is an Inhibitor of Trained Immunity. *Cell Rep* (2021) 35:108955.

4. Cavalli, G., & Dinarello, C. A. (2018). Suppression of inflammation and acquired immunity by IL-37. *Immunological reviews*, 281(1), 179-190.

5. Chen Y, Wang D, Cao S, Hou G, Ma H, Shi B. Association Between Serum IL-37 and Spinal Cord Injury: a Prospective Observational Study. *BioMed Res Int* (2020) 2020:6664313.

6. Conti P, Lauritano D, Caraffa A, Gallenga CE, Kritas SK, Ronconi G, et al.. Microglia and Mast Cells Generate Proinflammatory Cytokines in the Brain and Worsen Inflammatory State: Suppressor Effect of IL-37. *Eur J Pharmacol* (2020) 875:173035.

7. Dinarello, C. A., Nold-Petry, C., Nold, M., Fujita, M., Li, S., Kim, S., & Bufler, P. (2016). Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37. *European journal of immunology*, 46(5), 1067-1081.

Interleukin-37 Correlate With Poor Prognosis in Gastric Cancer. *Rev Esp Enferm Dig* (2019) 111:941–5.

8. Ding, V. A., Zhu, Z., Xiao, H., Wakefield, M. R., Bai, Q., & Fang, Y. (2016). The role of IL-37 in cancer. *Medical oncology*, 33(7), 1-7.
9. Imaeda H, Takahashi K, Fujimoto T, Kasumi E, Ban H, Bamba S, et al.. Epithelial Expression of Interleukin-37b in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Exp Immunol* (2013) 172:410–6.
10. Ji, Y. (2020). *Investigate the regulatory effect of human IL-37 isoform a (IL-37a) on Toll-like receptor (TLR) response in vitro and in vivo* (Doctoral dissertation, University of Glasgow).
11. Li Y, Wang Y, Liu Y, Wang Y, Zuo X, Li Y, et al.. The Possible Role of the Novel Cytokines Il-35 and Il-37 in Inflammatory Bowel Disease. *Mediators Inflamm* (2014) 2014:136329.
12. Santarelli, D. M., Vincent, F. B., Rudloff, I., Nold-Petry, C. A., Nold, M. F., & Russo, M. A. (2021). Circulating Interleukin-37 Levels in Healthy Adult Humans–Establishing a Reference Range. *Frontiers in Immunology*, 12.
13. Santarelli, D. M., Vincent, F. B., Rudloff, I., Nold-Petry, C. A., Nold, M. F., & Russo, M. A. (2021). Circulating Interleukin-37 Levels in Healthy Adult Humans–Establishing a Reference Range. *Frontiers in Immunology, 12*.
14. Smithrithee, R., Niyonsaba, F., Kiatsurayanon, C., Ushio, H., Ikeda, S., Okumura, K., & Ogawa, H. (2015). Human β-defensin-3 increases the expression of interleukin-37 through CCR6 in human keratinocytes. *Journal of dermatological science*, 77(1), 46-53.
15. Zhang Y, Tang M, Wang XG, Gu JH, Zhou LN, Jin J, et al.. Elevated Serum Levels of