

УДК 616.72-002-097-07:616.151

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКІНОВОГО СПЕКТРУ КРОВІ У ХВОРИХ НА РЕАКТИВНИЙ АРТРИТ ЗАЛЕЖНО ВІД ЕТІОЛОГІЇ, АКТИВНОСТІ ЗАПАЛЕННЯ ТА НАЯВНОСТІ АНТИГЕНУ HLA-B27

*Хухліна О. С., Залявська О. В.\*  
Буковинський державний медичний університет  
Театральна пл., 2, 58002, Чернівці, Україна  
(отримано 28.03.2013, надруковано 02.07.2013)*

В роботі наведена оцінка залежності цитокінового профілю у хворих на реактивний артрит (РеА) від етіології, активності та наявності антигену HLA-B27. Показано пряму залежність кількості в крові прозапальних цитокінів від ступеня активності РеА та експресії HLA-B27 у хворих із коморбідним перебігом хронічного пієлонефриту, і максимальне їхнє зростання на фоні загострення урогенітальної інфекції.

**Ключові слова:** реактивний артрит, хронічний пієлонефрит, HLA-B27, цитокіни, запалення.

\* zalyavchuk@gmail.com

### Вступ.

В основі патогенезу реактивного артриту лежить дисбаланс цитокінів. Результати багатьох досліджень цитокінового профілю при реактивному артриті (РеА) суперечливі. Так, за даними деяких авторів, антибактеріальна Th1-імунна відповідь (продукція інтерферону гама (ІФ- $\gamma$ ), фактора некрозу-альфа (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-2 (ІЛ-2), ІЛ-12 та ін.) при РеА знижена на користь Th2-імунної відповіді (синтез ІЛ-4, ІЛ-10 та ін.) [1, 2, 3]. Інші науковці вказують на переважання активації прозапальних цитокінів при цьому захворюванні [4, 5, 6, 7]. Таким чином, на даний час немає єдиного погляду на імунозалежні механізми розвитку РеА, як і на тип домінуючої імунної відповіді.

### Мета дослідження.

Дослідити характер цитокінового профілю крові у хворих на реактивний артрит, у т.ч. на тлі урогенітальної інфекції, залежно від етіології, активності, характеру перебігу захворювання і наявності антигену HLA-B27.

### Матеріали і методи.

З метою оцінки цитокінового профілю було обстежено 38 хворих на РеА на тлі хронічної хвороби нирок (ХХН) I-II стадії з наявністю 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). Групи хворих були рандомізовані за віком, статтю, тривалістю та активністю захворювання. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб (ПЗО) відповідного віку і статі.

Для оцінки цитокінового статусу у обстежених хворих визначали вміст ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-18, ІФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1Ra у сироватці крові методом твердофазового імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням моноклональних антитіл (набір реактивів "Diaclone", Франція). У всіх хворих проводилось дослідження крові на наявність антигену HLA-B27 методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Середній вік пацієнтів у роках становив 32,2 $\pm$ 1,8, середня тривалість захворювання в місяцях складала 20,4 $\pm$ 7,9. У 79% обстежених був виявлений HLA-B27. І ступінь активності РеА був діагностований у 44,7% хворих на РеА, II і III ступінь – у 55,3% хворих.

### Результати дослідження.

Рівень цитокінів у сироватці крові обстежених хворих на РеА коливався в широких межах (табл.1). Зокрема, у групі хворих на РеА вміст у крові ІЛ-1 $\beta$  перевищував значення у контрольній групі у 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), що вказує на роль даного прозапального цитокіна у індукції запалення.

**Таблиця 1.** Вміст цитокінів у сироватці крові у хворих на реактивний артрит на тлі хронічного пієлонефриту (M±m)

Показник	Хворі на РеА (n=38)	Контрольна група (n=20)		p
ІЛ-1β, пкг/мл	M±m	59,6±6,32	37,9±2,36	<0,05
ІЛ-4, пкг/мл	M±m	28,6±7,36	29,0±2,71	>0,05
ІЛ-6, пкг/мл	M±m	24,4±7,57	49,72±4,44	<0,05
ФНП-α, пкг/мл	M±m	49,46±7,72	32,18±3,1	<0,05
ІФ-γ, пкг/мл	M±m	46,71±6,22	28,2±2,31	<0,05
ІЛ-1Ra, пкг/мл	M±m	71,25±8,07	187±8,58	<0,05

Водночас, у хворих 1-ї групи та ПЗО спостерігалися близькі дані діапазону середніх значень вмісту у крові протизапального ІЛ-4 ( $p>0,05$ ). Вміст у крові ІФ-γ та ФНП-α статистично вірогідно перевищував показник у групі ПЗО відповідно у 1,7 та 1,5 рази ( $p<0,05$ ), у той час, як вміст у крові ІЛ-6 у хворих 1-ї групи був нижчий від показника у групі контролю у 2,0 рази ( $p<0,05$ ). Аналогічні зміни спостерігалися і при аналізі показника вмісту у крові ІЛ-1Ra, який був достовірно нижчий у порівнянні із контрольною групою у 2,6 рази ( $p<0,05$ ).

Таким чином, встановлено достовірне підвищення рівнів ІЛ-1β, ІФ-γ і ФНП-α, а також вірогідне зниження показників вмісту в крові ІЛ-1Ra та ІЛ-6 у групі хворих на РеА у порівнянні із групою контролю вказує на роль дисбалансу прозапальних цитокінів у розвитку РеА.

При вивченні залежності рівнів цитокінів від активності захворювання були встановлені наступні результати (табл.2).

Так, вірогідна залежність від ступеня активності РеА була встановлена у відношенні вмісту у крові цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП-α, який із зростанням активності запального процесу зростав (відповідно у 1,7 рази, 1,9 та 2,0 рази ( $p<0,05$ )), а вміст ІФ-γ – вірогідно зменшувався (у 1,3 рази ( $p<0,05$ )). Встановлена пряма кореляційна залежність між вмістом у крові цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП-α 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 у відношенні вмісту у крові ІФ-γ ( $r=-0,55$  ( $p<0,05$ )).

**Таблиця 2.** Вміст цитокінів у сироватці крові хворих РеА та хронічний пієлонефрит залежно від активності захворювання (M±m)

Показники	Хворі на РеА	
	I ступінь активності РеА (n=17)	II-III ступінь активності РеА (n=21)
ІЛ-1β, пкг/мл	59,78±5,93	52,42±5,59
ІЛ-4, пкг/мл	21,36±2,05	35,25±4,23 *
ІЛ-6, пкг/мл	16,07±2,63	30,20±3,54 *
ФНП-α, пкг/мл	31,01±2,43	65,28±3,12 *
ІФ-γ, пкг/мл	52,29±4,39	40,66±3,48 *
ІЛ-1Ra, пкг/мл	64,47±3,81	77,66±4,35

Примітка: \* - відмінності вірогідні у порівнянні з показником у групі хворих на РеА із I ступенем активності ( $p<0,05$ ).

Аналіз результатів дослідження вмісту цитокінів у хворих на РеА на тлі хронічного пієлонефриту залежно від наявності HLA-B27 дозволив виявити їх вищий рівень у групі HLA-B27(+) хворих (табл.3).

**Таблиця 3.** Вміст цитокінів у сироватці крові у хворих РеА та хронічний пієлонефрит залежно від наявності гена гістосумісності HLA-B27

Показники	Хворі на РеА	
	HLA-B27(+) (n=29)	HLA-B27(-) (n=9)
ІЛ-1β, пкг/мл	64,96±2,23	52,91±2,02 *
ІЛ-4, пкг/мл	34,25±6,64	24,01±4,58
ІЛ-6, пкг/мл	31,01±2,96	18,12±2,75 *
ФНП-α, пкг/мл	56,04±2,48	42,2±1,39 *
ІФ-γ, пкг/мл	47,58±3,71	43,88±2,93
ІЛ-1Ra, пкг/мл	79,70±3,45	63,25±3,25 *

Примітка: \* - відмінності вірогідні у порівнянні з показником у групі хворих на РеА із наявністю гена гістосумісності HLA-B27 ( $p<0,05$ ).

Зокрема, у HLA-B27-позитивних пацієнтів було встановлено достовірно вищі показники вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-1β ( $p<0,05$ ), ІЛ-6 ( $p<0,05$ ), ФНП-α ( $p<0,05$ ), антагоніста рецептора ІЛ-1 (ІЛ-1Ra) ( $p<0,05$ ) у порівнянні з HLA-B27-негативними пацієнтами. Водночас, статистично значимої залежності у відношенні рівня протизапального цитокіну ІЛ-4 і ІФ-γ ( $p>0,05$ ) у сироватці крові хворих у порівнянні між групами HLA-B27-позитивних та HLA-B27-негативних пацієнтів встановлено не було.

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 1-ї групи був максимально пригніченим і суттєво нижчим від показника у хворих 3-ї групи (у 1,6 раза ( $p < 0,05$ )). 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 раза ( $p < 0,05$ ). 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 ( $p < 0,05$ ) (табл. 4). Зміни вмісту у крові ІФ- $\gamma$  у групах порівняння були невірогідні ( $p > 0,05$ ). Водночас, максимальне пригнічення активності антагоніста рецепторів ІЛ-1 було встановлено у хворих 1-ї групи ( $p < 0,05$ ), а максимальні значення у 3-й групі хворих, які відрізнялися від даних у 1-й групі на 24,4% ( $p < 0,05$ ), але були істотно нижчими від показника у контролі.

**Таблиця 4.** Вміст цитокінів у сироватці крові у хворих РеА залежно етіології

Показники	Хворі на РеА		
	Урогенітальні РеА (n=38)	Постентероколітичні РеА (n=12)	Хворі на РеА не встановленої етіології (n=11)
ІЛ-1 $\beta$ , пкг/мл	53,52 $\pm$ 2,73	65,20 $\pm$ 2,43 *	62,81 $\pm$ 2,43
ІЛ-4, пкг/мл	21,73 $\pm$ 1,62	27,46 $\pm$ 2,14	35,5 $\pm$ 2,52 *
ІЛ-6, пкг/мл	32,11 $\pm$ 2,80	19,95 $\pm$ 2,70 *	16,75 $\pm$ 1,75 *
ФНП- $\alpha$ , пкг/мл	41,75 $\pm$ 3,73	52,04 $\pm$ 7,08	52,37 $\pm$ 2,14 *
ІФ- $\gamma$ , пкг/мл	48,44 $\pm$ 3,21	41,91 $\pm$ 2,59	45,23 $\pm$ 2,62
ІЛ-1Ra, пкг/мл	63,26 $\pm$ 2,26	69,33 $\pm$ 4,61	78,62 $\pm$ 2,67 *

Примітка:

\* - відмінності вірогідні у порівнянні з показником у групі хворих на РеА із наявністю урогенітальної інфекції ( $p < 0,05$ );

\*\* - відмінності вірогідні у порівнянні з показником у групі хворих на РеА після перенесеного ентероколіту ( $p < 0,05$ ).

Важливо відмітити, що група HLA-B27(+) хворих на РеА з не встановленою етіологією потребують постійного динамічного спостереження в зв'язку із потенційною загрозою трансформації захворювання в інші варіанти серонегативних артритів та спондилоартропатій.

#### Перспективи подальших досліджень у даному напрямку.

Отримані в даному дослідженні результати імунологічних змін у хворих на РеА різної етіології, в тому числі на фоні активації урогенітальної інфекції, дають основу для вивчення предикторного значення досліджуваних біомаркерів у механізмах взаємообтяження, хронізації захворювання та розвитку ранніх ускладнень.

#### Висновки.

1. Результати вивчення цитокінового статусу у хворих на реактивний артрит на тлі ХХН: Хронічного пієлонефриту у фазі загострення урогенітальної інфекції свідчать про підвищення рівнів ІЛ-1 $\beta$ , ІФ- $\gamma$  і ФНП- $\alpha$ , а також вірогідне зниження показників вмісту в крові ІЛ-1Ra та ІЛ-6 у порівнянні із групою здорових осіб, що вказує на роль дисбалансу прозапальних цитокінів у розвитку РеА.

2. Встановлена пряма щільна кореляційна залежність вмісту у крові цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$  від ступеня активності РеА на тлі хронічного пієлонефриту та зворотна кореляційна залежність середньої сили у відношенні вмісту у крові ІФ- $\gamma$ .

3. Носійство HLA-B27 антигену у пацієнтів з реактивним артритом на тлі ХХН супроводжується достовірним зростанням показників вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , антагоніста рецептора ІЛ-1 (ІЛ-1Ra) ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з HLA-B27-негативними пацієнтами.

4. У пацієнтів з реактивним артритом, що перебігав на тлі загострення урогенітальної інфекції, було встановлено максимальний вміст у крові ІЛ-6 та ІФ- $\gamma$  у порівнянні з показниками в групах хворих з реактивним артритом на тлі ентероколіту та не встановленої етіології, а також максимальне пригнічення експресії протизапального ІЛ-4 та активності антагоніста рецепторів ІЛ-1.

#### Список опрацьованої літератури:

1. Lower level of synovial fluid interferon- $\gamma$  in HLA-B27-positive than in HLA-B27-negative

- patients with Chlamidia trachomatis reactive arthritis / [S. Bas, T.K. Kvein, N. Buchs [et al.] // Rheumatology. – 2003. – Vol. 3. – P. 461-467.
2. Braun J. Low secretion of tumor necrosis factor alpha, but no other Th1 or Th2 cytokines, by peripheral blood mononuclear cells correlates with chronicity in reactive arthritis / J. Braun, Z. Yin, I. Spiller [et al.] // Arthritis Rheum. – 1999. – Vol. 42, № 10. – P. 2039-2044.
  3. Penttinen M.A. HLA-B27 modulates nuclear factor  $\kappa$ B Activation in human monocytic cells exposed to lipopolysaccharide / M.A. Penttinen, C.I. Holmberg, L. Sistonen, K. Granfors // Arthritis Rheum. – 2002. – Vol. 46, № 8. – P. 2172-2180.
  4. Rihl M. 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 [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2004. – Vol. 63, № 12. – P. 1673-1676.
  5. Goodall J.S. Does HLA-B27 influence the monocyte inflammatory response to lipopolysaccharide? / J.S. Goodall, E. Ellis, G.S.H. Gaston // Rheumatology. – 2007. – Vol. 46, № 2. – P. 232-237.
  6. McRori E. Reiter's Syndrome/ McRori E., Longmore M., Wilkinson I., Torok E.//Oxford Handbook of Clinical Medicine. – Oxford, 2001. – P. 406.
  7. Chlamydiae as etiologic agents in chronic undifferentiated spondylarthritis/Carter J.D., Gerard H.C., Espinoza L.R., Ricca L.R. [et al.] //Arthritis Rheum. – 2009. – № 60. – P. 1311-1316.

#### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СПЕКТРА КРОВИ У БОЛЬНЫХ НА РЕАКТИВНЫЙ АРТРИТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕГО ЭТИОЛОГИИ, АКТИВНОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ И НАЛИЧИЯ АНТИГЕНА HLA-B27

*Хухліна О. С., Залявська О. В.*

*Буковинський державний медичний університет  
Театральна пл., 2, 58002, Чернівці, Україна*

В работе представлена оценка зависимости цитокинового профиля у больных на реактивный артрит (РеА) от этиологии, активности воспаления и наличия антигена HLA-B27. Описано прямую зависимость количества провоспалительных цитокинов в крови от активности РеА и экспрессии HLA-B27 у больных с коморбидным течением хронического пиелонефрита, и максимальное их увеличение на фоне обострения урогенитальной инфекции.

**Ключевые слова:** реактивный артрит, хронический пиелонефрит, HLA-B27, цитокины, воспаление.

#### PECULIARITIES OF BLOOD CYTOKINE SPECTRUM IN THE PATIENTS WITH REACTIVE ARTHRITIS DUE TO ETIOLOGY, INFLAMMATION ACTIVITY AND PRESENCE OF HLA-B27 ANTIGEN

*Khukhlina O. S., Zaliavska O. V.*

*Bukovinian State Medical University  
2, Theatralna Square, 58002, Chernivtsi, Ukraine*

The aim of our study was to investigate the cytokine profile due to the etiology, inflammation activity, and presence of HLA-B27 antigen in the patients with reactive arthritis. The study showed a direct dependence of IL-4, IL-6 and the TNF- $\alpha$  on the degree of activity of ReA with chronic pyelonephritis. The presence of HLA-B27 antigen in the patients with reactive arthritis and chronic pyelonephritis accompanied by an increasing of proinflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$ , IL-6, PNP- $\alpha$ , IL-1R in comparison with the HLA-B27-negative patients. The results of study demonstrated that maximum serum levels of IL-6 and IFN- $\gamma$  in the patients with reactive arthritis that occurred on the background of acute urogenital infection were significantly higher than in the other etiological cases of reactive arthritis.

**Keywords:** reactive arthritis, chronic pyelonephritis, HLA-B27, cytokines, inflammation