

*Dariusz Bielec, Elżbieta Patorska-Mach, Grażyna Semczuk, Eugeniusz Toruń**

STĘŻENIE INTERFERONU GAMMA I INTERLEUKINY 10 W OSOCZU CHORYCH NA TOKSOPLAZMOZĘ WĘZŁOWĄ

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. med. G. Rzeszowska

*Wojewódzka Stacja Krwiodawstwa w Lublinie

Dyrektor: dr E. Toruń

Mierzono poziom interferonu gamma i interleukiny 10 w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową. Stwierdzono podwyższone stężenie interferonu gamma i niezmienny poziom interleukiny 10 w stosunku do grupy kontrolnej.

Interferon gamma (IFN γ) produkowany jest przez limfocyty T i komórki NK (10, 12). Wykazuje aktywność przeciwwirusową, przeciwpierwotniakową i immunomodulującą. W zarażeniu *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) IFN γ wydaje się być główną cytokiną warunkującą odporność gospodarza. Wykazano, że poprzez indukcję syntezy 2,3-dioksygenazy tryptofanowej obniża wewnątrzkomórkowy poziom tryptofanu i hamuje podziały pierwotniaka (12). IFN γ posiada silny, aktywujący wpływ na makrofagi. Pobudza je do produkcji reaktywnych związków tlenowych, a przy współdziałaniu kachektyny (TNF α) nasila wytwarzanie reaktywnych pochodnych azotowych (2, 7, 13, 14). Zmiany te są podłożem przeciwtoksoplazmowej aktywności makrofagów.

Interleukina 10 (IL 10) wytwarzana jest przez limfocyty T pomocnicze, limfocyty B, monocyty i makrofagi. Jest silnym inhibitorem funkcji makrofagów, ogranicza syntezę reaktywnych pochodnych tlenowych i azotowych (6). Hamuje także wytwarzanie IFN γ przez limfocyty Th1 i komórki NK (4).

Z powyższych danych wynika, że IFN γ i IL 10 wykazują przeciwstawne działanie na efektorowe mechanizmy odporności przeciwtoksoplazmowej.

Celem naszych badań było określenie stężenia IFN γ i IL 10 w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 16 osób (10 kobiet i 6 mężczyzn) w wieku od 16 do 45 lat (średnia wieku 24 lata).

Postać węzłową toksoplazmozy rozpoznawano na podstawie wywiadu, badania fizykalnego i wyników badań dodatkowych. Pacjentom oznaczano dwukrotnie przeciwciała przeciw *T. gondii* w surowicy krwi, każdorazowo wykonując odczyn immunofluorescencji pośredniej, odczyn aglutynacji bezpośredniej i odczyn immunoadsorpcyjny

IgM-ISAGA. U dwóch chorych poszerzono diagnostykę o badanie histopatologiczne węzła chłonnego. Wszyscy pacjenci byli konsultowani przez okulistę i neurologa.

Czas utrzymywania się powiększenia węzłów chłonnych przed ustaleniem rozpoznania toksoplazmozy wynosił od 3 tygodni do 5 miesięcy (średnio 3,5 miesiąca).

Grupę kontrolną stanowiło 16 zdrowych dawców krwi w wieku od 19 do 48 lat (średnia wieku 26 lat).

Próbki krwi do oznaczeń poziomu cytokin pobierano dwukrotnie: pierwszy raz po rozpoznaniu toksoplazmozy węzłowej, a następnie po upływie miesiąca. W tym czasie pacjenci otrzymywali w leczeniu Spiramycynę w dawce 2×3 mln j. na dobę przez 30 dni w połączeniu z Biseptolem 480 podawanym przez 10 dni w dawce 2×1 tabl. na dobę. Próbki krwi pobierano do próbek zawierających EDTA-K. Po odwirowaniu surowice przechowywano w temperaturze -80°C .

Interferon gamma oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA z pomocą zestawu Human IFN γ , R&D Systems, Inc., USA.

Interleukinę 10 wykrywano metodą immunoenzymatyczną ELISA używając zestawu Human ELISA IL 10, Endogen. Inc., USA.

W analizie statystycznej wyników posłużono się testem t-Studenta.

WYNIKI BADAŃ

Stężenie IFN γ w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową w pierwszym badaniu i po upływie miesiąca było istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną (tab. I).

Stężenie IL 10 w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową w porównaniu z grupą kontrolną nie wykazywało statystycznie znamiennych różnic (tab. II).

Tabela I. Stężenie IFN γ w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową w pierwszym badaniu (I) i po upływie miesiąca (II).

Badanie	Stężenie IFN γ (pg/ml) $\bar{x} \pm \text{SD}$
I	56,9 \pm 31,3*
II	51,5 \pm 30,6**
kontrolne	18,7 \pm 2,3

* $t_{\alpha} = 4,42$ $p < 0,001$ w porównaniu z grupą kontrolną

** $t_{\alpha} = 3,87$ $p < 0,001$ w porównaniu z grupą kontrolną

Tabela II. Stężenie IL 10 w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową w pierwszym badaniu (I) i po upływie miesiąca (II).

Badanie	Stężenie IL 10 (pg/ml) $\bar{x} \pm \text{SD}$
I	7,7 \pm 3,9*
II	7,7 \pm 4,5**
kontrolne	6,2 \pm 2,6

* $t_{\alpha} = 1,25$ $p > 0,05$ w porównaniu z grupą kontrolną

** $t_{\alpha} = 1,15$ $p > 0,05$ w porównaniu z grupą kontrolną

OMÓWIENIE

Głównym źródłem IFN γ u ludzi zarażonych *T. gondii* są limfocyty Th1, komórki NK i prawdopodobnie limfocyty T cytotoksyczne CD $_8^+$ (14). Zwiększenie produkcji IFN γ ma charakter długotrwały i może utrzymywać się do 9 miesięcy od klinicznej manifestacji zarażenia (1).

Stwierdzony przez nas podwyższony poziom IFN γ w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową jest zbieżny z danymi z literatury (1, 11). *Reymond* wykazał, że płody ludzkie zarażone *T. gondii* nabywają zdolność do produkcji IFN γ od 21 tygodnia ciąży, obserwował także zwiększenie poziomu tej cytokiny w surowicy krwi kobiet ciężarnych zarażonych *T. gondii* (11).

Przeciwnie do powyższych obserwacji, w surowicy krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z AIDS, u których rozwinęło się toksoplazmowe zapalenie mózgu, nie stwierdzono podwyższonego stężenia IFN γ (1). Fakt ten spowodowany jest prawdopodobnie ubytkiem limfocytów T pomocniczych w przebiegu infekcji HIV.

Monocyty krwi obwodowej izolowane od pacjentów z AIDS wykazują zmniejszoną aktywność przeciwtoksoplazmową. *Delemarre* obserwował wzrost tej aktywności u pacjentów z AIDS leczonych IFN γ , uzyskany efekt zanikał jednak po zakończeniu terapii (3).

Ochronną rolę IFN γ stwierdzono w zakażeniach bakteriami z rodzajów *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Legionella*, mykobakteriozach, chlamydiozie, riketsjozach, w przebiegu malarii, leiszmaniozy, trypanosomatozy amerykańskiej i opryszczkowym zapaleniu mózgu (9).

IL 10 hamuje produkcję cytokin, szczególnie INF γ przez limfocyty Th1 i komórki NK. Jest silnym inhibitorem aktywności makrofagów, ogranicza ich funkcje pomocnicze, zdolność prezentacji antygeny, wytwarzanie cytokin, reaktywnych pochodnych tlenowych i azotowych (5, 6).

W badaniach *in vitro* wykazano, że IL 10 zależnie od dawki hamuje aktywność przeciwtoksoplazmową makrofagów poddanych działaniu IFN γ (6).

W naszych badaniach nie stwierdziliśmy podwyższonego stężenia IL 10 w osoczu chorych na toksoplazmozę węzłową.

Odmienne spostrzeżenia poczyniono w przebiegu zakażenia wirusem Epsteina-Barr. Chorzy na mononukleozę zakaźną posiadają wysokie stężenie ludzkiej i wirusowej IL 10 w surowicy krwi (15). Zjawisko to przyczynia się prawdopodobnie do hamowania odpowiedzi gospodarza i ułatwia wirusowi Epsteina-Barr przetrwanie w zakażonym organizmie.

Podwyższony poziom IL 10 stwierdzono również u chorych na sepsę, szczególnie powikłaną wstrząsem (8).

Przeprowadzone przez nas pomiary stężenia IFN γ i IL 10 u chorych na toksoplazmozę węzłową sugerują, że jednym z mechanizmów odpowiedzi organizmu na zarażenie *T. gondii* jest wzrost poziomu IFN γ w osoczu przy utrzymującym się, niezmiennym w porównaniu z grupą kontrolną, stężeniu IL 10.

D. Bielec, E. Patorska-Mach, G. Semczuk, E. Toruń

THE CONCENTRATIONS OF INTERFERON GAMMA AND INTERLEUKINE 10
IN PLASMA OF THE SICKS WITH LYMPHONODULAR TOXOPLASMOSES

SUMMARY

The concentrations of IFN γ and IL 10 in plasma of sixteen patients with toxoplasmic lymphadenopathy were measured. These examinations were carried out two times in the interval of a month. We found increased level of IFN γ and normal concentrations of IL 10 in both of these terms.

PIŚMIENICTWO

1. *Canessa A., Bono V., Miletich F.*: J. Infect. Dis., 1992, 165, 1168. – 2. *Chang H.R., Grau G.F., Pecherf J.C.*: Immunology, 1990, 69, 33. – 3. *Delemarre F.G., Stevenhagen A., Snijders F.*, et al.: J. Infect. Dis., 1993, 168, 516. – 4. *Fiorentino D.F., Zlatnik A., Vieira P.*, et al.: J. Immunol., 1991, 146, 3444. – 5. *Fiorentino D.F., Zlatnik A., Mosmann T.R.*, et al.: J. Immunol., 1991, 147, 3815. – 6. *Gazzinelli R.T., Oswald I.P., James S.L.*, et al.: J. Immunol., 1992, 148, 1792. – 7. *Langermans J.A., Van der Hulst M.E., Nibbering P.H.*, et al.: J. Immunol., 1992, 148, 568. – 8. *Marchant A., Deviere J., Byl B.*, et al.: Lancet, 1994, 343, 707. – 9. *Murray H.W.*: Ann. Intern. Med., 1988, 108, 595. – 10. *Paliard X., Melefiyt R., Yssel H.*: J. Immunol., 1988, 141, 849.
11. *Raymond J., Poissonnier M.H., Thulliez P.H.*, et al.: J. Clin. Immunol., 1990, 28, 1434. – 12. *Sen G.C., Lengyel P.*: J. Biol. Chem., 1992, 267, 5017. – 13. *Sibley L.D., Adams L.B., Krahenbuhl J.L.*: Res. Immunol., 1993, 144, 38. – 14. *Subauste C.S., Remington J.S.*: Curr. Opin. Immunol., 1993, 5, 532. – 15. *Taga H., Taga K., Wang F.*, et al.: J. Infect. Dis., 1995, 171, 1347.

Adres: Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM, 20-089 Lublin, ul. Biernackiego 9