

Determine relation between serum levels of interleukin-6 and CRP with pulmonary involvement in progressive systemic sclerosis

Zamani B¹, Esalatmanesh K², Piroozmand A^{3*}, Moravveji SA⁴, Kolbedary E¹

- 1- Autoimmune Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
- 2- Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
- 3- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
- 4- Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.

Received: 2022/10/18 | Accepted: 2023/04/10

Abstract:

Background: Systemic sclerosis (SSc) is a connective tissue disorder characterized by excessive collagen deposition in skin and internal organs. Interstitial lung disease (ILD) is a late demonstration of SSc and cytokines can contribute to the disease pathology. This study aimed to determine relation between serum levels of interleukin-6 and CRP with pulmonary involvement in SSc.

Materials and Methods: After obtaining consent, demographic data and serum levels of interleukin-6 were determined in 30 SSc with (case) and 30 without pulmonary involvement (control). Duration and activity status of disease, C-reactive protein (CRP), Chest x-ray and high resolution CT-scan (HRCT), ejection fraction (EF) and echocardiography findings and pulmonary artery pressure (PAP) were determined in two groups. Data analyzed with Mann-Whitney test, Chi-square test and Fisher's exact test.

Results: Mean age of case and control group ranged 52.5±9.3 and 43.9±9.7 years respectively ($P=0.001$). The serum levels of IL-6 in case and control groups were 73.1±95.4 and 46.7±83.6 pg/ml ($P=0.267$), respectively. IL-6 levels was significantly higher in male case compared to male control ($P=0.007$). Duration of SSc in case and control groups was 11.6±6.4 and 7.4±4.2 years ($P=0.002$). Also Quantitative CRP and PAP was significantly higher in case ($P=0.01$ and $P<0.001$, respectively). In the Case group 66.7% of them had reticulo-nodular pattern, whereas 28 (93.3%) of control had normal CXR ($P<0.001$).

Conclusion: In SSc with pulmonary involvement serum, IL-6 levels is higher than without involvement but not statistically significant. Also, the CRP and PAP are benefit for evaluation of pulmonary involvement.

Keywords: Systemic sclerosis, interstitial lung disease, Interleukin-6, CRP, PAP

***Corresponding Author:**

Email: apiroozmand@gmail.com

Tel: 0098 315 558 9444

Fax: 0098 315 558 9444

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2023; Vol. 27, No 2, Pages 202-210

Please cite this article as: Zamani B, Esalatmanesh K, Piroozmand A, Moravveji SA, Kolbedary E. Determine relation between serum levels of interleukin-6 and CRP with pulmonary involvement in progressive systemic sclerosis. *Feyz* 2023; 27(2): 202-10.

بررسی ارتباط سطوح سرمی اینترلوکین ۶ و پروتئین واکنشی حاد با درگیری ریه در بیماران با اسکروز سیستمیک پیشرونده

بتول زمانی^۱، کمال اصالت‌منش^۲، احمد پیروزمند^{۳*}، سید علیرضا مروجی^۴، الهام کلبه‌داری^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: اسکروز سیستمیک (SSc) بیماری بافت همبند با تجمع زیاد کلاژن در پوست و اندام‌های داخلی است. بیماری بینایی ریه (ILD) یک تظاهر دیررس می‌باشد و سیتوکین‌ها در ایجاد آن نقش دارند. هدف این مطالعه تعیین ارتباط بین سطح اینترلوکین ۶ و پروتئین واکنشی حاد با درگیری ریوی SSc است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد - شاهدهی روی دو گروه ۳۰ نفره SSc با و بدون درگیری ریه صورت گرفت. پس از کسب رضایت آگاهانه، یافته‌های رادیوگرافی و سی‌تی‌اسکن، اکوکاردیوگرافی، فشار شریان ریوی و سطح سرمی اینترلوکین ۶ و CRP ثبت گردید. سپس با آزمون‌های Mann-Whitney، کای‌دو و آزمون دقیق فیشر تجزیه و تحلیل صورت گرفت.

نتایج: در این مطالعه، میانگین سن گروه مورد و شاهد به ترتیب $۵۲/۵ \pm ۹/۳$ و $۴۳/۹ \pm ۹/۷$ ($P=۰/۰۰۱$)، مدت زمان ابتلا بیماری به ترتیب $۶/۴ \pm ۱۱/۶$ و $۷/۴ \pm ۴/۲$ سال ($P=۰/۰۰۲$) و سطح سرمی اینترلوکین ۶ به ترتیب $۷۳/۱ \pm ۹۵/۴$ و $۸۳/۶ \pm ۴۶/۷$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود ($P=۰/۲۶۷$). سطح سرمی اینترلوکین ۶ در بیماران مذکور در گروه مورد در مقایسه با گروه کنترل ($P=۰/۰۰۷$)، به طور قابل توجهی بالاتر بود. سطح CRP و فشار پولمونر در گروه مورد، بالاتر بود (به ترتیب $P=۰/۰۱$ و $P>۰/۰۰۱$). رادیوگرافی سینه در ۶۶/۷ درصد گروه مورد الگوی رتیکولوندولار و در ۹۳/۳ درصد گروه شاهد، نرمال بود ($P>۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: در بیماران SSc با درگیری ریوی، غلظت سرمی اینترلوکین ۶ بالاتر از افراد بدون درگیری ریوی می‌باشد. همچنین، سطح CRP و فشار شریان پولمونر در بیماران با درگیری ریه، بالاتر از بیماران بدون درگیری ریه است.

واژگان کلیدی: اسکروز سیستمیک، بیماری بینایی ریه، اینترلوکین ۶، فشار شریان پولمونر، CRP

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و هفتم، شماره ۲، خرداد - تیر ۱۴۰۲، صفحات ۲۱۰-۲۰۲

مقدمه

آلوتولیت یک التهاب در بافت ریه است که در مراحل اولیه ILD ایجاد می‌شود و به تدریج به فیروز و بیماری تهدیدری ریه منجر می‌شود. یکی از علل مهم مرگ‌ومیر و موربیدیتی در بیماران با SSc، درگیری ریه می‌باشد [۳]. آلوتولیت در مراحل اولیه و زودرس، قابل درمان و برگشت‌پذیر است ولی زمانی که آلوتولیت منجر به فیروز شد برگشت‌پذیر نمی‌باشد و منجر به عوارض شدید در بیماران SSc می‌شود [۳]. تشخیص این عارضه با تست‌های تشخیصی شامل رادیوگرافی قفسه صدری، اسپیرومتري، سی‌تی‌اسکن با رزولیشن بالا و در نهایت انجام برونکوسکوپی و اسپیراسیون ترشح ریه و فلوسایتومتري سلول‌های مایع ریه انجام می‌شود که این تست‌ها وقت‌گیر و گران‌قیمت می‌باشند. ممکن است در مراحل اولیه رادیوگرافی ساده، نرمال باشد و انجام تست‌های پیشرفته لازم نباشد. اگرچه پاتوژنز بیماری اسکروزدرمی شناخته شده نمی‌باشد، ولی یک سری سلول‌ها و سایتوکین‌ها در پروسه فیروز در این بیماری از جمله تولید سیتوکاین‌ها مثل اینترلوکین ۶ (IL-6) توسط این سلول‌های التهابی، در پاتوژنز بیماری دخالت دارند [۴]. مطالعات قبلی در بیماران SSc، افزایش سطح سرمی IL-6 و ارتباط آن با شدت درگیری پوستی را مشخص کرده‌اند [۵،۶]. IL-6، یک سیتوکین التهابی است که از سلول‌های Th2 آزاد می‌شود و به‌عنوان

اسکروز سیستمیک (SSc) Systemic Sclerosis یک بیماری کلاژن واسکولار سیستمیک با اتیولوژی ناشناخته است که با درگیری عروق و بافت همبند مشخص می‌شود. بیماران مبتلا به SSc در مقایسه با دیگر بیماری‌های کلاژن واسکولار، با درگیری بافت بینابینی ریه (ILD) Interstitial Lung Disease و شیوع بالاتر تغییرات در پارانشیم ریه همراه بوده و حدوداً در ۶۵-۲۵ درصد موارد، همراهی دارند [۱،۲]. ILD در بیماران SSc، با آلوتولیت و فیروز مشخص می‌شود [۳].

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲. گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳. گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* نشانی نویسنده مسؤله:

گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

تلفن: ۰۳۱۵۵۵۸۹۴۴۴ | دوره نویسنده: ۰۳۱۵۵۵۸۹۴۴۴

پست الکترونیک: apiroozmand@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۶ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱/۲۱

تشخیص زودتر و پیگیری درمان و عوارض ریوی این بیماران در آینده، مفید واقع شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد - شاهدهی روی ۳۰ بیمار مبتلا به SSc که براساس معیارهای انجمن روماتولوژی آمریکا (ACR) تشخیص داده شده و با بررسی رادیوگرافی قفسه سینه و سی‌تی‌اسکن با روزولوشن بالا ریه (HRCT) که توسط یک رادیولوژیست واحد درگیری ریوی، از نوع ILD تشخیص داده شده بود (گروه مورد) و ۳۰ بیمار مبتلا SSc بدون درگیری ریوی (گروه شاهد) که در رادیوگرافی قفسه سینه براساس گزارش رادیولوژیست، درگیری ریوی واضح نداشته بودند (گروه مورد)، صورت گرفت. این مطالعه، با کد اخلاق IR.KAUMS.REC.1395.157 ثبت شده است. بیماران پس از اخذ رضایت آگاهانه وارد مطالعه شدند. جهت تعیین فعالیت بیماری اسکروز سیستمیک از معیار EUSTAR score استفاده شد و همچنین اطلاعات دموگرافیک بیماران، شامل سن، جنس و طول مدت بیماری براساس شرح حال اخذ شده، در پرسش‌نامه ثبت گردید. سپس نتایج در دو گروه، توسط آزمون‌های کای‌دو و آزمون دقیق فیشر و با استفاده از SPSS ویرایش ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

اندازه‌گیری سطح سرمی IL-6

از تمام بیماران حدود ۵ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته و سپس خون با سرعت ۱۳۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی در فریزر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان اتمام نمونه‌گیری و اندازه‌گیری سطح سرمی IL-6 به‌روش الایزا، نگهداری شدند. پس از اتمام نمونه‌گیری، نمونه‌های فریز شده به دمای آزمایشگاه رسانده شده و برای تست الایزا مورد استفاده قرار گرفتند. جهت انجام آزمایش‌های الایزا برای IL-6 از کیت Diacolon ساخت کشور فرانسه تهیه شده از شرکت پادگین‌طب با حساسیت کیت ۲pg/ml استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت IL-6 نمونه‌ها به چاهک‌های کیت 50 μl محلول Streptavidin-HRP اضافه گردید. سپس 40 μl از نمونه‌ی خون سانتریفیوژ شده که از قبل تهیه شده بود، به هر چاهک اضافه شد و بعد از آن 10 μl آنتی‌بادی و 50 μl Streptavidin-HRP اضافه گردید. سپس چاهک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه به روش Shaking انکوبه کرده و بعد از ۶۰ دقیقه با استفاده از آب مقطر به اندازه‌ی ۳۰ برابر، رقت ترکیب چاهک‌ها را کاهش داده و سپس مایع درون چاهک‌ها خالی شدند (Washing). بعد از آن 50 μl محلول کروموزن A و سپس 50 μl محلول کروموزن B به هر چاهک اضافه

یک هدف درمانی در بیماران SSc می‌باشد. هیپوکسی ناشی از واسکولوپاتی که در پاتوژنز بیماری اسکلودرمی نقش اساسی دارد، روی نسخه‌برداری از ژن IL-6 در SSc دخالت می‌کند [۴] و همچنین در مطالعات اخیر در *in vitro* نشان داده شده است که در فعال کردن و آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال IL-6 نیز دخالت دارد [۷]. مطالعه Michele ludici و همکاران نشان داد که ILD بین حدود ۹۰ درصد از بیماران SSc به وجود می‌آید و درگیری ILD با کاهش FVC، فیروز ریوی در HRCT، افزایش سطح IL-6، وجود آنتی‌توپوایزومراز I آنتی‌بادی و درگیری منتشر پوستی همراه است [۸]. در مطالعه Jurisic و همکاران که روی ۳۱ بیمار با PSS و ۳۱ فرد سالم انجام شده است، فعالیت بیماری طبق معیار EUSTAR و طول مدت بیماری نیز با سطح IL-6 ارتباط داشته است و بین یافته‌های اکوکاردیوگرافی، میزان اختلال عمل دیاستولیک بطن چپ، بیشترین ارتباط را با سطح IL-6 داشته است [۹]. در یک مطالعه کوهورت توسط Lauretis، سطح IL-6 را روی ۲۱۲ بیمار مبتلا به اسکلودرمی با ILD، مورتالیتی و کاهش عملکرد ریوی ارزیابی کردند و نشان داده شد که سطح سرمی IL-6، پیشگویی‌کننده‌ی کاهش DLCO و کاهش FVC در طی یک سال و مورتالیتی در طی ۳۰ ماه بوده است. سطح IL-6 بالاتر از ۶۷/۷ pg/ml نیز پیشگویی‌کننده‌ی کاهش عملکردی و مرگ در طی یک سال در بیماران با mild ILD بوده است؛ البته نه در بیمارانی که severe ILD داشته‌اند. از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری شده است که سطح IL-6، پیشگویی‌کننده‌ی پیشرفت اولیه بیماری در بیماران با mild ILD باشد [۱۰]. در مطالعه Schmidt روی ۳۲ بیمار با SSc و ILD و ۲۶ فرد سالم، سطح سیتوکاین‌ها در مایع لاواژ برونکو آلوئولار (BAF) و عملکرد ریوی و HRCT مورد بررسی قرار گرفت و افزایش قابل توجهی در سطوح IL-4, IL-7, IL-8, IL-6 مشاهده شد و ارتباط بین سیتوکاین‌های BAF با فیروز ریوی را نشان داد. در این مطالعه در بیماران با آلوئولیت نوتروفیلیک، افزایش در سطح IL-6 در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت [۱۱]. با توجه به شیوع بالای درگیری ریوی در بیماران SSc و موربیدیتی بالای ناشی از این عارضه و نیاز به انجام روش‌های تشخیصی با هزینه بالا و تهاجمی، دسترسی به یک روش تشخیصی با حساسیت و اختصاصی بودن بالا، کم‌هزینه و بدون عارضه، ضروری به نظر می‌رسد. همچنین در این مطالعه به منظور تشخیص سریع‌تر و جلوگیری از عوارض بعدی درگیری ریوی، نقش اینترلوکین ۶ در پاتوژنز درگیری ریوی در بیماران با اسکروز سیستمیک پیشرونده‌ی مراجعه‌کننده به درمانگاه روماتولوژی بیمارستان شهید بهشتی کاشان مورد بررسی قرار گرفت تا در

شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه به دور از نور، انکوبه گردیدند. بعد از آن Solution Stop 50 μ m به درون هر چاهک اضافه شد. سپس بر طبق غلظت استاندارد و مقادیر OD متناظر، غلظت IL-6 به دست آمد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی آماری اطلاعات خام به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. شاخص‌های مرکزی مانند میانگین، فراوانی و انحراف معیار از داده‌ها استخراج گردید. همچنین داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری آزمون آماری کای دو، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه سطح IL-6 در دو گروه بیماران SSc با و بدون درگیری ریوی از آزمون Mann-Whitney استفاده گردید. میزان سطح معناداری نیز $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه روی ۶۰ بیمار با اسکلودرمی سیستمیک با و بدون درگیری ریه صورت گرفت. در گروه مورد ۲۲ نفر (۳۷/۴ درصد) زن و ۸ نفر (۲۶/۶ درصد) مرد و در گروه شاهد ۱۸ نفر (۶۰ درصد) زن و ۱۲ نفر (۴۰ درصد) مرد بودند. میانگین سنی در گروه مورد و شاهد به ترتیب 52.5 ± 9.3 و 43.9 ± 9.7 سال بود که دارای تفاوت معناداری بودند ($P = 0.001$). طول مدت ابتلا به بیماری در گروه مورد و شاهد به ترتیب 6.4 ± 11.6 و 4.2 ± 7.4 سال بود که از لحاظ آماری تفاوت معناداری بین دو گروه وجود داشت ($P = 0.002$). فراوانی بیماران بر حسب فعالیت بیماری اسکلودرمی براساس EUSTAR score. در میان دو گروه تفاوت معناداری از لحاظ آماری داشت ($P < 0.001$). سطح سرمی اینترلوکین ۶ در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 73.1 ± 95.4 و 83.6 ± 46.7 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلافی میان دو گروه از لحاظ آماری وجود نداشت ($P = 0.267$). سطح IL-6 در جنس مذکر در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 103.2 ± 141.7 و 19.3 ± 14.3 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری دیده شد ($P = 0.007$); اما این مقدار در جنس مؤنث در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 102.2 ± 68.2 و 81.2 ± 48.1 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری وجود نداشت ($P = 0.693$). یافته‌های

فوق در جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱ و ۲ آمده است. سطح IL-6 برحسب فعال بودن بیماری در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 51.1 ± 88.1 و 79.9 ± 94.3 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری دیده نشد ($P = 0.414$). سطح IL-6 برحسب طول مدت بیماری در افراد با طول مدت کمتر از ۱۰ سال در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 51.4 ± 92.6 و 103.110 ± 9.0 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری مشاهده نشد ($P = 0.140$). این مقدار در بیماران با طول مدت ابتلا ۱۰ سال در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر 59.8 ± 88.0 و 27.6 ± 22.2 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری وجود نداشت ($P = 0.770$). یافته‌های فوق در نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۲ نشان داده شده است. شایع‌ترین یافته رادیوگرافی قفسه صدري در گروه مورد الگوی رتیکولونودولار در ۶۶/۷ درصد و در گروه شاهد در ۹۳/۳ درصد، نرمال بوده است. در HRCT در گروه مورد بیشترین یافته نمای Honeycomb در ۷۶/۷ درصد و در گروه شاهد تمامی بیماران دارای سی‌تی‌اسکن نرمال بودند. در گروه مورد ۲۶ نفر (۸۶/۷ درصد) و در گروه شاهد ۱ نفر (۳/۳ درصد) در اسپیرومتري الگوی تهدیدی داشتند که از لحاظ آماری اختلاف معناداری دیده شد ($P < 0.001$). میزان EF در گروه مورد، بیشترین فراوانی مربوط به EF برابر ۵۵ درصد و در گروه شاهد بیشترین فراوانی مربوط به EF برابر ۶۰ درصد بود که تفاوت معناداری بین دو گروه دیده شد ($P = 0.001$). در گروه مورد ۱۰ نفر (۳۳/۳ درصد) دارای یافته غیرنرمال اکوکاردیوگرافی بودند، درحالی‌که همه بیماران در گروه شاهد دارای یافته نرمال اکوکاردیوگرافی بودند که بین آن‌ها از لحاظ آماری اختلاف معناداری دیده شد ($P = 0.001$). میزان فشار شریان ریوی (PAP) در گروه مورد، بیشترین فراوانی مربوط به PAP ۴۵ و ۵۰ میلی‌متر در ۶ نفر و در گروه شاهد بیشترین فراوانی (۲۵ نفر) مربوط به PAP نرمال بوده‌اند که تفاوت معناداری بین دو گروه دیده شد. در گروه مورد ۷۳/۳ درصد CRP مثبت و ۲۶/۷ درصد CRP منفی داشتند و در گروه شاهد ۴۳/۳ درصد CRP مثبت و ۵۶/۷ درصد CRP منفی بودند که از نظر آماری تفاوت معناداری بین دو گروه دیده شد ($P = 0.001$).

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی و میانگین ویژگی‌های دموگرافیک در دو گروه مورد مطالعه

متغیر	گروه مورد (n=۳۰)	گروه شاهد (n=۳۰)	P
سن (سال)	۵۲/۵ ± ۹/۳	۴۳/۹ ± ۹/۷	۰/۰۰۱*
جنس	مرد	۸ (۲۶/۶)	۰/۷۳۲
	زن	۲۲ (۷۳/۴)	
طول مدت ابتلا به بیماری (سال)	۱۱/۶ ± ۶/۴	۷/۴ ± ۴/۲	۰/۰۰۲*
فعالیت بیماری اسکرودرمی	فعال	۲۱ (۷۰)	<۰/۰۰۱
	غیرفعال	۹ (۳۰)	
سطح سرمی اینترلوکین ۶ (pg/ml)	۷۳/۱ ± ۹۵/۴	۴۶/۷ ± ۸۳/۶	۰/۲۶۷
سطح CRP	منفی	۸ (۲۶/۷)	۰/۰۱۰
	بالا	۲۲ (۳۷/۳)	
یافته‌های رادیوگرافی	نرمال	۱ (۳/۳)	۰/۰۰۰
	الگوی رتیکولو ندولار	۲۰ (۶۶/۷)	
	الگوی فیبروتیک	۹ (۳۰)	

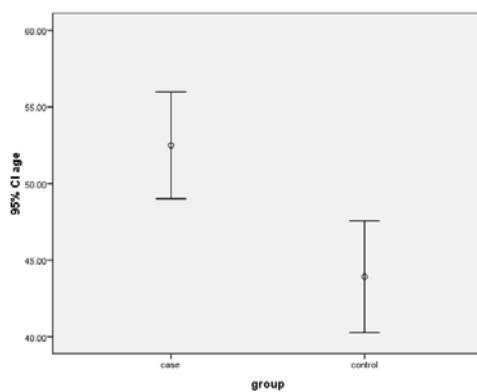
Chi-square test**

Mann Whitney test *

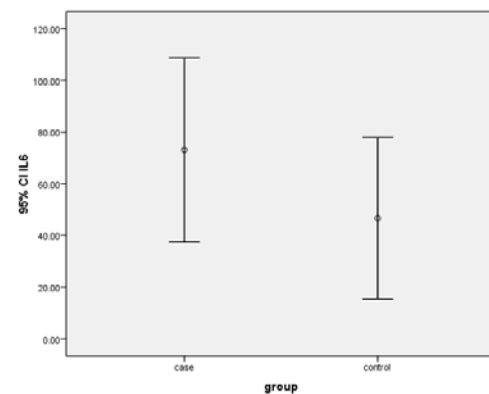
جدول شماره ۲- مقادیر سطح سرمی اینترلوکین ۶ بیماران به تفکیک جنس و فعالیت بیماری و طول مدت بیماری بر حسب گروه

جنس	گروه	تعداد	میانگین و انحراف معیار	P *
مذکر	مورد	۸	۱۴۱/۷ ± ۱۰۳/۲	۰/۰۰۷
	کنترل	۱۲	۱۴/۳ ± ۱۹/۳	
مؤنث	مورد	۲۲	۴۸/۱ ± ۸۱/۲	۰/۶۹۳
	کنترل	۱۸	۶۸/۲ ± ۱۰۲/۲	
فعال	مورد	۲۱	۷۹/۹ ± ۹۴/۳	۰/۴۱۴
	کنترل	۶	۵۱/۱ ± ۸۸/۱	
غیر فعال	مورد	۹	۵۷/۱ ± ۱۰۱/۸	۰/۷۹۳
	کنترل	۲۴	۴۵/۶ ± ۸۴/۴	
< ۱۰ سال	مورد	۹	۱۰۳/۹ ± ۱۱۰/۰	۰/۱۴۰
	کنترل	۲۴	۵۱/۴ ± ۹۲/۶	
≥ ۱۰ سال	مورد	۲۱	۵۹/۸ ± ۸۸/۰	۰/۷۷۰
	کنترل	۶	۲۷/۶ ± ۲۲/۲	

تمامی داده‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین می‌باشد. * Mann Whitney test

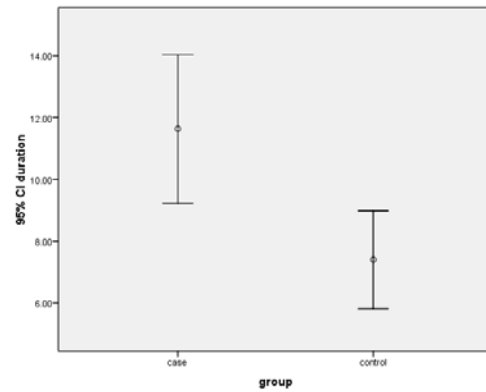


نمودار شماره ۲- حدود اطمینان ۹۵ درصد و میانگین سن دو گروه تحت مطالعه



نمودار شماره ۱- حدود اطمینان ۹۵ درصد و میانگین سطح سرمی اینترلوکین ۶ در دو گروه تحت مطالعه

ILD در مطالعه Ludici و همکاران نشان داده شد که $P=0/693$.) در حدود ۹۰ درصد از بیماران SSc به وجود می‌آید. در این مطالعه، ILD با کاهش FVC، فیروز روی در HRCT، افزایش سطح IL-6، وجود آنتی توپوایزومراز I آنتی بادی و درگیری منتشر پوستی همراه بوده است [۸]. در مطالعه‌ای کوهورت توسط Lauretis و همکاران، سطح IL-6 روی ۲۱۲ بیمار مبتلا به SSc و ILD اندازه‌گیری شدند. مورتالیتی و کاهش عملکرد ریوی نیز همزمان در این بیماران ارزیابی گردیدند. در این مطالعه نشان داده شد که سطحی از IL-6 که پیش‌گویی‌کننده‌ی کاهش DLCO و FVC در طی یک سال و مورتالیتی در طی ۳۰ ماه ($P=0/005$) است، میزان $IL-6 > 7.67 \text{ pg/ml}$ بود و براساس شدت ($FVC < 70\%$) این سطح اینترلوکین ۶، پیش‌گویی‌کننده‌ی کاهش عملکردی و مرگ در طی یک سال در بیماران با mild ILD بوده است تا در بیمارانی که severe ILD داشتند ($P=0/007$). در پایان نتیجه گرفتند که سطح IL-6 پیش‌گویی‌کننده‌ی پیشرفت اولیه بیماری در بیماران با mild ILD می‌باشد و با توجه به این که در مطالعه حاضر اختلاف معناداری در سطح IL-6 بین دو گروه دیده نشد، شاید بتوان این گونه برداشت کرد که بیماران مطالعه حاضر در مرحله پیشرفته درگیری ریه بوده و شدت بیماری در آنها بالا بوده است و در موارد خفیف سطح اینترلوکین ۶، بیشتر کمک‌کننده خواهد بود [۱۰]. در یک بررسی نشان داده شده است که سطح بالای IL-6 در افراد با SSc که در مراحل اولیه بیماری هستند، به‌خصوص در افرادی که با ریسک بیماری ریوی فیروزدهنده پیشرونده ارتباط دارند، سطح IL-6 در ارزیابی پاسخ به درمان به‌خصوص همراه با CRP، یک مارکر مناسب است [۱۷]. در یک مطالعه توسط Shima نیز اثر IL-6 در مراحل زودرس SSc به‌خصوص در درگیری ریه، مجدداً ثابت شده است [۱۲]. سطح IL-6 در سرم افراد SSc بسته به درگیری ارگان خاص و طول مدت بیماری متفاوت می‌باشد. در افراد SSc با فاز اولیه بیماری منتشر و محدود (کمتر از ۳ سال از شروع بیماری) و افراد در فاز دیررس نوع منتشر و محدود (بعد از ۳ سال از شروع بیماری)، سطح IL-6 و رسپتور آن و فرم محلول gp130 در این دو گروه تفاوت وجود دارد و مشخص شده است که در فرم منتشر اسکرودرمی و در فاز زودرس سطح IL-6 بیشتر از دیگر گروه‌ها است. همچنین براساس طول مدت بیماری، سطح IL-6 متفاوت است [۱۸]. در مطالعه Yousif که روی بیماران مبتلا به SSc و گروه کنترل انجام گرفت، مشخص شد که سطح اینترلوکین ۶ در بیماران مبتلا به SSc به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود؛ ولی در این مطالعه سطح سرمی اینترلوکین ۶ در بیماران مبتلا به اسکروز سیستمیک پیشرونده با درگیری ریوی بالاتر از بیماران مبتلا به



نمودار شماره ۳- حدود اطمینان ۹۵ درصد و میانگین مدت بیماری در دو گروه تحت مطالعه

بحث

SSc، یک بیماری سیستمیک است که با فیروز در پوست ارگان‌های داخلی مشخص می‌شود. در این بیماری، IL-6 در پاتوژنز بیماری نقش دارد. IL-6، یک سایتوکین با فعالیت‌های فیزیولوژیک متفاوت است و اولین بار توسط Kishimoto در سال ۱۹۸۳ به‌عنوان فاکتوری محرک B لنفوسیت، شناسایی شده است [۱۲]. این سایتوکین در ماچوریشن B لنفوسیت و تولید پلاکت، نقش دارد همچنین در تولید سلول‌های مزانشیمال کلیه و کراتینوسیت‌های پوست نقش ایفا می‌کند [۱۳]. IL-6، به‌صورت موضعی در محل التهاب تولید می‌شود و در ایجاد تورم، قرمزی و درد در بافت ملتهب تأثیر دارد. رسپتور آن روی هپاتوسیت‌ها وجود دارد و پس از اتصال به رسپتور، باعث تولید CRP، آمیلوئید A و فیبرینوژن از کبد می‌شود [۱۴]. اتصال اینترلوکین ۶ به رسپتور، باعث فسفوریلاسیون gp130 و سپس فسفوریلاسیون STAT3 و ارسال سیگنال به هسته می‌شود [۱۵، ۱۶]. مطالعه حاضر به منظور بررسی ارتباط سطح IL-6 و CRP با درگیری ریوی از نوع ILD در بیماران با اسکروز سیستمیک پیشرونده روی ۳۰ بیمار مبتلا به SSc با درگیری ریوی (گروه مورد) و ۳۰ بیمار مبتلا به SSc بدون درگیری ریوی (گروه شاهد) مراجعه‌کننده به درمانگاه روماتولوژی بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام شد. سطح IL-6 در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر $73/95 \pm 1/4$ و $46/7 \pm 83/6$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلافی میان دو گروه از لحاظ آماری وجود نداشت ($P=0/267$)؛ البته سطح IL-6 در جنس مذکر در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر $141/103 \pm 7/2$ و $14/3 \pm 19/3$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری دیده شد ($P=0/007$). اما این مقدار بر حسب جنس مؤثرت در گروه مورد و شاهد به ترتیب برابر $48/1 \pm 81/2$ و $68/2 \pm 102/2$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که اختلاف معناداری میان دو گروه از لحاظ آماری وجود نداشت

بین سیتوکاین‌های مایع لاواژ ریه و فیبروز ریوی نشان داده شد. در این مطالعه در بیماران با آلئوتولیت نوتروفیلیک افزایش در سطح IL-6 در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت ($P=0/002$) [۱۱]. در مطالعه‌ای که توسط Crestani و همکاران روی ۱۱ بیمار مبتلا به SSC با درگیری ریه انجام شد، سطح IL-6 در سرم و مایع لاواژ ریه، مونوسیت‌های خون و ماکروفاژهای آلئوتول ریه این افراد اندازه‌گیری شدند. در این مطالعه سطح IL-6 در سرم و مایع لاواژ ریه بیماران مبتلا به SSC با درگیری ریه و گروه کنترل شبیه به هم بود اما مونوسیت‌های خون و ماکروفاژهای آلئوتول ریه افراد مبتلا به PSS با درگیری ریه در مقایسه با گروه کنترل، مقدار بیشتری IL-6 ترشح کرده بودند [۲۷] که این مطالعه با مطالعه حاضر مطابقت دارد. مطالعه Jurisic و همکاران روی ۳۱ بیمار با SSC و ۳۱ فرد سالم انجام شد. Ejection fraction (EF) بطن چپ آن‌ها در اکوکاردیوگرافی معمولی، نرمال بوده ولی در اکوکاردیوگرافی early pulsed-wave میزان LV systolic value پایین و diastolic velocity و E/e ratio بالا داشته‌اند. در این مطالعه نشان داده شد که علی‌رغم نرمال بودن LVEF در اکوکاردیوگرافی معمولی، اختلال عملکرد میوکارد مشخص شده، در اکوی pulsed-wave با سطح IL-6 در ارتباط بوده است. همچنین بین فعالیت بیماری با معیار EUSTAR score سنجیده شده با اختلال عملکرد بطن چپ و سطح IL-6، ارتباط پیدا شده است [۹]. در مطالعه حاضر از لحاظ میزان کسر تخلیه‌ای قلب (EF)، گروه مورد دارای EF پایین‌تری نسبت به گروه شاهد بودند که مشابه نتیجه مطالعه Jurisic و همکاران است. در این مطالعه فعالیت بیماری طبق معیار EUSTAR score و طول مدت بیماری نیز بر خلاف مطالعه حاضر با سطح IL-6 ارتباط داشته و بین یافته‌های اکوکاردیوگرافی و میزان LV diastolic dysfunction (LVDD) بیشترین ارتباط با سطح IL-6 بوده است. در مطالعه‌ای در ژاپن جهت بررسی فاکتورهای مؤثر بر پروگنوز و علل مرگ در بیماری SSC، ۴۹۶ بیمار ژاپنی مبتلا به SSC را از ۵ تا ۲۰ سال تحت نظر گرفتند که علل شایع مرگ در این بیماران، نارسایی قلبی، ریوی، کلیوی و فیبروز ریه بوده است که این مساله، اهمیت بررسی درگیری ریه را در اوایل تشخیص بیماری مطرح می‌کند [۲۸]. در مطالعه Abdel-magid و همکاران که روی ۲۰ بیمار با SSC انجام شد، فانکشن قلب و ریه این بیماران توسط HRCT و اکوکاردیوگرافی و تست ۶ دقیقه راه رفتن آن‌ها بررسی شد. این مطالعه نشان داد که سطح IL-6 با طول مدت بیماری و وضعیت تنفسی بیمار و میزان فشار شریان پولمونر و میزان کاهش DLCO ارتباط دارد [۲۹]. همچنین در یک مطالعه توسط Melendzev نشان داده شده است که IL-6 در تبدیل فیبروبلاست

اسکلروز سیستمیک پیشرونده بدون درگیری ریوی بود؛ هرچند تفاوت معناداری نداشت [۱۹] درحالی‌که سطح اینترلوکین در بیماران مذکور و با درگیری ریوی نسبت به بیماران مذکور بدون درگیری ریوی، به‌طور معناداری بالاتر بود. Needleman و Giacomelli، سطح IL-6 را در افراد SSc با افراد نرمال مقایسه کرده و نشان دادند که سطح آن در افراد با SSc، به‌طور قابل توجه و قابل اندازه‌گیری در مقایسه با افراد نرمال، بالاتر بوده است [۲۰، ۲۱]. همچنین در مطالعه Sato، سایتوکین و کموکاین مختلف را در افراد با SSc بررسی کردند که IL-6 با Score پوست و میزان درگیری پوست ارتباط داشت [۵]. Gurram و همکاران نیز نشان دادند که سطح بالاتری از IL-6 از مونوکلترهای خون محیطی افراد SSc در مقایسه با افراد نرمال تولید می‌شود [۲۲]. در مطالعه‌ای توسط Rojas روی ۳۵ بیمار با SSc مشخص شد که سطح IL-6 با شدت علائم بالینی و نمره درگیری پوست ارتباط دارد و یک فاکتور پیشگویی‌کننده قوی می‌باشد [۲۳]. IL-6 در تکامل آسیب عروق و ایجاد فیبروز در SSc نقش دارد. در مراحل اولیه بیماری این سایتوکاین باعث فعال شدن اندتلیال و اپوپتوز و آزاد شدن مولکول‌های آسیب یا DAMP می‌شود که منجر به ایجاد التهاب و اتوایمیونیتی می‌گردد و از طریق تبدیل فیبروبلاست به میوفیبروبلاست در فیبروز نقش دارد [۲۴]. براساس نقش اینترلوکین ۶ در پاتوژنز بیماری، درمان با مهارکننده این سایتوکین به نام Tocilizumab در مطالعات بالینی به‌عنوان درمان برای ILD به‌کار رفته است [۲۵]. در یک مطالعه توسط Abo-alella روی ۲۷ بیمار با SSc سطح سرمی، IL-6 به‌طور معناداری در افراد بیمار، بالاتر از افراد کنترل بود. در ادامه مشخص شده است که نقطه برش آن نیز ۸/۶ نانوگرم در لیتر بوده و حساسیت ۹۲ درصد و اختصاصی بودن ۷۸ درصد داشته است و در افراد با ILD نیز سطح IL-6 به‌طور معنادار بالاتر از افراد بدون ILD بوده است. بین سطح IL-6 با CRP و ESR ارتباط مثبت وجود داشته و سطح IL-6 یک پیش‌گویی‌کننده غیرتهاجمی درگیری ارگان و پیشرفت بیماری SSc بوده است [۲۶]. همچنین در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان CRP در بیماران مبتلا به اسکلروز سیستمیک پیشرونده با درگیری ریوی، به‌طور معناداری بالاتر از بیماران مبتلا به اسکلروز سیستمیک پیشرونده بدون درگیری ریوی بود که مشابه با نتیجه مطالعه Yousif و همکاران می‌باشد [۱۹]. در مطالعه Schmidt و همکاران تغییرات سیتوکاین‌ها در مایع لاواژ ریه روی ۳۲ بیمار با SSc و ILD و ۲۶ فرد سالم انجام شد. همراه با اندازه‌گیری سیتوکاین‌ها، بررسی عملکرد ریوی و HRCT نیز انجام شده است. افزایش قابل توجهی در سطوح IL-8، IL-6، IL-4، IL-7 و ارتباط

نتیجه گیری

سطح سرمی IL-6 در بیماران مبتلا به اسکروز سیستمیک پیشرونده با درگیری ریوی، بالاتر از بیماران مبتلا به اسکروز سیستمیک پیشرونده بدون درگیری ریوی بود. همچنین سطح IL-6 در بیماران مذکور با درگیری ریوی نسبت به بیماران مذکور بدون درگیری ریوی به طور معناداری بالاتر بود.

تشکر و قدردانی

از مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان و مرکز تحقیقات اتوایمیون بیمارستان شهید بهشتی کاشان تشکر و قدردانی می شود.

References:

- [1] Schurawitzki HR, Stiglbauer W, Graninger C, Herold D, Polzleitner OC, Burghuber D, et al. Interstitial lung disease in progressive systemic sclerosis: high-resolution CT versus radiography. *Radiology* 1960; 176: 755-9.
- [2] Bianchi FA, Bistue AR, Wendt VE, Puro HE, Keech MK. Analysis of twenty-seven cases of progressive systemic sclerosis (including two with combined systemic lupus erythematosus) and a review of the literature. *J Chronic Dis* 1996; 19: 953-77.
- [3] Varga J. Systemic sclerosis and related disorder. In: Longo DL, Kasper DL, Jamson JI, Fauci AS, Loscalzo J. Harrison's principle of internal medicine. Mc Graw Hill; 2012. P. 2757-70.
- [4] Barnes TC, Anderson ME, Moots RJ. The many faces of interleukin-6: the role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol* 2011; 2011.
- [5] Sato S, Hasegawa M, Takehara K. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin Thickness score in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 2001; 27: 140-6.
- [6] Scala E, Pallotta S, Frezzolini A, Abeni D, Barbieri C, Sampogna F, et al. Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol* 2004; 138(3): 540-6.
- [7] Barnes TC, Spiller DG, Anderson ME, Edwards SW, Moots RJ. Endothelial activation and apoptosis mediated by neutrophil-dependent interleukin 6 trans-signalling: a novel target for systemic sclerosis?. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(2): 366-72.
- [8] Ludici M, Moroncini G, Cipriani P, Giacomelli R, Gabrielli A, Valentini G. Where are we going in the management of interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis? *Autoimmun Rev* 2015; 14(7): 575-8.
- [9] Jurisic Z, Martinovic-Kaliterna D, Marasovic-Krstulovic D, Perkovic D, Tandara L, Salamunic I, et al. Relationship between interleukin 6 and cardiac

به میوفیبروبلاست در بافت قلب نقش دارد [۱۸]. علت این است که IL-6 در تولید میوفیبروبلاست نقش دارد و میوفیبروبلاست بیشتر در فاز اولیه بیماری دیده می شود. پس IL-6 بیشتر در مراحل زودرس اسکروزدرمی در پاتوژنز بیماری نقش خواهد داشت. Hasegawa نیز یک ارتباط معکوس بین سطح IL-6 و میزان درصد VC در مراحل زودرس SSC منتشر را نشان داد [۳۰]. همچنین Scalo و همکاران نشان دادند که غلظت IL-6 در افراد با SSC منتشر با درگیری ریه، بیشترین میزان را دارد و در ایجاد فیروز در ریه مؤثر است [۶].

- involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2013; 52(7): 1298-302.
- [10] De Lauretis A, Sestini P, Pantelidis P, Hoyles R, Hansell DM, Goh NS, et al. Serum interleukin6 is predictive of early functional decline and mortality in interstitial lung disease associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2013; 40: 435-46.
- [11] Schmidt K, Martinez-Gamboa L, Meier S, Witt CH, Meisel CH, Hanitsch LG, et al. Bronchoalveolar lavage fluid cytokines and chemokines as markers and predictors for the outcome of interstitial lung disease in systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(4): R111.
- [12] Shima Y. The benefits and prospects of interleukin-6 inhibitor on systemic sclerosis. *Modern Rheumatol* 2019; 29(2): 294-301.
- [13] Suematsu S, Matsusaka T, Matsuda T, Ohno S, Miyazaki J, Yamamura K, et al. Generation of plasmacytomas with the chromosomal translocation t(12;15) in interleukin 6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(1): 232-5.
- [14] Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P, Baumann H. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(20): 7251-5.
- [15] Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, et al. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 1989; 58(3): 573-81.
- [16] Minami M, Inoue M, Wei S, Takeda K, Matsumoto M, Kishimoto T, et al. STAT3 activation is a critical step in gp130-mediated terminal differentiation and growth arrest of a myeloid cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(9): 3963-6.
- [17] Denton CP, Ong VH. Interleukin-6 and related proteins as biomarkers in Systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord* 2017; 2(2): 13-19.

- [18] Mel_endez GC, McLarty JL, Levick SP, Du Y, Janicki JS, Brower GL. Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats. *Hypertension* 2010; 56(2): 225–31.
- [19] Yousif M, Habib R, Esaely H, Yasin R, Sonbol A. Interleukin-6 in systemic sclerosis and potential correlation with pulmonary involvement. *Egyptian J Chest Dis Tuberculosis* 2015; 64(1): 237-41.
- [20] Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, interleukin- 2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, and interferon-gamma levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 1992; 35(1): 67–72.
- [21] Giacomelli R, Cipriani P, Danese C, Pizzuto F, Lattanzio R, Parzanese I, et al. Peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic sclerosis produce increased amounts of interleukin 6, but not transforming growth factor beta 1. *J Rheumatol* 1996; 23(2): 291–6.
- [22] Gurram M, Pahwa S, Frieri M. Augmented interleukin-6 secretion in collagen-stimulated peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Ann Allergy* 1994; 73(6): 493.
- [23] Rojas M, Rodríguez Y, Monsalve DM, Pacheco y, Acosta-Ampudia, Rodríguez-Jimenez YM, et al. Cytokine imbalance in patients with systemic sclerosis and resilience: the key role of interleukin-6. *Clin Exp Rheumatol* 2019; 37(119): 15-22.
- [24] Cardoneanu A, Burlui AM, Macovei LA, Bratoiu I, Richter P, Rezus E. Targeting Systemic Sclerosis from Pathogenic Mechanisms to Clinical Manifestations: Why IL-6?. *Biomedicines* 2022; 10: 318.
- [25] Kawaguchi Y, Contribution of interleukin-6 to the pathogenesis of systemic sclerosis. *Scleroderma Relat Disord* 2017; 2(2): 6-12.
- [26] Abo-alella DA, Mostafa DI, Shahaw AA. Association of Serum IL 6 with Different Clinical Presentations of Systemic Sclerosis Patients: A Case-Control Study. *Zagazig Univ Med J* 2021; 27(2).
- [27] Crestani B1, Seta N, De Bandt M, Soler P, Rolland C, Dehoux M, et al. Interleukin 6 secretion by monocytes and alveolar macrophages in systemic sclerosis with lung involvement. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(5): 1260-5
- [28] Nishioka K, Katayama H, Kondo H, Shinkai H, Ueki K, Tamaki K, et al. Epidemiological analysis of prognosis of 496 Japanese patients with progressive systemic sclerosis (SSc): Scleroderma Research Committee Japan. *J Dermatol* 1996; 23: 677–82.
- [29] Abdel-Magied RA, Kamel SR, Said AF, Ali HM, Abdel Gawad EA, Moussa M. Serum interleukin-6 in systemic sclerosis and its correlation with disease parameters and cardiopulmonary involvement. *Sarcoidosis Vasculitis Diffuse Lung Dis* 2016; 33: 321-30.
- [30] Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, Hamaguchi Y, Takehara K, Sato S. Serum chemokine and cytokine levels as indicators of disease activity in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2011; 30(2): 231–7.