

## بررسی سطح سایتوکاین IL-21 در سرم و خلط مصدومین شیمیایی سردشت و ارتباط آن با عوارض درازمدت ریوی (۲۷ سال پس از مواجهه با گاز خردل)

نویسندگان: علی محمد محسنی مجد<sup>۱</sup>، طوبی غضنفری<sup>۲\*</sup>، راضیه دیلمقانیان<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد ایمنولوژی، دانشکده پزشکی شاهد، تهران، ایران.
۲. استاد، دکترای ایمنی شناسی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۳. کارشناس ارشد آمار زیستی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

E-mail: tghazanfari@yahoo.com

\*نویسنده مسئول: طوبی غضنفری

### چکیده

مقدمه و هدف: عوارض ریوی یکی از مهم ترین آثار درازمدت مواجهه با سولفورمستارد (گاز خردل) می باشند که مصدومین شیمیایی سال هاست از آن ها رنج می برند. IL-21 یکی از سایتوکاین های مهم در بیماری های التهابی مزمن ریوی می باشد. در این مطالعه، میزان IL-21 در سرم و خلط مصدومین شیمیایی و ارتباط آن با مشکلات ریوی درازمدت در مواجهه یافتگان با سولفورمستارد بررسی می گردد.

مواد و روش ها: جمعیت مطالعه، مصدومین شیمیایی شهر سردشت می باشند. نمونه مورد مطالعه، تعداد ۳۰ پانجاه نفر مرد و ۱۲۵ نفر زن مواجهه یافته با گاز خردل به عنوان گروه مورد و صد نفر مرد و پنجاه نفر زن مواجهه نیافته به عنوان گروه شاهد از شهر ربط، در محدوده سنی ۲۷ تا ۶۷ سال می باشند. معاینات بالینی توسط متخصصین داخلی و اسپیرومتری توسط پرستار آموزش دیده انجام شد. سنجش سطح سایتوکاین IL-21 به روش الایزا در نمونه های سرم و خلط انجام گرفته است.

نتایج: مقادیر IL-21 در سرم و خلط، در مقایسه بین دو گروه مواجهه یافته و غیرمواجهه، تفاوت های معناداری را نشان ندادند؛ اما میزان سرمی آن با شاخص اسپیرومتری FEV1/FVC در افراد مواجهه یافته ارتباط منفی معنادار نشان داد.

نتیجه گیری: سطح سایتوکاین IL-21 در سرم و خلط، تحت تأثیر مواجهه با گاز خردل تغییر نکرده است؛ ولی در مواجهه یافتگان ارتباط منفی معناداری بین سطح سرمی IL-21 و نسبت FEV1/FVC وجود دارد که در گروه غیرمواجهه دیده نمی شود.

واژگان کلیدی: گاز خردل، عوارض ریوی، IL-21، مصدومین شیمیایی، سردشت.

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و چهارم-شماره ۱۲۹  
تیر ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۶/۰۳/۱۷

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۴

## مقدمه

مستقل از خانواده بزرگ IL-17 می‌باشد و دارای عملکردی التهابی در سیستم ایمنی ریه میزبان می‌باشد، به طوری که از یک سو در برابر تهاجم‌های ریوی، افزایش مقاومت را با فراخوانی سلول‌های فاگوسیت‌کننده، به ویژه نوتروفیل‌ها به دنبال دارد و از سوی دیگر، عاملی است که منجر به افزایش و صعود میزان التهاب در برابر عامل خارجی می‌گردد. عملکرد دوم که یک نوع هم‌افزایی در التهاب است، در بیماری‌هایی که التهاب از عوارض آن‌ها محسوب می‌شود یا از ویژگی بارز آن‌هاست، مشهودتر و همچنین، گاهی آسیب‌رسان‌تر می‌باشد (۶).

از آنجایی که علائم مزمن مواجهه با سولفورموستارد با بیماری‌های مزمن انسدادی ریوی، مانند COPD تشابه دارد (۷، ۸) و باتوجه به وجود شرایط التهابی مزمن در ریه افراد مواجهه‌یافته با سولفورموستارد (۹) و نقش IL-21 در التهاب مزمن ریوی، بررسی سطح این سایتوکاین در سرم و خلط مواجهه‌یافتگان با سولفورموستارد و تعیین ارتباط آن با عوارض درازمدت ریوی ۲۷ سال پس از مواجهه، می‌تواند در شناخت بهتر شرایط ریوی مصدومین شیمیایی با گاز خردل مؤثر باشد.

## مواد و روش‌ها

### بیماریابی و حجم نمونه

این مطالعه بخشی از مرحله دوم کوهورت مصدومین شیمیایی سردشت است (۱۰). در این مطالعه، جمعیت مصدومین شیمیایی شهر سردشت مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد نمونه، ۳۵۰ نفر مرد و ۱۲۵ نفر زن مواجهه‌یافته با گاز خردل به‌عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نفر مرد و ۵۰ نفر زن از شهر ربط به‌عنوان گروه شاهد که از نظر سن، جنس، نژاد و خصوصیات دموگرافیک و منطقه جغرافیایی با گروه مواجهه‌یافته همسان‌سازی شده بودند، در این مطالعه حضور داشتند. معیارهای ورود به مطالعه برای گروه مورد شامل افرادی است که بر اساس پرونده تأیید کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران مواجهه‌یافته تلقی شده‌اند و بعضاً دارای مشکلات ریوی

گاز خردل یا سولفورموستارد (Sulfur Mustard-SM) با نام علمی دی کلرو اتیل سولفید، ماده‌ای محرک و آلکیله‌کننده است که به دلیل ساختار شیمیایی ویژه، در طبقه مواد بسیار واکنش‌زا قرار می‌گیرد و قادر است بعد از مواجهه، تأثیرات مخرب شدیدی را بر پوست، چشم، ریه، سیستم عصبی و سیستم گوارش برجای بگذارد (۱). طبق گزارشات سازمان ملل متحد، حملات عراق علیه ایران در سال‌های جنگ تحمیلی، گسترده‌ترین حملات جنگی ثبت‌شده بعد از کشف این ماده شیمیایی می‌باشد (۲). واکنش‌های این ماده علاوه بر اثرات حاد، منجر به عوارض بلندمدت نیز می‌گردند. عوارض بلندمدت ناشی از گاز خردل شامل عوارض ریوی و چشمی و پوستی می‌باشد و از آنجا که سولفورموستارد در فاز گازی مؤثر است، می‌تواند به مجاری تنفسی تحتانی راه یابد و با تماس ذرات گازی شکل با گیرنده‌های اصلی سرفه، بیمار دچار سرفه‌های مکرر می‌شود که ابتدا بدون خلط بوده؛ ولی به تدریج خلط نیز به آن‌ها اضافه می‌شود (۳). گزارشات نشان می‌دهد که عوارض پاتولوژیک تأخیری در ریه مواجهه‌یافتگان با سولفورموستارد مشابه COPD (Chronic obstructive pulmonary disease) و برونشیت مزمن (Chronic bronchitis) می‌باشد که از نظر ویژگی‌های بالینی با نوع معمول آن‌ها متفاوت است (۵). بیماری COPD یک سندرم مرتبط با پاسخ‌های ایمنولوژیک التهابی غیرنرمال در ریه، در پاسخ به ذرات خارجی و گازهای سمی است (۴).

از سال ۲۰۰۰، یعنی هم‌زمان با کشف IL-21 در بررسی‌های مختلف، مقادیری از این سایتوکاین همراه با سایتوکاین‌های التهابی در التهاب‌های مزمن دیده شده است (۵). IL-21 به‌عنوان سایتوکاینی مؤثر در تنظیم ایمنی ریه، نقش ویژه‌ای در التهاب ایفا می‌نماید. این سایتوکاین به‌طور خاص از سلول‌های TH17 CD4+ ترشح می‌شود و سلول‌های natural killer T نیز قادرند مقادیری از آن را ترشح نمایند. IL-21 به‌عنوان یکی از سایتوکاین‌های کلیدی مترشحه از TH17 CD4+، عضوی

### اطلاعات سلامت ریه و اسپیرومتري

معاینه ریوی داوطلبین توسط متخصصین بالینی انجام شد. این معاینات شامل تشخیص علامت‌های ریوی (سرفه، خلط، خلط همرا با خون، خون‌ریزی‌ها و زخم‌های مجاری فوقانی تنفسی) بیمار می‌باشد. اسپیرومتري برای تمام شرکت‌کننده‌ها طبق پروتوکل انجمن توراکس امریکا، توسط پرستار آموزش‌دیده انجام شد و پس از انجام چند مورد ثبت مقادیر ریوی، بهترین و اصولی‌ترین اندازه با توجه به همکاری بهینه داوطلبین ثبت گردید. سپس، طبقه‌بندی شرایط سلامت ریوی براساس طبقه‌بندی و معیارهای کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران صورت گرفت.

### الایزا

برای سنجش سطح IL-21 در این تحقیق از تکنیک ساندویچ الایزا استفاده شد. به منظور سنجش این سایتوکاين، کیت مخصوص آن از شرکت eBioscience مورد استفاده قرار گرفت. کلیه محلول‌ها قبل از انجام کار به دمای اتاق رسیدند. برای آماده کردن غلظت‌های لازم از آنتی‌بادی اول، آنتی‌بادی دوم، کونژوگه Avidin-HRP و استانداردها طبق راهنمای کیت عمل شد. برای شروع کار، ابتدا صد میکرولیتر از آنتی‌بادی اول با غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر در بافر کیت، در هر چاهک پلیت‌های الایزا ریخته شد و به صورت overnight در دمای اتاق شیک شدند. سپس محلول حاوی آنتی‌بادی اول دور ریخته شد. به منظور دفع و تخلیه کامل مولکول‌های آزاد و یا با اتصال سست از محیط واکنش، شست‌وشوی چاهک‌ها چهار مرتبه توسط بافر شست‌وشو با فرمول 0.05% Tween-20 در PBS توسط دستگاه الایزا و اشتر انجام شد. سپس پلیت کاملاً تخلیه شده و ۲۰۰ میکرولیتر بافر بلاک‌کننده با فرمول 1% BSA در PBS، به هر چاهک در پلیت‌ها اضافه گردید.

از خفیف تا شدید هستند، با رضایت فردی داوطلب ورود به مطالعه شده‌اند، سن افراد بین ۲۷ تا ۶۷ سال بوده و به بیماری زمینه‌ای خاص مبتلا نبوده‌اند. بررسی بالینی به منظور تشخیص عوارض ریوی درازمدت در گروه مورد، توسط پزشکان متخصص داخلی صورت گرفت و گروه شاهد نیز از نظر سلامت و عدم ابتلا به بیماری زمینه‌ای بررسی گردیدند. این پروژه در کمیته اخلاق پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه شاهد با کد کمیته اخلاق IR.Shahed.REC.1395.21 مصوب گردید.

### تهیه نمونه‌های سرم (خون‌گیری)

پس از کسب رضایت آگاهانه، از هر یک از افراد پنج سی‌سی نمونه خون محیطی در شرایط استریل گرفته شد و به لوله فاقد ماده ضدانعقاد منتقل شد. لوله‌های حاوی خون لخته در دور ۱۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آن از خون جدا گردید. سرم نمونه‌های تهیه شده در آزمایشگاه مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد در دمای منفی هفتاد نگهداری شدند.

### تهیه نمونه‌های خلط

پس از دریافت رضایت آگاهانه از افراد شرکت‌کننده، براساس روش جمع‌آوری خلط القایی (Induced sputum)، نمونه‌ها جمع‌آوری شده و طبق مراحل زیر آماده شدند:

۱. جدا کردن بخش موکوسی از بزاق و انتقال به لوله فالکون؛
۲. وزن کردن بخش موکوسی؛
۳. اضافه کردن DTT (0.1%) با حجم برابر؛
۴. هموژن کردن با استفاده از vortex؛
۵. عبور از فیلتر و جمع‌آوری مایع زیر فیلتر در لوله فالکون؛
۶. سانتریفیوژ ترکیب هموژن ۳۱ دقیقه با دور 300g؛
۷. جدا کردن مایع رویی و تقسیم نمونه در حجم‌های نهایی و نگهداری در دمای منفی هفتاد.

استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شده است.

### نتایج

داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد که IL-21 در سرم و خلط گروه مواجهه یافته نسبت به گروه غیرمواجهه تفاوت معناداری ندارد.

با توجه به جدول ۲ سطح سرمی IL-21 در گروه‌های مواجهه یافته و غیرمواجهه بدون مصرف سیگار و با مصرف سیگار ( $p < 0/05$ ) تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد.

بر اساس جدول ۳ سطح خلط IL-21 در گروه‌های مواجهه یافته و غیرمواجهه بدون مصرف سیگار و با مصرف سیگار ( $p < 0/05$ ) تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد.

جدول ۴ نشان می‌دهد، تفاوت معناداری از نظر IL-21 در سرم بین گروه‌های غیرمواجهه و مواجهه یافته وجود ندارد. همچنین، درون هر گروه تفاوتی بین افراد با ریه نرمال و غیرنرمال طبق کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران ( $p < 0/05$ ) وجود ندارد.

همان‌طور که جدول ۵ نشان می‌دهد، ارتباط معناداری بین سطح سرمی IL-21 و پارامترهای اسپیرومتری در گروه غیرمواجهه وجود ندارد؛ اما در گروه مواجهه یافته ارتباط منفی معناداری بین سطح سرمی IL-21 و FEV1/FVC مشاهده می‌گردد.

جدول ۶ نشان می‌دهد، تفاوت معناداری از نظر IL-21 سرمی بین گروه‌های غیرمواجهه و مواجهه یافته وجود ندارد. همچنین، درون هر گروه تفاوتی بین افراد با ریه نرمال و غیرنرمال طبق کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران ( $p < 0/05$ ) وجود ندارد.

با توجه به نتایج موجود در جدول ۷، ارتباط معناداری بین سطح سرمی IL-21 با پارامترهای اسپیرومتری در هر دو گروه مواجهه یافته و غیرمواجهه وجود ندارد.

پلیت‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق شیک شدند. سپس مجدداً توسط دستگاه الیزا و اشتر چهار مرتبه شست‌وشو انجام شد و بعد از طی کردن مراحل آماده‌سازی پلیت، صد میکرولیتر از استانداردها با غلظت‌های ۱۵/۶۲۵، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ در ردیف اول پلیت‌ها ریخته شد. در چاهک‌های دیگر پلیت‌ها صد میکروگرم از نمونه‌های سرم و خلط ریخته شد و پلیت‌ها به مدت دو ساعت شیک شدند. پس از طی این مدت پلیت‌ها به وسیله دستگاه الیزا و اشتر شست‌وشو شدند و مقدار ۱۰۰ میکروگرم آنتی‌بادی دوم با غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شده و پلیت‌ها به مدت یک ساعت شیک شدند.

پس از انجام شست‌وشو، صد میکرولیتر کونزوگه Avidin-HRP به هر چاهک اضافه و پلیت‌ها به مدت سی دقیقه شیک شدند، پس از شست‌وشوی پلیت‌ها، به دور از نور مستقیم، صد میکرولیتر سوبسترای TMB به هر چاهک افزوده شد و پانزده دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده، به هر چاهک افزوده شد. پلیت‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط الیزا ریدر خوانده شدند.

پس از هر بار شست‌وشو، پلیت‌ها چندین مرتبه روی یک پارچه تمیز به صورت برعکس کوبیده شدند تا بافر شست‌وشو داخل چاهک‌ها باقی‌نماند. پس از هر مرحله اضافه‌کردن محلول‌ها، سطح پلیت‌ها توسط برچسب مخصوص پوشیده شد تا از تبخیر محلول و خشک شدن چاهک‌ها جلوگیری شود.

### روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

مقایسه آماری بین گروه‌های مورد مطالعه با توجه به نوع داده‌ها با استفاده از آزمون من‌ویتنی انجام شده است. همبستگی بین فاکتورهای التهابی و پارامترهای عملکرد ریوی با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن انجام گرفت و مقادیر کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شده است. تحلیل آماری داده‌ها با

جدول ۱. نتایج مقایسه سطح سایتوکاین IL-21 در سرم و خلط در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها									سایتوکاین
گروه مواجهه یافته					گروه غیرمواجهه				
p	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد	
۰/۶۸۷	۹۷/۳۵۱	۲۷/۲۷۱	۹/۰۷۵	۴۵۵	۹۹/۵۷۴	۳۰/۵۶۴	۷/۵۶۳	۱۲۳	IL-21 سرم (pg/ml)
۰/۳۶۷	۳۴/۸۶۴	۲۷/۲۱۰	۱۷/۹۷۱	۱۶۱	۳۱/۰۸۱	۲۲/۹۵۶	۱۳/۸۶۵	۲۴	IL-21 خلط (pg/ml)

p = p-value. مقادیر ارائه شده بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر (pg/ml) می‌باشد.

جدول ۲. نتایج مقایسه سطح سرمی IL-21 در گروه‌های مواجهه یافته و غیرمواجهه به تفکیک مصرف سیگار

سرم IL-21 (pg/mg)											تفکیک بر اساس سیگار
گروه‌های مطالعه											
گروه مواجهه یافته					گروه غیرمواجهه						
p <sup>3</sup>	p <sup>2</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد	p <sup>1</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد	
۰/۲۳۹	۰/۹۵۶	۳۹	۱۷/۸۴	۸/۸۲	۳۴۴	۰/۹۴۶	۴۹/۱۶	۲۴/۲۳	۷/۵۶	۹۷	خیر
۰/۵۴۰		۱۵/۸۳	۱۳/۵۹	۱۰/۰۸	۷۵		۴۱/۹۰	۱۹/۴۵	۷/۵۶	۱۷	بله

p<sup>1</sup>: مقایسه بین گروهی در گروه غیرمواجهه، p<sup>2</sup>: مقایسه بین گروهی در گروه مواجهه یافته، p<sup>3</sup>: مقایسه بین گروه‌های غیرمواجهه و مواجهه یافته.

جدول ۳. نتایج مربوط به مقایسه سطح خلط IL-21 در گروه‌های مواجهه یافته و غیرمواجهه به تفکیک مصرف سیگار

خلط IL-21 (pg/mg)											تفکیک بر اساس سیگار	
گروه‌های مطالعه												
گروه مواجهه یافته					گروه غیرمواجهه							
p <sup>3</sup>	p <sup>2</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد	p <sup>1</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانه	تعداد		
۰/۲۳۹	۰/۹۸۱	۱۹/۴۲	۲۰/۳۸	۱۶/۰۷	۱۰۵	۰/۶۲۶	۱۷/۱۸	۱۴/۵۷	۸/۴۰	۱۶	خیر	
۰/۷۲۵		۱۹/۲۹	۲۰/۰۸	۱۷/۹۷	۳۷		۱۳/۵۹	۱۶/۳۹	۱۶/۶۶	۶	بله	

p<sup>1</sup>: مقایسه بین گروهی در گروه غیرمواجهه، p<sup>2</sup>: مقایسه بین گروهی در گروه مواجهه یافته، p<sup>3</sup>: مقایسه بین گروه‌های غیرمواجهه و مواجهه یافته.

جدول ۴. نتایج مربوط به ارتباط سطح سرم IL-21 با شاخص های ریوی

سرم IL-21 (pg/ml)										سنجش های سلامت ریوی		
گروه مواجهه یافته					گروه غیرمواجهه							
p <sup>3</sup>	p <sup>2</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانگین	تعداد	p <sup>1</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانگین	تعداد	طبیعی	ارزیابی ریوی *
۰/۴۸۹		۳۱/۶۶	۱۵/۰۷	۸/۰۷	۲۴۶		۵۱/۷۰	۲۵/۹۲	۷/۵۶	۹۶		
۰/۳۰۴	۰/۰۸۹	۴۲/۷۰	۲۰/۷۴	۱۰/۴۰	۱۵۵	۰/۶۶۳	۱۲/۱۹	۱۱/۶۳	۷/۵۶	۲۲	غیر طبیعی	

p<sup>1</sup>. p= p-value : مقایسه بین گروهی در گروه غیرمواجهه، p<sup>2</sup> : مقایسه بین گروهی در گروه مواجهه یافته، p<sup>3</sup> : مقایسه بین گروه های غیرمواجهه و مواجهه یافته. \* بر اساس شاخص های کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران

جدول ۵. ارتباط بین سطح سرمی IL-21 در گروه های غیرمواجهه و مواجهه یافته با پارامترهای اسپیرومتري

PEF	MMF	(FEV1/FVC)	FEV1	FVC	گروه غیرمواجهه	
-۰/۰۸۳	۰/۰۱۶	-۰/۰۴۲	-۰/۰۰۵	۰/۰۱۹	r	IL-21 سرم
۰/۳۷۲	۰/۸۸۶	۰/۶۵۴	۰/۹۵۲	۰/۸۳۷	p	
۱۱۹	۵۶	۱۱۸	۱۱۹	۱۱۹	تعداد	
PEF	MMF	(FEV1/FVC)	FEV1	FVC	گروه مواجهه یافته	
-۰/۰۴۵	۰/۰۶۸	** -۰/۱۵۲	-۰/۰۳۱	۰/۰۶۳	r	IL-21 سرم
۰/۳۲۱	۰/۴۰۵	۰/۰۰۰	۰/۵۲۴	۰/۱۹۱	p	
۴۲۷	۱ پنجاه	۴۲۷	۴۲۷	۴۲۷	تعداد	

r: (Spearman's correlation coefficient) ، ارتباط و جهت آن ، p= p-value

جدول ۶. نتایج مربوط به ارتباط سطح خلط IL-21 با شاخص های ریوی

خلط IL-21 (pg/ml)										سنجش های سلامت ریوی		
گروه مواجهه یافته					گروه غیرمواجهه							
p <sup>3</sup>	p <sup>2</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانگین	تعداد	p <sup>1</sup>	انحراف معیار	میانگین	میانگین	تعداد	طبیعی	ارزیابی ریوی *
۰/۱۳۸		۱۹/۷۲	۲۱/۷۵	۱۸/۹۲	۶۹		۲۴/۰۳	۱۷/۳۳	۳/۳۶	۱۹		
۰/۳۵۱	۰/۴۹۰	۱۹/۰۸	۱۹/۵۲	۱۶/۰۷	۷۵	۰/۲۴۹	۷/۶۶	۲۳/۴۰	۲۴/۴۶	۴	غیر طبیعی	

p<sup>1</sup>. p= p-value : مقایسه بین گروهی در گروه غیرمواجهه، p<sup>2</sup> : مقایسه بین گروهی در گروه مواجهه یافته، p<sup>3</sup> : مقایسه بین گروه های غیرمواجهه و مواجهه یافته. \* بر اساس شاخص های کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران

جدول ۷. ارتباط بین سطح خلط IL-21 در گروه‌های غیرمواجهه و مواجهه یافته با پارامترهای اسپیرومتري

PEF	MMF	(FEV1/FVC)	FEV1	FVC	گروه غیرمواجهه	
+۰/۰۱۴	+۰/۰۱۴	-۰/۰۷۷	-۰/۰۴۹	-۰/۰۶۷	r	خلط IL-21
+۰/۹۴۹	+۰/۹۵۳	+۰/۷۲۶	+۰/۸۲۶	+۰/۷۶۲	p	
۲۳	۱۴	۲۳	۲۳	۲۳	تعداد	
PEF	MMF	(FEV1/FVC)	FEV1	FVC	گروه مواجهه یافته	
-۰/۰۱۶	-۰/۱۱۶	-۰/۰۹۲	+۰/۰۴۹	+۰/۱۱۶	r	خلط IL-21
+۰/۸۴۳	+۰/۴۳۳	+۰/۲۵۵	+۰/۵۴۹	+۰/۱۶۱	p	
۱۴۹	۴۸	۱۴۹	۱۴۹	۱۴۹	تعداد	

r: (Spearman's correlation coefficient) جهت آن ، ارتباط و p= p-value

### بحث

نتایج نشان می‌دهد که سطح IL-21 در سرم و خلط مصدومین شیمیایی مواجهه شده با گازخردل تفاوت معناداری با افراد غیرمواجهه ندارد. تعدادی از تحقیقات انجام شده بر روی بیماری‌های ریوی مانند COPD افزایش میزان IL-21 را در این بیماران گزارش کرده‌اند (۶). در رابطه با بررسی مقادیر IL-21 در سرم یا خلط با شرایط تحقیق حاضر، مطالعه‌ای برای مقایسه بیشتر و بهینه‌تر یافت نشد. از طرفی A. Di stefano و همکاران با بررسی ایمونوهیستوشیمی بافت و مخاط ریه مبتلایان به COPD تغییر معناداری را در مقدار IL-21 مشاهده نکردند (۱۱).

سطح IL-21 در سرم تفاوت معناداری را در هیچ‌یک از گروه‌ها به تفکیک مصرف سیگار نشان نمی‌دهد. مقدار IL-21 در سرم تفاوت معناداری را بین گروه‌های طبیعی و غیرطبیعی ریه، بر اساس شاخص ریوی طبقه‌بندی کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران نشان نمی‌دهد؛ اما سطح IL-21 در خلط افراد گروه غیرمواجهه در بخش غیرطبیعی، افزایش ۳ تا ۱۰ برابری غیرمعنادار را نشان می‌دهد. این افزایش، هرچند غیرمعنادار؛ اما می‌تواند تأییدکننده عملکرد التهابی IL-21 باشد به طوری که در شرایط ریوی غیرطبیعی التهاب باعث افزایش مشکلات تنفس می‌گردد و یا نشانه‌ای است از وجود درگیری تنفسی. بالابودن IL-21 در خلط

این افراد نشان‌دهنده اثر التهابی این سایتوکاین می‌باشد. در مورد سطح سرمی IL-21 نیز چنین افزایش غیرمعناداری در گروه مواجهه یافته در بخش غیرطبیعی، طبق شاخص طبقه‌بندی بنیاد قابل مشاهده است. همچنین سطح سرمی آن ارتباط منفی معناداری با پارامتر اسپیرومتري FEV1/FVC نشان می‌دهد. در مطالعه Stephanie T Yerkovich و همکاران، افزایش سطح پلاسماي IL-21 در افراد مبتلا به COPD در مقایسه با افراد مبتلا به COPD همراه با عفونت ریوی گزارش شده است (۱۲). با توجه به اثر التهابی این سایتوکاین به ویژه اثر افزایشی بر تجمع نوتروفیلی، افزایش این سایتوکاین در بیماری ریوی مانعی برای تنفس بهینه خواهد بود و ارتباط منفی معنادار نیز با FEV1/FVC، این موضوع را تأیید می‌نماید. نتایج نشان می‌دهد، این سایتوکاین در خلط هیچ‌گونه تفاوت و ارتباط معناداری را با شاخص‌های ریوی و پارامترهای اسپیرومتري نشان نداده است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سطح سرمی و خلط IL-21 در اثر مواجهه با سولفورمستارد تغییرمعناداری نمی‌کند؛ ولی در افراد مواجهه یافته سطح سرمی این سایتوکاین یک ارتباط منفی معنادار با نسبت FEV1/FVC را نشان داد که این ارتباط در افراد

مقایسه آن با سطح این سایتوکاین در سرم و خلط افراد سالم.  
 بررسی بیان ژن STAT3 در سلول‌های TH17 و مقایسه با میزان سطح سایتوکاین‌های آن در سرم و خلط.  
 اندازه‌گیری میزان IL-8 به‌عنوان سایتوکاین جاذب نوتروفیل‌ها در سرم و خلط و مقایسه با سطح سایتوکاین IL-21 در سرم و خلط.

غیرمواجهه مشاهده نمی‌شود. با توجه به داده‌های به‌دست آمده و تحلیل نتایج، می‌توان سایتوکاین IL-21 را هم‌چنان از فاکتورهای مهم در سلامت ریه دانست، این سایتوکاین در تعیین حدت‌و شدت بیماری ریوی نقش مهمی را ایفا می‌نمایند.

#### پیشنهادات

شمارش و بررسی تعداد نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های التهابی در رابطه با IL-17A در خلط و سرم و

#### منابع

- Balali-Mood M, Hefazi M. Comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans. *Basic & clinical Pharmacology & Toxicology*. 2006;99(4):273-82.
- Somani S, Babu S. Toxicodynamics of sulfur mustard. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology*. 1989;27(9):419-35.
- Benschop HP, van der Schans GP, Noort D, Fidder A, Mars-Groenendijk RH, de Jong LP. Verification of exposure to sulfur mustard in two casualties of the Iran-Iraq conflict. *Journal of Analytical Toxicology*. 1997;21(4):249-51.
- Emad A, Rezaian GR. Characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in patients with sulfur mustard gas-induced asthma or chronic bronchitis. *The American Journal of Medicine*. 1999;106(6):625-8.
- Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jäger A, Strom TB, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory TH17 cells. *Nature*. 2007;448(7152):484-7.
- Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Trends in Molecular Medicine*. 2016;22(3):230-41.
- Saber H, Saburi A, Ghanei M. Clinical and paraclinical guidelines for management of sulfur mustard induced bronchiolitis obliterans; from bench to bedside. *Inhalation Toxicology*. 2012;24(13):900-6.
- Razavi SM, Ghanei M, Salamati P, Safiabadi M. Long-term effects of mustard gas on respiratory system of Iranian veterans after Iraq-Iran war: a review. *Chinese Journal of Traumatology*. 2013;16(3):163-8.
- Malaviya R, Sunil VR, Cervelli J, Anderson DR, Holmes WW, Conti ML, et al. Inflammatory effects of inhaled sulfur mustard in rat lung. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010;248(2):89-99.
- Aragizadeh H, Soroush M-R, Javadi M-A, Azizi F, Ghasemi H, Shams J, et al. Sardasht-Iran cohort study of chemical warfare victims: design and methods. *Archives of Iranian Medicine*. 2009;12(1):5-14.
- Di Stefano A, Caramori G, Gnemmi I, Contoli M, Vicari C, Capelli A, et al. T helper type 17-related cytokine expression is increased in the bronchial mucosa of stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *Clinical & Experimental Immunology*. 2009;157(2):316-24.
- Yerkovich ST, Hales BJ, Carroll ML, Burel JG, Towers MA, Smith DJ, et al. Reduced rhinovirus-specific antibodies are associated with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation. *BMC Pulmonary Medicine*. 2012;12(1):1.



Daneshvar  
Medicine

*Scientific-Research  
Journal of Shahed  
University  
24th Year, No.129  
June- July 2017*

Received: 22/04/2017

Last revised: 07/06/2017

Accepted: 14/06/2017

## **Evaluation of serum and sputum level of IL-21 in Sardasht chemical victims and its relationship with long-term pulmonary complications (27 years after sulfur mustard exposure)**

AliMohammad MohseniMajd<sup>1</sup>, Tooba Ghazanfari<sup>2\*</sup>, Raziye Dilmaghani<sup>2</sup>

1. Department of Immunology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

\* Corresponding author e-mail: tghazanfari@yahoo.com

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Pulmonary complications are one of the most important long-term sulfur mustard (SM) exposure that chemical victims are suffering for years. IL-21 is one of the important cytokines contributing in chronic pulmonary inflammatory diseases. In this study, the serum and sputum levels of IL-21 and their correlations with pulmonary complications was evaluated 27 years after sulfur mustard exposure.

**Materials and Methods:** Final sample size was 475 (350 men and 125 women) SM exposed and 150 (100 men and 50 women from Rabat) unexposed controls. The age span of volunteers was 27-67 years.

**Results:** There was no significant different between exposed and control groups in serum and sputum levels of IL-21, but the serum level of IL-21 showed a significant correlation with spirometry parameter (FEV1/FVC) in SM exposed group was observed.

**Conclusion:** The affected serum and sputum levels of IL-21 by sulfur mustard exposure were not variable, but there was a significant negative correlation between serum level of IL-21 and FEV1/FVC in SM exposed group.

**Keywords:** Sulfur mustard, Pulmonary complication, IL-21, Chemical victims, Sardasht