

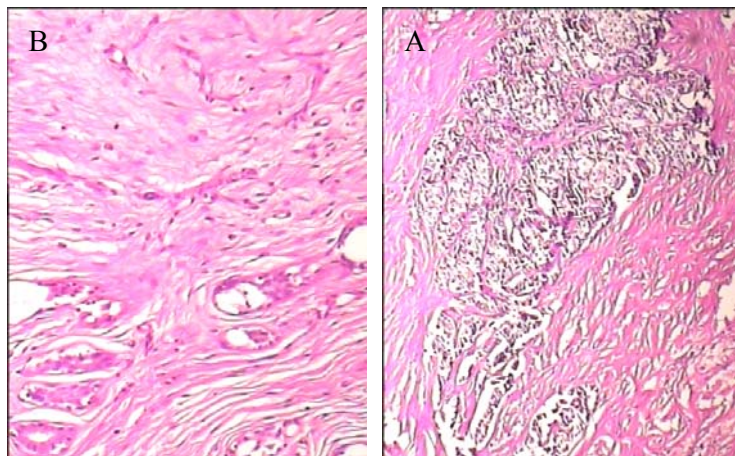
نمونه‌ی خون لخته در همان روز جراحی از بیماران گرفته شد و در حداقل زمان ممکن سرم آن جدا و در ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های بافتی تهیه شده در ظرف درب‌دار حاوی سرم فیزیولوژی نگهداری و در حداقل زمان ۲-۱ ساعت بعد از تهیه چندین مرتبه با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد تا کلیه‌ی مواد اضافی از جمله پروتئین‌ها و گلوبول‌های قرمز همراه بافت از آن جدا و خارج شوند و تداخلی با آزمایش‌ها ایجاد نکنند.

۴ برابر وزن بافت، سرم فیزیولوژی به آن‌ها اضافه شد و تا زمان انجام آزمایش در ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. بر اساس نوع تومور خوش‌خیم از ۵۰ بیماری، که نمونه‌های آنان تهیه شده بود، ۲۹ بیمار وارد مطالعه شدند و از ۲۹ نمونه ۱۵ مورد دارای تومور خوش‌خیم با تشخیص پاتولوژی فیبروآدنوما و ۱۴ مورد با تشخیص تومور بدخیم با Compatible with invasive ductal carcinoma Grade ۳ یا ۲ بودند. تشخیص تومورها بر اساس رنگ‌آمیزی بافت بیوپسی با هماتوکسیلین و اتوزین و تشخیص حداقل دو نفر پاتولوژیست صورت گرفت (شکل ۱).

بر حسب گزارش‌ها اثرات غیر مستقیم IL-17 باعث تولید سایتوکاین‌هایی چون اینترلوکین ۱۰ (IL-10)، اینترلوکین ۸ (IL-8)، اینترلوکین ۶ (IL-6) و اینترلوکین ۴ (IL-4) می‌شود (۱۶-۱۷). این سایتوکاین‌ها باعث سرکوب سیستم ایمنی و هم‌چنین افزایش رشد سلول‌های توموری می‌شوند (۱۸). بیان شده است که اثرات مستقیم IL-17 بر تومورها شدیدتر از اثرات غیر مستقیم این سایتوکاین است (۱۷)؛ ولی هنوز نکات بسیاری در مکانیسم اثر IL-17 بر تومورها ناشناخته باقی مانده است که نیاز به بررسی بیشتر دارد. در مطالعه‌ی حاضر به مقایسه‌ی مقدار این سایتوکاین‌ها در زنان مبتلا به تومور بدخیم و خوش‌خیم پستان پرداختیم.

روش‌ها

از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام علی (ع) فرخشهر و آیت‌الله کاشانی شهرکرد، که جهت تشخیص نوع تومور پستان در سال ۹۰-۱۳۸۹ تحت عمل بیوپسی قرار گرفتند، سه نمونه‌ی بافت تومور، بافت سالم مجاور تومور و خون لخته گرفته شد.



شکل ۱. A. نمونه‌ی بافتی تهیه شده‌ی بیمار مبتلا به تومور با تشخیص کارسینوم مجرای مهاجم با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین B. نمونه‌ی بافتی تهیه شده‌ی بیمار مبتلا به تومور با تشخیص فیبروآدنوما با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین

خوش خیم با تشخیص فیروآدنوما (یک توده‌ی خوش خیم بافت پستان است که از بافت فیروز و سلول های طبیعی، که سرعت تکثیر زیادی دارند، تشکیل شده است) و میانگین سنی $11/8 \pm 30/3$ سال و ۱۴ نفر هم تومور بدخیم با تشخیص کارسینوما‌ی مجرای مهاجم (به صورت یک توده‌ی مشخص است که حدود آن به شکل ستاره در بافت اطراف نفوذ می‌کند. این توده در مجاری پستان تشکیل می‌شود و به بافت های مجاور نفوذ می‌نماید) با مرحله‌ی ۲ یا ۳ و میانگین سنی $13/6 \pm 48/8$ سال بودند.

در این مطالعه سه نفر از ۱۴ نفر دارای سرطان پستان (۲۱/۴ درصد) با سن کمتر از ۳۵ سال وجود داشت. میانگین سنی افراد دو گروه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/001$).

مقایسه‌ی میانگین غلظت سایتوکاین‌های مورد مطالعه در بافت‌های توموری و بافت مجاور تومور و سرم در افراد گروه در جدول ۱ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که مقادیر هر سه سایتوکاین مورد مطالعه در بافت مجاور تومور و سرم مبتلایان به تومور بدخیم به طور معنی‌داری بیشتر از افراد مبتلا به تومور خوش خیم بود. مقدار IL-4 و IL-17 نیز در بافت تومور بدخیم به طور معنی‌داری بیشتر از بافت تومور خوش خیم بود اما در مورد IFN- γ تفاوت بین دو بافت تومور معنی‌دار نبود.

آنالیز همبستگی Pearson نشان داد که بین مقادیر IL-4 و IL-17 در بافت مجاور تومور خوش خیم دارای همبستگی مثبت ($r = 0/982, P < 0/001$) است. همبستگی آماری مثبتی بین مقادیر IL-4 و IL-17 در بافت مجاور تومور بدخیم نیز ($r = 0/987, P < 0/001$) مشاهده شد.

بافت‌های جمع‌آوری شده از حالت ۸۰-درجه‌ی سانتی‌گراد خارج گردید و با استفاده از دستگاه هموژنایزر بافت‌ها به صورت سوسپانسیون درآمد. هر بافت حدود ۱۵ دقیقه در دستگاه هموژنایزر قرار گرفت. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد و سپس محلول رویی (Supernatant) جدا و به لوله‌ی دیگر منتقل گردید. مقدار سایتوکاین IFN- γ , IL-4 و IL-17 در مایع حاصل از بافت توموری و بافت مجاور تومور و سرم خون بیماران به روش ELISA اندازه‌گیری گردید. کیت اندازه‌گیری مقادیر سایتوکاین‌ها از Bender Med system تهیه گردید. کلیه‌ی دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده در این مطالعه دارای گواهی کالیبراسیون معتبر بودند.

پس از انجام آزمایش ELISA، با مقایسه‌ی OD نمونه‌های تست با منحنی استاندارد مقادیر کمی غلظت سایتوکاین‌ها طبق پروتکل شرکت سازنده محاسبه شد. آنالیز آماری نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار برای هر گروه از نمونه‌ها بیان گردید. جهت مقایسه‌ی گروه بیماران با تومور بدخیم و بیماران با تومور خوش خیم از آزمون Student-t در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) استفاده گردید. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان شاخص معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد و از ضریب همبستگی Pearson جهت سنجش همبستگی داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۲۹ بیمار که دامنه‌ی سنی آنان از ۱۸ تا ۷۳ سال و میانگین سنی آن‌ها $15/6 \pm 39/2$ سال بود، انجام شد. ۱۵ نفر از این افراد دارای تومور

جدول ۱. مقایسه‌ی مقادیر سایتوکاین‌های اندازه‌گیری شده در بیماران مبتلا به تومور خوش‌خیم و بدخیم پستان

مقدار P	IFN- γ پیکوگرم در میلی لیتر	مقدار P	IL-17 پیکوگرم در میلی لیتر	مقدار P	IL-4 پیکوگرم در میلی لیتر	شاخص صفت
۰/۴۹۴	۱۳/۸ ± ۲/۳	< ۰/۰۰۱	۹/۲ ± ۲/۴	< ۰/۰۰۱	۶۵/۶ ± ۱۴/۰۵	بافت تومور خوش‌خیم
	۱۴/۶ ± ۳/۸		۱۶/۹ ± ۲/۳		۱۱۲/۳ ± ۱۵/۳	بافت تومور بدخیم
< ۰/۰۰۴	۱۱/۹ ± ۲/۳	< ۰/۰۲۳	۹/۹ ± ۲/۴	< ۰/۰۳۷	۶۵/۸ ± ۱۴/۸	بافت مجاور تومور خوش‌خیم
	۱۵/۳ ± ۳/۴		۱۳/۰۶ ± ۴/۴		۸۵/۰۱ ± ۲۸/۸	بافت مجاور تومور بدخیم
< ۰/۰۴۵	۳/۷ ± ۰/۵	< ۰/۰۱۷	۳/۱ ± ۰/۴	< ۰/۰۰۲	۲۱/۰۲ ± ۲/۷	سرم بیماران با تومور خوش‌خیم
	۴/۳ ± ۰/۸		۳/۶ ± ۰/۵		۲۴/۲ ± ۳/۹	سرم بیماران با تومور بدخیم

به نظر می‌رسد که جمعیت سلول‌های Th2 و یا فعالیت این سلول‌ها در بافت تومور بدخیم پستان افزایش می‌یابد. افزایش سطح سایتوکاین IL-4 در محیط تومور باعث می‌شود تا سلول‌های Th0، که به بافت تومور وارد می‌شوند، به سمت Th2 تمایز یابند. با بررسی این داده‌ها مشخص می‌شود که مقدار IL-4 در بافت مجاور تومور بدخیم نسبت به بافت مجاور تومور خوش‌خیم افزایش معنی‌داری داشته است. بر خلاف این نتیجه، Aspod و همکاران بیان نمودند که مقدار این سایتوکاین در مایع حاصل از بافت مجاور تومور بدخیم برابر $۴/۳۶ \pm ۵/۸۲$ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود (۲۰)؛ اما داده‌های حاصل از بررسی ما افزایش مقادیر قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. به نظر می‌رسد که افزایش IL-4 در بافت مجاور تومور بدخیم به علت انتشار این سایتوکاین از بافت تومور بدخیم باشد.

در این بررسی مشخص شد که میزان IL-4 در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان نسبت به مقدار این سایتوکاین در سرم افراد با تومور خوش‌خیم تفاوت معنی‌داری دارد. مطالعه‌ی ما هم جهت با مطالعه‌ی Shurin و همکاران بود که عنوان کردند، سایتوکاین‌های IL-4، IL-10 در سرطان پستان افزایش نشان می‌دهند (۱۰). اما در مطالعه‌ی که توسط Alimhojaeva انجام

همبستگی آماری بین مقدار IL-4 در بافت مجاور تومور خوش‌خیم و غلظت IFN- γ در سرم افراد با تومور خوش‌خیم مشاهده شد ($r = ۰/۶۵۹, P < ۰/۰۱$) و همچنین بین مقادیر IFN- γ در بافت مجاور تومور بدخیم و IFN- γ در سرم بیماران با تومور بدخیم همبستگی آماری منفی ($r = -۰/۶۰۹, P < ۰/۰۱$) مشاهده گردید.

بحث

در این بررسی میزان سایتوکاین IL-4 در بافت تومور بدخیم پستان نسبت به بافت تومور خوش‌خیم پستان افزایش معنی‌داری داشت. یافته‌های ما با نتایج Camp و همکاران هم‌خوانی دارد؛ آن‌ها با استفاده از روش ایمنو‌هیستوشیمی به این نتیجه رسیدند که ۳۶ درصد سلول‌های TILs موجود در بافت تومور بدخیم پستان IL-4 تولید می‌کنند (۱۹). بر خلاف این نتایج، در بررسی Aspod و همکاران عنوان شد که میانگین غلظت IL-4 در مایع حاصل از بافت توموری پستان (این مایع از اثر PMA/ionomycin بر بافت تومور پستان به مدت ۱۶ ساعت به دست آمد) افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان نداد و میزان آن برابر ۳۳ ± ۱۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد (۲۰).

شد، مقدار سایتوکاین IL-4 در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان برابر $1/68 \pm 6/55$ و در سرم افراد طبیعی برابر $1/15 \pm 3/86$ پیکوگرم در میلی لیتر برآورد گردید که با مقادیر به دست آمده در بررسی ما تفاوت عددی نشان می دهد اما در افزایش این سایتوکاین در سرم افراد با تومور بدخیم تشابه دارد (۲۱).

در مطالعه ی Son و همکاران در بیماران مبتلا به سرطان پستان، که به وسیله ی جراحی و شیمی درمانی فرایند درمان را می گذرانند، میزان سایتوکاین IL-4 در سرم بیماران قبل از درمان برابر $4/4 \pm 11/78$ و بعد از درمان برابر $5/13 \pm 13/81$ پیکوگرم در میلی لیتر محاسبه شد (۲۲) که با مطالعه ی ما از نظر عددی تفاوت قابل توجهی ندارد.

با توجه به مطالب فوق شاید بتوان بیان نمود که انتشار سایتوکاین IL-4 از بافت تومور به داخل جریان خون باعث افزایش مختصر اما معنی دار در سرم افراد مبتلا سرطان پستان می شود. از آن جایی که تفاوت میزان IL-4 در سرم افراد مبتلا به تومور بدخیم پستان و سرم افراد مبتلا به تومور خوش خیم پستان از نظر کمی قابل توجه نمی باشد، استفاده از آن در مسایل بالینی کاربردی به نظر نمی رسد.

در بررسی ما سایتوکاین IL-17 در بافت تومور بدخیم پستان نسبت به مقدار این سایتوکاین در بافت تومور خوش خیم پستان افزایش معنی داری داشت. این نتیجه همسو با مطالعه ی Maniati بود که گزارش نمود سلول های Th17 در محیط تومورهای مختلفی چون پانکراس و تخمدان دارای فعالیت عملکردی می باشند (۲۳). این گونه مشاهده می شود که سلول های Th17 در بافت تومور بدخیم پستان افزایش می یابند و یا فعالیت بیشتری نسبت به جمعیت این سلول ها در بافت تومور

خوش خیم پستان از خود نشان می دهند. در این مطالعه مقدار IL-17 در بافت مجاور تومور بدخیم افزایش معنی داری نسبت به مقدار این سایتوکاین در بافت مجاور تومور خوش خیم داشت که با مطالعه ی Zhu و همکاران همسو بود که مقدار این سایتوکاین با روش ایمنو هیستوشیمی نشان دهنده ی افزایش IL-17 در بافت اطراف تومور بدخیم پستان بوده است (۱۶). شاید افزایش IL-17 در بافت مجاور تومور بدخیم به دلیل افزایش آن در بافت تومور بدخیم پستان و انتشار آن به بافت مجاور باشد.

در این بررسی مقدار سایتوکاین IL-17 در سرم افراد با تومور بدخیم پستان افزایش معنی داری نسبت به مقدار این سایتوکاین در سرم افراد با تومور خوش خیم داشت که می توان نتیجه گرفت شاید انتشار IL-17 از بافت توموری به جریان خون باعث افزایش این سایتوکاین در سرم باشد. ولی تفاوت میزان IL-17 در سرم افراد مبتلا به تومور بدخیم پستان و سرم افراد مبتلا به تومور خوش خیم پستان از نظر کمیتی قابل توجه نبود.

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می دهد که مقدار IFN- γ در بافت تومور بدخیم پستان و بافت تومور خوش خیم پستان تفاوت قابل ملاحظه ای ندارد. این نتایج با یافته های Rosen و همکاران مطابقت داشت (۲). آن ها با تأثیر کانکاوآلین A و آنتی ژن P43 بر روی لنفوسیت های T به دست آمده از خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان بدخیم پستان و تومور خوش خیم پستان مشخص نمودند که سایتوکاین های Th1 از جمله IFN- γ در بین بیماران با تومور بدخیم و خوش خیم تغییر قابل ملاحظه ای نمی کند (۲).

همچنین Camp و همکاران در مطالعه ای که با

روش ایمنوهیستوشیمی انجام شد، عنوان کردند که فقط ۳ درصد سلول های TILs موجود در بافت تومور بدخیم پستان IFN- γ تولید و ترشح می کنند (۱۹).

برخلاف یافته های ما در مطالعه ای که توسط Aspord و همکاران انجام شد، میانگین غلظت IFN- γ در مایع حاصل از بافت توموری پستان افزایش قابل ملاحظه ای (۱/۵ \pm ۴/۱ نانوگرم در میلی لیتر) نشان داده بود (۲۰). عدم افزایش IFN- γ در بافت بدخیم پستان را شاید بتوان این گونه تفسیر نمود که افزایش جمعیت سلول های Th2 و Th17 مانع از افزایش سلول های Th1 در این محیط می شود.

با انجام این بررسی مشخص شد که میزان IFN- γ در بافت مجاور تومور بدخیم نسبت به بافت مجاور تومور خوش خیم افزایش معنی داری داشت، اما در مطالعه ای Aspord و همکاران مقدار IFN- γ در مایع حاصل از بافت مجاور تومور برابر ۹۹۴ پیکوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد که تفاوت معنی داری را نشان داد (۲۰). به نظر می رسد افزایش IFN- γ در بافت مجاور تومور بدخیم به علت ایجاد التهاب بیشتر در مجاورت این بافت به دلیل رشد بیشتر سلول های بدخیم یا کاهش اثرات آنها بوده که باعث مهار تولید این سایتوکاین در محیط تومور گشته است.

در مطالعه ای ما میزان IFN- γ در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان افزایش معنی داری را نسبت به مقدار این سایتوکاین در سرم افراد مبتلا به تومور خوش خیم نشان داد، هر چند با توجه به $P < 0/045$ یک ارتباط محکم نمی باشد. این مطالعه هم جهت با بررسی Lyon و همکاران بود که مشخص نمودند بین مقدار IFN- γ در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان و زنان مشکوک به سرطان پستان که جواب پاتولوژی منفی داشتند تفاوت

معنی داری وجود ندارد (۲۴).

Alimhojaeva میزان IFN- γ را در سرم افراد مبتلا به سرطان پستان $0/82 \pm 6/3$ پیکوگرم در میلی لیتر و در سرم افراد طبیعی $0/84 \pm 4/55$ پیکوگرم در میلی لیتر برآورد نمود (۲۱) که با نتایج به دست آمده در بررسی ما شباهت زیادی داشت.

گزارش Shurin و همکاران نشان داد که سلول های Th1 در سرطان پستان سرکوب می شوند که با نتایج به دست آمده از این بررسی مشابهت دارد (۱۰).

در مطالعه ای Son و همکاران در بیماران مبتلا به سرطان پستان که تحت درمان جراحی و شیمی درمانی بودند میزان IFN- γ در سرم بیماران قبل از درمان برابر $17/16 \pm 91/75$ و بعد از درمان برابر $66/61 \pm 167/42$ پیکوگرم در میلی لیتر بود (۲۲).

از آن جایی که در این بررسی تفاوت میزان IFN- γ در سرم افراد مبتلا به تومور بدخیم پستان و سرم افراد مبتلا به تومور خوش خیم پستان از نظر کمی قابل توجه نبود، به نظر می رسد کاربرد بالینی محدودی داشته باشد. مگر این که به روش های سنجش مولکولی مثل RT-PCR اتکا گردد. این یافته ها در راستای تغییرات سیتوکاینی سلول های Th1، Th2، Th17 در تومورهای بدخیم پستان بود که در بافت های توموری، بافت مجاور تومور و نیز در گردش خون تأیید کننده ی غلبه ی سلول های Th2 و Th17 در تومورهای پستان است (۱۷-۱۶، ۱۴). به علاوه تحقیقات متعددی، حتی با روش های ژنتیکی، نشان دهنده ی غالب بودن کلون های Th2 و Th17 در بدخیمی های پستان بوده است که از این جنبه نیز روش بررسی حاضر با توجه به سایتوکاین های سنجش شده در یک راستا و مؤید این مطالعات بود.

پیشنهاد شده است که شیفت از Th0 به سمت Th2

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با شماره ی ثبت ۳۸۹۱۸۵ در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام گردید. از خانم دکتر ماندانا مقیم (پاتولوژیست)، خانم دکتر شهلا طاهری (پاتولوژیست)، آقای دکتر شهرام شایق (پاتولوژیست)، آقای دکتر بهنام شاکریان (جراح)، آقای مسعود صادقی، آقای نگهدار ریاحی، مدیریت و پرسنل محترم بیمارستان امام علی (ع) فرخشهر و مدیریت و پرسنل محترم بیمارستان آیت... کاشانی شهرکرد که ما را در انجام این طرح یاری دادند، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

و Th17 ممکن است در پیشرفت تومور نقش مهمی داشته باشد (۹، ۱۳). کاهش نسبت Th1/Th2 در بسیاری از بدخیمی‌های انسان مانند ریه، پستان، مثانه و مجاری ادراری نیز گزارش شده است (۱۰).
با توجه به مطالب بیان شده می‌توان نتیجه گرفت که با تمایز سلول‌های Th0 به سمت Th1 و مهار تمایز سلول‌های Th0 به Th2 و Th17 شاید بتوان از رشد سلول‌های توموری ممانعت نمود. کنترل شیفیت سلول‌های ایمنی ویا القای تمایز یا پرولیفرانسیون سلول‌های مطلوب Th1 و یا ممانعت از رشد جمعیت سلولی Th2 یا Th17 می‌تواند در جهت اهداف ایمنوتراپی قرار گیرد.

References

- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins' Basic Pathology . 7th ed. London: WB. Saunders; 2003.
- Hagemann T, Robinson SC, Schulz M, Trumper L, Balkwill FR, Binder C. Enhanced invasiveness of breast cancer cell lines upon co-cultivation with macrophages is due to TNF-alpha dependent up-regulation of matrix metalloproteases. *Carcinogenesis* 2004; 25(8): 1543-9.
- Lewis CE, Leek R, Harris A, McGee JO. Cytokine regulation of angiogenesis in breast cancer: the role of tumor-associated macrophages. *J Leukoc Biol* 1995; 57(5): 747-51.
- Seruga B, Zhang H, Bernstein LJ, Tannock IF. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(11): 887-99.
- Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009; 86(5): 1065-73.
- Oble DA, Loewe R, Yu P, Mihm MC, Jr. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma. *Cancer Immun* 2009; 9: 3.
- Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009; 86(5): 1065-73.
- Disis ML, Park KH. Immunomodulation of breast cancer via tumor antigen specific Th1. *Cancer Res Treat* 2009; 41(3): 117-21.
- Raman D, Baugher PJ, Thu YM, Richmond A. Role of chemokines in tumor growth. *Cancer Lett* 2007; 256(2): 137-65.
- Shurin MR, Lu L, Kalinski P, Stewart-Akers AM, Lotze MT. Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Semin Immunopathol* 1999; 21(3): 339-59.
- Alvarez DV. Interferon-gamma Receptor Deficiency (IFN γ R deficiency). Charlotte, NC: Davidson College [Online] 2011. Available from: URL: [http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Students/spring2006/V_Alvarez/IFN \$\gamma\$ Rdeficiency.html](http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Students/spring2006/V_Alvarez/IFNγRdeficiency.html).
- Nam JS, Terabe M, Kang MJ, Chae H, Voong N, Yang YA, et al. Transforming growth factor beta subverts the immune system into directly promoting tumor growth through interleukin-17. *Cancer Res* 2008; 68(10): 3915-23.
- Zhou Y, Weyman CM, Liu H, Almasan A, Zhou A. IFN-gamma induces apoptosis in HL-60 cells through decreased Bcl-2 and increased Bak expression. *J Interferon Cytokine Res* 2008; 28(2): 65-72.
- Conticello C, Pedini F, Zeuner A, Patti M, Zerilli M, Stassi G, et al. IL-4 protects tumor cells from anti-CD95 and chemotherapeutic agents via up-regulation of antiapoptotic proteins. *J Immunol* 2004; 172(9): 5467-77.
- Gooch JL, Christy B, Yee D. STAT6 mediates interleukin-4 growth inhibition in human breast cancer cells. *Neoplasia* 2002; 4(4): 324-31.
- Zhu X, Mulcahy LA, Mohammed RA, Lee AH, Franks HA, Kilpatrick L, et al. IL-17 expression by breast-cancer-associated macrophages: IL-17 promotes invasiveness of breast cancer cell lines.

- Breast Cancer Res 2008; 10(6): R95.
17. Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *J Leukoc Biol* 2002; 71(1): 1-8.
 18. Kozłowski L, Zakrzewska I, Tokajuk P, Wojtukiewicz MZ. Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients. *Rocz Akad Med Białymst* 2003; 48: 82-4.
 19. Camp BJ, Dyhrman ST, Memoli VA, Mott LA, Barth RJ, Jr. In situ cytokine production by breast cancer tumor-infiltrating lymphocytes. *Ann Surg Oncol* 1996; 3(2): 176-84.
 20. Aspod C, Pedroza-Gonzalez A, Gallegos M, Tindle S, Burton EC, Su D, et al. Breast cancer instructs dendritic cells to prime interleukin 13-secreting CD4⁺ T cells that facilitate tumor development. *J Exp Med* 2007; 204(5): 1037-47.
 21. Alimhojaeva LT. Pro and anti inflammatory cytokines level in patients suffering breast cancer [Online] 2010. [cited 2010 Apr 9]. Available from: URL: http://d.wanfangdata.com.cn/periodical_hwyy-z20100409.aspx
 22. Son GS, Ryu WS, Kim HY, Woo SU, Park KH, Bae JW. Immunologic Response to Mistletoe Extract (*Viscum album L.*) after Conventional Treatment in Patients with Operable Breast Cancer. *J Breast Cancer* 2010; 13(1): 14-8.
 23. Maniati E, Soper R, Hagemann T. Up for Mischief? IL-17/Th17 in the tumour micro-environment. *Oncogene* 2010; 29(42): 5653-62.
 24. Lyon DE, McCain NL, Walter J, Schubert C. Cytokine comparisons between women with breast cancer and women with a negative breast biopsy. *Nurs Res* 2008; 57(1): 51-8.

IFN- γ , IL-4 and IL-17 Concentration in Tumor Tissue, Adjacent Tumor Tissue and the Serums of Patients with Breast Cancer

Alireza Andalib PhD¹, Kamran Moghaddas MSc², Farkhondeh Sharifi MD³,
Nafiseh Esmaeil MSc², Seyed Javad Hasheminia MSc², Mohammad Moazeni MD⁴

Abstract

Background: Tumor environment consists of various cells and cytokines. The cytokines are widely produced in the environment by tumor and immune cells. Tumor growth and development depends on the cytokines secreted in this environment. Cytokines have either pro-or anti-inflammatory activity as well as immunosurveillance stability which influence tumor progression in microenvironment.

Methods: From 29 patients with breast cancer, 14 patients with malignant and 15 with benign tumors were considered. Specimens were collected from patients who were operated for breast cancer. Obtained tissues were kept at -80°C and then were prepared by homogenizer device. IFN- γ , IL-4 and IL-17 were measured in tumor tissue, adjacent tumor tissue, and patients' serum using ELISA technique.

Findings: The concentration of IL-4, IL-17, and IFN- γ were 112.3 ± 15.2 , 16.9 ± 2.3 , and 14.6 ± 3.8 pg/ml in malignant tissues, respectively. The concentration of IL-4 and IL-17 in tumor tissue, adjacent tumor tissue, and serum of patients with malignant tumors were higher than those with benign tumors.

Conclusion: Our data indicates that elevated IL-4 and IL-17, but not IFN- γ , in tumor microenvironment may affect the malignancy progression.

Keywords: Cytokines, IFN- γ , IL-4, IL-17, Tumor, Breast tumors.

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

² Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

³ General Surgeon, Farokhshar Imam Ali Hospital, Shahrekord, Iran.

⁴ General Surgeon, Ayatolahe Kashani Hospital, Shahrekord, Iran.

Corresponding Author: Alireza Andalib PhD, Email: andalib@med.mui.ac.ir