



## Investigation of the relation between the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, IL-6 and hyperalgesia during rheumatoid arthritis in male rats

Jalal Zaringhalam<sup>1</sup>, Homa Manaheji<sup>1\*</sup>, Nader Maghsoodi<sup>1</sup>, Babak Farokhi<sup>2</sup>, Vahideh Mirzaee<sup>1</sup>

1. Dept. of Physiology and Neuroscience Research Center, Shaheed Beheshti Med. Univ., Tehran, Iran.

2. Dept. of Immunology, Shaheed Beheshti Med. Univ., Tehran, Iran

### Abstract

**Introduction:** The activity of Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis is increased following inflammation due to its closed relation with immune system. This axis indicates an increased secretion of ACTH, and corticosterone during acute inflammation while little is known about its activity during chronic inflammation such as rheumatoid arthritis (RA). In this study we measured the products of HPA axis and their relation with IL-6 and hyperalgesia during rheumatoid arthritis.

**Methods:** Fourteen Wistar rats were divided in two groups. RA was induced by subcutaneous injection of complete Freund's adjuvant (CFA) to right hind paw of group 1 and the next group was considered as sham control. The levels of ACTH, corticosterone and IL-6 in blood samples were assessed using specific rat ELISA kits on zero, 6th and 21st days. Hyperalgesia was assessed using radiant heat instrument at the same days.

**Results:** The results indicated a significant increase of IL-6 on days 6th and 21st in comparison with day 0. ACTH and corticosterone levels also significantly increased on the 6th day in the RA group in comparison with the control group, but there was no significant increase on the day 21st. Pain threshold was significantly decreased on the 6th day of intervention comparing to the day 0 in the RA group. On the 21st day of intervention, no significant hyperalgesia in the RA group was observed.

**Conclusion:** The activation of HPA axis which is known to respond to IL-6, decreased during RA. ACTH and corticosterone secretion were not modulated during chronic inflammation in this study. On the other hand, long term RA symptoms such as hyperalgesia can be due to the effect of other modulators and independent on HPA axis and immune system.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, HPA axis, Immune system, Complete Freund's adjuvant, Rat

\* Corresponding Author Email: hmanaheji@yahoo.com  
Available online @: www.phypha.ir/ppj

## ارتباط فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (HPA) با IL-6 طی التهاب مزمن ناشی از آرتریت روماتوئید و تغییر آستانه گیرنده‌های درد طی آن در رتهای نر

جلال زرین‌قلم‌مقدم<sup>۱\*</sup>، هما مناہجی<sup>۱</sup>، نادر مقصودی<sup>۱</sup>، بابک فرخی<sup>۲</sup>، وحیده میرزایی<sup>۱</sup>  
 ۱. گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران.  
 ۲. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران.

دریافت: بهمن ۸۵ بازبینی: تیر ۸۶ پذیرش: مرداد ۸۶

### چکیده

**مقدمه:** محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (HPA) بدلیل ارتباط نزدیک با سیستم ایمنی در شرایط التهابی تغییرات مختلفی از خود نشان میدهد. این محور طی التهاب حاد افزایش تولید هورمونهای Adrenocorticotropin (ACTH) و corticosterone تحت تاثیر IL-6 را نشان میدهد در حالی که این تغییرات طی التهاب مزمن متفاوت بوده و نظرات گوناگونی در مورد آن وجود دارند. این مطالعه با توجه به مزمن و التهابی بودن بیماری آرتریت روماتوئید (RA)، با هدف بررسی تغییرات فعالیت محور HPA، سیتوکاین IL-6 و هیپرالژی و نحوه ارتباط این تغییرات با یکدیگر طی ایجاد التهاب مزمن ناشی از RA انجام گرفت.

**روش‌ها:** در این مطالعه تعداد ۱۴ سر موش صحرایی نر Wistar را در دو گروه ۷ تایی بطور تصادفی قرار گرفتند. در یک گروه با تزریق کف پای Complete Freund's adjuvant (CFA) آرتریت روماتوئید در پای مورد نظر ایجاد شد. گروه دوم بعنوان کنترل در نظر گرفته شدند. جهت بررسی فعالیت محور HPA مقادیر ACTH, corticosterone, سرمی در سه نوبت (روزهای صفر و ۲۱) توسط کیت‌های اختصاصی استاندارد ELISA سنجیده شدند. IL-6 سرمی نیز بعنوان سیتوکاین التهابی در شرایط مزمن توسط کیت اختصاصی ELISA در روزهای فوق اندازه‌گیری شد. جهت بررسی تغییرات رفتاری طی آرتریت روماتوئید با استفاده از دستگاه هیپرالژی حرارتی طی روزهای صفر و ۲۱ سنجیده شد.

**یافته‌ها:** مقادیر IL-6 در روزهای ۲۱ پس از تزریق CFA در گروه RA افزایش معنی داری نسبت به روز صفر همان گروه و روزهای ۲۱ گروه کنترل نشان داد. ACTH, corticosterone نیز در روز ۶ نسبت به روز صفر در گروه RA افزایش معنی داری نشان دادند ولی در روز ۲۱ تفاوت معنی داری با روز صفر همان گروه و روز ۲۱ گروه کنترل نداشتند. هیپرالژی حرارتی در روز ۶ گروه RA بطور معنی داری نسبت به روز صفر همان گروه و روز ۶ گروه کنترل افزایش داشت. روز ۲۱ هیپرالژی تفاوت معنی داری نسبت به روز صفر گروه RA و روز ۲۱ گروه کنترل نداشت.

**نتیجه‌گیری:** در جمع‌بندی کلی چنین میتوان بیان کرد که پاسخ محور HPA به اثر فیدبک مثبت IL-6 طی بیماری آرتریت روماتوئید کاهش نشان میدهد و این محور توانایی تعدیل ترشح ACTH, corticosterone طی این التهاب مزمن را ندارد. از سوی دیگر روند علائم بیماری مانند هیپرالژی بیانگر دخالت یکسری عوامل دیگر غیر از تغییرات فعالیت محور HPA و IL-6 جهت تعدیل این موارد بود که نیاز به بررسیهای بیشتری دارند.

واژه‌های کلیدی: آرتریت روماتوئید، محور HPA، سیستم ایمنی، Complete Freund's adjuvant.

### مقدمه

– آدرنال (HPA) و سیستم ایمنی با عنوان Talking together نام میبرند. این ارتباط از طرق مختلفی صورت می‌گیرد و اغلب دو طرفه است. تحت شرایط متفاوت استرسی بر حسب عامل مولد و مدت زمان آن، پاسخی متناسب حاصل میشود که عمدتاً در راستای تعدیل وضعیت موجود است [12,6].

محققین از ارتباط بین فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز

hmanaheji@yahoo.com  
www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:  
وبگاه مجله:

از علل ابتلا به RA را تغییر پاسخ محور H.P.A به استرس و سیتوکاینها دانست [19]. به نظر میرسد تداوم رهایش سیتوکاینها در آرتریت روماتوئید با فعال کردن سلولهای گلیا و عبور از سد خونی مغزی نیز میتوانند از علل القاء یا پیشرفت علائم بالینی مانند آلودینی و هیپر آلززی طی این بیماری باشند [18]. عوامل سیتوکاینی مطرح در آرتریت روماتوئید عبارتند از:  $IL_1$  و  $IL_6$  و  $TNF\alpha$ .

ما نیز با توجه به ارتباط فعالیت محور HPA و سیستم ایمنی و نقش آنها در تغییر آستانه گیرنده‌های درد طی شرایط مختلف، در این مطالعه از یک سو اقدام به بررسی روند تغییرات هیپرآلززیک و فعالیت محور HPA (هورمونهای ACTH, Corticosterone) و سیتوکاین  $IL-6$  طی التهاب مزمن ناشی از آرتریت روماتوئید در زمانهای مشخص (روزهای صفر و ۶ و ۲۱) بیماری نمودیم و از سوی دیگر ارتباط احتمالی این تغییرات رفتاری، ACTH, corticosterone و  $IL-6$  را با همدیگر طی این زمانها سنجیدیم.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش از موشهای صحرایی نر Wistar با وزن ۱۸۰ - ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات همگی در شرایط یکسان و قفسهای جداگانه با دسترسی راحت به آب و غذای استاندارد و کافی از یک هفته قبل از آزمایش نگهداری می‌شدند. درجه حرارت محل نگهداری حیوانات  $22 \pm 0.5$  درجه سانتیگراد و میزان رطوبت آن در حدود ۶۰ - ۶۲ درصد با روشی ۱۲ ساعته از ۶ صبح تا ۱۸ عصر همراه بود. ۱۴ سر موش در دو گروه ۷ تایی بصورت تصادفی قرار گرفتند و گروه اول بعنوان بیمار (RA) و گروه دوم بعنوان کنترل جهت ارزیابی تغییرات مورد نظر ناشی از التهاب مزمن طی آرتریت روماتوئید در زمانهای مشخص روزهای صفر (بالافاصله قبل از تجویز CFA) و ۶ و ۲۱ در نظر گرفته شدند.

استفاده از تزریق کف پایي adjuvant روشی 30 ساله جهت بررسی تغییرات التهابی ناشی از آرتریت روماتوئید در حیوانات آزمایشگاهی میباشد [3]. طی این مطالعه نیز جهت القاء آرتریت روماتوئید از روش تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی لیتر محلول امولوسیونه روغنی مایکو باکتریوم توپر کلوزیس بصورت تک دوز که با نام تجاری Complete Freund's adjuvant می‌باشد در کف پای راست گروه

بررسیهای محققین اغلب حاکی از افزایش فعالیت محور HPA طی شرایط استرس حاد است. این افزایش فعالیت بصورت افزایش هورمونهای ACTH, corticosterone تحت تاثیر فیدبک مثبت سایتو کاینهای سیستم ایمنی بخصوص  $TNF\alpha$ ,  $IL-1,6$  خواهد بود [4]. افزایش هورمونهای فوق باعث تعدیل شرایط التهابی و کاهش فعالیت سیستم ایمنی با تاثیر فیدبک منفی روی سایتوکاینها خواهد شد. سایتوکاینها با تاثیر مستقیم روی اجزاء مختلف محور HPA بطور مستقیم یا غیر مستقیم باعث افزایش فعالیت آن طی التهاب حاد میشوند. تجویز حاد  $IL-6$  و Recombinant  $IL-1$  باعث افزایش ACTH مترشحه از HPA گردیده است. از این میان نقش  $IL-6$ ، سایتو کاینی که بر خلاف  $TNF\alpha$ ,  $IL-1$  نقش Pro/Anti inflammatory را توأم دارد، کاملاً برجسته است [10]. مطالعات نشان دادند که در التهاب حاد  $IL-6$  با تاثیر فیدبک منفی روی  $TNF\alpha$ ,  $IL-1$  و افزایش فعالیت HPA نقش Anti inflammatory خود را ایفا میکند. تغییرات  $IL-6$  طی التهابات نسبت به  $IL-1$  بیشتر است و تولید آن توسط  $TNF\alpha$  و  $IL-1$  تحریک میشود.  $IL-6$  یکی از محرکهای محور HPA است و حتی به تنهایی میتواند نقش تحریکی روی تولید گلوکوکورتیکوئیدها توسط آدرنال را نیز داشته باشد [13]. Turnbull و همکارش در مطالعه خود در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که بررسی تغییرات  $IL-6$  طی التهاب حاد میتواند روشی مناسب جهت بررسی تغییرات فعالیت محور HPA در این شرایط باشد [17]. این تحقیقات در مورد بیماریهای التهابی مزمن اندک صورت گرفته است و اطلاعات اندکی در مورد روند تغییرات فعالیت محور HPA و ارتباط آن با تغییرات سایتوکاینها و آستانه درد طی بیماریهای التهابی مزمن وجود دارد.

آرتریت روماتوئید از جمله بیماریهای خود ایمنی و التهابی مزمن مفاصل می‌باشد که علی‌رغم اتیولوژی نامشخص، تغییر تعادل مجموعهٔ مدیاتورهای التهابی مانند برادی‌کی‌نین، هیستامین، سیتوکاینها و فعالیت محور HPA را بهمراه دارد. برخی تحقیقات بیانگر تغییر ریتم سیرکادین کورتیزول طی RA میباشد. دانشمندان این تغییرات را زمینه ساز بروز علائم بالینی خاص طی RA مانند: تورم، اریتم، خشکی صبحگاهی مفاصل و هیپر آلززی بافتهای درگیر میدانند [4, 19]. از سوی دیگر پیشنهاد میشود که شاید بتوان یکی

Phoenix (USA) بودند. Cross reactivity همه کیتها با ACTH, corticosterone موش صحرائی 100% بود. کلیه مراحل اندازه گیری بر اساس پروتکل شرکت های سازنده کیتها انجام شدند.

تغییرات هیپرالژزی طی آرتریت روماتوئید در زمانهای مشخص (روزهای صفر، شش، بیست و یک) با استفاده از دستگاه Radiant heat (ساخت شرکت Ugo basil, Italy) نیم ساعت قبل از خونگیری بررسی شد. اشعه حرارتی توسط دستگاه به وسط کف پای حیوان از میان سطح پلکسی گلاس تابیده می شد و زمان پس کشیدن پا (Latency) ثبت می شد. اینکار سه بار با فواصل زمانی حداقل 5-10 دقیقه برای هر پای حیوان صورت گرفت. تفاضل میانگین مجموع زمانهای Withdrawal دو پا، در صورت منفی شدن، بیانگر تغییرات هیپرالژزی حرارتی طی زمان آزمایش در پای راست بود [8].

$$H = \frac{(Rt1+Rt2+Rt3)}{3} - \frac{(Lt1+Lt2+Lt3)}{3}$$

Rt: زمان Latency پای راست، Lt: زمان Latency پای چپ، H: تفاوت زمانی پاسخ بین دو پا)  
نتایج با استفاده از برنامه آماری Statistica 6 بصورت Mean  $\pm$  SEM بیان شدند. با توجه به متغیرهای موجود به منظور تجزیه، تحلیل و مقایسه اطلاعات از روش آنالیز واریانس یکطرفه one-way ANOVA و Post huc tukey استفاده شد. P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در گروه آرتریتی در روز ۶ پس از القاء RA توسط Adjuvant افزایشی در سطح سرمی صبحگاهی هورمونهای ACTH, corticosterone مشاهده شد که در مقایسه با روز صفر همین گروه و روز ۶ گروه کنترل کاملاً معنی دار بود (P<0.001). در روز ۲۱ پس از ایجاد RA سطح سرمی صبحگاهی هورمونهای مذکور تا حدود پایه (روز صفر) کاهش پیدا کرده و در مقایسه با روز صفر همین گروه و روز 21 گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۱ و ۲).

آرتریت روماتوئیدی استفاده شد (تولید شرکت Sigma با غلظت ۱۰ میلی‌گرم/میلی لیتر) [15]. در گروه کنترل نیز آب مقطر بمقدار ۰/۱ میلی لیتر در کف پای راست موشها بصورت زیر جلدی تجویز شد. طی این مطالعه اطمینان از مزمن شدن بیماری و ایجاد آرتریت بدنال تزریق CFA در کف پای راست با بررسی تغییرات بالینی صورت گرفت که مشتمل بر ایجاد یکسری علائم مانند اریتم، تورم بافت اطراف مفصلی و کف پای حیوان و جابجایی مفاصل درگیر طی هفته اول پس از تزریق CFA بود که در روزهای بعد نیز این تغییرات در پای تزریق شده تداوم دارند. تغییرات ایجاد شده بدنال تزریق CFA از اواخر هفته اول مزمن شده و از روز ۱۴ فاز آرتریتی آغاز میشود و در روز ۲۱ به اوج میرسد. [3,12,15]. کلیه مراحل نگهداری و کار با حیوانات بر اساس قوانین استاندارد موجود و اتیک Zimmermann 1983 صورت گرفت.

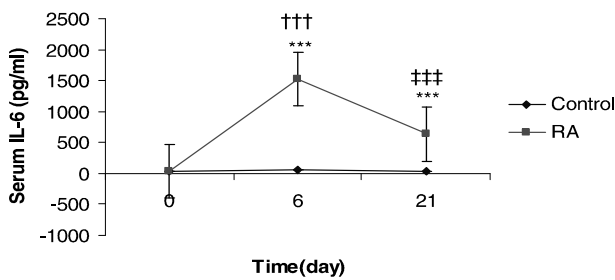
بررسیهای هورمونی در سه زمان متفاوت (روزهای صفر، ۶، ۲۱) صورت گرفت لذا خونگیری نیز در این سه زمان مشخص انجام شد. هر بار حداقل ۱/۵-۲ سی سی خون جهت تهیه سرم برای تستها، جمع آوری شد. خونگیری از حفره رترواوربیتال چشمی تحت شرایط یکسان بیهوشی ملایم (جهت حذف استرس) در ساعت ۸-۸/۵ صبح روزهای صفر و ۶ و ۲۱ برای هر دو گروه در نظر گرفته شد. بلافاصله از نمونه های خونی در دمای ۴ درجه سانتیگراد از طریق ساتنریفوژ سرم تهیه شده و در فریزر ۲۰- جهت بررسیهای بیشتر نگهداری شدند [14].

برای بررسی تغییرات فعالیت محور HPA و سیستم ایمنی بدنال تزریق CFA و القاء آرتریت روماتوئید به ترتیب از اندازه گیری corticosterone, ACTH و IL-6 در روزهای صفر و ۶ و ۲۱ استفاده شد [17]. جهت سنجش مقادیر خونی corticosterone, ACTH, IL-6 از روش استاندارد Sandwich ELISA و کیتهای استاندارد اختصاصی موجود برای Rat استفاده شد.

کیت تشخیصی IL-6 ساخت شرکت (Austria) Bender Med systems بوده و حداقل مقدار IL-6 قابل تشخیص توسط این کیت 31.2 Pg/ml بود. کلیه مراحل اندازه گیری بر اساس پروتکل کیت مربوطه انجام شد.

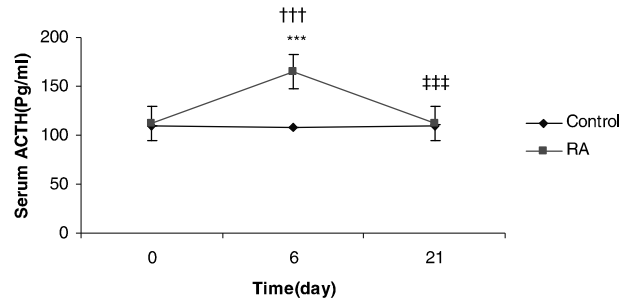
کیتهای استاندارد و اختصاصی ELISA مورد استفاده برای تشخیص مقادیر سرمی ACTH, corticosterone، به ترتیب ساخت شرکت های (Science made simple, UK) و IDS

Variation of IL-6 level



شکل ۳- مقایسه تغییرات IL-6 سرمی در دو گروه (RA, Control) بدنبال تزریق CFA در کف پای راست در روزهای صفر و ۶ و ۲۱.  $P < 0.001$  \*\*\*. مقایسه گروه RA و کنترل در روزهای ۶ و ۲۱:  $P < 0.001$  †††. مقایسه روز صفر در گروه RA:  $P < 0.001$  †††.

Variation of ACTH level



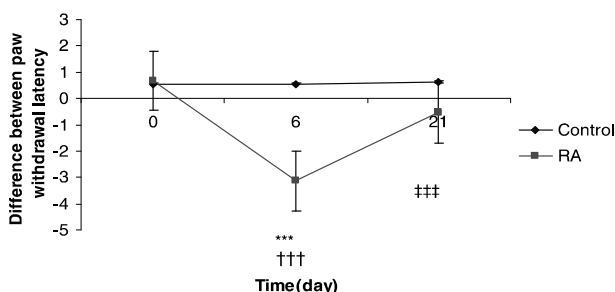
شکل ۱- مقایسه تغییرات ACTH سرمی در دو گروه (RA, Control) بدنبال تزریق CFA در کف پای راست در روزهای صفر و ۶ و ۲۱.  $P < 0.001$  \*\*\*. مقایسه گروه RA و کنترل در روز ۶ و ۲۱:  $P < 0.001$  †††. مقایسه روز صفر در گروه RA:  $P < 0.001$  †††.

### بحث

آرتریت روماتوئید یکی از بیماریهای التهابی مزمن با اتیولوژی نامعلوم و مولتی فاکتوریال است. تحقیقات بهم خوردن احتمالی تعادل بین محور HPA و سیستم ایمنی را از علل اصلی شروع و ادامه بیماری ذکر میکنند. نتایج حاصل از این مطالعه نیز اشاره به افزایش مقادیر corticosterone، ACTH، سرمی طی هفته اول بعد از القاء RA توسط CFA داشت در حالی که با ادامه بیماری با وجود بالا بودن IL-6، مقادیر corticosterone و ACTH به حدود پایه اولیه برگشته اند. این نتایج با مشاهدات Walker و همکارانش در سال 1999 در مورد پایین بودن مقدار کورتیزول افراد مبتلا به RA همسو بود [19]. تحقیقات این گروه نشان دهنده بهم خوردن ریتم سیرکادین ترشح کورتیزول در بیماران مبتلا به RA بود و بیان میکرد که ترشح کورتیزول

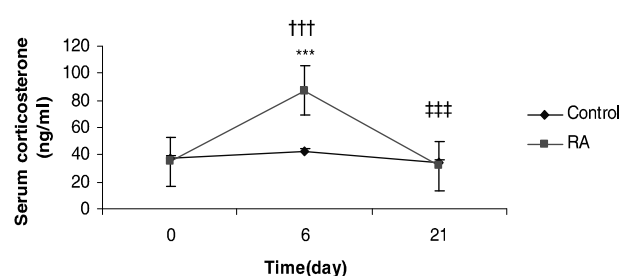
نتایج بیانگر افزایش معنی دار IL-6 در روز ۶ و ۲۱ پس از RA نسبت به روز صفر همان گروه بود ( $P < 0.001$ ). در روز ۲۱ بعد از القاء آرتریت روماتوئید IL-6 کاهش معنی داری نسبت به روز ۶ نشان میداد ولی مقدار آن باز بطور معنی داری نسبت به روز صفر گروه RA و روز ۲۱ گروه کنترل بالا بود ( $P < 0.001$ ) (شکل ۳). تحریکات حرارتی ناشی از تابش اشعه مادون قرمز دستگاه Radiant heat به کف پای حیوان نشان دادند که در گروه RA در روز ۶ بعد از القاء بیماری تغییرات هیپرالژزیک معنی داری نسبت به روز صفر همان گروه و روز ۶ گروه کنترل در پای راست ایجاد شده است ( $P < 0.001$ ). نتایج تست هیپرالژزی گروه RA در روز ۲۱ بعد از تزریق CFA نسبت به روز ۶ همان گروه کاهش معنی داری نشان می داد ( $P < 0.001$ ) ولی نسبت به روز ۲۱ گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت. (شکل ۴).

Hyperalgesia variation



شکل ۴- مقایسه تغییرات هیپرالژزی در دو گروه (RA, Control) بدنبال تزریق CFA در کف پای راست در روزهای صفر و ۶ و ۲۱.  $P < 0.001$  \*\*\*. مقایسه گروه RA و کنترل در روز ۶ و ۲۱:  $P < 0.001$  †††. مقایسه روز صفر در گروه RA:  $P < 0.001$  †††.

Variation of corticosterone level



شکل ۲- مقایسه تغییرات Corticosterone در دو گروه (RA, Control) بدنبال تزریق CFA در کف پای راست در روزهای صفر و ۶ و ۲۱.  $P < 0.001$  \*\*\*. مقایسه گروه RA و کنترل در روز ۶ و ۲۱:  $P < 0.001$  †††. مقایسه روز صفر در گروه RA:  $P < 0.001$  †††.

در این افراد پایتتر از حد نرمال پایه است. Walker همچنین اظهار داشت که در مبتلایان به RA تغییرات کورتیزول در پاسخ به استرس جراحی با وجود بالا رفتن IL-6 کم می باشد. تحقیقات دانشمندان بیانگر وجود ارتباط تنگاتنگ و نزدیک بین فعالیت محور HPA و سیستم ایمنی در شرایط مختلف جهت حفظ هومئوستاز بدن می باشد. ارتباط این دو سیستم در شرایط نرمال و التهاب حاد بقدری نزدیک است که Pärth در سال ۱۹۹۷ بیان کرد که بررسی مقادیر IL-6 می تواند بعنوان روشی جایگزین جهت بررسی میزان تغییرات فعالیت محور HPA در التهاب حاد باشد [11]. این نظریه در راستای اثر فیدبک مثبت IL-6 بر روی فعالیت محور HPA و نقش فیدبک منفی هورمونهای HPA (ACTH, corticosterone) روی فعالیت سیستم ایمنی در شرایط نرمال و التهابی حاد می باشد [13].

علاوه Pärth و همکارانش اظهار داشتند که IL-6 در شرایط التهاب حاد از طریق محور HPA باعث افزایش کورتیزول می گردد ولی در صورت مزمن شدن التهاب این سایتوکاین از طریق گیرنده های خود در سطح آدرنال نیز باعث افزایش گلوکوکورتیکوئیدها خواهد شد. بررسی گروهی از محققین نیز با نشان دادن افزایش سریعتر کورتیزول نسبت به ACTH طی التهاب تایید کننده تئوری Pärth بود [16]. نتایج مطالعه ما نیز بیانگر افزایش معنی دار هورمونهای ACTH, corticosterone و سیتوکاین IL-6 در هفته اول بعد از تزریق CFA بود، که با نظریه محققین فوق در یک راستا است. در این مطالعه بدنبال ادامه و مزمن شدن التهاب علی رغم بالا بودن IL-6 سطح سرمی ACTH و corticosterone در روز ۲۱ کاهش یافت. Cutolo و همکارانش در سال 2003 جهت توجیه بهم خوردن ریتم سیرکادین corticosterone و پایین بودن آن طی RA تئوری ناتوانی آدرنال در پاسخ به ACTH و IL-6 افزایش یافته را مطرح کردند. چرا که بر طبق تحقیقات دانشمندان افزایش مزمن IL-6 به تنهایی توانایی استروئیدوزنز از طریق تاثیر مستقیم روی لایه های قشری آدرنال را دارد [1,4].

از سوی دیگر این ریتم تغییرات می توانند بدلیل کاهش حساسیت محور HPA طی RA در پاسخ به تاثیر مثبت افزایش IL-6 باشد. مطالعه ما نشان داد که مقدار IL-6 در هفته سوم بیماری نسبت به روز صفر در گروه RA بالا است ولی بطور معنی داری نسبت به روز ۶ پس از RA که باعث افزایش

ACTH, corticosterone شده بود، پایتتر است. بنابراین به نظر میرسد مقدار IL-6 در هفته دوم RA برای تحریک فعالیت محور HPA جهت افزایش ACTH و corticosterone کافی نمی باشد، که می تواند دال بر بالا رفتن آستانه پاسخ محور HPA نسبت به تحریک مثبت IL-6 باشد. Dunn نیز در سال 2000 بیان داشت که کاهش حساسیت محور HPA در پاسخ به تحریک توسط سیستم ایمنی می تواند از علل بروز برخی علائم RA باشد [5]. بدنبال این وضعیت احتمال بروز بیماریهای اوتوایمون مانند RA بدلیل کاهش گلوکوکورتیکوئیدها و افزایش فعالیت سیستم ایمنی بالاتر می رود [11]. در ضمن Dunn اظهار داشت که این ارتباط دو طرفه محور HPA و سیستم ایمنی در شرایط التهاب مزمن بسته به عوامل و مدت زمان تداوم آنها و سایر موارد دخیل در پروسه التهاب بصورت متفاوتی تظاهر پیدا میکند.

در مطالعه ما طی التهاب مزمن ناشی از RA، ACTH و corticosterone در روز ۶ افزایش یافته و در روز ۲۱ کاهش نشان میدادند. تغییرات هر دو هورمون با هم در یک جهت بود. ولی تحقیقات Raber و همکارانش بیانگر نامتعادل بودن ACTH و بالا رفتن کورتیزول طی التهاب مزمن بود [13]. بررسیهای گروه دیگری از محققین نیز نشان داد که تجویز طولانی مدت IL-6 باعث کاهش ACTH و افزایش کورتیزول در دراز مدت میشود [16]. با توجه به تاثیر فیدبک منفی محور HPA روی فعالیت سیستم ایمنی انتظار می رود که بالا بودن ACTH, corticosterone طی بیماری RA باعث کاهش علائم بیماری و IL-6 گردد. تحقیقات دانشمندان نه تنها بیانگر نقش بالای کورتیزول در برقراری هومئوستاز مجدد طی شرایط مختلف از جمله التهاب مزمن می باشد بلکه بسیاری از علائم بیماری RA از جمله از دست دادن بافت استخوانی را با بالا بودن مقادیر IL-6 مرتبط میداند. پس در صورت بالا بودن مقدار ACTH, corticosterone، ما انتظار کاهش این سایتوکاین را داشتیم [19].

نتایج این مطالعه نشان دادند که در روز ۶ بعد از القاء RA، IL-6 افزایش معنی داری نسبت به روز صفر داشت. در روز ۲۱ نیز مقدار IL-6 علی رغم بالاتر بودن نسبت به روز صفر کاهش معنی داری نسبت به روز ۶ نشان می داد. بر طبق نظر محققینی چون Philippe و همکارانش IL-6 از چند

استرسهایی چون التهاب تا حد ایمونوساپرسیو بالا میرود [5,17]. ولی بهم خوردن ریتم سیرکادین ترشح کورتیزول و نارسایی فعالیت محور HPA طی RA میتواند توجیه کننده علت ناکامی این محور در کاهش هیپرالژزی باشد [19].

در این مطالعه روز ۲۱ پس از تزریق Adjuvant در گروه RA هایپرآلژزی نسبت به روز ۶ همان گروه بطور معنی داری کاهش داشت و تفاوت معنی داری با روز ۲۱ گروه کنترل نشان نداد. با توجه به نقش سایتوکاینها در القاء درد که در بالا بحث شد به نظر میرسد کاهش IL-6 و سایر سایتوکاینها در روز ۲۱ نسبت به روز ۶ در گروه RA میتواند یکی از علل کاهش معنی دار هیپرالژزی در این روز نسبت به روز ۶ باشد. البته با مزم شدن RA مکانیسمهای دیگری در بدن بسیج میشوند که احتمالاً نقش پایدارتری را نسبت به تغییرات IL-6, corticosterone, ACTH و سایر مدیاتورهای التهابی در تعدیل علائمی مانند هیپرالژزی ایفاء میکنند. تحقیقات گروهی از دانشمندان Urban نیز بیانگر تغییر فیزیولوژی و فارماکولوژی و ابرانهای مهاری درد طی التهاب مزمن پایدار است [9]. گروهی دیگر از محققین نیز اشاره به وابستگی زمانی تغییرات حس درد طی التهاب مزمن را دارند. آنها بیان میکنند که بلافاصله بعد از آسیب التهابی، ابتدا مسیرهای آوران حس درد تسهیل میشوند سپس مسیرهای مهاری درد مانند هسته‌های سوپرا اسپینال افزایش و تغییر فعالیت نشان میدهند که این تغییرات در راستای کاهش درد خواهند بود [9].

پس چنین میتوان بیان کرد که پاسخ محور HPA به اثر فیدبک مثبت IL-6 طی بیماری آرتریت روماتوئید کاهش نشان میدهد و این محور توانایی تعدیل ترشح ACTH, corticosterone طی این التهاب مزمن را ندارد. از سوی دیگر روند علائم بیماری مانند هیپرالژزی بیانگر دخالت یکسری عوامل دیگر غیر از تغییرات فعالیت محور HPA و IL-6 جهت تعدیل این موارد بود که نیاز به بررسیهای بیشتری دارند.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری خانم دکتر معتمدی رییس مرکز تحقیقات علوم و اعصاب دانشگاه شهید بهشتی و سایر اعضاء آن مرکز و نیز استاد محترم خانم دکتر نریمان مصفا قدردانی میشود.

ساعت اول القاء RA افزایش نشان میدهد و در ادامه نیز حدود اواخر هفته اول کاهش معنی داری نسبت به روزهای اول دارد. به نظر میرسد تغییرات IL-6 طی این سه زمان تا حدی با تغییرات ACTH و corticosterone در ارتباط باشد. کاهش IL-6 از حدود بعد از روز ۶ تقریباً متناسب با زمان حداکثر بودن corticosterone است که در ادامه نیز با کاهش corticosterone و ACTH بر اساس نظریه L. Philippe تا روز ۲۱ به آرامی سیر صعودی دارد [12].

مورد دیگری که طی این مطالعه بررسی شد تغییر آستانه گیرنده‌های درد و ارتباط آن با تغییرات فعالیت محور HPA و سایتو کاین IL-6 بدنبال القاء RA ناشی از CFA بود.

نتایج بدست آمده از مطالعه ما هیپرالژزی معنی داری را در روز عپس از تزریق Adjuvant نسبت به روز صفر در گروه RA و روز ۶ گروه کنترل نشان داد. تحقیقات Cahill و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بیانگر افزایش معنی دار هیپرالژزی حرارتی در پایی است که CFA تزریق شده بود [2]. به نظر میرسد این شرایط با افزایش سریع سایتو کاینها از جمله IL-6,1 و TNF $\alpha$  در روزهای اول بعد از تزریق Adjuvant مرتبط باشد [13]. Eskandari در سال ۲۰۰۳ در مطالعه خود اشاره به نقش سیگنالهای سایتوکاینی در CNS جهت بروز تغییر رفتار طی التهاب دارد و بیان میکند که افزایش سایتوکاینها میتواند باعث تسهیل درد گردد [7]. IL-6 یکی از عوامل مهم تحریک گیرنده‌های درد و کاهش حساسیت آنها است و بررسیها حاکی از حضور مستقیم رسپتورهای سایتوکاینی روی آورانهای حسی درد میباشد. IL-6 از طریق تاثیر بر زیر واحد  $\beta$  رسپتورهای خود بر روی گیرنده‌های درد میزان آزادی برخی از نروترانسمیترهای درد از جمله CGRP و SubP را از این گیرنده‌ها افزایش میدهد [9]. نقش افزایش سایتوکاینها و مدیاتورهای التهابی در ایجاد هایپرآلژزی طی هفته اول پس از RA بقدری بالاست که افزایش اولیه corticosterone طی این دوره جهت کاهش علائم التهاب کافی نمیشود. افزایش کورتیزول خون طی التهاب حاد از عوامل اصلی تعدیل مدیاتورهای التهابی و سایتوکاینها جهت کاهش علائم میباشد [14]. دانشمندان افزایش گلوکوکورتیکوئیدی چون کورتیزول را بدنبال التهاب یکی از علل اصلی برقراری هموستاز مجدد و کاهش علائم التهاب ذکر میکنند. آنها معتقدند که مقادیر گلوکوکورتیکوئیدها بدنبال

- disease. *Ann Int Med* 128 (2) (1998) 127-137.
- [11] Páth G, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Interleukine-6 and the interleukine-6 receptor in the human adrenal gland: Expression and effects on steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (7) (1997) 2343-2349.
- [12] Philippe L, Geogut P, Relation between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *AJP* 273 (4) (1997) 1550-1556.
- [13] Raber J, Ross D, Floyd E, Modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal function by transgenic expression of interleukin-6 in the CNS of mice. *J Neurosci* (1997) 17-24.
- [14] Ruzek MC, Miller AH, Opal SM, Pearce BD, Biron CA, Characterization of early cytokine responses and an IL-6 dependent pathway of endogenous glucocorticoid induction during murine cytomegalovirus infection. *J Exp Med* 185 (1997) 1185-1192.
- [15] Taniguchi N, Kanai SH, Kawamoto M, Study on application of static magnetic field for adjuvant. *Evid Based Complement Alternat Med* 1 (2004) 187-191.
- [16] Torpy DJ, Papanicolaou DA, Lotsikas AJ, Wilder RL, Chrousos GP, Pillemer SR, Responses of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukine-6. *Arthritis and Rheumatism* 43 (2000), 872-880.
- [17] Turnbull, AV, Rivier CL, Regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis by cytokines: Action and mechanism of action. *Physiol Rev* 79 (1999) 1-71.
- [18] Vallieres L, Rivest S, IL-6 is a needed pro inflammatory cytokine in the prolonged neural activity and transcriptional activation of corticotrophin releasing factor during endotoxemia. *Endocrinology* 140 (9) (1999)3890-3903.
- [19] Walker JG, Littlejohn GO, McMurry NE, Stress system response and rheumatoid arthritis: a multilevel approach. *Rheumatology* 38 (1999) 1050-1057.
- [1] Bornstain SR, Chrousos GP, ACTH and non ACTH mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs. *Clin Endocrinol Metab* 84 (5) (1997) 1729-1736.
- [2] Cahill C, Morinville A, Up regulation and trafficking of delta opioid receptor in a model of chronic inflammation: implication for pain control. *Pain* 101 (2003) 199-208.
- [3] Cicala C, Ianaro A, Fiorucci S, Calignano A, Bucci M, Gerli R, Santucci L, Wallace JL, Cirino G, No-naproxen modulates inflammation, nociception and down regulates T-cell response in rat freund adjuvant arthritis. *Brit J Pharmacol* 130 (2000) 1399-1405.
- [4] Cutolo M, Serio B, Cravitto C, Circadian rhythm in RA. *Ann Rheum Dis* 62 (2003) 593-596.
- [5] Dunn AJ, Interaction between the nervous system and the immune system. Implications for *Psychopharmacology*. *Psychopharmacology, The forth generation of progress* (2000).
- [6] Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES, The sympathetic nerve: An integrative interface between two supersystems: The brain and immune system. *Pharmacol Rev* 52 (4) (2000) 595-638.
- [7] Eskandari F, Sternberg M, Neural immune pathways and their connection to inflammatory diseases. *Arthritis* 5 (6) (2003) 251-265.
- [8] Fraser GL, Gaudreau GA, Clarke PB, Menard DP, Perkins MN, Antihyperalgesic effects of delta opioid in a rat model of chronic inflammation. *Brit J Pharmacol* 129 (2000) 1668-1672.
- [9] Hammond DL, Persistent inflammatory nociception and hyperalgesia. In: Brune K, Handwerker OH, editor. *Hyperalgesia: molecular mechanism and clinical implication*. First ed. IASP Press, 2004, p. 291-310.
- [10] Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP, Pathophysiologic roles of interleukine-6 in human