

# DISTRIBUCIÓN DE LA INTERLEUCINA 6 Y EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA EN LAS NEUMOPATÍAS INTERSTICIALES

J.L. López-Campos Bodineau, E. Rodríguez Becerra, F. de Pesqueras\*, E. Laserna Martínez, C. Rodríguez Matute, J. Castillo Gómez

Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. \*Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

## RESUMEN

**OBJETIVOS:** estudiar si los niveles séricos de interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) son distintos entre diferentes enfermedades intersticiales.

**MÉTODO:** estudio observacional, analítico y prospectivo en el que se evaluaron un grupo de pacientes consecutivos, afectados de diversas enfermedades intersticiales, entre 1998 y 2000. Al incluirlos en el estudio se realizó una valoración clínica y una determinación de IL-6 y TNF $\alpha$  en sangre mediante radioinmunoensayo, comparando sus niveles séricos entre entidades clínicas.

**RESULTADOS:** se incluyeron en el estudio un total de 93 pacientes, 60 (64,5%) hombres y 33 (35,5%) mujeres, con una edad media de  $59 \pm 16$  años. Los valores medios encontrados fueron  $25,37 \pm 32,17$  pgr para el TNF $\alpha$  y de  $36,37 \pm 127,18$  pgr para la IL-6. La concentración de TNF $\alpha$  entre enfermedades fue significativamente distinta ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, no lo fue para la IL-6 ( $p = 0,857$ ).

**CONCLUSIONES:** los valores de citoquinas en el suero de los pacientes con neumopatías intersticiales difusas (NID) son de importancia al tener una distribución distinta según la enfermedad. Hacen falta estudios que perfilen su utilidad en el diagnóstico y pronóstico de estas enfermedades.

**Palabras clave:**

- Neumopatía intersticial.
- Interleucina-6.
- Factor de necrosis tumoral y citoquina.

## DISTRIBUTION OF INTERLEUKIN-6 AND TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA IN PULMONARY INTERSTITIAL PNEUMONIAS.

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** the aim of this study is to establish whether the interleukin-6 (IL-6) and the tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) serum levels are different among diverse interstitial lung diseases (ILD).

**METHOD:** a prospective, observational, analytical study was performed in which a group of consecutive patients affected with a variety of interstitial diseases was evaluated between 1998 and 2000. Participants in the study were clinically evaluated at the beginning of the study, and IL-6 and TNF- $\alpha$  were established in blood samples using radioimmunoassay in order to compare the serum levels among the different clinical entities.

**RESULTS:** 93 patients were included in the study, 60 (64.5%) men and 33 (35.5%) women, with an average age of  $59 \pm 16$  years. Mean values were  $25.37 \pm 32.17$  pgr for TNF- $\alpha$  and  $36.37 \pm 127.18$  pgr for IL-6. TNF- $\alpha$  levels were significantly different among diseases ( $p < 0.001$ ), whereas IL-6 levels weren't so ( $p = 0.857$ ).

**CONCLUSIONS:** the values of the cytokines in the serum of patients with ILD are important since they have a different distribution among the different diseases. More studies are needed in order to establish its role in the diagnosis and prognosis of these diseases.

**Key words:**

- Interstitial lung disease.
- Cytokine, tumor necrosis factor.
- Interleukin-6.

Recibido: 22 de febrero de 2003. Aceptado: 14 de julio de 2003.

**Correspondencia:**

Dr. José Luis López-Campos Bodineau  
Avda. Reina Mercedes, 35, 6.º D  
41012 Sevilla  
Correo electrónico: lcampos@separ.es

## INTRODUCCIÓN

Las citoquinas constituyen una de las mayores familias de moléculas que intervienen en la patogenia de las enfermedades pulmonares. Su estudio ha ido tomando relevancia en los últimos años, dejando patente su influencia tanto en la inmunidad del pulmón sano<sup>1</sup>, como en diversas enfermedades, entre ellas el asma bronquial<sup>2, 3</sup>. En el campo de las neumopatías intersticiales difusas (NID) su estudio ha sido algo más errático, pero igualmente prometedor. Su papel se ha estudiado en diversas afecciones intersticiales, como la fibrosis pulmonar idiopática (FPI<sup>4</sup>), la sarcoidosis<sup>5</sup> y las enfermedades inflamatorias sistémicas<sup>6</sup>, entre otras, con resultados diversos. De ellas, es probablemente la fibrosis pulmonar una de las más estudiadas en este sentido, ya que su patogenia parece estar guiada por una inflamación crónica persistente, mantenida por un delicado balance entre distintas citoquinas<sup>7</sup>. Entre estas citoquinas figuran como principales la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ )<sup>8, 9, 10, 11</sup>. De ellas, IL-6 y TNF $\alpha$  parecen tener un papel de especial relevancia, ya que IL-6 es capaz de generar una respuesta fibrogenética, tanto de forma aislada como en conjunción con TNF $\alpha$ <sup>11, 12, 13</sup>. Al igual que ocurre en otras enfermedades como el asma bronquial, pudiera ser que la distribución de estas citoquinas fuera distinta para algunas NID, por lo que su determinación podría adquirir un valor diagnóstico. Hemos diseñado este trabajo con el objetivo de comprobar si la distribución estas dos citoquinas, IL-6 y TNF $\alpha$ , es diferente entre distintos cuadros con afectación pulmonar intersticial.

## MÉTODOS

Estudio observacional, analítico y prospectivo en el que se reclutaron durante tres años, entre 1998 y 2000, un grupo de pacientes consecutivos afectados de diversas enfermedades intersticiales. Al incluirlos en el estudio se realizó una valoración clínica, radiológica y funcional de cada paciente. Se consideró que un paciente tenía mala situación clínica cuando presentaba disnea severa (grados 3-4 de la MRC) o bien cuando tenían una función pulmonar deteriorada (FVC < 1.500 cc, PaO<sub>2</sub> < 60 mmHg o KCO < 80%). Igualmente, se les realizó una determinación de IL-6 y TNF $\alpha$  en sangre mediante radioinmunoensayo. Los valores de referencia utilizados fueron: TNF $\alpha$ : 1,3 – 11,8 pgr; IL-6: 6 – 31 pgr. Tras obtener los valores de cada paciente, se procedió a comparar los niveles de estas citoquinas entre las distintas enfermedades.

Una vez reclutados los casos, dividimos la serie en los siguientes grupos diagnósticos: alveolitis alérgica extrínseca (AAE), neumoconiosis (NC), neumonías

intersticiales idiopáticas, bronquiolitis obliterante con neumonía organizada (BONO), NID no especificadas, sarcoidosis, NID relacionada con enfermedades sistémicas y miscelánea. La clasificación que se empleó para diagnosticar y catalogar las neumonías intersticiales idiopáticas fue la de Katzenstein y Myers<sup>14</sup>. Bajo el epígrafe "NID no especificadas" se incluyeron aquellos casos con clínica, radiología y pruebas funcionales compatibles con NID, pero sin un diagnóstico definitivo.

### Estadística

Para describir las características de las variables a estudio, se utilizaron los valores absolutos y sus porcentajes en el caso de las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se expresaron mediante el binomio media  $\pm$  desviación estándar. En el estudio analítico, se realizó una t de Student para datos independientes para comparar variables cuantitativas no pareadas. Para comparar variables cuantitativas entre más de dos grupos, se realizó el análisis de las varianzas (ANOVA), que se completó con un análisis post hoc mediante la corrección de Bonferroni para detectar diferencias intergrupos. Para el análisis de las variables cualitativas, se empleó el test  $\chi^2$  al cuadrado. El error alfa se fijó en 0,05.

## RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio un total de 93 pacientes. La distribución de la serie por enfermedades, así como las características de la serie aparecen en la tabla 1. El grupo de miscelánea comprendía: 2 casos de histiocitosis de células de Langerhans, 4 casos de NID secundaria a medicamentos, un caso de bronquiolitis obliterante y un caso de neumonía eosinófila. No existían diferencias significativas en el porcentaje de pacientes con mala situación clínica entre los distintos grupos de enfermedad, así como tampoco había diferencias en el tratamiento que recibían.

Los valores medios de las citoquinas fueron de 25,37  $\pm$  32,17 para el TNF $\alpha$  y de 36,37  $\pm$  127,18 para la IL-6. Los valores de estas citoquinas entre los distintos grupos, aparecen en las tablas 2 y 3. Estos valores resultaron ser estadísticamente significativos para el TNF $\alpha$  ( $p < 0,001$ ), pero no para la IL-6 ( $p = 0,857$ ). Al estudiar el TNF $\alpha$  entre los diversos grupos nosológicos, la BONO fue la que difería significativamente del resto de grupos ( $p = 0,001$ ). No encontramos diferencias significativas según el estadio clínico de los pacientes en los valores de TNF $\alpha$  (buen estado 21  $\pm$  20; mal estado 26  $\pm$  34;  $p = 0,527$ ) ni de IL-6 (buen estado 34  $\pm$  104; mal estado 42  $\pm$  54;  $p = 0,803$ ).

TABLA 1  
DISTRIBUCIÓN DE LA SERIE INCLUIDA EN EL ESTUDIO.

Diagnóstico	N	%	Hombres	Edad	Fumadores	Exfumadores
AAE	6	6,5	4 (66,7%)	42 ± 18	1 (16,7%)	0
NC	4	4,3	4 (100%)	63 ± 9	1 (25%)	2 (50%)
NID idiopáticas	32	34,4	23 (71,9%)	68 ± 12	5 (15,6%)	14 (43,8%)
BONO	4	4,3	0	56 ± 11	0	0
No especificadas	15	16,1	9 (60%)	66 ± 9	4 (26,7%)	4 (26,7%)
Sarcoidosis	17	18,3	9 (52,9%)	39 ± 13	5 (29,4%)	3 (17,6%)
Sistémicas	7	7,5	3 (42,9%)	65 ± 8	2 (28,6%)	0
Miscelánea	8	8,6	8 (100%)	58 ± 15	1 (12,5%)	6 (75%)
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100,0</b>	<b>60 (64,5%)</b>	<b>59 ± 16</b>	<b>19 (20,4%)</b>	<b>29 (31,2%)</b>

TABLA 2  
DISTRIBUCIÓN DE TNF $\alpha$  ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS DE ENFERMEDADES (P < 0,001).

Diagnóstico	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
AAE	6	1,30	44,20	16,46	14,92
Neumoconiosis	4	1,40	14,80	7,05	6,48
Idiopáticas	32	1,10	97,80	22,21	23,01
BONO	3	21,30	211,30	102,10	98,13
No especificadas	15	2,20	80,60	21,42	24,02
Sarcoidosis	16	1,60	90,60	23,42	22,27
Sistémicas	7	4,30	119,40	49,70	46,59
Miscelánea	8	1,40	55,80	15,16	19,52

TABLA 3  
DISTRIBUCIÓN DE IL-6 ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS DE ENFERMEDADES (P = 0,857).

Diagnóstico	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
AAE	6	1,10	31,00	11,75	11,52
Neumoconiosis	4	1,50	77,70	24,00	36,05
Idiopáticas	32	1,10	1.198,00	65,76	210,92
BONO	4	2,40	41,20	14,65	18,28
No especificadas	15	1,30	95,20	30,26	30,43
Sarcoidosis	17	1,50	26,80	6,37	5,92
Sistémicas	6	11,00	158,20	54,51	53,24
Miscelánea	8	1,20	77,70	15,92	25,82

## DISCUSIÓN

El estudio de las citoquinas ha ido cobrando importancia en las últimas décadas, ya que existe evidencia que apunta hacia su participación directa como parte del mecanismo patogénico de gran número de enfermedades. En nuestro estudio, quisimos comprobar si los niveles de estas citoquinas en suero son diferentes en los pacientes con diversas NID dependiendo de la

enfermedad de que se trate y demostramos que esto es así para el TNF $\alpha$ , pero no para la IL-6 que parece tener un comportamiento más homogéneo.

En general, las características de la serie eran similares a las descritas previamente en nuestro entorno<sup>15</sup>. Al incluir el grupo de NID idiopáticas, las clasificamos según la clasificación de Katzenstein y Myers<sup>14</sup> por ser la vigente en el momento de realizar el trabajo. Sin embargo, cabe decir que recientemente se ha revisado

esta clasificación<sup>16</sup>, estableciendo nuevos grupos histológicos, por lo que habrá que tenerlos en cuenta para futuros trabajos.

Nuestros resultados apuntan a que estas citoquinas juegan un papel importante en estas enfermedades, ya que ambas estaban elevadas en el suero de los pacientes. Sin embargo, el hecho de que los valores presenten una distribución muy dispersa, con una amplia desviación estándar, parece indicar que se trata de una muestra con valores dispares, lo que apoyaría nuestra hipótesis de trabajo. Al analizar los valores de ambas citoquinas según la enfermedad, la IL-6 permanecía con menos variabilidad que el TNF $\alpha$ . Este resultado puede ser secundario a dos fenómenos. Por un lado, traduce que, probablemente, el comportamiento de ambas citoquinas sea distinto entre las diversas NID. Por otro, apoya la idea de que las citoquinas tienen una secreción compartimentalizada, como ya ha sido descrito<sup>17</sup>, limitándose su determinación al lugar donde se segregan. Un hallazgo similar se ha encontrado en el líquido pleural, donde la concentración de estas citoquinas no sólo es diferente entre sí, sino opuesta a la encontrada en este trabajo<sup>18</sup>.

Existen dos posibles variables de confusión que deberían ser tenidas en cuenta a la hora de interpretar nuestros resultados. Éstas son el estadio de la enfermedad y el tratamiento al que están sometidos. Por un lado, el estado clínico del paciente podría influir los niveles de estas citoquinas, ya que, aunque sí disponemos de unos niveles de normalidad, no tenemos datos de la evolución de sus niveles plasmáticos a lo largo de la evolución de cada una de las NID incluidas. Fenómenos similares ya han sido descritos por nuestro grupo con moléculas como la elastasa del neutrófilo que

parece comportarse como un reactante de fase aguda<sup>19</sup>. Sin embargo, en nuestra serie no encontramos diferencias en los valores de estas citoquinas según el estado clínico de los pacientes comparando por grado de disnea y pruebas funcionales. Por otro lado, no encontramos diferencias en los niveles plasmáticos de estas moléculas según el tratamiento que estaban recibiendo, basado habitualmente en corticoides sistémicos. Esto parece indicar que los niveles de estas citoquinas no se modificarían con el tratamiento, al contrario que ocurre entre sarcoidosis y la enzima convertidora de angiotensina, cuyos niveles plasmáticos sí lo hacen<sup>20</sup>. Sin embargo, tal afirmación no se puede extraer del presente estudio por lo que debería ser confirmada con un trabajo diseñado con ese fin.

De las enfermedades incluidas, la BONO es la que parece tener mayores niveles de TNF $\alpha$ . Las NID idiopáticas y las no específicas tienen niveles muy similares de ambas citoquinas, especialmente de TNF $\alpha$ , lo que sugiere que, probablemente, muchos de estos cuadros catalogados como NID no específicas sean realmente FPI evolucionadas que se han diagnosticado en un estadio tardío<sup>14</sup>. Llegados a este punto, el siguiente paso sería diseñar un trabajo que permitiera ver si estas diferencias tienen valor diagnóstico o pronóstico, conclusión a la que no podemos llegar con el presente diseño.

En definitiva, los valores de citoquinas en el suero de los pacientes con NID son de importancia al tener una distribución distinta según la enfermedad. Hacen falta estudios que perfilen su utilidad en el establecimiento del diagnóstico y del pronóstico de este amplio grupo de enfermedades.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Strieter RM, Belperio JA, Keane MP. Cytokines in innate host defense in the lung. *J Clin Invest* 2002; 109: 699-705.
2. Riffo-Vasquez Y, Pitchford S, Spina D. Cytokines in airway inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 833-853.
3. Renaud JC. New insights into the role of cytokines in asthma. *J Clin Pathol* 2001; 54: 577-589.
4. Vaillant P, Menard O, Vignaud JM, Martinet N, Martinet Y. The role of cytokines in human lung fibrosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 1996; 51: 145-152.
5. Agostini C, Semenzato G. Cytokines in sarcoidosis. *Semin Respir Infect* 1998; 13: 184-196.
6. Xing Z, Jordana M, Gauldie J, Wang J. Cytokines and pulmonary inflammatory and immune diseases. *Histol Histopathol* 1999; 14: 185-201.
7. Coker RK, Laurent GJ. Pulmonary fibrosis: cytokines in the balance. *Eur Respir J* 1998; 11: 1218-1221.
8. Piguet PF, Collart MA, Grau GE, Kaplanci Y, Vassalli P. Tumor necrosis factor/cachectin plays a key role in bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis. *J Exp Med* 1989; 170: 655-663.
9. Piguet PF, Ribaux C, Karpuz V, Grau GE, Kapanci Y. Expression and localization of tumor necrosis factor-alpha and its mRNA in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 1993; 143: 651-655.
10. Piguet PF, Vesin C, Grau GE, Thompson RC. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) prevents or cures pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica. *Cytokine* 1993; 5: 57-61.
11. Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Lukacs N, Kunkel SL. TNF and IL-6 mediate MIP-1 alpha expression in bleomycin-induced lung injury. *J Leukoc Biol* 1998; 64: 528-536.

12. Jones KP, Reynolds SP, Capper SJ, Kalinka S, Edwards JH, Davies BH. Measurement of interleukin-6 in bronchoalveolar lavage fluid by radioimmunoassay: differences between patients with interstitial lung disease and control subjects. *Clin Exp Immunol* 1991; 83: 30-34.
13. Pantelidis P, Fanning GC, Wells AU, Welsh KI, Du Bois RM. Analysis of Tumor Necrosis Factor-alpha, Lymphotoxin-alpha, Tumor Necrosis Factor Receptor II, and Interleukin-6 Polymorphisms in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1432-1436.
14. Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1301-1315.
15. Grupo de Trabajo del Registro de Neumopatías Intersticiales de Neumosur (RENIA). Incidencia de las neumopatías intersticiales en el ámbito de Neumosur. El estudio RENIA. *Neumosur* 2002; 14: 117-127.
16. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277-304.
17. Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 765-788.
18. Xirouchaki N, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavitsas N, Alexandrakis M, Siafakas NM. Diagnostic value of interleukin-1alpha, interleukin-6, and tumor necrosis factor in pleural effusions. *Chest* 2002; 121: 815-820.
19. López-Campos Bodineau JL, Rodríguez Becerra E, Cayuela Domínguez A, Laserna Martínez E, Fernández Vega D, Rodríguez Matute C, Castillo Gómez J. Serum neutrophil elastase levels predict initial clinical condition but do not correlate with the progression of interstitial lung disease.
20. Costabel U, Hunninghake GW. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. *Eur Respir J* 1999; 14: 735-737.