УДК 616.5-004.1+616-07+616/618+616-092

Є. М.Нейко, Р. І. Яцишин

Інтерлейкін-1 та інтерлейкін-2 у патогенезі системної склеродермії

Целью исследования было определение содержания интерлейкина-1 (ИЛ-1) и интерлейкина-2 (ИЛ-2) у больных системной склеродермией (ССД) и изучение их зависимости от варианта течения болезни. Нами обследовано 75 больных ССД и 20 практически здоровых людей. Кроме общеизвестных клинико-биохимических и инструментальных исследований, среди всех пациентов определяли содержание ИЛ-1 и ИЛ-2 в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием набора реагентов Pro Con IL-1b и Pro Con IL-2 (Росссия). Полученные результаты свидетельствуют, что при ССД наблюдается увеличение концентрации ИЛ-1 и ИЛ-2. Особенно четко прослеживается корреляционная связь между содержанием ИЛ-1 и активностью патологического процесса, что дает возможность использовать его в качестве маркера острофазовых реакций. В целом оба показатели зависят от степени активности патологии, варианта течения ССД и от сопутствующего поражения внутренних органов. Наиболее весомое увеличение концентрации ИЛ-2 наблюдается при висцерализации ССД.

ВСТУП

Протягом останніх років все більше уваги приділяється вивченню патогенезу системних захворювань сполучної тканини, серед яких чільне місце посідає системна склеродермія (ССД). Дослідників цікавить роль імунорегуляторних цитокінів у її виникненні та прогресуванні. Вміст багатьох інтерлейкінів (ІЛ) зазнає змін у хворих на ССД, що може свідчити як про ступінь вираженості запального синдрому, так і про тяжкість і прогресування патології. Відомо, що сироватка крові хворих на ССД містить вищі концентрації ІЛ - ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-6 [8-10]. При цьому ІЛ-4 активує проліферацію фібробластів, а ІЛ-6 стимулює синтез фібробластами колагену та глікозаміногліканів.

Основними клітинами–продуцентами ІЛ-1 (ендогенний пірогенн, лімфоцитактивуючий фактор) є моноцити/макрофаги, В-клітини, дендритні, ендотеліальні та інші клітини [3,5]. Родина ІЛ-1 об'єднує молекули трьох видів: ІЛ-1α, ІЛ-1β та антагоніста рецепторів ІЛ-1 [5,6]. ІЛ-1α та ІЛ-1β синтезуються макрофагами, моноцитами, природними кілерами, епітеліальними клітинами, фібробластами, активованими Т-лімфоцитами. При цьому ІЛ-1β може знаходитись у екстрацелюлярному просторі, а ІЛ-1α існує переважно у мембранозв'язаній формі [6]. Саме під впливом ІЛ-1 Т-лімфоцити-хелпери І типу починають продукувати ІЛ-2, що створює умови для проліферації лімфоцитів і дозрівання клону специфічних активованих клітин [1,3,5]. Цей цитокін стимулює дозрівання та клональну експансію В-лімфоцитів, посилює активність природних кілерів (ПК), посилює експресію молекул адгезії ендотеліальними клітинами, служить хемотаксичним сигналом для макрофагів і нейтрофілів, індукує синтез гострофазних протеїнів гепатоцитами та збудження гіпоталамуса [1]. Окрім переліченого, ІЛ-1 посилює проліферацію фібробластів та ендотеліоцитів, індукує прокоагулянтну активність (через синтез тромбопластину та простагландину). Під впливом ІЛ-1 підвищується концентрація сироваткової міді (Cu^{2+}), зни-

© Є. М.Нейко, Р. І. Яцишин

жується – іонів заліза (Fe^{2+}) та цинку (Zn^{2+}) [5]. Останній факт є цікавим з точки зору патогенезу ССД. Адже давно відомо, що у сироватці крові хворих на ССД спостерігається підвищення вмісту міді та зменшення концентрації цинку [2]. В цьому аспекті зміни концентрації ІЛ-1 у сироватці крові хворих на ССД можуть мати патогенетичне значення у виникненні та прогресуванні недуги.

ІЛ-2 (фактор росту Т-клітин) – синтезується, головним чином, Т-лімфоцитами-хелперами І типу. Має здатність індукувати проліферацію стимульованих антигеном Т-хелперів і цитотоксичних Т-клітин, підтримує тривалий ріст антигенспецифічних клонів Т-лімфоцитів, підвищує активність деяких ПК-клітин за допомогою посилення продукції ІФН-γ [3,5]. Це свідчить про важливу роль ІЛ-2-залежної Т-клітинної відповіді у розвитку запальних ревматичних захворювань. У відповідь на підвищення вмісту ІЛ-2 на мембрані з'являються молекули з характерними властивостями ІЛ-2-рецепторів [1,6,9]. Збільшення концентрації розчинних ІЛ-2-рецепторів виявлено при багатьох ревматичних захворюваннях – ревматоїдному артриті, системному червоному вовчаку, дерматоміозиті, системних васкулітах. Слід вказати, що гіперпродукція цих рецепторів корелює з активністю патології [3,5,9].

У зв'язку з цим метою нашого дослідження було вивчення вмісту та значення ІЛ-1 та ІЛ-2 у хворих на ССД залежно від варіанту перебігу хвороби, її стадії та форми.

МЕТОДИКА

Обстежено 75 хворих на ССД, які перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділенні Івано-Франківської обласної клінічної лікарні. У всіх хворих був верифікований діагноз ССД за допомогою критеріїв діагнозу Гусєвої [2]. Окрім загальноклінічних, біохімічних та імунологічних обстежень, у всіх хворих у сироватці крові визначали вміст ІЛ-1 та ІЛ-2 імуноферментним методом з використанням набору реактивів Pro Con IL-1b та Pro Con IL-2 (Росія).

Використовували твердофазний імуноферментний метод із застосуванням пероксидази хріну як індикаторного ферменту. Один тип антитіл іммобілізується на внутрішніх поверхнях лунок планшетів для мікротитрування. Інший тип моноклональних антитіл до незалежного епітопу молекули відповідного ІЛ знаходиться у наборі у вигляді кон'югату з біотином. Індикаторним компонентом виступає кон'югат пероксидази хріну із стрептавідином, що має високу спорідненість до біотину. Після інкубацій і промивок у лунки вносять кон'югат пероксидази із стрептавідином, знов інкубують, промивають, вносять субстрат та вимірюють активність зв'язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів.

Для об'єктивізації отриманих результатів нами обстежено 20 практично здорових осіб, які за статтю та середнім віком відповідали дослідній групі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед обстежених переважали жінки – 62 хворих (82,7%). Вік пацієнтів коливався від 31 до 53 років у середньому (38,4±1,7) років. Тривалість захворювання від 1 до 9 років, в середньому (4,1±0,8) років. Абсолютну більшість складали хворі з І та ІІ ступенем активності патологічного процесу – 63 людини (84,0%). Серед обстежених І стадію ССД діагностовано у 28 осіб (37,3%), ІІ - у 36 (48,0%), ІІІ - у 11 пацієнтів (14,7%). Хронічний перебіг ССД спостерігався у 61 (81,3%) хворого, підгострий перебіг патології - у 11 (14,7%) пацієнтів, гострий – у 3 хворих (4,0%). Вісцеральну патологію виявлено у 63 хворих (84,0%).

Вміст ІЛ-1 та ІЛ-2 у хворих на ССД достовірно збільшується. Зокрема, як засвідчили отримані нами результати, вміст ІЛ-1 у сироватці крові хворих на ССД вірогідно збільшився у 4,59 раза порівняно зі значеннями у здорових донорів (рис.1). Разом з цим, концентрація ІЛ-2 серед обстежених

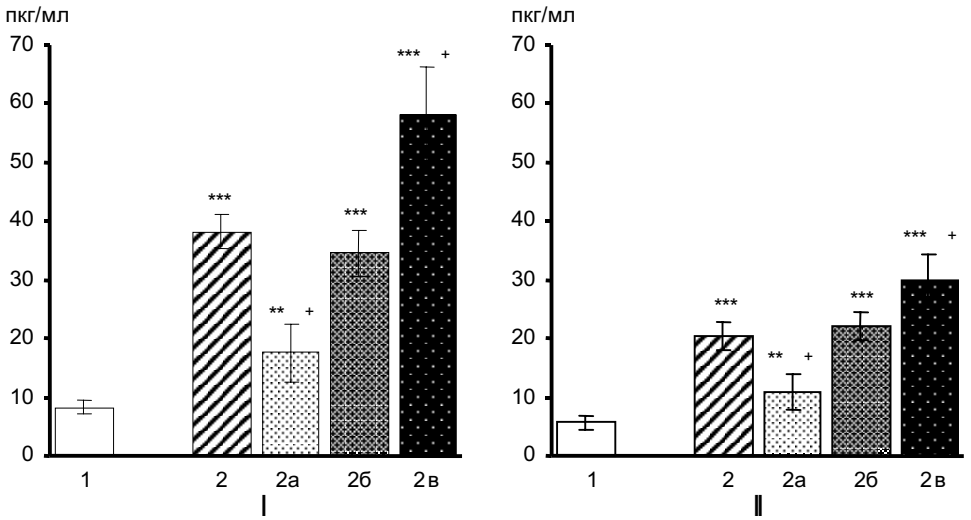

Рис. 1. Вміст ІЛ-1 (I) та ІЛ-2 (II) у хворих на систему склеродермію (ССД) в цілому (2) та залежно від ступеня активності захворювання - I ступеня активності (2а), II ступеня активності (2б), III ступеня активності (2в) порівняно зі здоровими донорами (1).
Тут і на рис. 2-4 . * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; ***$P < 0,001$ – показники вірогідності порівняно зі здоровими людьми; $^{+}$ $P < 0,05$; $^{++}$ $P < 0,01$; $^{+++}$ $P < 0,001$ – показники вірогідності порівняно з групою хворих на ССД в цілому.

пацієнтів вища за норму у 3,57 раза. Ми дослідили також залежність рівня підвищення цих показників від ступеня активності ССД, її тривалості та стадії.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що вміст ІЛ-1 та ІЛ-2 залежить від активності запального синдрому при ССД (див. рис.1). Зокрема, серед хворих з мінімальною активністю ССД вміст ІЛ-1 вірогідно збільшується у 2,12 раза порівняно зі значеннями у здорових донорів, але є меншим у 2,17 раза відносно значень у хворих на ССД загальної групи. Подібна динаміка спостерігається у разі дослідження вмісту ІЛ-2. Наприклад, при мінімальній активності запалення цей показник вищий від контрольних значень у 3,57 раза. При помірній активності запального синдрому концентрація ІЛ-1 збільшується 4,16 раза, що практично не відрізняється від такого ж показника у всій групі обстежених хворих на ССД. Вміст ІЛ-2 у цих пацієнтів вищий за норму у 3,88 раза. Найвищий вміст ІЛ-1 спостерігаються при максимальній активізації патологічного процесу. У таких випадках він збільшується у 7,02 раза порівняно з контролем. Вміст ІЛ-2 при найбільш вираженому запальному синдромі достовірно не відрізняється від помірно активних форм. Проведений аналіз отриманих результатів дозволяє використовувати дослідження вмісту ІЛ-1 як маркера гостроти запального синдрому, в той час як концентрація ІЛ-2 для цього не цілком придатна.

Вміст досліджуваних показників у сироватці крові хворих на ССД залежить і від форми перебігу хвороби. Зробити достовірний висновок про концентрацію ІЛ-1 та ІЛ-2 при гострому варіанті ССД ми ще не маємо змоги через невелику кількість спостережень, хоча отримані результати значно вищі, ніж при інших формах недуги (рис.2). У разі підгострого перебігу ССД значення обох показників достовірно збільшуються. Так, вміст ІЛ-1 вищий за норму у 5,56 раза і достовірно вищий за середній рівень у загальній групі хворих на ССД. Вміст ІЛ-2 при підгострому та хронічному перебігу хвороби достовірно не відрізняється за середній рівень у групі обстежених пацієнтів. У разі хронічного перебігу ССД концентрація ІЛ-1 на 52,7% нижча

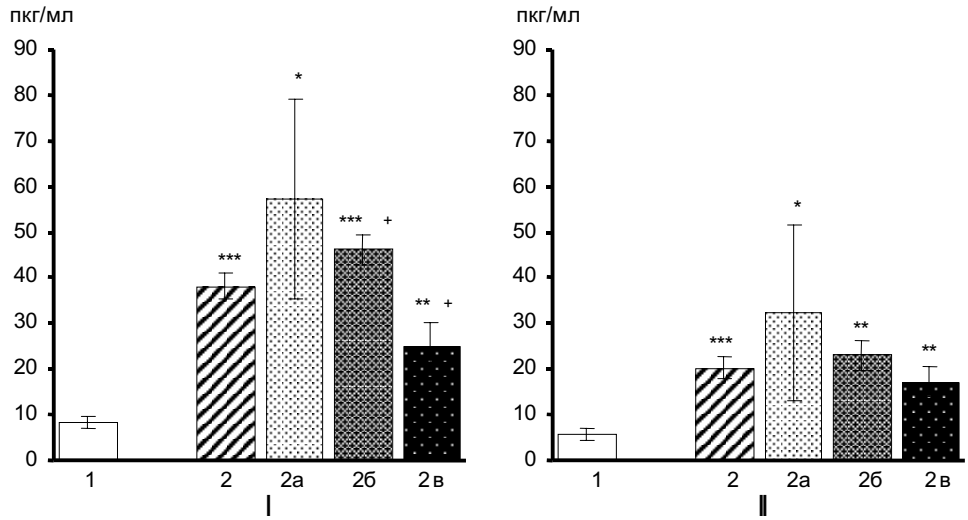

Рис. 2. Вміст ІЛ-1 (I) і ІЛ-2 (II) у хворих на системну склеродермію (ССД) в цілому (2) залежно від перебігу захворювання - гостра форма (2а), підгостра форма (2б), хронічна форма (2в) порівняно зі здоровими донорами (1).

за середнє значення у загальній групі обстежених хворих.

Ми дослідили також вміст ІЛ-1 та ІЛ-2 серед хворих із вісцеральними ускладненнями. Отримані результати (рис.3) свідчать, що вміст ІЛ-1 є вірогідно вищим у 6,18 раза серед хворих на ССД із вісцеральними ускладненнями порівняно з контролем і на 34,5% - порівняно зі значеннями у загальній групі хворих на ССД. Концентрація ІЛ-2 у таких пацієнтів у 5,29 раза вища за норму і на 48,4% - порівняно зі значеннями у хворих на ССД загальної групи. У разі шкірно-суглобової форми патології концентрації ІЛ-1 та ІЛ-2 вищі від контролю, але достовірно нижчі від середніх значень у загальній групі хворих на ССД.

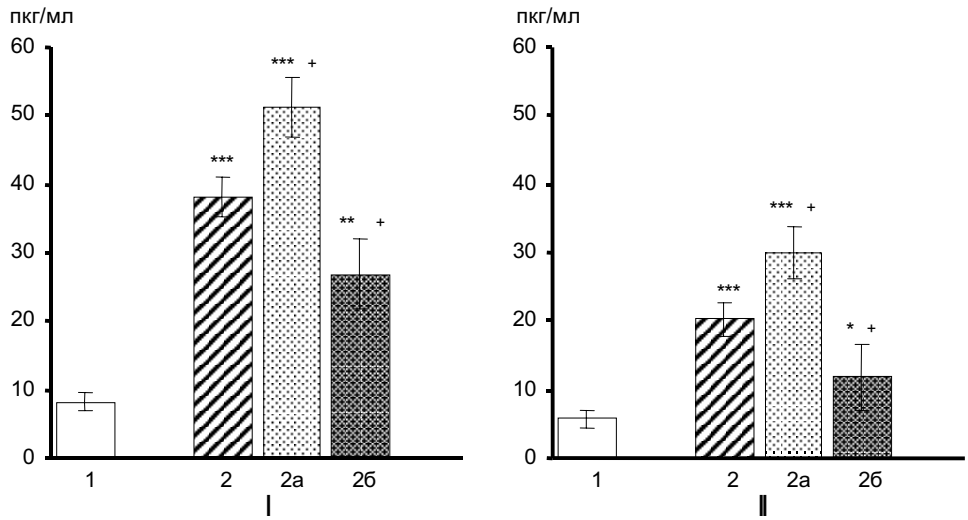

Рис. 3. Вміст ІЛ-1 (I) і ІЛ-2 (II) у хворих на системну склеродермію (ССД) в цілому (2) та залежно від варіанту захворювання - вісцеральна форма (2а), шкірно-суглобова форма (2б) порівняно зі здоровими пацієнтами (1).

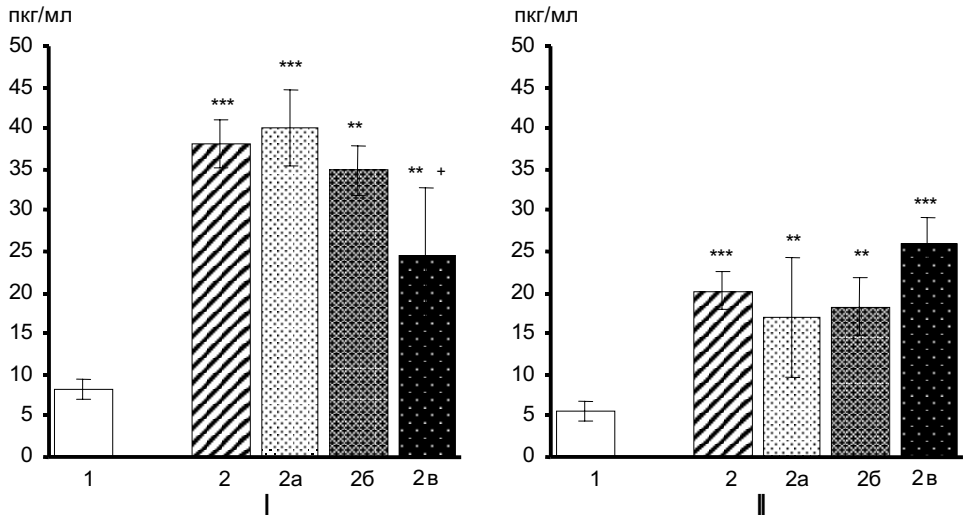

Рис. 4. Вміст ІЛ-1 (I) і ІЛ-2 (II) у хворих на системну склеродермію (ССД) в цілому (2) та залежно від тривалості захворювання - 1-3 роки (2а), 4-6 років (2б), 7-9 років (2в) порівняно зі здоровими пацієнтами (1).

Нами також досліджено залежність вмісту ІЛ-1 та ІЛ-2 у сироватці крові від тривалості ССД (рис.4). Слід зазначити, що вміст ІЛ-1 у сироватці крові хворих на ССД у разі різної тривалості патологічного процесу є вищим від контролю, але тільки при тривалості хвороби більше ніж 7 років він вірогідно менший порівняно зі значення у загальній групі хворих на ССД. Цікаво, що вміст ІЛ-2 змінюється у протилежній залежності і є максимальним у разі тривалого перебігу ССД.

Таким чином, отримані результати свідчать про достовірну роль ІЛ-1 та ІЛ-2 у патогенезі ССД. Цей факт доводить, що у разі ССД ІЛ-1 здійснює функцію індуктора ферментів гострої фази запалення, є активним профібротичним агентом, який сприяє вісцералізації патологічного процесу. Підвищення вмісту ІЛ-2 спостерігається дещо пізніше, що вказує на його вторинну роль у патогенезі ССД.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на ССД спостерігається достовірне підвищення вмісту ІЛ-1 та ІЛ-2, що свідчить про їх значення у патогенезі хвороби.

2. Чіткий кореляційний зв'язок вмісту ІЛ-1 та ступеня активності патологічного процесу свідчать про те, що зі збільшенням вмісту у сироватці крові флогістичних речовин збільшується і синтез цього цитокіну, тобто ІЛ-1 виступає як маркер активності запального синдрому.

3. Найбільш високі концентрації ІЛ-1 і ІЛ-2 при гострому та підгострому перебігу ССД, а також при виникненні вісцеральних ускладнень вказують на прогностичну роль цих інтерлейкінів у несприятливому прогнозі патології.

Ye.M.Neyko, R.I.Yatsyshyn

SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN-1 AND INTERLEUKIN-2 IN PATHOGENY OF SYSTEMIC SCLERODERMA

The purpose of a research was to define the levels of interleukin-1 (IL-1) and interleukin-2 (IL-2) in patients with systemic scleroderma (SSc) and to analyse their dependence on the course of the illness. 75 paticnts with SSc and 20 apparently healthy people were examined. Besides the well-known clinical-biochemical and instrumental investigations, the levels of IL-1 and Il-2 in all the patients were determined in serum with an immunoenzymatic method using a set of reac-

tants Pro Con IL-1b and Pro Con IL-2 (Russia). The data obtained give evidence for an increase in both IL-1 and IL-2 levels. As the correlation between the level of IL-1 and the acuteness of the pathological process has been shown to be especially distinct, it can be used for marking an acute form of this pathology. Thus, both parametres (IL-1, IL-2) depend on the acuity and peculiarities of SSc, and on the concomitant damage of the internal organs. The most pronounced increase in LL-2 level has been observed at visceralisation of SSc.

Ivano-Frankivsk Medical Academy

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак А.П. Цитокины: биологические и противоопухолевые средства.-К.: Наук. думка, 1998. - 314 с.
2. Гусева Н.Г. Системная склеродермия и псевдосклеродермические синдромы. - М.:Медицина, 1993. - 268 с.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - Одесса: Астропринт, 1999. - 604 с.
4. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред.Л.Йегера.-2-е изд.:Пер.с нем. - М.:Медицина, 1990. - Т. 2. - 345 с.
5. Нейко Є.М., Александрук О.Д., Островський М.М. Фізіологія цитокінів // Галицьк. лікар. вісник. - 2000. - 7, № 4. - С.153-158.
6. Ревматические болезни / Руководство для врачей / Под ред. В.А.Насоновой, Н.В.Бунчука. - М.: Медицина,1997. - 520 с.
7. 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, N 1. - P.67-72.
8. Needleman BW. Immunologic aspects of scleroderma // Curr. Opin. Rheumatol. - 1992. - 4, N 6. - P.862-868.
9. Rubin L.A. The soluble interleukin-2 receptor in rheumatic disease // Arthr.Rheum. - 1990. - 33. - P.1145-1148.
10. Smith EA. Connective tissue metabolism including cytokines in scleroderma. // Curr. Opin. Rheumatol. - 1992. - 4, N 6. - P.869-877.

Івано-Франк. мед. академія

Матеріал надійшов до редакції 19.06.2001