

**О. В. Залявська**Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці**ДІАГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ  
ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6,  
ІФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  ТА ІЛ-1Ra У СИРОВАТЦІ  
КРОВІ У ХВОРИХ НА РЕАКТИВНИЙ  
АРТРИТ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ****Ключові слова:** реактивний артрит, цитокіни, запалення, імуноферментний аналіз**Резюме.** Досліджено рівні про- та протизапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6, ІФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1Ra) у крові хворих на реактивний артрит (РеА) різної етіології. Виявлено максимальні значення в крові ІЛ-6 і ІФ- $\gamma$  у пацієнтів з реактивним артритом, що протікав на тлі загострення урогенітальної інфекції порівняно з показниками в групах хворих з реактивним артритом на тлі ентероколіту і невстановленої етіології, а також максимальне гальмування експресії протизапального ІЛ-4 і активності ІЛ-1Ra, що вказує на роль дисбалансу цитокінів у розвитку РеА. Показано пряму залежність кількості цитокінів ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$  в крові від ступеня активності РеА.**Вступ**

Реактивні артрити (РеА) – імунозапальні негнійні захворювання суглобів, зумовлені імунними порушеннями після перенесеного інфекційного процесу в кишечнику чи в урогенітальному тракті, які характеризуються однотиповими клінічними проявами і у 15-50% випадків набувають хронічного перебігу [1, 6]. В основі патогенезу реактивного артрити, за результатами багатьох досліджень, лежить дисбаланс цитокінів, але на даний час немає єдиного погляду на імунозалежні механізми розвитку РеА, як і на тип домінуючої імунної відповіді [12]. Цитокіни забезпечують розвиток повноцінної та адекватної запальної реакції в організмі, здійснюють негативну та позитивну регуляцію запалення, є факторами зміни фаз запального процесу [2, 3]. Останнім часом саме з цитокінами (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ), які синтезуються хондроцитами, пов'язують розвиток і перебіг імунозапальних реакцій при реактивних артритах [4, 9]. Важливим завданням сучасної клінічної медицини є оцінка імунного статусу та з'ясування провідних ланок патогенезу даного захворювання за допомогою біохімічних та імунологічних методів дослідження [7].

**Мета дослідження**

З'ясувати рівні ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6, ІФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1Ra у сироватці крові у хворих на реактивний артрит різної етіології та встановити їх вплив на характер перебігу та активність захворювання.

**Матеріал і методи**

З метою оцінки цитокінового профілю було обстежено 38 хворих на РеА урогенітальної етіології на тлі хронічного пієлонефриту (ХП), у фазі загострення (1 група), 52,6% з яких склали жінки, 47,4% - чоловіки. Також було обстежено 12 хворих на РеА на тлі перенесеного ентероколіту (2 група) та РеА не встановленої етіології (11 осіб) (3 група). Залежно від характеру перебігу всі хворі на РеА були розподілені на три групи: із затяжним перебігом (тривалість захворювання від двох місяців до одного року), хронічним (тривалість захворювання більше одного року) і рецидивним перебігом (розвиток суглобової атаки після ремісії захворювання тривалістю не менше шести місяців). Групи хворих були рандомізовані за віком, статтю, тривалістю та активністю захворювань. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб (ПЗО). Дослідження виконували відповідно з етичними принципами проведення біомедичних досліджень за участю людей, викладеними в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Пацієнти дали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Діагноз захворювання встановлювали відповідно до критеріїв ESSG (European Spondyloarthritis Study Group) [11] з використанням Міжнародних критеріїв (4th International Workshop on Reactive Arthritis, Berlin, 1999) [10]. Діагноз ХП базувався на клінічних ознаках (больовий, дизурічний, інтоксикаційний, гіпертензивний синд-

роми), лабораторних (аналізи сечі, проби за Нечипоренком і Зимницьким), рентгенологічних (екскреторна урографія), ультразвукових (сонографія нирок). Обов'язковий обсяг лабораторних досліджень визначався за допомогою уніфікованих методик, затверджених МОЗ України.

Для оцінки цитокінового статусу в обстежених хворих визначали вміст ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6, ІФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1Ra у сироватці крові методом твердофазового імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням моноклональних антитіл (набір реактивів "Diacclone", Франція).

Отримані дані оброблені статистично з використанням критеріїв Стьюдента. Усі показники представлені у вигляді середніх значень з їх середніми похибками ( $M \pm m$ ).

### Обговорення результатів дослідження

Середній вік пацієнтів у роках становив  $32,2 \pm 1,8$ , середня тривалість захворювання в місяцях складала  $20,4 \pm 7,9$ . І ступінь активності РеА був діагностований у 44,7% хворих на РеА, II і III ступінь – у 55,3% хворих.

Рівень цитокінів у сироватці крові обстежених хворих на РеА коливався в широких межах (рис. 1).

Зокрема, у групі хворих на РеА вміст у крові ІЛ-1 $\beta$  перевищував значення у контрольній групі в 1,6 рази ( $p < 0,05$ ), що вказує на роль даного прозапального цитокіна в індукції запалення. Водночас, у хворих I-ї групи та ПЗО спостерігалися близькі дані діапазону середніх значень вмісту в крові протизапального ІЛ-4 ( $p > 0,05$ ). Вміст у крові ІФ- $\gamma$  та ФНП- $\alpha$  статистично вірогідно перевищував показник в групі ПЗО відповідно в 1,7 та 1,5 рази ( $p < 0,05$ ), у той час, як вміст у крові ІЛ-6 у хворих I-ї групи був нижчий від показника в групі контролю у 2,0 рази ( $p < 0,05$ ). Аналогічні зміни спостерігалися і при аналізі показника вмісту в крові ІЛ-1Ra, який був достовірно нижчий у порівнянні з контрольною групою у 2,6 рази ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, встановлено достовірне підвищення рівнів ІЛ-1 $\beta$ , ІФ- $\gamma$  і ФНП- $\alpha$ , а також вірогідне зниження показників вмісту в крові ІЛ-1Ra та ІЛ-6 у групі хворих на РеА у порівнянні з групою контролю вказує на роль дисбалансу прозапальних цитокінів у розвитку РеА.

При порівнянні цитокінового профілю у хворих з різними етіологічними варіантами РеА було виявлено вищий вміст ІЛ-1 $\beta$  у пацієнтів 2-ї (на 22,2%, ( $p < 0,05$ )) та 3-ї груп (на 15,9% ( $p > 0,05$ )) у порівнянні з 1-ю групою хворих. Вміст у крові ІЛ-4 у хворих I-ї групи був максимально пригніченим і суттєво нижчим від показника у хво-

рих 3-ї групи (в 1,6 рази ( $p < 0,05$ )). Максимальний вміст у крові ІЛ-6 серед груп порівняння був зареєстрований теж у 1-й групі хворих, який перевищив показники у 2-й та 3-й групах відповідно у 1,7 та 1,9 рази ( $p < 0,05$ ). Водночас, максимальний вміст у крові ФНП- $\alpha$  у пацієнтів з РеА був встановлений у 3-й групі порівняння, і на 32,6% перевищував показник у хворих на урогенітальні та постентероколітичні РеА ( $p < 0,05$ ) (мал. 2). Зміни вмісту в крові ІФ- $\gamma$  в групах порівняння були невірогідні ( $p > 0,05$ ). Водночас, максимальне пригнічення активності антагоніста рецепторів ІЛ-1 було встановлено у пацієнтів I-ї групи ( $p < 0,05$ ), а максимальні значення в 3-й групі хворих, які відрізнялися від даних у 1-й групі на 24,4% ( $p < 0,05$ ), але були істотно нижчими від показника в контролі.

При вивченні залежності рівнів цитокінів від активності захворювання були встановлені такі результати (рис. 3). Так, вірогідна залежність від ступеня активності РеА була встановлена у відношенні вмісту в крові цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$ , які із зростанням активності запального процесу зростали (відповідно в 1,7 рази, 1,9 та 2,0 рази ( $p < 0,05$ )), а вміст ІФ- $\gamma$  – вірогідно зменшувався (в 1,3 рази ( $p < 0,05$ )). Встановлена пряма кореляційна залежність між вмістом у крові цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$  та вмістом у крові сіалових кислот (відповідно  $r = 0,62$ ,  $r = 0,70$ ,  $r = 0,74$  ( $p < 0,05$ )) та зворотна кореляційна залежність середньої сили щодо вмісту в крові ІФ- $\gamma$  ( $r = -0,55$  ( $p < 0,05$ )).

При дослідженні спектру цитокінів в сироватці крові залежно від характеру перебігу захворювання було виявлено вірогідне підвищення рівнів ІЛ-6 та ІЛ-1 $\beta$  у хворих на РеА хронічного перебігу ( $p < 0,05$ ) [рис. 4]. Відомо, що ІЛ-6 відіграє роль негативного фактора в системі цитокінової регуляції активності нейтрофілів і формує фенотип нейтрофіла, функціонуючого в стихаючому вогнищі запалення, пригнічуючи синтез ФНП- $\alpha$  [8]. Також, спостерігалось зниження рівня протизапального ІЛ-4 та підвищення рівня ІФ- $\gamma$  ( $p < 0,05$ ), який є антагоністом ІЛ-4 [5]. Має місце дефіцит протизапальних цитокінів що веде до розвитку імунодефіциту і сприяє формуванню вогнища хронічного запалення, прогресуванню автоімунного процесу. У групі хворих на РеА із рецидивним перебігом спостерігалось вірогідне зростання протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-1Ra та прозапального ФНП- $\alpha$ . Посилення продукції прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІФ- $\gamma$ ) є необхідною в початкових фазах запалення, однак, коли ступінь активації неадекватно зростає, то захисний механізм переростає в патологічний.

## Висновки

Дослідження цитокінів з використанням імуноферментних діагностичних тест-систем є малоінформативним методом для специфічної діагностики інфекційних, аутоімунних та алергічних захворювань, оскільки це антиген-неспецифічні фактори, але дозволяє отримати інформацію про функціональну активність різних типів імунокомпетентних клітин, оцінити тяжкість запального процесу, його перехід із локального на системний рівень, і є одним із перспективних методів оцінки стану імунної системи організму в клінічній практиці для контролю активності запалення та прогнозу.

## Перспективи подальших досліджень

Вивчення ефективності медикаментозних засобів протизапальної дії щодо корекції та усунення встановлених імунозалежних механізмів.

**Література.** 1. Насонов Е.Л. Реактивные артриты / Е.Л. Насонов // Клинические рекомендации. Ревматология // под ред. Е.Л. Насонова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С. 86–91. 2. Серебрянникова С.Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение № 1) / С.Н. Серебрянникова, И.Ж. Семинский // Сибирский мед. ж. – 2008. – № 6. – С. 5–8. 3. Серебрянникова С.Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение № 2) / С.Н. Серебрянникова, И.Ж. Семинский // Сибирский мед. ж. – 2008. – № 8. – С. 5–8. 4. Abberant TNF secretion by whole blood in healthy subjects with a history of reactive arthritis: time course in adherent and non adherent cultures / [K. Anttonen, A. Orpana, M. Leirisalo-Repo, H. Repo] // Ann. Rheum. Dis. – 2006. – Vol. 65, № 3. – P. 372–378. 5. Alpha beta but not gamma delta T-cell clones in synovial fluids of patients with reactive arthritis show active transcription of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  / [M. Rihl, J. Gu, Baeten D. et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2004. – Vol. 63, № 12. – P. 1673–1676. 6. Childs S.G. Reactive arthritis. Immune-mediated synovitis or joint infection / S.G. Childs // Orthopaedic Nursing. – 2004. – Vol. 23, № 4. – P. 267–273. 7. Different cytokine profiles in patients with chronic and acute reactive arthritis / [I. Butrimiene, S. Jarmalaite, J. Ranceva et al.] // Rheumatology. – 2004. – Vol. 43, № 10. – P. 1300–1304. 8. Gabay G. Interleukin-6 and chronic inflammation / G. Gabay // Arthritis Research & Therapy. – 2006. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. 3–9. 9. Keller C. Cytokines in the seronegative spondyloarthropathies and their modification by TNF blockade: a brief report and literature review / C. Keller, A. Webb, J. Davis // Ann. Rheum. Dis. – 2003. – Vol. 62, № 12. – P. 1128–1132. 10. On the difficulties of establishing a consensus on the definition of and diagnostic investigations for ReA. Results of discussion of a questionnaire prepared for the 4th International Workshop on ReA. Berlin, Germany, July 3–6, 1999 / [J. Braun, G. Kingsley, D. van der Heijde et al.] // J. Rheumatol. – 2000. – Vol. 27, № 9 – P. 2185–2192. 11. Sieper J. Disease mechanisms in reactive arthritis / J. Sieper // Curr. Rheumatol. Rep. – 2004. – Vol. 6, № 2. – P. 110–116. 12. The European Spondyloarthritis Study Group preliminary criteria for the classification of spondyloarthropathies // [Dougados M., van der Linden S., Juhlin R. et al.] // Arthritis Rheum. – 1991. – Vol. 34. – P. 30–1218.

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ И ИЛ-1RA В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НА РЕАКТИВНЫЙ АРТРИТ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

*Е.В. Залаявская*

**Резюме.** В работе показано прямую зависимость количества в крови цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  от степени активности РеА. Установлено максимальные значения в крови ИЛ-6 и ИФ- $\gamma$  у пациентов с реактивным артритом, протекающим на фоне обострения урогенитальной инфекции в сравнении с показателями в группах больных с реактивным артритом на фоне энтероколита и неустановленной этиологии, а также максимальное угнетение экспрессии противовоспалительного ИЛ-4 и активности ИЛ-1Ra.

**Ключевые слова:** реактивный артрит, цитокины, воспаление, иммуноферментный анализ

UDC616.72-002-036-06:616.61-002.2]-085.276

## A DIAGNOSTIC VALUE OF INVESTIGATION OF IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ AND IL-1RA CONTENT IN THE BLOOD SERUM IN REACTIVE ARTHRITIS PATIENTS OF DIFFERENT ETIOLOGY

*O.V. Zaliavska*

**The aim of research.** To study levels of IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  and IL-1Ra in the blood serum in reactive arthritis patients of different etiology and their effects on the activity and clinical course of the disease. **Methods.** 38 patients with reactive arthritis (ReA) have been examined against a background of chronic pyelonephritis (CP) in the exacerbation phase of urogenital infection (group 1). 12 ReA patients with earlier enterocolitis (group 2) and ReA of unknown etiology (11 people – group 3) were also examined. IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  and IL-1Ra content in the blood serum was determined in patients under study by solid-phase enzyme immunoassay method using monoclonal antibodies (“Diaclone” reagents set, France). **Results.** An increase of IL-1 $\beta$ , IF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  levels as well as diminution of IL-6 and IL-1Ra blood count indices in comparison with healthy patients that denotes the implication of a cytokine imbalance in ReA progression has been revealed in patients under study when investigating cytokine status. The direct correlative dependence relation of IL-4, IL-6 and TNF- $\alpha$  blood cytokine count upon ReA activity degree and reverse correlative dependence of medium strength according to IF- $\gamma$  blood count has been defined. Group 1 patients had the highest IL-6 and IF- $\gamma$  blood count according to the indexes of other groups, as well as the maximum expression suppression of anti-inflammatory IL-4 and IL-1Ra activity. **Conclusion.** The usage of the enzyme immunoassay diagnostic test-systems allows to get the information about functional activity of different types of immunocompetent cells; about the complexity of the inflammatory process, its migration from the local to systemic level, and it is one of the most prospective methods of evaluating immune system condition in the clinical experience in order to control the inflammation activity and prognosis.

**Bukovyna State Medical University, Chernivtsi**

*Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol. 12, №4 (46). - P49-51.*

*Надійшла до редакції 01.12.2013*

*Рецензент – проф. О.І.Федів*

*© О.В. Залаявська, 2013*