



Comparison of the effects of *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* and *Mesobuthus eupeus* scorpion venom on the release of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in rat

Mohammad Nemati ¹ , Mahsa Lari Baghal ¹ , Salabi Fatemeh ¹ , Hedieh Jafari ² , Mohammad Khosravi ² 

¹-Department of Venomous Animals and Anti-venom Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.

²-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: The release of inflammatory cytokines is one of the most important factors involved in the pathogenesis of scorpion stings. Only minutes to hours after a scorpion sting, a massive release of neurotransmitters leads to clinical symptoms.

Materials and Methods: In this study, a comparative study of the effects of *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* and *Mesobuthus eupeus* scorpion venom on the release of pro-inflammatory cytokine (IL-6) and anti-inflammatory cytokine (IL-10) in rat has been done. After the determination of LD50 poison of three types of scorpions, 1/3 LD50 dose in 0.5 ml of physiological plasma by subcutaneous injection per rat (16 rat for each venom) also 0.5 ml of physiological plasma was injected subcutaneously to the control group (n=16). After 4, 24 and 72 hours of venom injection, heparinized blood samples were taken from the hearts of rat and ELISA diagnostic method was used to determine the plasma levels of cytokines (IL-6 and IL-10).

Results: comparing plasma IL-10 levels in the control and treatment groups (by *Androctonus crassicauda* scorpion venom), there was no statistically significant difference between the mean plasma IL-10 levels at 0 and 24h in the control and treatment groups. it was observed that the plasma level of IL-10 at 4 hours after injection of the venom *Hottentotta saulcyi* was significantly increased compared to its value at zero time ($p < 0/05$). it was observed that the amount of IL-10 at 24 hours after injection of the *Mesobuthus eupeus* venom was reduced compared to the amount at 4 hours and this difference was significant ($p < 0/05$). the plasma level of IL-6 showed a significant increase in 24 hours after the injection of venom (*Androctonus crassicauda*) compared to its value in 4 hours after the injection of venom ($P < 0.05$). after injection of the venom *Hottentotta saulcyi* the Plasma IL-6 levels were significantly increased at 4 h compared to 0 h. ($p < 0.05$) But there was no significant difference between 4h and 24h times. At 72 h, plasma IL-6 levels had significantly reduced compared to 4 h and 24 h ($p < 0.05$). The results showed that it was observed that in the group treated with scorpion (*Mesobuthus eupeus*) venom, the plasma level of IL-6 at 4 hours after injection of the venom compared to its value at time zero. Significance decreased ($p < 0.05$).

Conclusion: Balance between cytokines plays a pivotal role in the development of clinical symptoms in scorpion stings and Changes in the level of inflammatory and anti-inflammatory cytokines can be used as a new clinical finding to examine the condition of patients and perform appropriate therapeutic interventions to reduce the complications of scorpion stings.

Keywords: *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi*, *Mesobuthus eupeus*, Pro-inflammatory cytokines, Anti-inflammatory cytokines, Rat

Received: 2023.08.22;

Accepted: 2023.06.11;

Published Online: 02.08.2024

Corresponding
Information:

Mohammad Nemati: Assistant Professor, Department of Venomous Animals and Anti-venom Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.
Email: m.nemati@rvsri.ac.ir



Copyright © 2023, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usage with proper citation.



دو فصلنامه

بهداشت و بیماری های عفونی دام

سال ۱، شماره ۱

صفحه محله: <https://jahid.lu.ac.ir/>

مقایسه اثرات زهر عقرب آندروکتونوس کراسکودا، هوتنتوتا سلسی و مزوبوتوس اپئوس بر آزادسازی سایتوکین های پیش التهابی و ضد التهابی در رت

محمد نعمتی^{۱*}، مهسا لاری بقال^۱، فاطمه نعلبی^۱، هدیه جعفری^۱، محمد خسروی^۲

۱. گروه جانوران سمی و تولید پادزهر، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: آزادسازی سایتوکین های التهابی یکی از مهم ترین عواملی است که در پاتوژنز عقرب گزیدگی نقش دارد. تنها چند دقیقه تا چند ساعت پس از عقرب گزیدگی، انتشار گسترده نوروترانسمیترها عصبی منجر به علائم بالینی می شود.

مواد و روش ها: در این پژوهش مقایسه ای، اثرات زهر عقرب آندروکتونوس کراسکودا، هوتنتوتا سلسی و مزوبوتوس اپئوس بر ترشح سایتوکین های پیش التهابی (IL-6) و سایتوکین ضد التهابی (IL-10) در رت انجام شد. پس از تعیین LD50 زهر سه گونه عقرب، یک سوم دوز LD50 در ۰.۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به شکل زیرجلدی به ازای هر موش (۱۶ موش برای هر گونه عقرب) و ۰.۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به صورت زیرجلدی به گروه کنترل تزریق شد. (n= 16) سپس در زمان های صفر، ۴، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق زهر، نمونه خون هپارینه شده از قلب موش ها گرفته شد و از روش تشخیصی ELISA برای تعیین سطوح پلاسمایی سیتوکین ها IL-6 و IL-10 استفاده شد.

یافته ها: با مقایسه سطح پلاسمایی IL-10 در گروه کنترل و تیمار شده با سم عقرب آندروکتونوس کراسکودا، تفاوت آماری معنی داری بین میانگین سطوح پلاسمایی IL-10 در زمان صفر و ۲۴ ساعت در گروه شاهد و تیمار شده با سم عقرب مشاهده نشد. سطح پلاسمایی IL-10 در ۴ ساعت پس از تزریق سم هوتنتوتا سلسی نسبت به مقدار آن در زمان صفر به طور چشمگیری افزایش یافت ($p < 0.05$). مشاهده شد که مقدار IL-10 در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر مزوبوتوس اپئوس نسبت به زمان چهار ساعت پس از تزریق به شکل معنی داری کاهش یافته بود ($p < 0.05$). سطح پلاسمایی IL-6 در ۲۴ ساعت پس از تزریق سم (آندروکتونوس کراسکودا) نسبت به مقدار آن در چهار ساعت پس از تزریق زهر افزایش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). پس از تزریق سم هوتنتوتا سلسی سطح پلاسمایی IL-6 در ۴ ساعت بعد از تزریق نسبت به زمان صفر به طور چشمگیری افزایش یافت. اما بین زمان ۴ و ۲۴ ساعت تفاوت معنی داری وجود نداشت. در زمان ۷۲ ساعت، سطح پلاسمایی IL-6 در مقایسه با ۴ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از تزریق زهر کاهش چشمگیری یافت.

نتیجه گیری: تعادل بین سایتوکین ها نقش اساسی در بروز علائم بالینی در عقرب گزیدگی دارد و تغییر در سطح سایتوکین های التهابی و ضد التهابی می تواند به عنوان یافته بالینی جدیدی برای بررسی وضعیت بیماران و انجام مداخلات درمانی مناسب و کاهش عوارض عقرب گزیدگی به کار رود.

کلیدواژه ها: آندروکتونوس کراسکودا، هوتنتوتا سلسی، مزوبوتوس اپئوس، سایتوکین های پیش التهابی، سایتوکین های ضد التهاب، رت.

انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۱۱/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۵

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۳۱

اطلاعات نویسنده مسئول: محمد نعمتی، استادیار گروه جانوران سمی و تولید پادزهر، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. Email: m.nemati@rvsri.ac.ir

حق چاپ © ۲۰۲۳، این یک مقاله با دسترسی آزاد اصلی است که تحت شرایط



Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License توزیع شده است که اجازه کپی و توزیع

مجدد مطالب را فقط در استفاده غیر تجاری با استناد مناسب می دهد.

مقدمه

به عنوان یک مشکل عمده بهداشت عمومی در نظر گرفته می شود و می تواند باعث ایجاد بیماری های کشنده در انسان، به خصوص در کودکان شود. علائم عقرب گزیدگی چند دقیقه پس از گزش شروع می شود و معمولاً بیشترین علائم در عرض پنج ساعت ظاهر می شود. در این دوره، انتشار گسترده نوروترانسمیترها منجر به تعریق، تهوع و استفراغ می شود (۵). زهر عقرب شامل پپتیدهای عصبی مانند موکوپلی ساکاریدها، هیالورونیداز، فسفولیپاز، سروتونین، هیستامین، مهارکننده های آنزیم و پروتئین ها است (۷و۸). سایتوکین ها را می توان با توجه به عملکرد خود به عنوان پیش التهابی یا ضد التهابی طبقه بندی کرد. سایتوکین های پیش التهابی مانند IL-1، IL-6 و TNF در درجه اول مسئول ایجاد دفاعی در برابر پاتوژن های اگزوژن هستند (۹-۱۰). سایتوکین های ضد التهابی از جمله IL-4، IL-5 و IL-10 برای کاهش روند التهابی شدید و حفظ هموستاز برای عملکرد اندام های حیاتی بسیار مهم هستند. تعادل بین فعالیت های پیش التهابی و ضد التهابی درجه و میزان التهاب را تعیین می کند، بنابراین می تواند منجر به اثرات بالینی متفاوتی شوند. اثر سایتوکین های ضد التهابی با اثر سایتوکین های پیش التهابی خنثا می شود. تعادل نداشتن سایتوکین ها منجر به آسیب و تخریب اندام های بدن در هنگام عقرب گزیدگی می شود. شواهد زیادی نقش سایتوکین ها را در عقرب گزیدگی نشان داده. به نظر می رسد هردو سایتوکین پیش التهابی و ضد التهابی در سندرم سپسیس به مقدار زیادی تولید می شوند (۱۱-۱۲). در این تحقیق، اثرات آندروکتونوس کراسیکودا، هوتنتوتا سلسی و مزوبوتوس اپئوس آزاد سازی سایتوکین های پیش التهابی و ضد التهابی در رت مقایسه شده اند.

مواد و روش ها

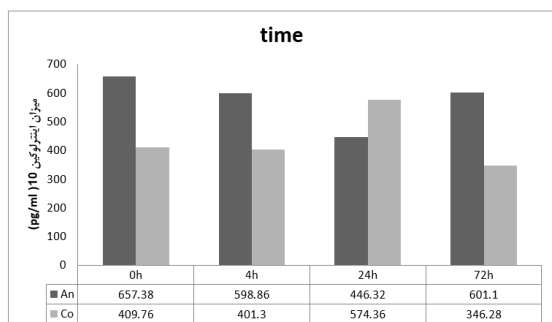
تهیه سم و تعیین LD50 سم

در این پژوهش عقرب های آندروکتونوس کراسیکودا، هوتنتوتا سلسی و مزوبوتوس اپئوس در استان خوزستان صید و سپس به بخش جانوران سمی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب منتقل شدند. سم عقرب با شوک الکتریکی جمع آوری شد و سپس خشک شد. LD50 آن ها (آندروکتونوس کراسیکودا) (۴۰۰ mg/kg)، هوتنتوتا سلسی (۱/۰۱ mg/kg)،

عقرب ها نزدیک به ۲۰۰۰ گونه شناخته شده دارند که در سرتاسر دنیا پراکنده اند (۱-۲). این جانوران سمی متعلق به جنس Phylum Arthropoda، راسته Scorpionida، کلاس Arachnida و راسته عنکبوتیان هستند (۳). طبقه بندی این جانوران شامل ۱۶ خانواده و تقریباً ۲۰۰۰ گونه و زیرگونه مختلف است (۴). در کشور ما هر ساله عقرب گزیدگی از نقاط مختلف گزارش شده است و در مواردی مرگ نیز بر اثر عقرب گزیدگی رخ داده است (۶). گونه های مهم پزشکی عقرب متعلق به خانواده Buthidae هستند که شامل Androctonus، Buthus، Mesobuthus، Parabuthus و Leirus که در شمال آفریقا، آسیا، خاور میانه و هند یافت می شوند (۴). بیشترین موارد عقرب گزیدگی در ایران از خانواده های Buthidae و Scorpionidae گزارش شده است که شامل ۱۲ جنس و ۲۴ گونه است (۳). عقرب *Androctonus crassicauda* یکی از عقرب های خطرناک ایران است که مرگ هایی بر اثر زهر آن گزارش شده است. زهر عقرب *A. crassicauda* می تواند باعث اختلال در عملکرد CNS و عضله به دلیل تحریک گیرنده های استیل کولین شود. درد موضعی، پر خونی و ادم، اسپاسم عضلانی موضعی و فلج گسترده عضلانی از علائم بالینی زهر عقرب *A. crassicauda* است. عقرب *Androctonus crassicauda* عامل ۳۵ تا ۴۰ درصد عقرب گزیدگی در استان خوزستان است (۱۷). عقرب *Hottentotta saulsi* یکی از شش گونه عقرب های با اهمیت پزشکی در ایران است که تقریباً در تمام نقاط کشور وجود دارد (۱۴). پراکندگی جهانی عقرب *Hottentotta saulsi* در کشورهای سوریه، افغانستان، ایران، ترکیه و عراق است. ترکیبات زهر این عقرب شامل پروتئین ها و پپتیدهایی است که مسئول اثرات نورو توتوکسیک آن هستند که کانال ها و گیرنده های وابسته به ولتاژ را مختل می کنند. سم این گونه عقرب از خانواده Buthidae به حدی است که مصدوم باید به سرعت تحت مراقبت های پزشکی قرار گیرد. گزارش افراد حادثه دیده حاکی از تأثیر سم این گونه بر روی سیستم تنفسی و قلبی عروقی است (۱۵).

مزوبوتوس اپئوس یکی از عقرب های خانواده Buthidae است. این عقرب یکی از پر شمار ترین عقرب های خوزستان است. نزدیک به ۴۵ درصد عقرب گزیدگی ها علائم شایع مشاهده شده شامل درد موضعی، پر خونی، تورم، سوزش، خشکی دهان، تشنگی، تعریق و افت فشار خون می شود. اثرات بالینی موضعی و سیستمیک، شامل درگیری سیستم خود مختار و اثرات موضعی همراه با درد شدید، پر خونی و ادم است (۱۳). در مناطق مختلف جهان عقرب گزیدگی

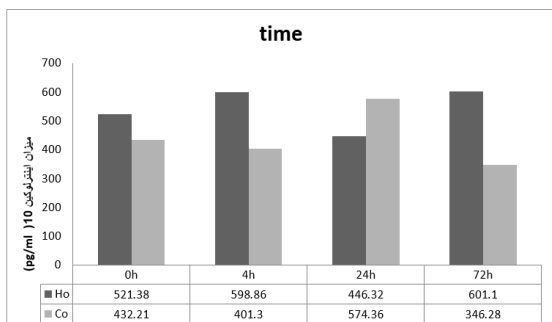
با مقایسه سطح پلاسمایی IL-10 در گروه کنترل و تیمار شده با سم عقرب، تفاوت آماری معنی داری بین میانگین سطوح پلاسمایی IL-10 در زمان های صفر و ۲۴ ساعت پس از دریافت زهر مشاهده نشد. سطح پلاسمایی IL-10 در چهار ساعت پس از دریافت زهر به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ($p < 0.05$). سطح پلاسمایی IL-10 در زمان ۷۲ ساعت در گروه کنترل تفاوت معنی داری با گروه دریافت کننده زهر نداشت (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میزان اینترلوکین ۱۰ در زمان های مختلف در گروه های مورد مطالعه (An: دریافت کننده سم عقرب آندروکتونوس-Co: کنترل)

گروه دریافت کننده زهر هوتنتوتا سلسی

با توجه به نتایج به دست آمده از ELISA، مشاهده شد که سطح پلاسمایی IL-10 در ۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در زمان صفر افزایش معنی داری داشت ($p < 0.05$). همچنین مشاهده شد که میزان IL-10 در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار چهار ساعت کاهش یافته و این تفاوت معنی دار بود ($p < 0.05$) و میزان IL-10 در ۷۲ ساعت پس از تزریق زهر در مقایسه با مقدار آن در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر افزایش یافت و به حالت پایدار رسید، اما این تفاوت معنی دار نبود ($p < 0.05$) (شکل ۲).



مزوبوتوس /پئوس (۱۱/۵ mg/kg) با استفاده از روش Spearman-Kaerber تعیین شد.

آماده سازی حیوانات

در این پژوهش از ۶۴ سر رت نژاد ویستار (نر) با وزن ۲۰۰ گرم در چهار گروه جداگانه استفاده شد. گروه یک شامل ۱۶ رت به عنوان گروه کنترل بود که سرم فیزیولوژیک به صورت زیرجلدی (sc) به آن ها تزریق شد. پس از تعیین LD50 ۰/۵ میلی لیتر محلول حاوی یک سوم دوز LD50 آندروکتونوس کراسیکودا (۴۰۰ mg/kg)، هوتنتوتا سلسی (۱/۰۱ mg/kg)، مزوبوتوس اپئوس (۱۱/۵ mg/kg) و سرم فیزیولوژی را به شکل زیرجلدی به گروه های دوم، سوم و چهارم (هر گروه ۱۶ موش) تزریق شد. نمونه های خون به طور مستقیم از قلب حیوانات در ساعات ۰، ۴، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق سم جمع آوری شد (۱۸). برای انجام آزمایش الایزا، نمونه های خون در ۴۰۰۰ دور ساترifiوژ پلاسمای آن ها جدا شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

اندازه گیری سایتوکاین های پیش التهابی و ضد التهابی

برای اندازه گیری سیتوکین ضد التهابی (IL-10) از کیت ELISA ساخته شده به وسیله ZellBio GmbH با شماره کاتالوگ ZB-10135C-R9748 و برای اندازه گیری سیتوکین التهابی (IL-6) از کیت ELISA ساخته شده به وسیله ZellBio GmbH با شماره کاتالوگ ZB-10135C-R9648 استفاده شد.

آنالیز داده ها

برای تجزیه و تحلیل داده ها از روش های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد و از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. برای مقایسه گروه ها از آزمون تی-تست استفاده شد. برای ارزیابی فواصل اطمینان از آزمون t برای هر نمونه استفاده شد. اگر مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ بود، داده ها از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شدند.

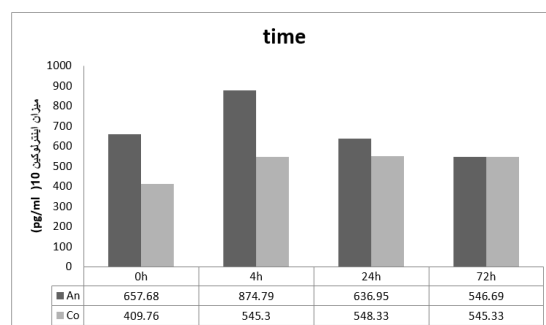
یافته ها

سطح پلاسمایی IL-10 پس از تزریق زهر عقرب گروه دریافت کننده زهر آندروکتونوس/کراسیکودا

شکل ۲: مقایسه میزان اینترلوکین ۱۰ در زمان‌های مختلف در گروه‌های مورد مطالعه (Ho: دریافت‌کننده سم عقرب هوتنتوتا-Co-کنترل)

گروه دریافت‌کننده زهر مزوبوتوس/پئوس

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از ELISA، مشاهده شد که میزان IL-10 در زمان‌های مختلف (صفر، ۲۴ و ۷۲ ساعت) پس از تزریق زیرجلدی سرم فیزیولوژیک تغییر چندانی نداشته و تفاوت معنی‌دار نبود. و سطح پلاسمایی IL-10 در ۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در زمان صفر افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین مشاهده شد که میزان IL-10 در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار چهار ساعت کاهش یافته بود و این تفاوت معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مقدار IL-10 در ۷۲ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر کاهش یافت و به حالت پایدار رسید، اما این تفاوت معنی‌دار نبود (شکل ۳).



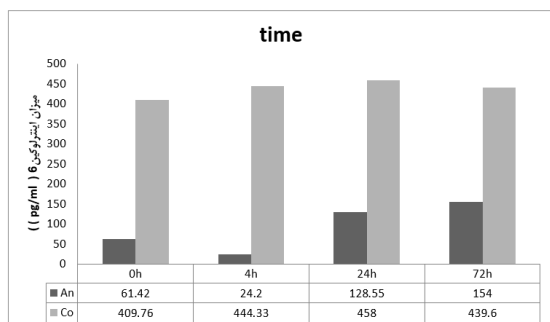
شکل ۳: مقایسه میزان اینترلوکین ۱۰ در گروه‌های مورد مطالعه (Me: دریافت‌کننده سم عقرب مزوبوتوس-Co-کنترل)

سطح پلاسمایی IL-6 پس از تزریق زهر عقرب

گروه دریافت‌کننده زهر آندروکتونوس کراسکودا

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از ELISA، میزان IL-6 در زمان‌های مختلف (صفر، ۴، ۲۴ و ۷۲ ساعت) پس از تزریق سرم فیزیولوژیک به‌روش زیرجلدی تغییری نکرد و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد ($p < 0.05$) (شکل ۴). نتایج نشان داد که در گروه تیمار شده با زهر عقرب، سطح پلاسمایی IL-6 ۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در زمان صفر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). براساس نتایج به‌دست‌آمده از ELISA، سطح پلاسمایی IL-6 در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر

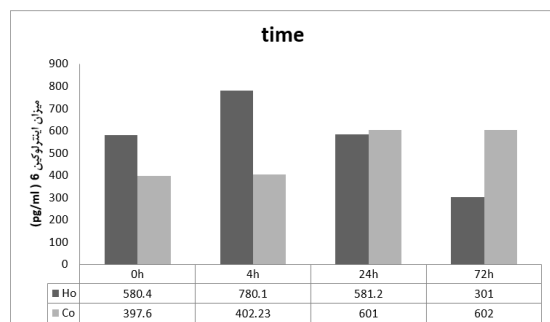
نسبت به مقدار آن در ۴ ساعت پس از تزریق زهر افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که سطح پلاسمایی IL-6 در ۷۲ ساعت پس از تزریق سم نسبت به مقدار آن در ۲۴ ساعت پس از تزریق سم افزایش یافت، اما این افزایش معنی‌دار نبود ($p < 0.05$).



شکل ۴: مقایسه میزان اینترلوکین ۶ در زمان‌های مختلف در گروه‌های مورد مطالعه (An: دریافت‌کننده سم عقرب آندروکتونوس-Co-کنترل)

گروه دریافت‌کننده سم هوتنتوتا سلسی

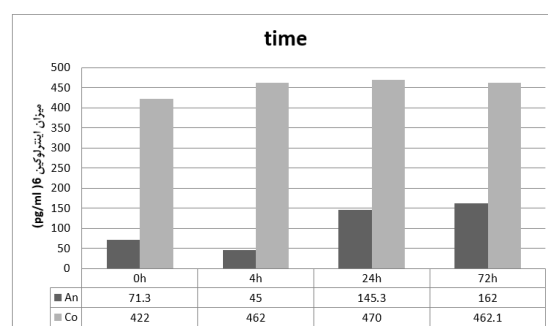
سطح پلاسمایی IL-6 در موش‌های گروه دریافت‌کننده زهر در زمان چهار ساعت پس از تزریق زهر به‌طور چشمگیری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت (شکل ۵) ($p < 0.05$). مقایسه سطح پلاسمایی IL-6 در زمان ۲۴ ساعت بین گروه دریافت‌کننده زهر و کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما این سطح در ۷۲ ساعت در موش‌های کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه دریافت‌کننده زهر بود ($p < 0.05$). سطح پلاسمایی IL-6 در زمان چهار ساعت نسبت به زمان صفر افزایش قابل‌توجهی یافت ($p < 0.05$) اما بین زمان ۴ و ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در ۷۲ ساعت، سطح پلاسمایی IL-6 در مقایسه با ۴ ساعت و ۲۴ ساعت کاهش چشمگیری یافت ($p < 0.05$).



شکل ۵: مقایسه میزان اینترلوکین ۶ در زمان‌های مختلف در گروه‌های مورد مطالعه. (Ho: دریافت‌کننده سم عقرب هوتنتوتا - Co-کنترل)

گروه دریافت‌کننده زهر مزوبوتوس /پئوس

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از ELISA و مطابق جدول ۶ مشاهده شد که سطح پلاسمایی IL-6 در زمان‌های مختلف (صفر، ۴، ۲۴ و ۷۲ ساعت) پس از تزریق سرم فیزیولوژی به‌روش زیرجلدی تغییر معنی‌داری نداشت ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که در گروه تیمار شده با زهر عقرب، سطح پلاسمایی IL-6 در چهار ساعت پس از تزریق سم در مقایسه با مقدار آن در زمان صفر به‌شکل معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). همچنین سطح پلاسمایی IL-6 در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در چهار ساعت پس از تزریق زهر افزایش معنی‌داری نشان داد. ($p < 0.05$). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از ELISA و مطابق شکل ۶ مشاهده شد که سطح پلاسمایی IL-6 در ۷۲ ساعت پس از تزریق زهر نسبت به مقدار آن در ۲۴ ساعت پس از تزریق زهر افزایش معنی‌دار نبود ($p < 0.05$).



شکل ۶: مقایسه میزان اینترلوکین ۶ در گروه‌های مورد مطالعه (Me: دریافت‌کننده سم عقرب مزوبوتوس - Co: کنترل)

بحث

زهر عقرب حاوی ترکیبات مختلف سمی و ایمنی‌زا است که سلول‌های سیستم ایمنی را تحریک کرده و باعث آزاد شدن واسطه‌های التهابی می‌شود. اگر این واسطه‌های التهابی کنترل نشده باقی بماند، ممکن است در بیمار طوفان سیتوکینی و شوک سپتیک رخ دهد. در این پژوهش، تأثیر زهر آندروکتونوس /کراسیکودا، هوتنتوتا سلسی و مزوبوتوس /پئوس بر بیان سایتوکین‌های (IL-6 و IL-10) در رت به‌صورت جداگانه بررسی شد. انتشار سایتوکین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی باعث علائم بالینی مانند دیسترس تنفسی حاد، سندرم التهابی سیستمیک و

اختلال در اندام‌های مختلف می‌شود. این سایتوکین‌ها پاسخ ایمنی را تنظیم و تقویت می‌کنند و باعث آسیب بافتی می‌شوند. یکی از نقش‌های حیاتی IL-10 مهار اثرات IL-6 و سایر عوامل پیش‌التهابی، مانند اینترلوکین‌های ۲ و ۸ و ۱۲ و همچنین TNF- α و IL-1B است (۲۰، ۲۱). بیماری‌های خودالتهابی، IL-1B و TNF- α مهم‌ترین محرک‌های تولید IL-10 هستند (۲۲).

IL-10 آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و اکسیدنیتریک فعال را از ماکروفاژها سرکوب می‌کند و همچنین باعث تولید پروستاگلاندین‌ها می‌شود (۲۲). با توجه به نتایج در هر سه گروه مورد مطالعه که زهر سه گونه عقرب را دریافت کردند، چهار ساعت پس از تزریق زهر، سطح IL-10 افزایش یافت. در مطالعه‌ای که توسط فوکوها را و همکاران انجام شد، گزارش داد که پس از عقرب‌گزیدگی، سطح پلاسمایی IL-10 در عقرب‌گزیدگی شدید و متوسط در بیماران افزایش می‌یابد (۱۵، ۲۵)، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. IL-6 یکی از سایتوکین‌های التهابی ضروری در بدن است که در شرایط مختلف از جمله التهاب، بیماری‌های عفونی از سلول‌های سیستم ایمنی مانند ماکروفاژها ترشح می‌شود و نقش دفاعی مهمی ایفا می‌کند. پاسخ کنترل‌نشده به IL-6 و سایر سایتوکین‌های التهابی مانند IL-1 می‌تواند باعث آسیب پاتولوژیک، اختلالات قلبی و شوک در افراد شود (۲۳). زائرزاده و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که به‌دنبال تزریق زهر عقرب مزوبوتوس /پئوس، سطح سایتوکین‌های پیش‌التهابی IL-1 و TNF- α در مدل‌های خرگوش دریافت‌کننده زهر این گونه عقرب نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۴). مهره‌داران شروع به تولید آنتی‌بادی در پاسخ به آنتی‌ژن‌ها از طریق یک سری فرایندهای درگیر در واکنش‌های سلولی می‌کنند. افزایش IL-10 و کاهش IL-6 نشان می‌دهد که اولاً زهر عقرب مزوبوتوس /پئوس اثرات آشکاری در افزایش IL-10 دارد و ثانیاً IL-10 دارای اثرات بازدارنده است (۲۲). مونیکا و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش دادند پس عقرب‌گزیدگی با عقرب *Tityus serrulatus*، سطح پلاسمایی IL-6 در ۱۲، ۳۶ و ۷۲ ساعت پس از عقرب‌گزیدگی افزایش می‌یابد (از طریق الیگوپپتیدهای موجود در سم). و بالاترین میزان آن در ۷۲ ساعت پس از عقرب‌گزیدگی است که کاملاً با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۶).

نتیجه‌گیری

7. Gross, A. and MacKinnon, R. Agitoxin footprinting the Shaker potassium channel pore," Neuron.1996; 16(2):399-406.

8. MacKinnon, R.; Reinhart, P. H. and White, M. Charybdotoxin block of Shaker K⁺ channels suggests that different types of K⁺ channels share common structural features," Neuron.1988;1(10) : 997-1001.

9. Marty, C.; Misset, B.; Tamion, F.; Fitting, C.; Carlet, J. and Cavaillon, J. M. "Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin," Critical Care Medicine.1994; 22(4): 673-679.

10. Pinsky, M. R.; Vincent, J. L.; Deviere, J.; Alegre, M. ; Kahn, R. J. and Dupont, E. .Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality, Chest.1993; 103(2):565-575.

11. Bone, R. C. "Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS)," Annals of Internal Medicine. 1996; 125(8): 680-687.

12. Howard, M.; Muchamuel, T.; Andrade, S. and Menon, S. Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia,"Journal of Experimental Medicine.1993; 177(4):1205- 1208.

13.Kadkhodaei Eliadrani M, Hanifi H, Amouzgar Z. Isolation and purification of the toxic fractions of the scorpion *Mesobutus opius* venom. Southern Medicine [Internet]. 2015;9(1):9-19.

14. Razi Jalali M., Fatemi Tabatabai R., Shirali T. Comparative study of the effects of *Hemiscorpius lepturus*, *Hottentotta saulsi* and *Mesobutus epeus* on the function of blood coagulation system in rats. First National Congress of Veterinary Laboratory Sciences. 2009

15. Murthy K. On scorpion envenoming syndrome: problems of medical ethics and accountability in medical research in India. Journal of Venomous Animals and Toxins. 2002;8:3-17.

16. Sharifinia, Narges; Gowhari, Iman; Hoseiny-Rad, Manijeh; Aivazi, Ali Ashraf. "Fauna and Geographical Distribution of Scorpions in Ilam Province, South Western Iran". Journal of Arthropod-Borne Diseases. 2017; 11 (2): 242-248.

17. Jalali A, Pipelzadeh MH, Taraz M, Khodadadi A, Makvandi M, Rowan EG. Serum TNF-alpha levels reflect the clinical severity of envenomation following a *Hemiscorpius lepturus* sting. Eur Cytokine Netw. 2011;22 (1):5-10.

براساس نتایج پژوهش حاضر، زهر عقرب احتمالاً سطح IL-10 را در مراحل اولیه گزش افزایش می‌دهد و از طرف دیگر، با توجه به اینکه اینترلوکین ۱۰ اثرات مهاری بر تولید اینترلوکین ۶ (سیتوکین پیش‌التهابی) دارد، می‌تواند این اثرات را توجیه کند. دلیل دیگر تمایل سیستم ایمنی بدن به مقابله با آنتی‌ژن‌های خارجی و جلوگیری از آسیب بیشتر به بدن است (۵).

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی و تولید که تصویب و پشتیبانی مالی این پروژه را عهده‌دار بوده‌اند تشکر می‌شود. در خاتمه از تمام همکاران شعبه اهواز که در انجام این تحقیق همکاری داشته‌اند کمال تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

تضاد منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچگونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع مالی

این تحقیق بخشی از طرح مصوب شماره ۸۳-۲۰۰۷۹۵-۰۴۸-۱۸- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی می‌باشد.

منابع

1. Schwerdt L, Copperi S, Pompozzi G, Ferretti N. Diversity and seasonal composition of the scorpion fauna from a mountainous system on pampean grasslands in central Argentina. Studies on Neotropical Fauna and Environment. 2016; 51(3): 169-175.

2. Cala-Riquelme F, Colombo M. Ecology of the scorpion, *Microtityus jaumei* in Sierra de Canasta, Cuba. Journal of Insect Science. 2011; 11(1): 86.

3. Dehghani R, Fathi B. Scorpion sting in Iran: a review. Toxicon. 2012; 60(5): 33.

4. Ismail, M. The scorpion envenoming syndrome," Toxicon, 1995; 33(7) : 825-858.

5. Mebs, D. Scorpions and snakes, such as cobras, mambas and vipers made the African continent famous for venomous animals," Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique. 2002 ;95(3): 131.

6. Radmanesh M. Androctonus crassicauda sting and its clinical study in Iran. Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1990; 93: 323-326.

22. Sofer S, Gueron M, White RM, Lifshitz M, Apte RN. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon*. 1996;34(3):389-92.
23. Ehsan, Z, et al., Neutralizing effects of polyvalent scorpion venom against the inflammatory response induced by the scorpion venom of *Mesobotus eupeus*. *Razi Archive*, 1393.2: 171-177.
24. Magalhães MM, Pereira ME, Amaral CF, Rezende NA, Campolina D, Bucarechi F, Gazzinelli RT, Cunha-Melo JR. Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*. 1999 ;37(8):1155-1164.
25. Shichor, I.; Zlotkin, E.; Ilan, N., et al., Domain 2 of *Drosophila* para voltage-gated sodium channel confers insect properties to a rat brain channel,” *Journal of Neuroscience*.2002;22(11): 4364–4371.
26. Yatani, A. ; Kirsch, G. E. ; Possani, L. D. and Brown, A. M. Effects of New World scorpion toxins on single-channel and whole cell cardiac sodium currents,” *American Journal of Physiology*.1988 ; 25(3):443–451.
18. Fukuhara YD, Reis ML, Dellalibera-Joviliano R, Cunha FQ, Donadi EA. Increased plasma levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*. 2003;41(1):49-55.
19. Jyonouchi H, Geng L, Davidow AL. Cytokine profiles by peripheral blood monocytes are associated with changes in behavioral symptoms following immune insults in a subset of ASD subjects: an inflammatory subtype? *Journal of Neuroinflammation*. 2014;11(1):1-13.
20. Asadullah, K.; Sterry, W.and Volk, H. D. Interleukin-10 therapy—review of a new approach,” *Pharmacological Reviews*.2003; 55(2):241–269.
21. Goldman, D.; Cho, Y.; Zhao, M. L.; Casadevall, A. and Lee, S. C. Expression of inducible nitric oxide synthase in rat pulmonary *Cryptococcus neoformans* granulomas,” *American Journal of Pathology*.1996; 148(4):1275–1282.