

Ο ρόλος της ιντερλευκίνης-10 στη ρευματοειδή αρθρίτιδα Θεραπευτικές προοπτικές

A. Γαρυφαλλος

Δ' Παθολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ιπποκράτειο Γ.Π.Ν.Θ.

Περίληψη: Η ιντερλευκίνη-10 (IL-10) είναι μία κυτταροκίνη που εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. Δρα καταστέλλοντας την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μακροφάγων, προάγοντας την Th2 και καταστέλλοντας την Th1 απάντηση των βοηθητικών CD4+ T λεμφοκυττάρων. Με τον τρόπο αυτό ελαττώνει την παραγωγή των φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF-α και η IL-1β. Σε πειραματικά πρότυπα, όπως αυτό της αρθρίτιδας από κολλαγόνο, η IL-10 έδειξε

ότι ασκεί ευνοϊκή επίδραση, αναστέλλοντας τη νόσο και ασκώντας επίσης χονδροπροστατευτική δράση. Στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ) η IL-10 φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ανασταλτικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία. Παρόλα αυτά η χορήγησή της θεραπευτικά σε ασθενείς με ΡΑ, έδειξε ότι ο βιολογικός αυτός παράγοντας δεν φαίνεται να ασκεί σημαντική τροποποιητική θεραπευτική δράση στη νόσο.

Ιπποκράτεια 1999, 3 (3): 116-122

Η ιντερλευκίνη-10 (IL-10) ανήκει στην ομάδα εκείνη των κυτταροκινών που εμφανίζουν κατεξοχήν αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. Γενικά έχει ανασταλτικές ιδιότητες σε πολλά επίπεδα της ανοσιακής απάντησης και αρχικά ανακαλύφθηκε ως μία βασική κυτταροκίνη που παράγεται από τα λεγόμενα Th2 τύπου CD4+ βοηθητικά T λεμφοκύτταρα¹. Είναι γνωστό ότι στα ποντίκια τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα είναι δυνατόν να χωρισθούν σε δύο ομάδες ανάλογα με το είδος των κυτταροκινών που παράγουν: στα Th1, που παράγουν κυρίως IL-2 και ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και στα Th2, τα οποία παράγουν κυρίως IL-4, IL-5, IL-10 και IL-13. Ταυτόχρονα υπάρχει και η Th0 ομάδα των πρόδρομων, αδιαφοροποίητων κυττάρων τα οποία παράγουν και τα δύο είδη των κυτταροκινών. Ανάλογος διαχωρισμός, όχι όμως τόσο σαφής όσο στα ποντίκια και με αρκετούς περιορισμούς, βρέθηκε ότι υπάρχει και στον άνθρωπο. Σε γενικές γραμμές οι Th1 τύπου κυτταροκίνες προάγουν την T εξαρτώμενη κυτταρική ανοσία και την επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησία (DTH), ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα και ευνοούν έτσι την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (proinflammatory cytokines). Αντίθετα οι Th2 τύπου κυτταροκίνες προάγουν την παραγωγή της IgE ανοσοσφαιρίνης, την ενεργοποίηση των ηωσι-

νοφίλων και την απενεργοποίηση των μονοκυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε μία αντιφλεγμονώδη δράση. Επίσης, οι Th2 τύπου κυτταροκίνες προκαλούν ενεργοποίηση των B λεμφοκυττάρων, προάγοντας έτσι τη χυμική ανοσία και την παραγωγή αντισωμάτων. Βασικό ρυθμιστικό ρόλο στην όλη διαδικασία παίζουν από τη μια μεριά η κυτταροκίνη IL-12 η οποία ευνοεί τη στροφή των προδρόμων Th0 T λεμφοκυττάρων προς την παραγωγή Th1 τύπου κυτταροκινών και από την άλλη οι κυτταροκίνες IL-4 και IL-10 οι οποίες ευνοούν την Th2 στροφή^{1,2}. Σήμερα γνωρίζουμε ότι η IL-10 παράγεται κυρίως από τη σειρά των μονοκυττάρων/ μακροφάγων (MN/Mφ). Επίσης, εκτός από τα CD4+, παράγεται και από τα CD8+ T λεμφοκύτταρα, τα κερατινοκύτταρα, τα μεσαγγειακά, καθώς και από διάφορα είδη καρκινικών κυττάρων. Το μόριο της IL-10 εμφανίζει σημαντική ομολογία με το μόριο του ιού Epstein-Barr³.

Επιγραμματικά, θα μπορούσε να αναφερθεί ότι η σημαντικότερη δράση που ασκεί η IL-10 είναι η απενεργοποίηση της αντιγονοπαρουσιαστικής ικανότητας των Mφ, καθώς και της ικανότητας των T λεμφοκυττάρων να απαντούν σε διάφορα αντιγόνα. Η δράση αυτή της IL-10 επιτυγχάνεται μέσω της ελάττωσης της έκφρασης των HLA-DR τάξης II μορίων, καθώς και διαφόρων συνδιεγερτικών μορίων (π.χ. CD40, CD86 κλπ.). Η IL-

10 αναστέλλει επίσης την παραγωγή διαφόρων φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, GM-CSF), διαφόρων χημειοκινών (MIP-1 α και MIP-1 β), καθώς και διαφόρων μεσο-λαβητών της φλεγμονής (της συνθετάσης του NO, ελευθέρων ριζών O₂, προσταγλανδινών κλπ)³. Από την άλλη όμως αυξάνει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των B λεμφοκυττάρων, προάγοντας την παραγωγή αντισωμάτων. Επίσης βρέθηκε ότι αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των κυτταροτοξικών CD8+ T λεμφοκυττάρων, αλλά και την έκφραση των Fc υποδοχέων στα μονοκύτταρα συμβάλλοντας πιθανόν μέσω αυτών, στην αντισωματοεξαρθρώμενη κυτταροτοξικότητα και στην κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Εκτός από την ελάττωση της φλεγμονώδους αντίδρασης, η IL-10 προάγει την αντιφλεγμονώδη απάντηση αυξάνοντας τα επίπεδα του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1 (IL-1Ra), καθώς και του διαλυτού υποδοχέα p75 του TNF- α (sTNFR)⁴.

Ο ρόλος της IL-10 στην παθογένεια διαφόρων νοσημάτων δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένος. Από διάφορα πειραματικά πρότυπα βρέθηκε ότι η χορήγησή της σε πειραματόζωα ελαττώνει την επιβραδυνόμενη υπερευαισθησία στο αντιγόνο της *Leishmania* και προκαλεί επιδείνωση της λοίμωξης από *Listeria* και από μυκοβακτηρίδια. IL-10 knock out ποντίκια εμφανίζουν χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου⁵.

Η ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10 ΣΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ) κλώνοι T λεμφοκυττάρων που έχουν απομονωθεί από την αρθρική μεμβράνη βρέθηκε ότι εμφανίζουν κυρίως Th1 απόκριση. Παρόλα αυτά ο ρόλος της IL-10 φαίνεται ότι παραμένει σημαντικός στη νόσο.

Κατά την έναρξη της αρθρίτιδας από κολλαγόνο βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα της στο αίμα και η εξουδετέρωσή της είχε ως αποτέλεσμα την επιδείνωση των συμπτωμάτων της⁶. Σε ήδη εγκατεστημένη νόσο η χορήγηση της IL-10 ανέστειλε τη διόγκωση των αρθρώσεων, την εξέλιξη της νόσου και ελάττωσε σημαντικά την καταστροφή του χόνδρου. Η ταυτόχρονη χορήγηση anti-TNF μονοκλωνικού αντισώματος (mAb) είχε αθροιστικά αποτελέσματα^{7,8}. Από τους Joosten και συν.⁹ στο ίδιο πειραματικό πρότυπο, δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα από την ταυτόχρονη θεραπευτική χορήγηση IL-10 και IL-4. Η IL-4 από μόνη της δεν εμφάνισε σημαντική επίδραση στην αρθρίτιδα,

ενώ η IL-10 προκάλεσε ελαφρά βελτίωση. Σημαντικά καλύτερα ήταν ωστόσο τα αποτελέσματα, τόσο στην πρήξιμο, όσο και στην εγκατεστημένη νόσο, από το συνδυασμό των δύο βιολογικών παραγόντων. Ο συνδυασμός έδειξε επίσης σημαντική χονδροπροστατευτική δράση, ενώ τα επίπεδα του mRNA του TNF- α και της IL-1 ελαττώθηκαν σημαντικά, τόσο στον αρθρικό ιστό, όσο και στο χόνδρο. Η χορήγηση anti-IL-10 αντισωμάτων επιτάχυνε την εμφάνιση και επιβάρυνε τα συμπτώματα της νόσου, ενώ αντίθετα η χορήγηση anti-IL-4 αντισωμάτων δεν είχε καμμία ουσιαστική επίδραση. Ανάλογα περίπου ήταν και τα αποτελέσματα από το πειραματικό πρότυπο της αρθρίτιδας που προκαλείται από κυτταρικό τοίχωμα στρεπτοκόκκου¹⁰.

Σε αρκετές πρόσφατες μελέτες με το πειραματικό πρότυπο της αρθρίτιδας από κολλαγόνο εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της γονιδιακής θεραπείας, είτε μετά από τοπική, είτε μετά από συστηματική χορήγηση. Σε όλες τις μελέτες τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά^{8,11}. Σε μία πολύ πρόσφατη από τις προαναφερόμενες μελέτες μετά από ενδοφλέβια χορήγηση τμημάτων αδενοϊού που κωδικοποιούσαν IL-10 και sTNFR παρατηρήθηκε μία ισχυρή συνεργική δράση των δύο βιολογικών παραγόντων στην καταστολή της πειραματικής αρθρίτιδας¹². Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα ανάλογων μελετών μετά τοπική χορήγηση αδενοϊού που έφερε το γονίδιο της IL-10, στις οποίες εκτός από την τοπική προστασία των αρθρώσεων, υπήρξαν ενδείξεις καταστολής της νόσου και σε αρθρώσεις που βρίσκονταν μακριά από αυτές στις οποίες είχε γίνει η έγχυση του γονιδίου της IL-10^{13,14}.

Σε άλλες πρόσφατες, επίσης, μελέτες η μεταφορά του γονιδίου της IL-10 σε ανθρώπινους ινοβλάστες από ασθενείς με ΡΑ και η εμφύτευσή τους μαζί με αρθρικό χόνδρο ασθενών σε ποντίκια με σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (SCID mouse), έδειξε ότι η IL-10 ασκεί σημαντική χονδροπροστατευτική δράση¹⁵. Σε ανάλογο πειραματικό πρότυπο φάνηκε ότι η IL-10 και όχι η IL-4, ελαττώνει την έκφραση των ICAM-1 μορίων προσκόλλησης¹⁶.

Η ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10 ΣΤΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Από μελέτες που έγιναν την τελευταία κυρίως πενταετία προκύπτουν αρκετές ενδείξεις για το σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο που ασκεί η IL-10 στη

PA. Σε πολλές βέβαια περιπτώσεις τα ευρήματα δεν είναι τόσο ξεκάθαρα, γεγονός που αντανάκλα την πολυπλοκότητα της νόσου στον άνθρωπο και τη δυσκολία της ερευνητικής προσπάθειας σε σύγκριση με τα διάφορα πειραματικά πρότυπα. Έτσι σε ορισμένες από τις μελέτες αυτές βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα IL-10 στον ορό, αλλά και στο αρθρικό υγρό ασθενών με PA, σε σύγκριση με τα φυσιολογικά άτομα και σε άλλες όχι¹⁷⁻²¹. Τα επίπεδα αυτά σε καμία μελέτη δε συσχετίστηκαν με τη δραστηριότητα και τη βαρύτητα της νόσου. Σε κάποιες μελέτες τα επίπεδα της IL-10 στον ορό συσχετίστηκαν με τους ρευματοειδείς παράγοντες (RF) του ορού και σε *in vitro* μελέτες με την αυτόματη παραγωγή IgM-RF²⁰. Ανάλυση με αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR) έδειξε την έκφραση IL-10 mRNA κυρίως σε μη T λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς. Η έκφραση του mRNA ήταν σημαντικά υψηλότερη σε κύτταρα από το αρθρικό υγρό, σε σύγκριση με τα περιφερικά μονοκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα έκφρασης από τους μάρτυρες^{22,23}. Σε ότι αφορά τον αρθρικό ιστό, σε ανοσοϊστοχημικές μελέτες, βρέθηκε επίσης αυξημένη έκφραση IL-10²⁴. Μακροφάγα από τον αρθρικό ιστό έχουν την ικανότητα αυτόματης παραγωγής IL-10. Οι Isomaki και συν.²⁵ παρατήρησαν ότι την ίδια ικανότητα έδειξαν και μονοκύτταρα από το αρθρικό υγρό ασθενών με PA. Η προσθήκη anti-IL-10 αντισωμάτων στις καλλιέργειες μονοκυττάρων από αρθρικό υγρό είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή IL-1 β , GM-CSF και κυρίως TNF- α . Παρατηρήθηκαν επίσης: αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, αυξημένη έκφραση HLA-DR μορίων και ελάττωση των CD¹⁶ υποδοχέων. Σε μια άλλη μελέτη διαπιστώθηκε ότι η αναστολή της IL-10, προκαλεί ελαττωμένη παραγωγή ανοσοσφαιρινών από μικτές καλλιέργειες μνημονικών CD4+CD45RO+ T λεμφοκυττάρων με B λεμφοκύτταρα. Αντίθετα η προσθήκη IL-10 σε καλλιέργειες μονοκυττάρων από αρθρικό υγρό προκάλεσε ελαττωμένη παραγωγή TNF- α , IL-1 β , GM-CSF και ελαττωμένη έκφραση HLA-DR μορίων, ενώ αύξησε την έκφραση των Fc γ υποδοχέων, CD16 και CD64 από τα μακροφάγα του αρθρικού ιστού. Οι υποδοχείς αυτοί πιθανόν αυξάνουν την κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων. Βρέθηκε επίσης ότι η IL-10 ελαττώνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στο αρθρικό υγρό, τόσο τον αυτόματο όσο και αυτόν που παρατηρείται μετά από προσθήκη IL-2. Το γεγονός αυτό θέτει την υπόνοια ότι η IL-10 καταστέλλει τη λειτουργία τόσο

των μακροφάγων, όσο και των T λεμφοκυττάρων στον αρθρικό ιστό. Από άλλες μελέτες διαπιστώθηκε ότι η IL-10 καταστέλλει την παραγωγή από κυτταρικές καλλιέργειες και άλλων φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-6, η IL-8 και ο G-CSF, ενώ επίσης αναστέλλει την επαγόμενη από την IFN- γ και την IL-1 έκφραση των ICAM-1, VCAM-1 και HLA-DR μορίων²⁶.

Η IL-10 δεν ελαττώνει μόνο την παραγωγή των φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως προαναφέρθηκε, αλλά φαίνεται ότι ενισχύει και τους αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς. Έτσι π.χ. βρέθηκε ότι αυξάνει την παραγωγή του IL-1Ra αλλά και των υποδοχέων p75 του TNF- α ^{27,28}. Αυξάνει επίσης την έκφραση των CD14 μορίων (που αποτελούν τον υποδοχέα του λιποπολυσακχαρίτη-LPS), ενώ ελαττώνει την έκφραση των μορίων CD40 και CD86 (που αποτελούν συνδιεγερτικά μόρια) στα μακροφάγα του αρθρικού υγρού. Το γεγονός αυτό υπογραμίζει την ικανότητα της IL-10 να καταστέλλει την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μακροφάγων του αρθρικού υγρού ακόμα κι όταν αυτά είναι ενεργοποιημένα³⁻⁵.

Ενδιαφέρουσα είναι η συσχέτιση της IL-10 με την παραγωγή των ρευματοειδών παραγόντων. Τα επίπεδα της IL-10 στον ορό, ενώ όπως προαναφέρθηκε δεν συσχετίζονται με τη δραστηριότητα της νόσου, συσχετίστηκαν από τη μια μεριά με τα επίπεδα του IgM-RF παράγοντα στον ορό και από την άλλη με την *in vitro* παραγωγή του από περιφερικά μονοκύτταρα²⁰. Η IL-10 βρέθηκε ότι είναι απαραίτητη για την ωρίμανση των B λεμφοκυττάρων που παράγουν IgM-RF στο περιφερικό αίμα. Περιφερικά μονοκύτταρα από ασθενείς με PA, που έχουν χάσει την ικανότητά τους για αυτόματη παραγωγή RF, σε καλλιέργειες ελεύθερες ορού, την επανακτούν όταν στις καλλιέργειες προστεθεί IL-10. Τέλος πλήρως διαφοροποιημένα πλασματοκύτταρα CD20 CD38+, που υπάρχουν άφθονα στο αρθρικό υγρό, ιδιαίτερα των οροθετικών ασθενών, παράγουν αυτόματα IgM-RF. Η παραγωγή αυτή αυξάνεται σημαντικά παρουσία τύπου B κυττάρων της αρθρικής μεμβράνης μαζί με IL-10. Βρέθηκε μάλιστα ότι η διαδικασία αυτή είναι ανεξάρτητη από την αλληλεπίδραση των συνδιεγερτικών μορίων CD40-CD40L²⁹.

Είναι γνωστό ότι οι ασθενείς με PA εμφανίζουν ελαττωμένη υπερευαισθησία επιβραδυνόμενου τύπου (DTH), αλλά και ελαττωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος ως απάντηση σε διάφορα αντιγόνα (Ag). Έτσι για παράδειγμα είναι γνωστό ότι

τα περιφερικά μονοκύτταρα των ασθενών αυτών δεν αντιδρούν ικανοποιητικά στο Ag της κεκαθαρισμένης φυματίνης (PPD). Ο ελαττωμένος αυτός πολλαπλασιασμός των κυττάρων αυτών διορθώνεται μερικά μόνο με την προσθήκη IL-2 στις καλλιέργειες. Σε μία προσπάθεια να διερευνησουμε το φαινόμενο αυτό, μελετήσαμε σε περιφερικά μονοκύτταρα ασθενών με PA, τον πολλαπλασιασμό και την ταυτόχρονη παραγωγή IL-2 και IL-10 μετά διέγερση με PPD, σε σύγκριση με ομάδα μαρτύρων. Καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι ο ελαττωμένος πολλαπλασιασμός που εμφανίζουν τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος των ασθενών με PA ως απάντηση στην PPD, δεν οφείλεται στις απόλυτες τιμές της IL-2 και της IL-10 που εκκρίνονται από τα κύτταρα αυτά, αλλά περισσότερο στο λόγο IL-2/IL-10³⁰.

Η χονδροπροστατευτική δράση της IL-10 έχει επιβεβαιωθεί από τα διάφορα πειραματικά πρότυπα γονιδιακής θεραπείας. Επίσης τα περιφερικά μονοκύτταρα και τα κύτταρα του αρθρικού υγρού από ασθενείς με PA, όταν διεγερθούν με βακτηριακά Ag, αναστέλλουν τη σύνθεση πρωτεογλυκανών από τον αρθρικό χόνδρο, ένα φαινόμενο που εξαρτάται από την παραγωγή του TNF-α και της IL-1. Σε παρόμοιες καλλιέργειες βρέθηκε ότι η αναστολή αυτή αναστρέφεται με την προσθήκη IL-10. Η IL-10 ασκεί μία απευθείας διεγερτική δράση στη σύνθεση των πρωτεογλυκανών¹⁰.

Ένας άλλος τομέας, ο οποίος διερευνάται, αφορά στον γενετικό έλεγχο της παραγωγής της IL-10. Μελετήθηκε κατά πόσο η παραγωγή της σχετίζεται με συγκεκριμένο πολυμορφισμό μιας περιοχής λειτουργικά ενεργού, που βρίσκεται στον προαγωγέα του γονιδίου (promoter gene). Διαπιστώθηκε η ύπαρξη 3 γονοτύπων από τους οποίους ο ένας (GG) σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή IL-10, ενώ οι υπόλοιποι δύο (GA και AA) με χαμηλή. Κανένας ωστόσο πολυμορφισμός του προαγωγέα του γονιδίου της IL-10 δε σχετίστηκε με αυξημένη επιδεκτικότητα στη νόσο, ούτε με τη βαρύτητα εμφάνισής της. Υπάρχει η πιθανότητα άλλοι γενετικοί παράγοντες, έξω από την περιοχή αυτή, να σχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα που βρέθηκαν στους ασθενείς με PA³¹. Σε μία άλλη μελέτη γίνεται προσπάθεια συσχέτισης της νόσου με συγκεκριμένο πολυμορφισμό δύο γενετικών θέσεων του μικροδορυφορικού DNA και των αλληλόμορφων γονιδίων της IL-10 σε άτομα μάλιστα διαφορετικής γενετικής προέλευσης. Συγκεκριμένος γονότυπος, ο IL-10R2 βρέθηκε ότι παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε όλες τις υπο-

ομάδες των ασθενών, ενώ ο γονότυπος IL-10R3, ο οποίος σχετίζεται με ελαττωμένη παραγωγή IL-10, βρέθηκε ότι υπάρχει σε χαμηλότερη συχνότητα³². Τα αποτελέσματα βέβαια αυτά δεν είναι εύκολο να συνδεθούν με κάποια πιθανή θεωρία ανοσοπαθογένειας της νόσου στην οποία η IL-10 να κατέχει ένα σημαντικό ρόλο. Η PA είναι ένα νόσημα τόσο πολύπλοκο, που θα ήταν απίθανο ένας μικρός πολυμορφισμός μιας βάσης να μπορεί να επηρεάζει τόσο καθοριστικά την ανάπτυξη της νόσου³⁰.

Μία υπόθεση η οποία έχει συζητηθεί σε διάφορες μελέτες, υποστηρίζει την άποψη ότι παρά τα αυξημένα επίπεδα της IL-10 στον αρθρικό ιστό, η κυτταροκίνη αυτή παράγεται σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτά που θα έπρεπε. Το γεγονός αυτό στηρίζεται στις ακόλουθες παρατηρήσεις:

1. Η παραπέρα ελάττωση της παραγωγής των φλεγμονωδών κυτταροκινών με την προσθήκη εξωγενώς IL-10 δείχνει ότι οι υποδοχείς της δεν είναι κεκορεσμένοι.
2. Η έκφραση της IL-10 είναι παρόμοια τόσο στη PA, όσο και στην οστεοαρθρίτιδα.
3. Σε ορισμένες μελέτες βρέθηκαν αντίθετες συσχετίσεις μεταξύ IL-10 και πρωτεϊνών οξείας φάσης ή μεταξύ IL-10 και δραστηριότητας της νόσου μετά θεραπεία με μεθοτρεξάτη.
4. Σε μία μελέτη επίσης η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων IL-10 στο αρθρικό υγρό δεν σχετιζόταν με ελαττωμένα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών.
5. Πρόσφατα δημοσιεύθηκε μελέτη η οποία διερευνά το ρόλο μιας υποομάδας CD4+ T λεμφοκυττάρων που απομονώνεται από το περιφερικό αίμα και από τον αρθρικό ιστό, τα οποία παράγουν αυξημένες ποσότητες IL-10, αλλά όχι IL-2 και IL-4. Στη PA βρέθηκε ότι η υποομάδα αυτή είναι σταθερά ελαττωμένη, γεγονός που διευκολύνει πιθανόν την επικράτηση των Th1 τύπου λεμφοκυττάρων στη νόσο³³.

ΚΑΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΜΕ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10

Η πρώτη κλινική εφαρμογή με τη χορήγηση IL-10 έγινε σε 17 φυσιολογικά άτομα, με σκοπό να διερευνηθούν η ασφάλεια και οι ανοσοτροποποιητικές επιδράσεις της³⁴. Στα άτομα αυτά έγινε εφάπαξ χορήγηση ανθρώπινης IL-10 σε δόσεις 1, 10 ή 25 μg ανά Kg σωματικού βάρους ή placebo. Δεν παρατηρήθηκαν αξιολογες ανεπιθύμητες ενέργειες από τη χορήγηση της IL-10. Μία παροδική ουδετεροφιλία και μονοκυττάρωση εμφανίστηκε με

μέγιστο στις 6 ώρες μετά τη χορήγηση, καθώς και μία πτώση των λεμφοκυττάρων κατά 25%. Η ικανότητα πολλαπλασιασμού των Τ λεμφοκυττάρων μετά διέγερση με μιτογόνο ελαττώθηκε κατά 50% στις ομάδες που έλαβαν τις δόσεις 10 και 25 μg/Kg σωματικού βάρους. Παρατηρήθηκε επίσης μία σημαντική δοσοεξαρτώμενη αναστολή από 65 ως 95% της παραγωγής του TNF-α και της IL-1β σε καλλιέργειες ολικού αίματος, μετά προσθήκη LPS. Δεν υπήρξε αξιολογή μεταβολή στα επίπεδα του IL-1Ra και του p55 sTNF R. Με τη μελέτη αυτή αποδείχθηκε η ασφάλεια στη χορήγηση της IL-10, αλλά και η σημαντική κατασταλτική δράση που ασκεί στην παραγωγή των φλεγμονωδών κυτταροκινών.

Η επόμενη μελέτη αφορούσε στη χορήγηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης IL-10 (rhIL-10) σε 72 ασθενείς με ενεργό ΡΑ και ήταν πολυκεντρική, με αυξανόμενες δόσεις, διπλή τυφλή, ελεγχόμενη με placebo³⁵. Οποιοδήποτε τροποποιητικό φάρμακο της νόσου είχε διακοπεί ένα μήνα πριν από τη χορήγηση της IL-10. Χορηγήθηκαν 0,5, 1, 5, 10 και 20 μg/Kg σωματικού βάρους rhIL-10 ή placebo σε ημερήσιες υποδόριες ενέσεις για 4 εβδομάδες. Ο βιολογικός παράγοντας εμφάνισε καλή ανοχή και δεν ανιχνεύθηκε η ανάπτυξη anti-IL-10 αντισωμάτων. Εμφανίσθηκε όμως μία πτώση των αιμοπεταλίων στα άτομα εκείνα που έλαβαν τις μεγαλύτερες δόσεις. Σε 4 άτομα ο αριθμός των αιμοπεταλίων έπεσε κάτω από 100.000 / mm³. Η διακοπή της θεραπείας είχε ως αποτέλεσμα την επάνοδο των αιμοπεταλίων στο φυσιολογικό. Σε ότι αφορά την αποτελεσματικότητά της, στις 4 εβδομάδες παρατηρήθηκε μία τάση μόνο για ελάττωση της δραστηριότητας της νόσου στην ομάδα που έλαβε τη δόση των 5 μg/Kg σωματικού βάρους. Δηλαδή 3 από τα 8 άτομα (38%) που έλαβαν IL-10 εμφάνισαν βελτίωση, σε σύγκριση με 3 από τα 19 άτομα της ομάδας ελέγχου. Οκτώ εβδομάδες μετά το πέρας της θεραπείας τα άτομα που είχαν λάβει IL-10 είχαν σημαντικά μικρότερη ανάγκη για τη χορήγηση τροποποιητικών φαρμάκων. Επίσης τα επίπεδα των διαλυτών υποδοχέων του TNF (p55 και p75) καθώς και του IL-1Ra, έδειξαν σημαντική αύξηση (p < 0,001 και p < 0,01 αντίστοιχα) μετά τη χορήγηση της υψηλότερης δόσης rIL-10. Επίσης παρατηρήθηκε μία τάση για μικρότερη παραγωγή IL-1β και TNF-α σε καλλιέργειες, μετά διέγερση με φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHS) ή ενδοτοξίνη (LPS). Πρόσφατα δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα από την ιστολογική ανάλυση 10 ασθενών που έλαβαν μέρος στην προαναφερόμενη

μελέτη, επτά από τους οποίους είχαν λάβει placebo, ένας τη δόση των 5 μg και δύο τη δόση των 10μg/Kg βάρους σώματος. Σε κανένα από τα δείγματα δεν παρατηρήθηκε βελτίωση, τόσο στο βαθμό διήθησης με φλεγμονώδη κύτταρα, όσο και στην έκφραση διαφόρων φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1β, IL-6, TNFα) πριν και μετά το τέλος της θεραπείας³⁶.

Συμπερασματικά, η χορήγηση της IL-10 είναι ανεκτή και χωρίς σημαντικές παρενέργειες, αλλά δε φαίνεται να εμφανίζει τα σημαντικά αποτελέσματα, τα οποία έχουν δείξει άλλοι βιολογικοί παράγοντες στη θεραπεία της ΡΑ, όπως το anti-TNF-α αντίσωμα, ο διαλυτός υποδοχέας του TNF, ή ακόμη και ο IL-1Ra. Δεν γνωρίζουμε φυσικά κατά πόσο ο συνδυασμός της IL-10 με άλλους βιολογικούς παράγοντες με παρόμοια δράση, όπως π.χ. η IL-4, που έχουν δείξει ευνοϊκά αποτελέσματα σε πειραματικά πρότυπα, θα μπορούσε να δώσει στον άνθρωπο ανάλογα ικανοποιητικά αποτελέσματα. Οι συνδυασμοί ωστόσο βιολογικών παραγόντων, εκτός από το μεγάλο κόστος, εμπεριέχουν πιθανόν άγνωστους ακόμα, κυρίως μακροπρόθεσμους κινδύνους και θα πρέπει να εφαρμόζονται με πολλή προσοχή και περίσκεψη.

ABSTRACT

Garyfallos A. The role of interleukin-10 in the treatment of rheumatoid arthritis. Hippokratia 1999, 3 (3): 116-122

Interleukin-10 (IL-10) is a cytokine with antiinflammatory and immunoregulatory properties. IL-10 exerts its action through deactivation of the antigen-presenting capacity of the macrophages. It also promotes Th2 and inhibits Th1 response of CD4+ T cells; thus, IL-10 decreases the proinflammatory cytokine synthesis, like those of TNF-α and IL-1β. In several animal models of rheumatoid arthritis (RA), as in collagen-induced arthritis, IL-10 decreased disease activity, and showed chondroprotective effects as well. In human RA, IL-10 seems to play a key inhibitory role in arthritic inflammation. However, when IL-10 was administered therapeutically in RA patients, it showed only a moderate antiinflammatory action.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cytokines. In: Cellular and Molecular Immunology, Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (eds), Philadelphia, WB Saunders, 1997, pp 250-276

2. Miossec P, van den Berg W. Th1/Th2 cytokine balance in arthritis. *Arthritis Rheum* 1997,40:2105-2115
3. Mottonen M, Isomaki P, Saario R, Toivanen P, Punnonen J, Lassila O. Interleukin-10 inhibits the capacity of synovial macrophages to function as antigen-presenting cells. *Br J Rheumatol* 1998,37:1207-1214
4. Keystone E, Wherrey J, Grint P. IL-10 as a therapeutic strategy in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1998,24:629-639
5. St Clair WE. Interleukin-10 treatment for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999,58(Suppl I): I 99- I 102
6. Kasama T, Strieter RM, Lukacs NW, Lincoln PM, Burdick MD, Kunkel SL. Interleukin-10 expression and chemokine regulation during the evolution of murine type II collagen-induced arthritis. *J Clin Invest* 1995,95:2868-2876
7. Walmsley M, Katsikis PD, Abney E, Parry S, Williams RO, Maini RN, Feldman M. Interleukin-10 inhibition of the progression of established collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 1996,39:495-503
8. Brennan FM. Interleukin-10 and arthritis. *Rheumatol* 1999,38:293-297
9. Joosten LA, Lubberts E, Durez P, Helsen MM, Jacobs MJ, Goldman M et al. Role of interleukin-4 and interleukin-10 in murine collagen-induced arthritis. Protective effect of interleukin-4 and interleukin-10 treatment on cartilage destruction. *Arthritis Rheum* 1997,40:249-260
10. van Roon JA, van Roy JL, Gmelig-Meyling FH, Lafeber FP, Bijlsma JW. Prevention and reversal degradation in rheumatoid arthritis by interleukin-10 and interleukin-4. *Arthritis Rheum* 1996,39:829-835
11. Chernajovsky Y. Gene transfer as therapy for rheumatoid arthritis: why, what and how? *Rheumatol* 1999,38:804-806
12. Kim KN, Watanabe S, Ma Y, Thornton S, Giannini EH, Hirsch R. Viral IL-10 and soluble TNF receptor act synergically to inhibit collagen-induced arthritis following adenovirus-mediated gene transfer. *J Immunol* 2000,164:1576-1581
13. Whalen JD, Lechman EL, Carlos CA, Weiss K, Kovesdi I, Glorioso JC, Robbins PD, Evans CH. Adenoviral transfer of the viral IL-10 gene periarticularly to mouse paws suppresses development of collagen-induced arthritis in both injected and uninjected paws. *J Immunol* 1999,162:3625-2632
14. Lechman ER, Jaffurs D, Ghivizzani SC, Gambotto A, Kovesdi I, Mi Z, Evans CH, Robbins PD. Direct adenoviral gene transfer of viral IL-10 to rabbit knees with experimental arthritis ameliorates disease in both injected and contralateral control knees. *J Immunol* 1999,163:2202-2208
15. Mueller-Ladner U, Evans CH, Franklin BN, Roberts CR, Gay RE, Robbins PD, Gay S. Gene transfer of cytokine inhibitors into human synovial fibroblasts in the SCID mouse model. *Arthritis Rheum* 1999,42:490-497
16. Jorgensen C, Apparailly F, Couret I, Canovas F, Jacquet C, Sany J. Interleukin-4 and interleukin-10 are chondroprotective and decrease mononuclear cell recruitment in human rheumatoid synovium in vivo. *Immunol* 1998,93:518-523
17. Lapadula G, Iannone F, Dell' Accio P, Corellia M, Pipitone V. Interleukin-10 in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995,13:629-632
18. Cicuttini FM, Byron KA, Maher D, Wootton AM, Muirden KD, Hamilton JA. Serum IL-4, IL-10 and IL-6 levels in inflammatory arthritis. *Rheumatol Int* 1995, 14:201-206
19. Lacki JK, Klama K, Mackiewicz SH, Mackiewicz U, Muller W. Circulating interleukin-10 and interleukin-6 serum levels in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate or gold salts: preliminary report. *Inflamm Res* 1995,44: 24-26
20. Cush JJ, Splawski JB, Thomas R, McFarlin J, Schulze-Koops H, Davis LS, et al. Elevated interleukin-10 levels in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995,38:96-104
21. Lettesjo H, Nordstrom E, Strom H, Nilsson B, Glinghammar B, Dahlstedt L, Moller E. Synovial fluid cytokines in patients with rheumatoid arthritis or other arthritic lesions. *Scand J Immunol* 1998,48:286-292
22. Cohen SBA, Katsikis PD, Chu CQ, Thomssen H, Webb LMC, Maini RN, Londei M, Feldmann M. High level of interleukin-10 production by the activated T cell population within the rheumatoid synovial membrane. *Arthritis Rheum* 1995,38: 946-952
23. Bucht A, Larsson P, Weisbrot L, et al. Expression of interferon- γ (IFN- γ), IL-10, IL-12 and transforming growth factor-beta (TGF- β) mRNA in synovial fluids from patients in the early and the late phases of rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol* 1996,103:357-367
24. Katsikis PD, Chu CQ, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. Immunoregulatory role of interleukin-10 in rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 1994,179:1517-1527
25. Isomaki P, Luukkainen R, Saario R, Toivanen P, Punnonen J. Interleukin-10 functions as an antiinflammatory cytokine in rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 1996,39:386-395
26. Kawakami A, Eguchi K, Matsuoka N, Tsuboi M, Urayama S, Kawabe Y, et al. Inhibitory effects of interleukin-10 on synovial cells of rheumatoid arthritis. *Immunol* 1997,91:252-259
27. Hart PH, Ahern MJ, Smith MD, et al. Comparison of the suppressive effects of interleukin-10 and interleukin-4 on synovial fluid macrophages and blood monocytes from patients with inflammatory arthritis. *Immunol* 1995,84:536-542
28. Hart PH, Hunt EK, Bonder CS, et al. Regulation of surface and soluble TNF receptor expression on human monocytes and synovial fluid macrophages by IL-4 and IL-10. *Immunol* 1996,157:3672-3680
29. Perez L, Orte J, Brieva JA. Terminal differentiation of spontaneous rheumatoid factor-secreting B cells from rheumatoid arthritis patients depends on endogenous interleukin-10. *Arthritis Rheum* 1995,38:1771-1776
30. Corrigal VM, Garyfallos A, Panayi GS. The relative proportions of secreted interleukin-2 and interleukin-10 determine the magnitude of rheumatoid arthritis T-cell proliferation to the recall antigen tuberculin purified protein derivative. *Rheumatol* 1999,38:1203-1207
31. Coakley G, Mok CC, Hajeer AH, Ollier ER, Turner D, Sinnott PJ, Hutchinson IV, Panayi GS, Lanchbury JS. Interleukin-10 promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis and Felty's syndrome. *Br J Rheumatol* 1998,37:988-991
32. Eskdale J, McNicholl J, Wordsworth P, Jonas B, Huizinga T, Field M, Gallagher G. Interleukin-10 microsatellite polymorphisms and IL-10 locus alleles in rheumatoid arthritis susceptibility. *Lancet* 1998,352:1282-1283
33. Yudoh K, Matsuno H, Nakazawa F, Yonezawa T, Kimura T. Reduced expression of the regulatory CD4+ T cells subset

- is related to Th1/Th2 balance and disease severity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000,43:617-627
34. Chernoff AE, Granowitz EV, Shapiro L, et al. A randomized, controlled trial of IL-10 in humans. Inhibition of inflammatory cytokine production and immune responses. *J Immunol* 1995,154:5492-5499
35. Maini RN, Paulus H, Breedveld FC, et al. rHU1L-10 in subjects with active rheumatoid arthritis (RA): A phase I and cytokine response study. *Arthritis Rheum* 1997,40 (suppl): S224
36. Smeets TJ, Kraan MC, Versendaal J, Breedveld FC, Tak PP. Analysis of serial synovial biopsies in patients with rheumatoid arthritis: description of a control group without clinical improvement after treatment with interleukin-10 or placebo. *J Rheumatol* 1999,26:2089-2093

Αλληλογραφία

Α. Γαρυφαλλός
Εγνατίας 65, 546 31 Θεσσαλονίκη

Corresponding author

Garyfallos A,
65, Egnatia str
546 31 Thessaloniki, Greece