بسم الله الرحمن الرحيم

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى- كلية الطب

ارتباط مستوى السايتوكينات المصلية انترلوكين-10 وانترلوكين-6 وانترفيرون جاما مع شدة مرض كوفيد-19 المستجد

رسالة مقدمة الى مجلس كليه الطب - جامعة ديالى

كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الاحياء المجهرية الطبية

من قبل

انعام علي عبد عباس

بكالوريوس علوم حياة (2005) كلية العلوم- جامعة ديالى

بإشراف

أ.د. اسماعيل ابراهيم لطيف

علم المناعة

شعبان 1442 ميلادي 2021

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific research

University of Diyala – College of Medicine

Association of serum levels for IL-6, IL-10 and IFN-ɣ with COVID-19 disease severity

A thesis

Submitted to the Council of the College of Medicine- University of Diyala in Partial Fulfillment for the Requirements of the Degree of Master of Science in Medical Microbiology

Presented by

Inaam Ali Abid Abas

B.Sc. Biology (2005) -College of Science -University of Diyala

Supervised by

Supervisor: Prof. Dr. Ismail Ibrahim Latif
Immunology

2021 A.D. **1442 A.H.**

Chapter One

Introduction

Chapter one

Introduction

1.1 Background:

The outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 has caused more than 124,037,128 cases of Corona virus disease in the world so far (Worldometer, 3/22/2021). This new virus is highly contagious and has quickly spread globally. Coronavirus disease 2019 has clinical manifestations ranging from mild respiratory tract symptoms to the more severe manifestations of acute respiratory distress syndrome and associated high mortality (Simonovich *et al.*, 2020).

Uncontrolled SARS-CoV-2 infection can trigger a cytokine storm, whereby pro-inflammatory cytokines and chemokinese overproduced by the immune system, may cause multi-organ damage (Tay *et al.*, 2020). IL-6 is one of the most prominent pro-inflammatory cytokines. Increased levels are recorded in COVID-19 patients, especially those with severe-to-critical disease. Evidence is accumulating on the relevance of IL-6 as a prognostic marker in COVID-19 (Potere *et al.*, 2021).

IL-10 is an anti-inflammatory cytokine that was found elevated in severe COVID-19 patients (Qin *et al.*, 2020). At the initiation of viral infection, IL-10 acts as a countermeasure to the pro-inflammatory modulators in a negative feedback mechanism. However, with progression of the disease endogenous level of IL-10 increases bringing into action its pro-inflammatory aspect and making contribution to the raging cytokine storm (Lu *et al.*, 2020).

Interferons (IFNs) are well-known cytokines for their antiviral effects they play a critical role in viral multiplication drop off (Lee and Ashkar, 2018). The IFN-γ levels are negatively related to the increase in the amount of COVID-19 fibrosis at discharge. These results indicate the early interference of IFN-γ antiviral infection and inhibition of fibrosis for improved recovery (Hu *et al.*, 2020).

Lymphocytes are known to decrease in particularly severe cases of COVID-19 (Yuan *et al.*, 2020). Biomarkers of inflammation, cardiac and muscle injury, liver and kidney function and coagulation measures were significantly elevated in patients with both severe and fatal COVID-19, (Henry *et al.*, 2020). COVID-19 causes coagulation abnormalities in a substantial proportion of patients, which can lead to thromboembolic events (Bikdeli *et al.*, 2020). Moreover, Men are well known to be infected more frequently than women, and the elderly and patients with comorbidities (such as cardiovascular disease, hypertension, diabetes, and obesity) are more likely to develop more severe disease (Guan, *et al.*, 2020).

1.2 Aims of the study:

1. To estimate the severity of disease among selected COVID-19 units in Diyala province, according to laboratory results.
2. To estimate serum levels of IL-10, IL-6 and IFN-ɣ among patient groups .
3. To assess of lymphocyte count in COVID-19 patients.
4. To study of inflammatory biomarker which include ferritin, lactate dehydrogenase, and D-dimer in COVID-19 patients.
5. To assess of renal function markers which include blood urea nitrogen and serum creatinine in COVID-19 patients.

الـــخـــلاصـــة:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم دور إنـــترلوكين -10 ، إنـــترلوكين -6 ، إنترفيرون جاما ، وعدد اللمفاويات ، و عامل التخثر و بروتينات الـــطور الحاد والـوظائف الكلوية في مرضى فيروس كورونـــا المستجد.

تم جمع البيانات خلال هذه الدراسة والتي امتدت من الاول من شهر ايلول 2020 ولغايـــة الاول من شهر كانون الاول 2020. تم جمع 176 عينة مصل بشري ، وتـم تقسـيمها إلى أربـع مجمـــوعـــات لمرضى كوفيد المستجد كانت المـجموعة الاولى متوسطة الشدة ، والمجموعة الثانية شديدة ، والمجموعـة الثالثة حرجة اما المجموعة الرابعة فكانت لأشخاص اصحاء تم تسميتهم بالمجموعة الضابطة ،و كانت كل مجموعة تتكون من 44 فردًا.

كانت الخصائص العامة لـــــ (132) مريضا هي ان كل مجموعات مرضى كوفيد المستجد في الدراسة الحالية كانوا موجبين للتصوير المقطعي المحوسب وبنسبة (100%)، وموجبين الفحص للبروتين الارتكاسي سي وكانت نسبة المرضى في الدراسة المؤكدين الاصابة لفـــحص تفاعل البوليمرات المتسلسل اللحظي (78.7%) اما نسبة النتائج السالبة لنفس الفحص فكانت (21.2%). تراوحت اعمار المرضى في الدراسة الحالية من ستة عشر سنة الى ثمان وثمانين عاما. فاق عدد الذكور عدد الاناث في الدراسة الحـالية فكانت نسبة عدد الذكور المصابين هي (65.1%) اما الاناث فكانت (34.8%). كـــان داء الســكري هـو المرض المزمن الاكثر شيوعا بين مرضى كوفيد المستجد مـــقارنة بمرض ارتفـاع ضغط الـــدم المزمن و امراض القلب والاوعية الدموية فكانت النسب (46.2%) و (43.9%) و (10.6%) على التوالي. تـــم تقسيم جميع المرضى في الدراسة الحالية اعتمادا على شدة المرض الى ثلاث مجموعات الاولى متوسط الشدة (33.3%) وشديـد (33.3%) وحرج (33.3%).

إنتـــرلوكين -10: زاد بـشكل ملحوظ بين مرضى كوفـيد المستجد عند مقارنته بالمجموعة الضابطة ($p = 0.000$) ، و مرضى كوفيد المستجد المصابون بأمراض القلب والأوعية الدموية ($p = 0.018$) ، والمجموعة الحرجة لمرضى كوفيد المستجد مقارنة بالمجموعة المعتدلة ($p = 0.041$).

الإنـــترلوكين-6: زاد بـشكل مـــلحوظ بين مرضى كـوفيد المـستجد مـقارنة بالمجموعة الضابطة (p = 0.016) ، و مرضى كوفــيد المستجد المصابون بالسكري (p = 0.033)، ومرضى كـــوفــيد المصابون بأرتفاع ضغط الدم (القيمة p = 0.036) ، وتزيد بشكل ملحوظ بين المجموعة الحرجة مقارنة بالمعتدلة (p = 0.003) ؛ والمجموعة الشديدة (p = 0.013).

انـترفــيرون جـــامـــا: زاد بشكل ملحوظ بين مرضى كوفيد المستجد مقارنة بالمجموعة الضابطة (p = 0.003) ، و مرضى كوفيد المستجد غير المصابين بالسكري (القيمة p = 0.040) ، وزاد بشكل ملحوظ في مرضى كوفيد المستجد غير المصابين بأرتفاع ضغط الدم (p = 0.025).

عدد الخلايا الليمفاوية: بشكل عام ، يعاني جميع مرضى كوفيد المستجد من قلة عدد الخلايا اللمفية مقارنة بالمجموعة الضابطة (القيمة p = 0.000) ، ومرضى كوفيد المستجد غير المصابين بـالسكري بالمقارنة مع مرضى كوفيد المستجد المصابين بالسكري (القيمة الاحتمالية = 0.006).

انزيم نازع لهيدروجين اللاكتات (LDH): اظهر زيادة كبيرة في ما يلي: مرضى كوفيد المستجد RT-PCR-ve (p = 0.000) ، و مرضى كوفيد المستجد (p = 0.000) ، و مرضى كوفيد المستجد غير المصابين بأرتـــفاع ضغط الدم (p = 0.001) ، و مرضى كوفيد المستجد غير المصابين بأمراض القلـــب والأوعية الدموية (p = 0.022) ، و مجموعة مرضى كوفيد المستجد المجموعة الشديدة مقارنة بالمجموعة المتوسطة (p = 0.031) ، وزادت بشكل ملحوظ بين المجموعة الحرجة مقارنة بالمجموعة المتوسـطة (p = 0.004).

الـــفـرتـــيـــن : زاد بشـــكل ملحوظ في ما يلي: مرضـــى كوفيد المســـتجد RT-PCR-ve (p = 0.000) ،و مرضى كوفيد المستجد (p = 0.000) ، ومرضى كوفـــتيد المستجد غير المصابين بالسكري (p = 0.004) ، و مرضى كوفيد المستجد غير المصابين بأرتفاع ضغط الدم (p = 0.000) ، و مرضى كوفـــيد المستجد غـــير المصابين بأمراض القلب والأوعية الدموية (p = 0.000) ، وزيادة ملحوظة في المجموعة الحرجة مقارنة بالمجموعات الشديدة والمتوسطة (القيمة الاحتمالية = 0.002) ، و(p 0،009) على التوالي.

عـــامـــل التـــخـــثر (D-dimer) : زاد بشـــكل ملـــحوظ بين ما يـــلي: مرضـــى كوفيد المستجد RT-PCR-ve (القيمة p = 0.000) ، و مرضى كوفيد المستجد (p = 0.000) ، و مرضـى كوفـيد المستجد المصابين بالسكري (p = 0.050) ، وزيادة معنوية في المجموعة الحرجة مقارنة بالمجموعات الحادة والمتوسطة (p = 0.000) ، (p = 0.000) على التوالي.

الـــيوريـــا: زادت بشـــكل مـــلـــحوظ فـــي مرضـــى كـــوفيد المستجد RT-PCR + ve (p = 0.001) ، و مرضى كوفيد المستجد (p = 0.001) ، و مرضى كوفيد المستجد المصابون بارتفاع ضغط الدم (القيمة p = 0.041) ، و المجموعة الـــحرجـــة مقارنة بالـــمجموعات الشـــديدة والـــمتوسطة (p = 0.000) ، (p = 0.000) على التوالي.

الـــكريـــاتـــينين: زاد بـــشكـــل مـــلـــحوظ في مرضـــى كوفـــيد المســـتجد RT-PCR + ve (p = 0.005) ، و مرضـــى كـــوفـــيد المـــستجد المصابين بارتفاع ضغط الدم (القيمة p = 0.020) ، والمجموعة الحـــرجة مقـــارنة بالمجموعات الشـــديدة والمـــتوسطة (p = 0.031) ، (p = 0.034) عـــلى الـــتوالـــي.

الاســـتـــنـتـاجـــات: كانت مســـتويات السايتوكينات الإنتـــرلوكين -10 و الإنترلوكين-6 و انـــترفـــيرون جـــامـــا مرتفعة في مرضى كوفيد المستجد عامة. مستوى الإنتـــرلوكين -10 و الإنـــترلوكيـــن-6 فـــي المجموعتين الشديدة والحرجة لمرضى كوفيد المستجد مرتفع. انخفض مستوى انترفيرون جاما في مرضى كوفيد المستجد المصابين بارتفاع ضغط الدم والسكري. معدل الإصابة بـفيروس كـــوفيد المســـتجد أعلى في الذكور منه في الإنـــاث. في مرضى كـــوفيد المستجد، انخفاض عدد الخلايا اللمفية كان صفة مميزة. زيادة انـــزيم نازع لـــهيدروجين اللاكتات (LDH) وعـــامل التخثر(D-dimer) و الـــفرتين كان مصاحبا لشدة المرض. ارتبطت زيادة اليوريا والكرياتينين في الدم بشدة المرض ضمن المجموعة الحرجة.