

Р.І. Яцишин

Івано-Франківська державна
медична академія

РОЛЬ ФАКТОРІВ РОСТУ В ПАТОГЕНЕЗІ СИСТЕМНОЇ СКЛЕРОДЕРМІЇ

Ключові слова: системна склеродермія, імуноферментний аналіз, колаген, цитокіни, трансформуючий фактор росту.

Резюме. Мета дослідження — вивчення ролі трансформуючого фактора росту (ТФР- β) в патогенезі системної склеродермії (ССД). Нами обстежено 75 хворих на ССД та 20 практично здорових осіб. Крім стандартних клініко-біохімічних та інструментальних методів дослідження, у всіх обстежених визначали рівень ТФР- β у сироватці крові імуноферментним методом з використанням набору реагентів виробництва "R&D Systems" (США). Отримані дані свідчать, що у разі ССД підвищується рівень ТФР- β . Встановлено, що цей показник залежить від ступеня активності патологічного процесу, варіанта перебігу ССД та супутнього ураження внутрішніх органів. Максимальне підвищення рівня ТФР- β спостерігається у разі найвищої активності — ССД III стадії та при ураженні внутрішніх органів.

ВСТУП

Фактори росту отримали назву у зв'язку з їх впливом на процеси росту, диференціювання та активацію гранулоцитів, макрофагів, моноцитів. Серед таких факторів — гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор (Г-КСФ), моноцитарний колонієстимулювальний фактор (М-КСФ), гранулоцитарно-моноцитарний колонієстимулювальний фактор (ГМ-КСФ), епідермальний фактор росту (ЕФР), трансформуючий фактор росту-бета (ТФР- β) тощо.

Тканинний фіброз, який є провідним клінічним синдромом ССД, ймовірно, є наслідком неконтрольованої продукції тромбоцитарного, епідермального, трансформуючого факторів росту та фактора росту фібробластів (Насонова В.А., Бунчук Н.В., 1997). V.M. Kahari (1993), відводячи головну роль у патогенезі ССД характерній тріаді, відзначає вирішальне значення у генезі цих змін саме активації тканинних факторів росту:

- 1) ураженню дрібних кровоносних судин;
- 2) периваскулярному запаленню;
- 3) активації синтезу колагену.

Такої думки дотримуються також інші автори. Зокрема, К. Kikuchi та співавтори (1998) доводять, що при ССД спостерігається вірогідне підвищення судинного ендотеліального фактора росту (СЕФР) у сироватці крові. Важливо, що рівень цього показника корелює з вісцеральними ураженнями, особливо з легенеvim фіброзом.

С.Р. Denton та співавтори (1997) зазначають роль фактора росту фібробластів у прогресуванні ССД. У їх роботах доведено, що фактор росту фібробластів незалежно від інтерлейкіну-1 індукує активність фібробластів щодо продукції колагену і подальшого розвитку фіброзу. Такої самої думки дотримуються Т. Kadono та співавтори (1996), які пов'язують зростання рівня фактора росту фібробластів з ураженням судин.

На нашу думку, в патогенезі ССД серед названих факторів росту, провідну роль відіграє ТФР- β (Jimenez S.A. et al., 1996). ТФР- β синтезується головним чином тромбоцитами, меншою мірою — макрофагами, ендотеліальними та іншими клітинами, включаючи Т- і В-лімфоцити. S.A. Jimenez та співавтори (1996) вважають, що уражені ССД фібробласти можуть індукувати синтез ендогенного ТФР- β . ТФР- β пригнічує ріст і активність Т-клітин, обмежує функції макрофагів, В-лімфоцитів, природних кілерів.

ТФР- β стимулює акумуляцію моноцитів у тканинах, тканинний фіброз, регулює функціональну активність лімфоцитів та макрофагів. Слід відзначити, що залежно від наявності інших цитокінів ТФР- β здатний як стимулювати, так і пригнічувати ріст і диференціацію фібробластів. ТФР- β стимулює синтез колагену та фібронектину фібробластами, а інтерферон-гамма та фактор некрозу пухлин альфа зумовлюють протилежний вплив. За участі тромбоцитарного, епідермального фактора росту та фактора росту фібробластів ТФР- β пригнічує синтез колагенази та інших нейтральних протеїназ, збільшує продукцію інгібіторів цих ферментів (Насонова В.А., Бунчук Н.В., 1997).

Важливою властивістю ТФР- β є здатність модулювати деякі функції моноцитів та лімфоцитів. Доведено, що ТФР- β — найпотужніший із відомих на сьогодні хемотаксичних агентів для моноцитів. Він посилює експресію Fc-рецепторів, пригнічує індукцію цитокінів, інгібує індуковану інтерлейкіном-1 проліферацію Т-лімфоцитів, ріст та синтез імуноглобулінів В-лімфоцитами, інгібує активність природних кілерних клітин (Насонова В.А., Бунчук Н.В., 1997).

Про залежність вмісту ТФР- β та ССД свідчить той факт, що моноцити, які інфільтрують шкіру при ССД, містять інформаційну рибонуклеїнову кислоту та ТФР- β . Окрім цього, ТФР- β наявний у ділянці шкірного фіброзу неподалік від фібробластів.

У ході аналізу виявлена властивість ТФР-β посилювати синтез колагену, зокрема патологічно-го, що є ключовим моментом у патогенезі ССД. Зокрема, S.A. Cotton та співавтори (1998) називають ТФР-β «ідеальним кандидатом» на роль маркера фіброзу при ССД.

За даними J. Varga, R.I. Bashey (1995), ТФР-β — це профібротичний цитокін, який у великій кількості експресується в ендотеліоцитах, у фібробластах поблизу кровоносних судин і у периваскулярних флогістичних клітинах склеродермічно уражених тканин.

Грунтовно досліджували роль ТФР-β при ССД E.A. Smith, E.C. LeRoy (1990), які, зокрема, довели, що ТФР-β при ССД накопичується у альфа-гранулах тромбоцитів. Важливою функцією ТФР-β, на їх думку, є стимуляція синтезу фібробластного колагену і фібронектину та їх депонування в екстрацелюлярному матриксі. Загалом біологічні ефекти ТФР-β залежать від рівня його трансформації з поліпептидного прекурсора.

Y. Kawaguchi та співавтори (1992) фіброзуючий ефект ТФР-β при ССД пов'язують з його індукцією щодо пропіл-4-гідролази — каталітичного ензиму на етапі перетворення проколагену.

Визначаючи за допомогою імуногістохімічних методів інтра- та екстрацелюлярний рівень ТФР-β (щодо ендотеліоцитів) у пацієнтів із ССД та хворобою Рейно, A. Gabrielli та співавтори (1993) встановили, що рівень цього цитокіну суттєво вищий порівняно з контролем. Особливо високим був рівень ТФР-β в ендотеліоцитах судин біопсованої шкіри. Екстрацелюлярний ТФР-β локалізований переважно у папілярних відділах дерми.

A. Igarashi та співавтори (1995) доводять, що при ССД ТФР-β здійснює патогенетичний вплив на процес фіброзоутворення через індукцію сполучнотканинного фактора росту (СТФР). СТФР вперше був виділений з ендотеліоцитів умбілікальної вени людини. Активується СТФР тільки ТФР-β. При ССД спостерігають як підвищення сироваткового рівня СТФР, так і накопичення його у фіброзно-змінених тканинах.

Беручи до уваги вищезазначене, ми вивчали залежність вмісту ТФР-β у сироватці крові хворих на ССД від варіанта перебігу патології.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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, запропонованих Американською колегією ревматологів (Коваленко В.Н., 1993). Серед обстежених переважали жінки — 62 (82,7%). Вік пацієнтів — від 31 до 53 років (у середньому 38,4±1,7 року). Тривалість захворювання — від 1 до 9 років (у середньому 4,1±0,8 року). Більшість становили хворі з активністю патологічного процесу I та II ступеня — 63 (84,0%) особи.

Для об'єктивізації отриманих результатів дослідження нами обстежено 20 практично здорових

осіб, які за статтю та середнім віком відповідали дослідній групі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як свідчать результати дослідження, серед групи обстежених хворих на ССД спостерігається вагоме вірогідне підвищення рівня ТФР-β у сироватці крові. У нашому дослідженні цей показник вищий від контрольного в 10,6 разу (табл. 1). Підвищення сироваткового рівня ТФР-β свідчить про активацію процесів утворення патологічного колагену при ССД.

Таблиця 1
Рівень ТФР-β (пкг/мл) у здорових осіб та хворих на ССД залежно від ступеня активності захворювання

Здорові особи, n=20	Хворі на ССД			
	Всього, n=75	Активність I ступеня, n=25	Активність II ступеня, n=38	Активність III ступеня, n=12
1,12±0,29	11,89±1,05 p ₁ <0,001	10,08±1,75 p ₁ <0,001 p ₂ ≥0,05	12,25±1,19 p ₁ <0,001 p ₂ ≥0,05	15,01±1,52 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05

p₁ — вірогідність показників порівняно з такими у здорових осіб;
p₂ — вірогідність показників порівняно з такими у хворих на ССД.

Для встановлення прозапальних властивостей досліджуваного фактора росту нами вивчена його залежність від ступеня активності захворювання.

Виявлено, що при мінімальній активності патологічного процесу рівень ТФР-β перевищує такий у нормі. Проте цей показник практично не відрізняється від середніх значень у всіх обстежених хворих, дещо підвищується у разі помірної активності склеродермічного запалення. У разі максимальної активації патологічного процесу рівень ТФР-β підвищується в 13,4 разу порівняно з таким у здорових осіб. Такий вміст ТФР-β у сироватці крові на 26,2% перевищує цей показник у загальній групі хворих на ССД. Результати отриманих даних свідчать про прозапальні властивості цього фактора росту. Таке явище можна пояснити високими хемотаксичними характеристиками ТФР-β, тому що при зростанні вираженості запальних змін збільшується і хемотаксис гранулоцитів.

Для перебігу ССД характерна прогресивна стадійність. Тому нас зацікавила залежність між рівнем ТФР-β та стадією ССД. Як свідчать дані табл. 2, при патологічному процесі всіх трьох стадій рівень ТФР-β перевищує норму. Результати порівняння концентрації цього фактора росту в обстежених пацієнтів на різних стадіях ССД виявлено, що навіть при хворобі I стадії рівень ТФР-β у сироватці крові перевищує норму. Досліджуваний показник при цьому достовірно нижчий у 3 рази, ніж у серед-

Таблиця 2
Рівень ТФР-β (пкг/мл) у здорових осіб та хворих на ССД залежно від стадії захворювання

Здорові особи, n=20	Хворі на ССД			
	Всього, n=75	I стадія, n=28	II стадія, n=36	III стадія, n=11
1,12±0,29	11,89±1,05 p ₁ <0,001	3,95±1,32 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	14,51±1,49 p ₁ <0,001 p ₂ ≥0,05	19,02±2,53 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05

p₁ — вірогідність показників порівняно з такими у здорових осіб;
p₂ — вірогідність показників порівняно з такими у хворих на ССД.

ньому в групі обстежених. При хворобі II стадії рівень ТФР-β ще більше підвищується, порівняно із середньогруповим. У пацієнтів з хворобою III, дистрофічної стадії рівень ТФР-β максимально підвищувався. Результати аналізу отриманих даних свідчать про те, що прогресування ССД зумовлене зростанням вмісту сироваткового ТФР-β, а досліджуваний фактор росту можна вважати просклеротичним агентом.

Нами також досліджено залежність рівня ТФР-β у сироватці крові від тривалості ССД. Результати отриманих даних (табл. 3) свідчать про те, що рівень цього фактора росту в сироватці крові хворих на ССД підвищується прямо пропорційно тривалості патологічного процесу. У дебюті захворювання (перші 1–2 роки) рівень ТФР-β вірогідно не відрізняється від показника здорових донорів, але з кожним роком підвищується. Особливо високий рівень ТФР-β відзначено у хворих на ССД з тривалістю захворювання понад 5 років.

Таблиця 3

Рівень ТФР-β (пкг/мл) у здорових осіб та хворих на ССД залежно від тривалості захворювання

Здорові особи, n=20	Хворі на ССД			
	Всього, n=75	1-2 роки, n=18	3-5 років, n=29	Понад 5 років, n=28
1,12±0,29	11,89±1,05 p ₁ <0,001	2,72±1,60 p ₁ >0,001 p ₂ ≥0,05	12,34±1,15 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	19,78±2,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05

p₁ — вірогідність показників порівняно з такими у здорових осіб;
p₂ — вірогідність показників порівняно з такими у хворих на ССД.

У 63 (84%) обстежених нами пацієнтів діагностовано вісцеральну патологію різних локалізацій та ступеня вираженості, досліджено рівень ТФР-β. Результати отриманих даних (табл. 4) свідчать про те, що досліджуваний показник є вірогідно вищим на 42,8% у хворих на ССД з вісцеральним ураженнями порівняно із загальною групою хворих та у 3,2 разу перевищує рівень ТФР-β у хворих без ураження внутрішніх органів. Слід відзначити, що під час аналізу індивідуальних результатів дослідження кожного хворого встановлено, що рівень ТФР-β корелює з важкістю вісцеральної патології. Особливо високих цифр досліджуваний показник сягає при склеродермічному ураженні легень та нирок. Шкірно-суглобова форма ССД перебігає з нижчим рівнем ТФР-β, який, однак, значно перевищує норму.

Таблиця 4

Рівень ТФР-β (пкг/мл) у здорових осіб та хворих на ССД залежно від форми захворювання

Здорові особи, n=20	Хворі на ССД		
	Всього, n=75	Вісцеральна форма, n=63	Шкірно-суглобова форма, n=12
1,12±0,29	11,89±1,05 p ₁ <0,001	16,98±1,95 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	5,31±2,45 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01

p₁ — вірогідність показників порівняно з такими у здорових осіб;
p₂ — вірогідність показників порівняно з такими у хворих на ССД.

Результати дослідження свідчать про те, що у хворих на ССД спостерігається підвищення рівня ТФР-β. Це означає, що фактор росту відіграє важливу роль у патогенезі ССД. Концентрація ТФР-β корелює з вираженістю фіброзних змін в організмі.

Слід зазначити, що підвищення рівня ТФР-β корелює зі зниженням рівня інтерферону-гамма. Тому вважаємо за доцільне включення до комплексної терапії ССД інтерферону-гамма або стимуляторів його синтезу.

ВИСНОВКИ

1. У сироватці крові хворих на ССД спостерігається підвищення рівня ТФР-β, що свідчить про його патогенетичну роль у виникненні та розвитку хвороби.

2. Рівень ТФР-β залежить від активності запального процесу, його тривалості, стадії захворювання та супутнього ураження внутрішніх органів.

3. Зважаючи на склерогенні та прозапальні властивості ТФР-β визначення його рівня можна використовувати як маркер вираженості системного фіброзу при ССД.

ЛІТЕРАТУРА

- Коваленко В.Н. (1993) Ревматические болезни: критерии диагностики и программы лечения. КомПолис, Киев, 123 с.
- Насонова В.А., Бунчук Н.В. (1997) Ревматические болезни. Руководство для врачей. Медицина, Москва, 520 с.
- Cotton S.A., Herrick A.L., Jayson M.I., Freemont A.J. (1998) TGF-βeta — a role in systemic sclerosis? J. Pathol., 184(1): 4–6.
- Denton C.P., Xu S., Black C.M., Pearson J.D. (1997) Scleroderma fibroblasts show increased responsiveness to endothelial cell-derived IL-1 and bFGF. J. Invest. Dermatol., 108(3): 269–274.
- Gabrielli A., Di Loreto C., Taborro R. (1993) Immunohistochemical localization of intracellular and extracellular associated TGF beta in the skin of patients with systemic sclerosis (scleroderma) and primary Raynaud's phenomenon. Clin. Immunol. Immunopathol., 68(3): 340–349.
- Igarashi A., Nashiro K., Kikuchi K., Sato S., Ihn H., Grotendorst G.R., Takehara K. (1995) Significant correlation between connective tissue growth factor gene expression and skin sclerosis in tissue sections from patients with systemic sclerosis. J. Invest. Dermatol., 105(2): 280–284.
- Jimenez S.A., Hitraya E., Varga J. (1996) Pathogenesis of scleroderma. Collagen. Rheum. Dis. Clin. North. Am., 22(4): 647–674.
- Kadono T., Kikuchi K., Kubo M., Fujimoto M., Tamaki K. (1996) Serum concentrations of basic fibroblast growth factor in collagen diseases. J. Am. Acad. Dermatol., 35(3 Pt. 1): 392–397.
- Kahari V.M. (1993) Activation of dermal connective tissue in scleroderma. Ann. Med., 25(6): 511–518.
- Kawaguchi Y., Kitani A., Hara M. et al. (1992) Cytokine regulation of prolyl 4-hydroxylase production in skin fibroblast cultures from patients with systemic sclerosis: contribution to collagen synthesis and fibrosis. J. Rheumatol., 19(8): 1195–1201.
- Kikuchi K., Kubo M., Kadono T., Yazawa N., Tamaki K. (1998) Serum concentrations of vascular endothelial growth factor in collagen diseases. Br. J. Dermatol., 139(6): 1049–1051.
- Smith E.A., LeRoy E.C. (1990) A possible role for transforming growth factor-βeta in systemic sclerosis. J. Invest. Dermatol., 95(6 Suppl.): 125–127.
- Varga J., Bashey R.I. (1995) Regulation of connective tissue synthesis in systemic sclerosis. Int. Rev. Immunol., 12(2–4): 187–199.

РОЛЬ ФАКТОРОВ РОСТА В ПАТОГЕНЕЗІ СИСТЕМОЇ СКЛЕРОДЕРМІИ

Р.И. Яцишин

Резюме. Цель исследования — изучение роли трансформирующего фактора роста (ТФР-β) в патогенезе системной склеродермии (ССД). Нами обследованы 75 больных ССД и 20 практически здоровых пациентов. Кроме стандартных клинико-биохимических и инструментальных

ных методов исследования, у всех обследованных определяли уровень ТФР- β в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием набора реагентов производства «R&D Systems» (США). Полученные данные свидетельствуют, что при ССД повышается уровень ТФР- β . Установлено, что этот показатель зависит от степени активности патологического процесса, варианта течения ССД и сопутствующего поражения внутренних органов. Максимальное повышение уровня ТФР- β наблюдается при наивысшей активности — ССД, III стадии болезни и при поражении внутренних органов.

Ключевые слова: системная склеродермия, иммуноферментный анализ, коллаген, цитокины, трансформирующий фактор роста.

THE ROLE OF THE GROWTH FACTORS IN A PATHOGENY OF A SYSTEM SCLERODERMA

R.I. Yatsyshyn

Summary. The purpose of research was analysis of a role of a transforming growth factor (TGF)- β at the pathogenesis of a system scleroderma

(SSD). By us is inspected 75 ill with SSD and 20 practically of able-bodied people. Except for well-known clinic-biochemical and instrumental researches, for all inspected determined a level of TGF- β in the serum of a blood by an immunoenzyme method with usage of a set of reactants «R&D Systems» (USA). The obtained data testify, that at SSD the increase of a level of TGF- β . This parameter takes place depends on a degree of activity of a pathology, version of flow of SSD and from a concomitant lesion of an internals. The greatest increase of a level of TGF- β is watched at maximum activity of an inflammatory syndrome, at III of stage of illness and at a lesion of an internals in patients with SSD.

Key words: a system scleroderma, immunoenzyme method, collagen, cytokines, transforming growth factor.

Адреса для листування:

Яцишин Роман Іванович
76000, Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2
Івано-Франківська державна медична академія

РЕФЕРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

Нимесулід зменшує експресію гена циклооксигенази-2, індукційовану ІЛ-1 β в синовіальних фібробластах людини

Fahmi H., He Y., Martel-Pelletier J., Pelletier J.-P., De Battista J.A. (2001) Nimesulide reduces interleukin-1 β -induced cyclooxygenase-2 gene expression in human synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cart.*, 9 (5): 332–340.

Цель. Изучить влияние нимесулида (НИМ) на базальную и индуцированную экспрессию гена циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) в человеческих синовиальных фибробластах (ЧСФ) и определить внутриклеточные механизмы, опосредующие изменения экспрессии и синтеза ЦОГ-2 в ответ на действие препарата.

Дизайн. ЧСФ инкубировали с НИМ и NS-398 (0; 0,03; 0,3; 3 мг/мл) в отсутствие и при наличии индукторов ЦОГ-2 — ИЛ-1 β или эндотоксин липополисахарид (ЛПС). В клетках определяли мРНК ЦОГ-2 и ЦОГ-2. Определяли транскрипционное, посттранскрипционное и сигнальное влияние НИМ на базальную и индуцированную экспрессию ЦОГ-2.

Результаты. НИМ, но не напроксен, угнетает ИЛ-1 β -индуцированную экспрессию ЦОГ-2 и ее мРНК в субтерапевтических и терапевтических концентрациях (0,03–0,3 мг/мл). Оба препарата подавляют высвобождение ПГЕ₂ на 95%. НИМ не влияет на ИЛ-1 β -индуцированное увеличение фактора NF- κ B с/ЕВР и на активность промоторов ЦОГ-2. НИМ нарушал стабильность индуцированной ЦОГ-2 мРНК. Предварительная инкубация ЧСФ со скавенджерами кислородных радикалов или блокаторами кальциевых каналов (верапамил) ослабили эф-

фект НИМ на индуцированную экспрессию ЦОГ-2. НИМ блокирует также иономицин+тапсигаргин-индуцированное увеличение синтеза ЦОГ-2.

Вывод. НИМ угнетает цитокининодуцированную экспрессию ЦОГ-2 в субтерапевтических и терапевтических концентрациях. Частично это действие обусловлено угнетением НИМ пассажа кальциевых каналов и образованием свободных кислородных радикалов, индуцированных цитокинами.

Нейротрансмиттеры изменяют секрецию интерлейкина-6 и -8 синовиальными фибробластами у больных ревматоидным артритом

по сравнению с пациентами с остеоартритом

Raap T., Jüsten H.P., Miller L.E., Cutolo M., Schölm-erich J., Straub R.H. (2000) Neurotransmitter modulation of interleukin 6 (IL) and IL-8 secretion of synovial fibroblasts in patients with rheumatoid arthritis compared to osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 27(11): 2558–2565.

Изучали влияние трансмисмиттеров: вещества Р и пептида, родственного кальцитонину (ПРК), на секрецию интерлейкина (ИЛ)-6 и ИЛ-8 в первичных культурах синовиальных фибробластов (СФ) у больных ревматоидным артритом (РА) и остеоартритом (ОА). СФ больных культивировали *in vitro* при наличии вещества Р и ПРК или в отсутствие таковых. Результаты исследования свидетельствуют, что только в высших концентрациях нейротрансмиттеры стимулировали синтез ИЛ в СФ у пациентов с ОА. У больных РА максимальную стимуляцию синтеза ИЛ в СД обуславливал ПРК. Аденозин, норадреналин, β -эндорфин и метионин-энкефалин угнетали синтез ИЛ.