

# Kaspaza-1 – udział w rozwoju twardziny układowej

## Caspase-1 – a role in an evolution of systemic sclerosis

BOŻENA DZIANKOWSKA-BARTKOWIAK<sup>1</sup>, AGNIESZKA ŻEBROWSKA<sup>2</sup>,  
ELŻBIETA DZIANKOWSKA-ZABORSZCZYK<sup>3</sup>, ELŻBIETA WASZCZYKOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunodermatologii Katedry Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu prof. dr hab. med. Elżbieta Waszczykowska

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry prof. dr hab. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

<sup>3</sup>Pracownia Biostatystyki i Informatyki Medycznej Katedry Medycyny Społecznej i Zapobiegawczej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Pracowni prof. dr hab. med. Wojciech Drygas

### Abstract

Disturbances in the process of apoptosis are implicated among many mechanisms that may influence the development of connective tissue changes in the course of systemic sclerosis (SSc). Cysteine-aspartic acid specific proteases – caspases – are necessary for the proper course of apoptosis. One of them is caspase-1, which plays an important role in cytokine release and development of inflammation. The aim of the study was estimation of caspase-1 serum levels in the group of 17 patients with SSc (9 with limited SSc – lSSc and 8 with diffuse SSc – dSSc) twice during one year observation and in the group of 10 healthy persons as well as evaluation of their correlation with disease activity.

The patients underwent clinical examination and routine laboratory tests. Involvement of internal organs by systemic sclerosis was evaluated by relevant specialists. Antinuclear antibodies were determined by indirect immunofluorescent tests on HEP-2 cells and immunodiffusion in agarose gel. Serum levels of caspase-1 was evaluated by ELISA method with commercially available kit. The obtained results were statistically analysed.

In the examined group of patients with lSSc the duration of Raynaud's phenomenon, as well as skin sclerosis, was significantly longer in comparison to patients with dSSc ( $p < 0.05$ ). The degree of skin sclerosis was significantly more intensive in dSSc group than in lSSc ( $p < 0.05$ ). It was demonstrated that serum levels of caspase-1 were significantly lower in patients with SSc than in the control group ( $61.6 \pm 76.4$  vs  $212.4 \pm 246.2$  pg/ml;  $p < 0.05$ ). Lower levels of the examined caspase were also observed in the patients with lSSc than in dSSc ( $36.5 \pm 59.4$  vs  $89.7 \pm 87.1$  pg/ml;  $p < 0.05$ ). Concentration

### Streszczenie

Wśród wielu mechanizmów mogących wywierać znaczący wpływ na rozwój zmian w tkance łącznej w przebiegu twardziny układowej (systemic sclerosis – SSc) podnoszona jest także rola zaburzeń procesu apoptozy. W jego prawidłowym przebiegu istotne znaczenie odgrywają m.in. wewnątrzkomórkowe proteazy cysteiny – kaspazy. Jedną z nich jest kaspaza 1, która choć nie jest niezbędna w procesie apoptozy, spełnia istotną funkcję w uwalnianiu cytokin i rozwoju procesu zapalnego. Dlatego też celem obecnej pracy było badanie stężenia kaspazy-1 w surowicy 17 chorych z SSc (9 z limited SSc – lSSc i 8 z diffuse SSc – dSSc), 2-krotnie w czasie rocznej obserwacji i w grupie 10 osób klinicznie zdrowych oraz ustalenie korelacji jej stężeń z aktywnością choroby.

Chorzy zostali poddani badaniu klinicznemu. Ponadto przeprowadzono ogólne badania laboratoryjne oraz specjalistyczne, oceniające zajęcie procesem chorobowym narządów wewnętrznych, a także oznaczano przeciwciała przeciwjądrowe (immunofluorescencja na komórkach HEP-2 i immunodyfuzja w żelu agarowym). Stężenie kaspazy-1 oznaczano, stosując metodę ELISA z użyciem komercyjnego kitu. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

W badanej grupie chorych z lSSc stwierdzono istotnie dłużej trwający objaw Raynauada oraz dłużej utrzymywały się stwardnienia skóry w porównaniu z dSSc ( $p < 0,05$ ). Jednak znamienne większe nasilenie stwardnienia skóry obserwowano u pacjentów z postacią dSSc niż lSSc ( $p < 0,05$ ). Wykazano, iż średnie stężenia kaspazy-1 były znamienne niższe w surowicy chorych na SSc ( $61,6 \pm 76,4$  pg/ml) niż w grupie kontrolnej ( $212,4 \pm 246,2$  pg/ml), jak również niższe stężenia stwierdzono u pacjentów z postacią limited SSc ( $36,5 \pm 59,4$  pg/ml)

Adres do korespondencji: dr med. Bożena Dziańska-Bartkowiak, Zakład Immunodermatologii, Katedra i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Medyczny, 90-017 Łódź, ul. Krzemieniecka 5, tel. +48 42 686 79 81, 686 25 70, faks +48 42 688 45 65, e-mail: bozenadz@interia.pl

of this caspase was increased after one year observation (SSc –  $125,5 \pm 103,5$  pg/ml; lSSc –  $91,5 \pm 75,1$  pg/ml; dSSc –  $163,8 \pm 122,0$  pg/ml). Statistical analysis of the obtained results revealed significant correlations ( $p < 0,05$ ) of lower serum levels of caspase-1 with increased skin sclerosis (Total Skin Score – TSS) in the dSSc subgroup ( $\rho = -0,711$ ) and with the number of internal organs involved by the disease in lSSc ( $\rho = -0,709$ ). Serum levels of caspase-1 did not correlate with duration of Raynaud's phenomenon and duration of skin sclerosis.

On the base of obtained results it was suggested that disturbances in serum levels of caspase-1, one of the enzymes initiating the process of apoptosis, may confirm its role in the pathogenesis of systemic sclerosis.

**Key words:** caspase-1, systemic sclerosis.

niż diffuse SSc ( $89,7 \pm 87,1$  pg/ml) ( $p < 0,05$ ). Po upływie roku stężenia badanej kaspazy wzrosły (SSc –  $125,5 \pm 103,5$  pg/ml; lSSc –  $91,5 \pm 75,1$  pg/ml; dSSc –  $163,8 \pm 122,0$  pg/ml). Analiza uzyskanych wyników wykazała istotną korelację ( $p < 0,05$ ) niższych stężeń badanej kaspazy z większym nasileniem stwardnienia skóry (Total Skin Score – TSS) w podgrupie dSSc ( $\rho = -0,711$ ) i z liczbą narządów objętych procesem chorobowym w lSSc ( $\rho = -0,709$ ). Nie stwierdzono natomiast, aby stężenia kaspazy-1 korelowały w znamienny sposób z czasem trwania objawu Raynauada i czasem trwania stwardnień skóry.

Na podstawie uzyskanych wyników badań wysunięto przypuszczenie, że zaburzenia stężenia jednej z inicjujących proces apoptozy – kaspazy-1 może świadczyć o jej udziale w patomechanizmie twardziny układowej.

**Słowa kluczowe:** kaspaza-1, twardzina układowa.

(PDiA 2005; XXII, 4: 167–173)

## Wstęp

Twardzina układowa (*systemic sclerosis* – SSc) jest wielonarządową chorobą tkanki łącznej, w której patomechanizm włóknienia nie został do końca poznany. Postuluje się wpływ różnorodnych czynników, których wzajemne współdziałanie wydaje się być odpowiedzialne za rozwój procesu chorobowego.

W patogenezie twardziny podkreślana jest istotna rola, jaką odgrywają zaburzenia odczynowości komórkowej i humoralnej. W skórze i narządach wewnętrznych chorych z SSc wykrywana jest zwiększona liczba limfocytów T, komórek plazmatycznych, tucznych, makrofagów, eozynofili i bazofili, które poprzez efekt cytotoksyczny, jak również zwiększoną ekspresję niektórych cytokin modyfikują czynność fibroblastów i mogą być odpowiedzialne za uszkodzenie komórek śródbłonka [1]. Szczególna rola przypisywana jest aktywnym limfocytom T pomocniczym HLA DR-dodatnim [2]. W twardzinie gromadzą się one w nadmiernych ilościach głównie wokół zmienionych naczyń krwionośnych i są jednym z czynników stymulujących fibroblasty do wzmożonej produkcji kolagenu [3]. Kahari i Murrell sugerują, że w SSc ogniwnem łączącym różnorodne czynniki patogenetyczne mogą być wolne rodniki generowane przez komórki uczestniczące w procesach zapalnych [4, 5]. Powstają one w wyniku zaburzeń w mikrokrążeniu, uszkodzenia śródbłonek naczyń krwionośnych i niedotlenienia [6]. Na skutek długotrwałego destrukcyjnego działania aktywnych form tlenu w komórkach dochodzi do obkurczenia mitochondriów i uszkodzenia ich grzebienia oraz zniszczenia błon innych organelli komórkowych i fragmentacji jądra, co w konsekwencji prowadzi do obumierania komórki w procesie apoptozy [7]. Połączenie białka powierzchniowego Fas/Apo-1 z ligan-

dem Fas, powodujące zwiększenie ekspresji genu kodującego fosfatazę komórek hemopoetycznych (Hcph) oraz aktywację limfocytów i jest jednym z czynników inicjujących zaprogramowaną śmierć komórek [8] Degradacja DNA spowodowana przez proteolizę inhibitora endonukleazy (ICAD – *inhibitor of caspase-activated Dnase*) doprowadza do aktywacji DNA-zy (CAD – *caspase-activated deoxyribonuclease*), enzymu nasilającego rozpoczętą już destrukcję kwasu DNA [9]. Najnowsze badania wykazały, że zmiany DNA w różnych komórkach nie przebiegają w jednakowy sposób, a wewnątrzkomórkowe proteazy mogą odgrywać zasadniczą rolę w zapoczątkowywaniu apoptozy [10]. Podkreślany jest istotny wpływ specyficznych komórkowych proteaz cysteiny (*cysteine-aspartic acid specific proteases*), nazywanych kaspazami [11]. Wszystkie kaspazy syntetyzowane są w komórkach w formie proenzymatycznej, w postaci zymogenu [10].

Mechanizm apoptozy podlega regulacji zarówno genetycznej, jak i biochemicznej [12]. Obecnie wydaje się, że istnieją co najmniej 2 niezależne, nakładające się na siebie drogi aktywacji apoptozy – receptorowa (zewnątrzpochodna) z aktywacją kaskady kaspaz oraz mitochondrialna (wewnątrzkomórkowa), przebiegająca bez ich udziału [13]. Wiadomo, że enzymy proteolityczne niszczą białka strukturalne i komórki enzymatyczne, jednak ich rola nie została dokładnie poznana.

Kaspaza-1 została określona jako enzym konwertujący interleukinę 1 $\beta$  (*interleukin- $\beta$  converting enzyme* – ICE), prointerleukinę 18 oraz fosfolipazę A2 [14, 15]. Wyniki badań wskazują, że ten enzym proteolityczny, aczkolwiek nie jest niezbędny w procesie apoptozy, to spełnia istotną rolę w uwalnianiu cytokin i rozwoju procesu zapalnego [14, 15].

## Material i metody

Do badań zakwalifikowano 17 chorych z twardziną układową (9 z ISSc i 8 z dSSc), w tym 14 kobiet i 3 mężczyzn w wieku 16–66 lat, którzy spełniali kryteria ACR dla rozpoznania twardziny układowej [16].

Stężenie kaspazy-1 oznaczano 2-krotnie – podczas pierwszego badania i po 12 mies., stosując metodę immunoenzymatyczną (ELISA) z użyciem komercyjnego zestawu firmy Quantikine R&D Systems Inc Minneapolis (USA). Czułość badania oznaczano na 0,68 pg/ml. Grupę kontrolną stanowiło 10 osób klinicznie zdrowych (9 kobiet i 1 mężczyzna) w wieku 25–64 lat.

Badani chorzy i zdrowe osoby wyrazili zgodę na udział w badaniu, na które uzyskano zgodę Komisji Bioetyki przy UM w Łodzi.

Wszyscy pacjenci byli poddani badaniu klinicznemu. Rozległość i nasilenie stwardnień skóry oceniano, stosując skalę punktową *Total Skin Score* (TSS) wg Kahaleha i wsp. (punktacja od 0 do 3, maksymalna liczba punktów – 66) [17].

W celu oceny obecności zmian w poszczególnych narządach wewnętrznych przeprowadzono następujące specjalistyczne badania: scyntygrafia przełyku; EKG, 24-godzinne monitorowanie EKG metodą Holtera (rejestratory FD3, analiza 3 kanałów CS-2, CM-5, IS z użyciem systemu Oxford Medilog Excel –2); echokardiografia serca (z użyciem aparatu H-P 2500), badanie spirometryczne płuc (określano w procentach wartości należącej: natężonej pojemności życiowej – FVC, natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej – FEV<sub>1</sub> i wskaźnika FEV<sub>1</sub>/FVC); zaburzenia wentylacji płuc o typie restrykcyjnym rozpoznawano przy zmniejszeniu FVC poniżej 80% wartości należącej i podwyższonej lub mieszczącej się w granicach normy wartości wskaźnika FEV<sub>1</sub>/FVC; zmiany o charakterze obturacyjnym – przy ograniczeniu wartości FEV<sub>1</sub> i o typie mieszanym, gdy zmniejszenie wartości należnych FVC i FEV<sub>1</sub> było podobne [18]; badanie pojemności dyfuzyjnej tlenu węgla w pojedynczym oddechu (DLCO) z zastosowaniem *Master Laboratory Screen* (Jaeger Toen-

Tab. 1. Charakterystyka kliniczna badanych

Parametr		SSc (n=17)	ISSc (n=9)	dSSc (n=8)	Grupa kontrolna (n=10)
pleć (K/M)		14/3	9/0	5/3	9/1
wiek (lata)	średnio ±SD mediana zakres	44,1±12,7 46 16–66	46±13,0 47 27–66	42±13,0 45,5 16–56	45,2±13,8 45,5 25–64
czas trwania objawu Raynauda (lata)	średnio ±SD mediana zakres	9,1±6,5 7 2–30	11,7±8,0* 9 3–30	6,3±2,7* 6,5 2–11	–
czas trwania stwardnień skóry (lata)	średnio ±SD mediana zakres	3,8±3,1 2 1–13	4,6±3,8 3 1–13	2,9±1,9 2 1–6	–
TSS (punkty) I badanie	średnio ±SD mediana zakres	28,6±13,3 27 14–51	18,1±4,0* 17 14–27	40,2±9,2* 43 27–51	–
TSS (punkty) II badanie	średnio ±SD mediana zakres	23,1±9,7 20 12–46	18,7±6,2* 17 14–32	28,1±10,9* 29 16–46	–
kaspaza-1 (pg/ml) I badanie	średnio ±SD mediana zakres	61,6±76,4# 21,7 0–209,91	36,5±59,4* 7,0 0,0–159,4	89,7±87,1* 54,1 3,7–219,7	212,4±246,2# 100,5 22,6–727,0
kaspaza-1 (pg/ml) II badanie	średnio ±SD mediana zakres	125,5±103,5 96,7 0,9–434,9	91,5±75,1* 78,2 0,9–271,1	163,8±122,0* 132,5 46,6–434,9	–
liczba zajętych narządów i odchylenia w badaniu dodatkowym	średnio ±SD mediana zakres	3,2±1,6 3 1–6	2,9±1,7 2 1–6	3,6±1,5 4 2–5	–
ANA		17	9	8	0

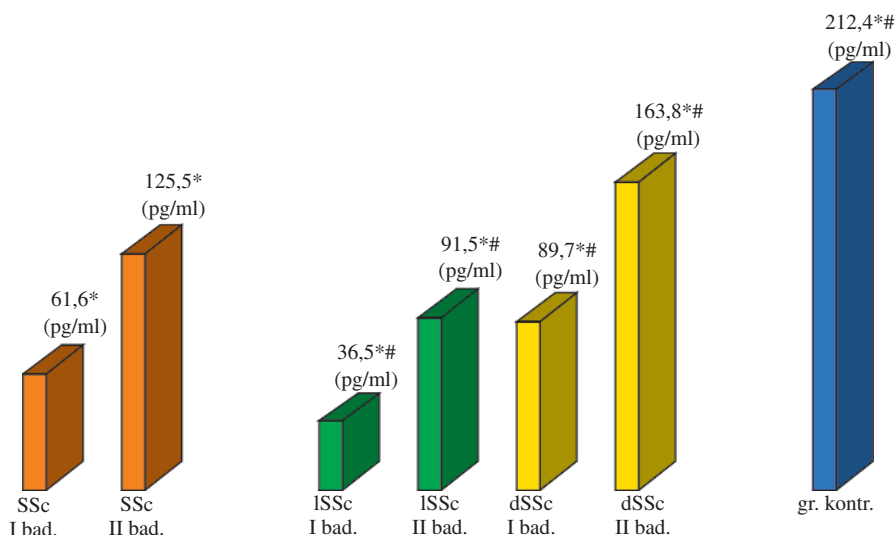
n – liczba badanych; SD – odchylenie standardowe; \* – różnice statystycznie znamienne w porównaniu ISSc i dSSc ( $p < 0,05$ ); # – różnice statystycznie znamienne w porównaniu SSc i grupy kontrolnej ( $p < 0,05$ )

nies, Wuerzburg, Niemcy); wartości wyrażane były w procentach, porównywanych do należnych wartości; radiologiczne badanie klatki piersiowej, kości rąk i stóp.

U wszystkich pacjentów wykonano ponadto badania laboratoryjne, takie jak OB, badanie morfologiczne krwi, badanie ogólne moczu, oznaczenie stężenia mocznika i kreatyniny w surowicy. Określenie rodzaju przeciwciał przeciwjądrowych wykonano na substracie komórek nowotworowych raka krtani HEP-2 (zestaw standardowy firmy Sigma Diagnostics), stosując pośrednią metodę im-

munofluorescencji (IIF). Dokładną ich identyfikację przeprowadzono, wykorzystując metodę podwójnej immunodyfuzji w żelu agarowym (*double immunodiffusion* – DID) wg Ouchterlony’ego wobec ekstraktu grasicy cięcej zawierającej rozpuszczalne antygeny jądrowe [19].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem testu rang Spearmana, Mann-Whitneya oraz Cochran-Coxa w celu porównania par wartości średnich i median. Wartości  $p < 0,05$  uznawano za statystycznie znamienne.



\* – porównanie z grupą kontrolną statystycznie znamienne ( $p < 0,05$ )

# – porównanie w grupach ISSc i dSSc statystycznie znamienne ( $p < 0,05$ )

SSc – Systemic sclerosis; ISSc – limited SSc; dSSc – diffuse SSc; I bad. – pierwszorazowe oznaczenie; II bad. – oznaczenie po 12 mies.

Ryc. 1. Średnie stężenia kaspazy-1 w surowicy badanych pacjentów i w grupie kontrolnej

Tab. 2. Zależności pomiędzy stężeniem kaspazy-1 w surowicy badanych chorych z SSc (I badanie) a czasem trwania objawu Raynauda, stwardnień skóry, stopniem nasilenia stwardnień skóry (TSS) i liczbą zajętych narządów

SSc (n=17)		ISSc (n=9)		dSSc (n=8)	
p	p	p	p	p	p
czas trwania objawu Raynauda					
0,156	0,5	0,301	0,4	0,467	0,2
czas trwania stwardnień skóry					
0,082	0,8	0,026	0,9	0,147	0,7
stopień nasilenia zmian skórnych (TSS)					
0,181	0,5	-0,203	0,6	-0,711*	0,048
liczba zajętych narządów					
0,028	0,9	-0,709*	0,03	0,422	0,3

n – liczba chorych; p – współczynnik rang Spearmana; p – współczynnik istotności statystycznej; \* – zależność statystycznie istotna ( $p < 0,05$ )

## Wyniki

Charakterystykę kliniczną badanych przedstawiono w tab. 1.

Wykazano, że średnie wartości stężenia kaspazy-1 w surowicy były niższe u chorych z SSc ( $61,6 \pm 76,4$  pg/ml) niż u osób klinicznie zdrowych ( $212,4 \pm 246,2$  pg/ml). Stwierdzono także, że w badanej grupie chorych na twardzinę układową były one niższe w grupie chorych z odmianą ISSc ( $36,5 \pm 59,4$  pg/ml) niż u pacjentów z dSSc ( $89,7 \pm 87,1$  pg/ml). Różnice te były statystycznie znamienne ( $p < 0,05$ ) (ryc. 1.). Po 12 mies. badania wykazały wzrost stężeń kaspazy-1 w surowicy badanych pacjentów (SSc –  $125,5 \pm 103,5$  pg/ml; ISSc –  $91,5 \pm 75,1$  pg/ml; dSSc –  $163,8 \pm 122,0$  pg/ml) (ryc. 1.).

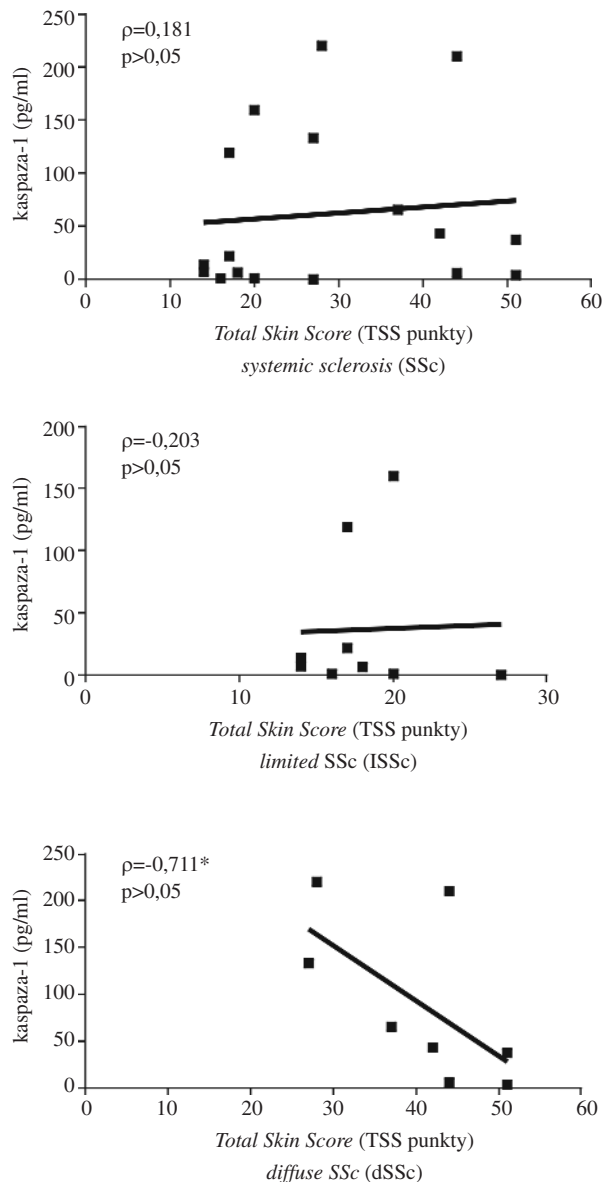
Nie stwierdzono, by stężenia kaspazy-1 korelowały z czasem trwania objawu Raynauda i czasem trwania stwardnień skóry (tab. 2.). Podczas pierwszego badania wykazano natomiast ujemną korelację stężeń kaspazy-1 ze stopniem nasilenia stwardnień skóry ( $\rho = -0,711$ ;  $p < 0,05$ ) (ryc. 2.). Po 12 mies. obserwowano zmniejszenie nasilenia stwardnień skóry i postaci klinicznej *diffuse* SSc w całej badanej grupie (tab. 1.). Zależność pomiędzy ich nasileniem a stężeniem kaspazy-1 była także znamienna i miała charakter dodatni: w SSc ( $\rho = 0,675$ ;  $p = 0,003$ ), ISSc ( $\rho = 0,845$ ;  $p = 0,004$ ) natomiast w dSSc nie była statystycznie znamienna ( $\rho = 0,407$ ;  $p > 0,05$ ) (ryc. 3.).

Dalsza analiza w podgrupie ISSc wykazała korelację o ujemnym charakterze pomiędzy stężeniami kaspazy-1 i liczbą narządów, w których wykazano obecność swoistych zmian oraz odchyień w badaniach dodatkowych ( $\rho = -0,709$ ) (tab. 2.).

## Dyskusja

W ostatnich latach zebrano wiele dowodów na to, że w patogenezie wielu chorób, w tym również kolagenoz, znaczącą rolę odgrywa zaburzony proces eliminacji pobudzonych komórek limfatycznych.

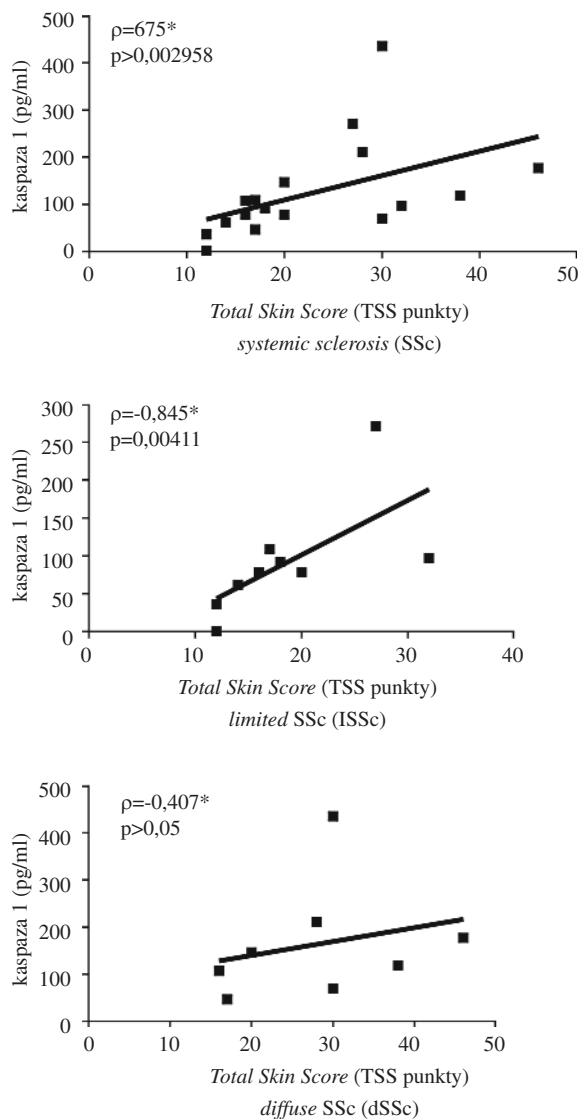
Apoptoza jest jednym z procesów, który odpowiada za stan tolerancji w stosunku do antygenów własnych organizmu. Dzięki niej eliminowane są z ustroju niedojrzałe limfocyty, które posiadają receptory dla epitopów własnych komórek oraz dla antygenów zgodności tkankowej – HLA [20]. Zahamowanie procesu genetycznie zaprogramowanej śmierci komórki doprowadza do nadmiernej aktywacji limfocytów T i B, co jest przyczyną produkcji autooprzeciwciał. Przypuszcza się, że osłabienie lub nasilenie apoptozy może być ważnym czynnikiem patogenetycznym w wielu chorobach [12]. Badania autorów wskazują na istotne znaczenie zaburzeń w regulacji tego procesu, także w rozwoju twardziny układowej [21]. Autorzy podają, że w tej chorobie zmiany zapalne ścian naczyń krwionośnych oraz proliferacja



Ryc. 2. Zależności pomiędzy stopniem stwardnienia skóry i stężeniem kaspazy-1 (I badanie)

fibroblastów mogą być wynikiem zwiększonej produkcji czynników wzrostowych lub obniżonej wrażliwości tych komórek na czynniki indukujące apoptozę [21]. U chorych na twardzinę układową wykazano zwiększoną apoptozę w komórkach jednojądrowych krwi obwodowej [22] oraz zaburzenia ekspresji genu *bcl-2* i ich nieprawidłową odpowiedź na kamptotecynę [23].

Wyniki badań eksperymentalnych wskazują, że odzwierciedleniem nasilenia apoptozy może być stężenie enzymów katabolicznych w surowicy oraz inicjująca rola, jaką kaspazy-1, -4, -5 oraz -11 spełniają w jej rozwoju [23]. Teraki i wsp. podkreślają znaczenie kaspazy



**Ryc. 3. Zależności pomiędzy stopniem stwardnienia skóry i stężeniem kaspazy-1 (II badanie)**

zy-1 w apoptozie indukowanej przez Fas, która w kaskadzie proteaz cysteiny aktywuje proteazę efektorową – kaspazę-3 [10]. Kaspaza-1 jest także enzymem, który pełni istotną rolę w uwalnianiu cytokin i rozwoju zapalenia [24].

Prace niektórych autorów wskazują, że aktywacja kaspaz może być jednym z mechanizmów zapoczątkowujących apoptozę, a kaspaza-1 jest ważnym czynnikiem w rozwoju zapalenia alergicznego [25]. W badaniach przeprowadzonych u chorych z całorocznymi objawami astmy oskrzelowej i/lub alergicznego nieżytu nosa stwierdzono wyższe stężenia kaspazy-1 w surowicy niż u osób zdrowych [25]. Wykazano także korelację stężeń tego en-

zymu z nasileniem apoptozy komórek jednojądrowych izolowanych z krwi obwodowej tych chorych [26].

W dotychczasowym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat badań określających rolę kaspazy-1 w patogenezie twardziny układowej. W niniejszej pracy po raz pierwszy wykazano niższe stężenia kaspazy-1 w surowicy badanych chorych w porównaniu z grupą kontrolną, co potwierdza wpływ zaburzeń w sekrecji tej proteazy na prawidłowy przebieg apoptozy. Prawdopodobnie zmniejszone stężenie tego enzymu jest jednym z czynników hamujących apoptozę w początkowym okresie twardziny, co prowadzi do aktywacji limfocytów. Badania przeprowadzone u chorych z astmą oskrzelową i/lub alergicznym nieżytem nosa i nadwrażliwością na aspirynę wykazały, że zmniejszona apoptoza komórek nacieku zapalnego w polipach nosa jest odzwierciedleniem ważnej roli mechanizmu miejscowego zapalenia i może być związana z utrzymywaniem się i ciężkością choroby u tych pacjentów [27].

Zastanawiano się, czy stosowane leczenie może wpływać na stężenie kaspazy-1 w badanej grupie chorych na twardzinę układową. Badania prowadzone w grupie chorych, u których stosowano leki immunosupresyjne, jak i w grupie pacjentów otrzymujących jedynie leki rozszerzające naczynia i witaminę E, wykazały, że stężenia kaspazy-1 w surowicy były niższe niż w grupie kontrolnej. Kolejne oznaczenie stężenia wykonane po 12 mies. obserwacji, w trakcie kontynuacji terapii, ujawniło jego wzrost. Można zatem wysunąć przypuszczenie, że stosowane leki nie wpłynęły na zmianę mechanizmu genetycznie zaprogramowanej śmierci komórek, a ocena stężeń kaspazy-1 w surowicy chorych może być wykładnikiem aktywności procesu chorobowego. Potwierdzeniem tego przypuszczenia może być wykazanie w trakcie pierwszego badania istotnego związku nasilenia zmian skórnych z niższymi stężeniami kaspazy-1 u chorych z *diffuse* SSc, a u chorych z *limited* SSc z obecnością swoistych zmian w różnych narządach wewnętrznych i odchył w badaniach dodatkowych. Kolejnym dowodem na przydatność oznaczeń stężeń kaspazy-1 jako wykładnika nasilenia procesu chorobowego jest stwierdzenie w czasie drugiego badania znamiennej korelacji pomiędzy jej wyższymi stężeniami i stopniem nasilenia stwardnień skóry.

Uzyskane w trakcie przeprowadzonych badań wyniki mogą sugerować istotną rolę, jaką spełnia kaspaza-1 w przebiegu procesu eliminacji komórek odpowiedzialnych za przebieg fibrynogenezy w twardzinie układowej.

*Praca finansowana z funduszy pracy własnej nr 502-18-344 oraz statutowej nr 503-119-2 UM w Łodzi.*

## Piśmiennictwo

1. White B: Pathogenesis: Immune aspects. In: Clements PJ, Furst DE (eds): Systemic sclerosis. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA, 1996: 229-50.
2. Hausteijn VF, Andereg U: Pathophysiology of scleroderma: an update. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1998; 11: 1-8.
3. LeRoy EC: Increased collagen synthesis by scleroderma fibroblasts in vitro: a possible defect in the regulation or activation of the scleroderma fibroblasts. *J Clin Invest* 1974; 54: 880-9.
4. Kahari VM: Activation of dermal connective tissue in scleroderma. *Ann Med* 1993; 25: 511-8.
5. Murrel D: A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 78-85.
6. Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischaemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255: 260-9.
7. Komosińska K, Olczyk K, Winsz K: Rola wolnych rodników w etiopatogenezie twardziny układowej. *Post Hig Med Dośw* 1997; 51: 285-303.
8. Shultz LD, Schweitzer PA, Rajan TV, et al.: Mutation at murine motheaten locus are within the hematopoietic cell protein-tyrosine phosphatase (Hcph) gene. *Cell* 1993; 73: 1445-8.
9. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, et al.: A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998; 391: 43-50.
10. Teraki Y, Shiohara T: Apoptosis and the skin. *Eur J Dermatol* 1999; 9: 413-26.
11. Salvesen GS, Dixit VM: Caspases: Intracellular signaling by proteolysis. *Cell* 1997; 91 (14): 443-6.
12. Cohen JJ: Overview: mechanisms of apoptosis. *Immunology Today* 1993; 14 (3): 126-30.
13. Susin SA, Dugas E, Ravagnan L, et al.: Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J Exp Med* 2000; 92: 571-80.
14. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, et al.: A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 1992; 356: 768-74.
15. Miwa K, Asano M, Horai R, et al.: Casapase 1 – independent IL-1 $\beta$  release and inflammation induced by the apoptosis inducer Fas ligand. *Nat Med* 1998; 4 (11): 1287-92.
16. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-90.
17. Kahaleh MB, Suttany GL, Smith EA, et al.: A modified scleroderma skin score method. *Clin Exp Rheumatol* 1986; 4: 367-9.
18. Martinez FJ: Badania czynnościowe układu oddechowego. W: Khan MG, Lynch JP (red.). Choroby płuc. Diagnostyka i terapia (wyd. 1. polskie, red. W Droszcz). Urban & Partner, Warszawa, 2000.
19. Ouchterlony O: Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. In: Callos P, Waxman BH (eds) Progress in Allergy. V: 30. New York, Karger, 1962.
20. Stassi G, Todaro M, Demaria R, et al.: Defective expression of CD95 (Fas/APO-1) molecule suggests apoptosis impairment of T and B cells in HLA-B8, DR3-positive individuals. *Human Immunology* 1997; 55: 39-44.
21. Szpringer E, Lutnicki K: Znaczenie apoptozy w wybranych chorobach w dermatologii. *Nowa Medycyna* 2002; 116: 24-32.
22. Czuwara J, Makiela B, Nowicka U i wsp.: Apoptoza w komórkach jednojądrowych krwi obwodowej pacjentów z twardziłą układową. *Przeł Dermatol* 1996; 83: 461-6.
23. Zhivotovsky B, Samali A, Gahm A, et al.: Caspase: their intracellular localization and translocation during apoptosis. *Cell Death Differ* 1999; 8: 644-51.
24. Wang S, Miura M, Yung Y-K, et al.: Murine caspase-11, an ICE-interacting protease, is essential for the activation of ICE. *Cell* 1998; 92: 501-9.
25. Grzegorzczak J: Apoptoza – udział w rozwoju zapalenia alergicznego. *Alergia Astma Immunologia* 2003; 8: 20-3.
26. Grzegorzczak J, Kowalski ML, Piłat A, et al.: Increased apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with perennial allergic asthma/rhinitis: relation to serum markers of apoptosis. *Mediators Inflamm* 2002; 11: 225-33.
27. Kowalski ML, Grzegorzczak J, Pawliczak R, et al.: Decreased apoptosis and distinct profile of infiltrating cells in the nasal polyps of patients with aspirin hypersensitivity. *Allergy* 2002; 57: 493-500.