

Rola cytokin w etiologii zapalenia kości i stawów

KATARZYNA DUDEK

Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Dudek K.

Role of pro-inflammatory cytokines in the etiology of osteoarthritis

Summary

Osteoarthritis (OA) is a form of arthritis characterized by the destruction (softening, fibrillation, ulceration and degradation) of articular cartilage, sclerosis of subchondral bone, osteophytes, and subchondral cysts and joint inflammation. The disintegration of articular cartilage induces production of pro-inflammatory cytokines (interleukin 1α - IL- 1α , interleukin 1β - IL- 1β , tumor necrosis factor α - TNF- α , interleukin 6 - IL-6, leukemic inhibitor factor - LIF, interleukin 8 - IL-8, interleukin 17 - IL-17, interleukin 18 - IL-18 and others) through the synovial membrane. Cytokines diffuse into the articular cartilage which produces matrix metalloproteinases (MMPs). MMPs play an important role in the destruction of proteoglycans, collagen and cartilage matrix. The above mentioned cytokines take part in the inflammatory and catabolic process of OA because they inhibit cartilage collagen and aggrecan production, stimulate chondrocytes to produce MMPs and inducible NO-synthase (iNO), induce nitric oxide (NO) production, increase the amount of inflammatory cells in the joint, induce and decrease a proliferation of chondrocytes, inhibit proteoglycan synthesis and stimulate their disintegration, induce apoptosis of chondrocytes and decrease their viability. Pro-inflammatory cytokines are very important and promising as objects of future studies for enabling effective therapy of OA patients.

Keywords: osteoarthritis, IL-1, IL-6, TNF- α

Zapalenie kości i stawów (*osteoarthritis*; OA) dotyczy zarówno zwierząt, jak i ludzi. Jest to postępująca choroba zwyrodnieniowa stawów (8), której towarzyszy degradacja chrząstki stawowej, a w następstwie zmiany w kości podchrzęstnej. OA przysparza chorym wielu dolegliwości, uniemożliwiając ich prawidłowe funkcjonowanie. Ogromne znaczenie w terapii OA miałoby odkrycie leków blokujących powstawanie i działanie prozapalnych cytokin (8), dlatego konieczne jest zapoznanie się z właściwościami i wpływem cytokin prozapalnych na funkcjonowanie stawu i kości.

OA jest najbardziej pospolitą formą zapalenia stawów (*arthritis*). Według definicji zaproponowanej w 1995 r., zapalenie kości i stawów polega na zaburzeniu powiązania między degradacją a syntezą chondrocytów chrząstki stawowej, pozakomórkowej macierzy oraz kości podchrzęstnej, będącym skutkiem wielorakich czynników. W rezultacie dochodzi do zmiękczenia, zwłóknienia, owrzodzenia oraz ubytku chrząstki stawowej, a także stwardnienia kości podchrzęstnej, osteofitów oraz podchrzęstnych torbieli, co ostatecznie prowadzi do ujawnienia się procesu chorobowego w postaci bólu stawu, tkliwości uciskowej, ograniczenia ruchu, trzeszczenia oraz sporadycznego wysięku (1).

Wskutek uszkodzenia chrząstki stawowej dochodzi do wyzwolenia produktów jej rozpadu, które inicjują proces zapalny błony maziowej. Zmieniona zapalnie błona maziowa wytwarza cytokiny prozapalne, które za pośrednictwem mazi stawowej przenoszone są do chrząstki stawowej. Natomiast chrząstka stawowa w odpowiedzi na mediatory zapalenia, których funkcję speł-

niają cytokiny prozapalne, wytwarza czynniki uszkadzające ją samą. Do czynników uszkadzających chrząstkę stawową należą przede wszystkim metaloproteinazy (matrix metalloproteinases, MMPs) (2, 8). Do MMPs chrząstki stawowej należą przede wszystkim kolagenazy, z których MMP-1 i MMP-8 odpowiadają za procesy kataboliczne chrząstki stawowej, stromelizyny, z których stromelizyna 1 (MMP-3) rozkłada cząsteczki kolagenu, aktywuje prokolagenazy i bierze udział w degradacji substancji podstawowej chrząstki stawowej oraz żelatynazy, występujące w ludzkich stawach, a szczególnie żelatynaza-A (MMP-2) oraz żelatynaza-B (MMP-9), które przypuszczalnie są odpowiedzialne za degradację substancji podstawowej chrząstki stawowej. MMPs typu błonowego (MMP-16, MMP-17 i MMP-24) są odpowiedzialne za rozkład kolagenu chrząstki stawowej, natomiast agrekanazy uczestniczą w trawieniu białek rdzeniowych wielocząsteczkowych kompleksów proteoglikanów. Ponadto matrylizyna (MMP-7), stromelizyna-3 (MMP-11) oraz metaloelastaza (MMP-12) prawdopodobnie biorą udział w degradacji substancji podstawowej chrząstki stawowej (2). Kolagenaza, żelatynaza i stromelizyna występują w zwiększonej ilości w chrząstce stawowej objętej OA. Na modelu zwierzęcym udowodniono, że blokowanie powyższych enzymów może znacznie zredukować OA (1).

Cytokiny są to niskocząsteczkowe białka modulujące funkcje oraz wzajemne oddziaływanie różnych komórek, którym przekazują sygnał poprzez związanie z odpowiednim receptorem. Kontrolują wszystkie trzy fazy odpowiedzi immunologicznej: indukcyjną, efekto-

rową i wygaszającą. Cytokiny biorą udział w procesach zapalnych organizmu, poprzez wpływ na syntezę prostaglandyn, indukowanie komórek uczestniczących w zapaleniu: makrofagów, neutrofilów i komórek tucznych, aktywację białek ostrej fazy oraz regulowanie ekspresji cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonna (7).

Do najważniejszych cytokin prozapalnych, uczestniczących w procesie zapalenia kości i stawów zaliczamy interleukinę-1 (IL-1), która występuje w dwóch postaciach: jako interleukina-1 α (IL-1 α) i interleukina-1 β (IL-1 β), czynnik martwicy nowotworu- α (TNF- α), interleukinę-6 (IL-6), czynnik hamujący białaczkę (LIF), interleukinę-8 (IL-8), interleukinę-17 (IL-17) oraz interleukinę-18 (IL-18) (8).

IL-1 pobudza chondrocyty do syntezy MMPs macierzy chrząstki stawowej. IL-1 obok innych pozapalnych cytokin, bierze udział w uwalnianiu prostaglandyn oraz aktywatorów plazminogenu, które prowadzą do utraty chrząstki wskutek zapalenia. Na psim modelu OA udowodniono, iż dostawowa iniekcja antagonisty receptora dla IL-1 prowadzi do redukcji ekspresji kolagenazy i w następstwie rozwoju OA. Podczas badań na zwierzętach wykazano, iż zapalenie w OA koreluje z ilością utraconej chrząstki stawowej. IL-1 działa stymulująco na syntazę tlenku azotu (sNO), która występuje w chondrocytach objętych OA oraz w ludzkich chondrocytach stawowych i prowadzi do uwolnienia mediatorów zapalnych m.in. NO. NO jest toksyczny dla chrząstki stawowej (1). Badania z użyciem inhibitorów NO wykazały, że NO odgrywa ważną rolę w działaniu IL-1 i w patologii stawu (10). Ponadto NO zwiększa aktywność MMPs oraz hamuje syntezę makrocząsteczek substancji podstawowej (8). NO stymuluje wytwarzanie prostaglandyny E₂ (PGE₂), która wpływa na metabolizm chrząstki stawowej oraz odpowiada za niektóre efekty tkankowe IL-1. Ponadto indukuje apoptozę chondrocytów (2). Dodatnia korelacja między produkcją NO i zawartością procentową chondrocytów, które uległy apoptozie, wskazuje na udział NO w tym procesie indukowanym przez cytokiny. NO indukuje apoptozę różnych typów komórek poprzez obniżanie mitochondrialnego potencjału błonowego, przez co dochodzi do uwolnienia cytochromu c. Ponadto NO prawdopodobnie indukuje supresję syntezy kolagenu i proteoglikanu oraz wpływa na wzrost ich podatności na uszkodzający wpływ oksydantów np. H₂O₂ (9).

IL-1 odgrywa również ważną rolę w chronicznym zapaleniu stawów, ponieważ hamuje syntezę proteoglikanów. Chociaż zahamowanie działania IL-1 nie zawsze zapobiega wczesnej utracie proteoglikanów, to jednak przyczynia się do redukcji późnych, erozyjnych zmian (10). IL-1 β jest syntetyzowana jako prekursor (pro-IL-1 β) i musi być proteolitycznie przetworzona do postaci aktywnej. U ssaków występuje tylko jedna proteaza, która posiada zdolność wytwarzania dojrzałej postaci cytokiny. Należy ona do rodziny proteaz zależnych od cysteiny i występuje pod nazwą enzymu konwertującego IL-1 β (ICE; Caspase-1). TNF- α , podobnie jak IL-1 β , występuje jako prekursor i jest uwalniany z komór-

rek przez ich proteolityczny rozkład, w aktywnej i rozpuszczalnej postaci, dzięki obecności enzymu konwertującego TNF- α (TACE) i należącego do podrodziny adamalizyn (ADAM) (5).

IL-1 β i TNF- α działają na swoiste receptory powierzchniowe komórki, które w przypadku IL-1 β zlokalizowane są na chondrocytach i fibroblastach błony maziowej, natomiast receptory dla TNF- α występują w błonach większości komórek, oprócz erytrocytów. IL-1 β i TNF- α stymulują degradację macierzy, ponieważ hamują produkcję specyficznych kolagenów chrząstki oraz agrekanów, a także pobudzają chondrocyty do produkcji i wydzielania enzymów proteolitycznych odpowiedzialnych za degradację chrząstki stawowej oraz wpływają stymulująco na wytwarzanie innych cytokin prozapalnych przez komórki chrząstki stawowej i błony maziowej (8). Ponadto pobudzają wytwarzanie PGE₂ oraz należą do głównych czynników odpowiedzialnych za stymulację aktywności MMPs (2, 8). Pod wpływem IL-1 β i TNF- α chondrocyty wytwarzają czynniki odpowiedzialne za procesy zapalne w organizmie: indukowaną syntazę tlenku azotu (iNOS), cyklooksygenazę-2 (COX-2) oraz fosfolipazę A₂ (8). Na zwierzęcych modelach udowodniono, iż IL-1 β spełnia kluczową rolę w destrukcji chrząstki stawowej, natomiast TNF- α kieruje procesem zapalnym, ponieważ jego zahamowanie doprowadza do redukcji stanu zapalnego (5, 6, 8). Zarówno IL-1 β , jak i TNF- α występują w zwiększonej ilości w błonie i płynie maziowym oraz w chrząstce stawowej w OA (6).

Interleukina-6 (IL-6) współdziała z innymi cytokinami prozapalnymi w patologicznym procesie towarzyszącym OA i jest syntetyzowana przez monocyty, komórki śródbłonna, fibroblasty oraz komórki T. Synteza IL-6 jest pobudzana przez IL-1 β oraz TNF- α (3, 6). IL-6 zwiększa liczbę komórek zapalnych w tkance maziowej, stymuluje proliferację chondrocytów oraz wzmacnia działanie IL-1 (wzrost syntezy MMP oraz hamowanie produkcji proteoglikanów) (5, 6, 8). IL-6 w większym stopniu niż IL-1 β stymuluje produkcję białek ostrej fazy. Ponadto pośrednio uczestniczy w degradacji chrząstki stawowej, ponieważ hamuje proliferację chondrocytów oraz tworzenie proteoglikanów, a także pobudza rozpad proteoglikanów aktywowany przez IL-1 β (3).

Na szczególną uwagę zasługuje udział IL-6 w etiologii ludzkiego reumatoidalnego zapalenia stawów (*rheumatoid arthritis*, RA, r.z.s.), które należy do przewlekłych, autoimmunologicznych chorób, charakteryzujących się nagromadzeniem komórek zapalnych w maziówce oraz erozją chrząstki stawowej i kości podchrzęstnej, prowadzących do silnej destrukcji stawu. Cytokiny produkowane przez komórki zapalne odgrywają szczególnie ważną rolę w zapaleniu błony maziowej i destrukcji stawu (3, 9). IL-6 występuje w błonie maziowej, płynie stawowym oraz we krwi w RA i zapoczątkowuje jego rozwój przez wzrost przepuszczalności śródbłonna dla limfocytów, co umożliwia ich migrację do błony maziowej stawu. Podczas badań nad analizą korelacji między stężeniem IL-6 a stężeniem MMPs w surowicy chorych na r.z.s. stwierdzono do-

Tab. 1. Wpływ cytokin prozapalnych na chondrocyty bydłęce oraz produkcję NO (9)

Inkubacja chondrocytów bydłęcych z interleukinami	Żywotność chondrocytów	Apoptoza chondrocytów	Proliferacja chondrocytów	Produkcja NO
IL-1 α	Znaczna redukcja (100 ng/mL)	Mniej znaczna (100 ng/mL)	Zahamowana (10 i 100 ng/mL)	Znacznie zwiększona
TNF- α	Nieznaczna redukcja (100 ng/mL)	Znaczna (100 ng/mL)	Zahamowana (10 i 100 ng/mL)	Indukcja (tylko w wysokich dawkach)
IL-4		Brak	Bez zmian	Brak
IL-6		Brak	Bez zmian	Brak

datnią korelację między stężeniem IL-6 i MMP-1, MMP-3 oraz MMP-9. Ponadto zaobserwowano również dodatnią korelację między stężeniem IL-6 i łącznym stężeniem MMPs (MMP-1, MMP-3 i MMP-6). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż w surowicy chorych na r.z.s. stężenie IL-6 korelowało ze wskaźnikami aktywności choroby: szybkością opadania krwinek czerwonych (OB), stężeniem białka C-reaktywnego (CRP) oraz liczbą obrzękniętych stawów. Ponadto stężenie IL-6 korelowało ze stężeniem IL-1 β oraz TNF- α (3).

W etiologii r.z.s. u zwierząt ważną rolę odgrywają IL-1 α oraz TNF- α . Badania nad reumatoidalnym zapaleniem stawów z wykorzystaniem chondrocytów bydłęcych wykazały destrukcyjny wpływ powyższych cytokin na chondrocyty. Zmiany w proliferacji i apoptozie chondrocytów powodowane przez prozapalne cytokiny mogą mieć bardzo istotne znaczenie w rozwoju degradacji chrząstki stawowej w r.z.s. Zaobserwowano, że IL-1 α oraz TNF- α po inkubacji w wysokich dawkach z chondrocytami bydłęcymi prowadziły do obniżenia żywotności i proliferacji chondrocytów w porównaniu z kontrolą. Ponadto w najwyższej ze stosowanych dawek indukowały produkcję NO przez chondrocyty bydłęce, w odróżnieniu od IL-6. Badania nad wpływem IL-1 α , IL-6 oraz TNF- α na apoptozę chondrocytów bydłęcych wykazały, że IL-1 α oraz TNF- α w najwyższej ze stosowanych dawek indukowały apoptozę chondrocytów, czego nie stwierdzono w przypadku IL-6 (tab. 1) (9).

Podsumowując, można dojść do wniosku, że występuje duża różnica w oddziaływaniu IL-6 na chrząstkę stawową w przypadku ludzkiego i bydłęcego r.z.s. Udo wodniono ponadto, że w r.z.s. występuje przewaga produkcji cytokin prozapalnych (m.in. IL-1 β , TNF- α , IL-8, IL-17) nad wytwarzaniem cytokin o właściwościach przeciwzapalnych (np. IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β). W r.z.s. dochodzi do wzajemnej indukcji IL-1 β i TNF- α , które mogą uczestniczyć w stymulacji produkcji innych cytokin. Na mysim modelu r.z.s., indukowanego iniekcją kolagenu, dzięki zastosowaniu neutralizacji udowodniono, że IL-1 β oraz TNF- α uczestniczą w r.z.s. W przypadku neutralizacji TNF- α doszło do ograniczenia zachorowalności i ciężkiego przebiegu r.z.s., natomiast neutralizacja IL-1 β doprowadziła do

ograniczenia procesu zapalnego oraz zahamowania degradacji chrząstki stawowej. Ponadto neutralizacja IL-1 β oraz TNF- α zredukowała produkcję cytokin prozapalnych (7).

Czynnik hamujący białaczkę (LIF) należy do rodziny IL-6 i jest produkowany przez chondrocyty w odpowiedzi na prozapalne cytokiny, IL-1 β i TNF- α . W OA występuje w błonie i płynie maziowym, stymulując resorpcję proteoglikanów chrząstki stawowej, syntezę MMP oraz komórkową produkcję NO (6).

IL-8 jest syntetyzowana i wydzielana głównie przez neutrofile, posiada silne właściwości chemotaktyczne oraz charakteryzuje się katabolicznym wpływem na chrząstkę stawową (2, 5, 8). IL-8 występuje w makrofagach błony maziowej z OA oraz w chondrocytach. Wzmaga produkcję utleniających i 5-lipoksygenazy produktów oraz synergistycznie z TNF- α znacznie wzmacnia produkcję PGE₂ (5). Synteza IL-6 oraz IL-8 w synowocytach błony maziowej stymulowana jest przez substancję P, która bierze udział w aktywowaniu komórek zapalnych i synowocytów (2).

IL-17 jest nowo odkrytą cytokiną, występującą w postaci homodimeru ze zmiennymi glikozylowanymi polipeptydami, a dystrybucja tkankowa receptora IL-17 (R) jest obecna wszędzie. IL-17 zwiększa produkcję NO w chondrocytach i prawdopodobnie indukuje apoptozę chondrocytów (2, 6, 8).

IL-17 oraz IL-18 pobudzają chondrocyty do produkcji stromelizyny, iNO, COX-2, IL-1 β oraz IL-6, a także wpływają silnie katabolicznie na chrząstkę stawową w odróżnieniu od IL-8, której wpływ niszczący jest niewielki. Ponadto IL-17 i IL-18 wpływają stymulująco na IL-1 β , TNF- α , NO oraz MMPs chrząstki stawowej (2, 8).

Cytokiny prozapalne odpowiedzialne za patogenezę OA stanowią ważny i interesujący obiekt przyszłych badań, zmierzających do zastosowania metod ograniczających wpływy niszczące ze strony cytokin na chrząstkę stawową i kość oraz pozwolą na skuteczną terapię chorych cierpiących na to schorzenie.

Piśmiennictwo

1. Creamer P., Hochberg M. C.: Osteoarthritis. *Lancet* 1997, 350, 503-509.
2. Hrycaj P. Z., Łącki J. K.: Od zwyrodnienia do zapalenia – współczesne poglądy na patogenezę choroby zwyrodnieniowej stawów. *Nowa Medycyna* 2002, 9, 7-16.
3. Klimiuk P. A., Sierakowski S., Chwiećko J.: Stężenie interleukiny 6 (IL-6) w surowicy koreluje ze stężeniem metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2003, 109, 119-122.
4. Malejczyk J.: Budowa i immunologia tkanki chrzęstnej. *Acta Clin.* 2001, 1, 15-22.
5. Martel-Pelletier J.: Proinflammatory mediators and osteoarthritis. *Osteoarthritis Cart.* 1999, 7, 315-316.
6. Martel-Pelletier J.: Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cart.* 1999, 7, 371-373.
7. Maśliński M., Koc A., Ziółkowska M.: Cytokiny w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów (r.z.s.) – nadzieja na leki nowej generacji. *Nowa Medycyna* 1999, 6, 18-21.
8. Roush J. K., McLaughlin R. M., Radlinsky M. A.: Patofizjologia zapalenia kostno-stawowego. *Wet. po Dyplomie* 2003, 4, 10-13.
9. Schuerwegh A. J., Dombrecht E. J., Stevens W. J., Van Offel J. F., Bridts C. H., De Clerck L. S.: Influence of pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ) and anti-inflammatory (IL-4) cytokines on chondrocyte function. *Osteoarthritis Cart.* 2003, 11, 681-687.
10. Van den Berg W. B., van de Loo F., Joosten L. A. B., Arntz O. J.: Animal models of arthritis in NOS2-deficient mice. *Osteoarthritis Cart.* 1999, 7, 413-415.