

УДК 612.017.11:612.112:616.72-002-08-039.73

ВЛИЯНИЕ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И УРОВЕНЬ ОСТЕОТРОПНЫХ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ I–II СТАДИИ**Чепелева М.В., Кузнецова Е.И., Сазонова Н.В.***ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава РФ, Курган, e-mail: marina.barbara7@yandex.ru*

Исследовано влияние комплексного, патогенетически обоснованного консервативного лечения, включающего применение медикаментозной терапии, физиотерапевтических процедур, ЛФК на концентрации сывороточных IL-1 β и TNF α , а также на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у 69 пациентов с идиопатическим остеоартрозом коленного и тазобедренного суставов I–II стадии. Показано, что в процессе лечения на этапе 6 месяцев и более наблюдается снижение содержания сывороточных цитокинов (IL-1 β и TNF α), а также количества активных фагоцитов.

Ключевые слова: остеоартроз, консервативная терапия, иммунная система, цитокины, IL-1 β , TNF α , фагоцитарная активность нейтрофилов крови

THE EFFECT OF CONSERVATIVE TREATMENT ON NEUTROPHIL PHAGOCYtic ACTIVITY AND ON THE LEVEL OF OSTEOTROPIC CYTOKINES IN PATIENTS WITH STAGE I–II OSTEOARTHRISIS**Chepeleva M.V., Kuznetsova E.I., Sazonova N.V.***FSBI Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» (RISC RTO) of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: marina.barbara7@yandex.ru*

The effect of complex pathogenetically substantiated conservative treatment including medicinal therapy, physiotherapeutic procedures, exercise therapy on serum IL-1 β and TNF α concentrations, as well as on phagocytic activity of peripheral blood neutrophils in 69 patients with Stage I–II idiopathic osteoarthritis of the knee and the hip. As it has been demonstrated, the reduction in the content of serum cytokines (IL-1 β и TNF α) and that in the number of active phagocytes is observed during treatment in the period of six months and more.

Keywords: osteoarthritis, conservative therapy, the immune system, cytokines, IL-1 β , TNF α , phagocytic activity of blood neutrophils

Несмотря на большой научный и клинический интерес к проблеме остеоартроза, до настоящего времени не существует целостного представления о патогенезе данного заболевания [5]. В частности, известно, что иммунологический процесс в суставном хряще и синовиальной оболочке развивается параллельно дегенеративно-дистрофическим изменениям в тканях сустава [6, 12].

В последние годы ведётся интенсивный поиск маркеров деградации и репарации суставных тканей, способных дать объективную информацию о течении патологического процесса, позволяющих осуществлять мониторинг консервативного патогенетического лечения, включая оценку хондропротекторных свойств лекарственных препаратов [3, 11]. В связи с этим существенно возрастает актуальность разработки методов диагностики и лечения начальных проявлений остеоартроза.

Цель настоящей работы – изучить влияние комплексного консервативного лечения на уровень сывороточных цитокинов

(IL-1 β и TNF α), а также на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с остеоартрозом крупных суставов I–II стадии и выявить наиболее информативные показатели для оценки эффективности проводимой терапии.

Материалы и методы исследования

Обследовано 69 пациентов с клиническими и рентгенологическими признаками идиопатического остеоартроза коленного и тазобедренного суставов I ($n = 34$) и II стадии ($n = 35$) в возрасте $44,0 \pm 1,87$ лет, обратившихся в поликлинику ФГУ РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова для проведения консервативного лечения, включающего применение хондропротекторов, НПВП, препаратов кальция, физиотерапевтических процедур, ЛФК. Длительность заболевания в среднем составляла $3,0 \pm 1,95$ лет.

В качестве контрольных использовались иммунологические показатели 29 добровольцев аналогичного возраста, у которых отсутствовали клинические признаки остеоартроза. В обследуемую выборку не входили носители вирусов гепатитов В и С, лица с отягощенным аллергическим анамнезом. Иммунологическое обследование проводилось до лечения, через 6 и 12 месяцев после начала комплексной, патогенетически обоснованной, консервативной терапии.

Пациентам проводили общепринятый ортопедический осмотр по О.В. Марксу. Для оценки болевого синдрома использовали визуально-аналоговую шкалу боли (ВАШ), выраженную в процентах; цифровую аналоговую шкалу, выраженную в баллах от 0 до 5 (в покое, в движении и ночью).

Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и публикацию данных, полученных в результате исследования, без идентификации личности. На проведение клинических исследований получено разрешение комитета по этике ФГБУ РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России».

Определение уровня сывороточных цитокинов (IL-1 β , TNF α) осуществлялось методом ИФА с применением диагностических тест-систем ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Забор крови проводился из локтевой вены натощак. Применялась стандартная методика изучения фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН), основанная на количественном определении поглощательной и переваривающей способности нейтрофилов по отношению к микробной тест-культуре (*Staphylococcus epidermidis* штамм № 9198 НИИЭМ). Рассчитывались следующие показатели ФАН:

- фагоцитарный показатель (ФП) – процент активных нейтрофилов, вступивших в фагоцитарную реакцию, к общему числу сосчитанных нейтрофилов (%);
- фагоцитарное число (ФЧ) – среднее количество микробных клеток (*Staphylococcus epidermidis*, штамм № 9198 НИИЭМ), поглощенных одним фагоцитом (у.е.);
- количество активных фагоцитов в одном литре крови (КАФ) (10⁹/л);
- абсолютный фагоцитарный показатель (АФП, 10⁹/л).

Результаты оценивали под иммерсионной системой микроскопа с увеличением 10 \times 90.

Полученные данные обрабатывались с помощью методов непараметрической статистики с использованием U-критерия Вилкоксона и были представлены в виде $M \pm m$.

Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Анализ результатов исследования проводили с помощью программного обеспечения «AtteStat», выполненного как надстройка к «Microsoft Excel» программного продукта «Microsoft Office» (И.П. Гайдышев, 2001).

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящее время большое значение придается координирующей роли цитокинов в пролиферации, росте, дифференцировке, функционировании и деградации клеток и тканей опорно-двигательной си-

стемы и хрящевой ткани в частности. Интерлейкин 1 (IL-1) является ключевым цитокином, активирующим реакцию острой фазы воспаления. Он синтезируется различными типами клеток в ответ на проникновение инфекционных агентов и повреждение тканей. Под влиянием этого цитокина усиливается повреждение хряща при артритах, что связано с повышенной экспрессией металлопротеиназ и индукцией апоптоза хондроцитов через Toll- рецепторы, взаимодействующие с IL-1 [8].

До начала консервативного лечения у пациентов с остеоартрозом крупных суставов I-II стадии концентрация сывороточного IL-1 β не имела достоверных отличий от значений контрольной группы, хотя и имела тенденция к повышению данного показателя (табл. 1).

Статистически значимые отличия были выявлены в отношении сывороточного TNF α , являющегося одним из главных медиаторов костной резорбции и местной воспалительной реакции. Биологические эффекты TNF α сходны с эффектами IL-1. При этом установлено, что TNF α в большей степени ответственен за острое воспаление сустава, а IL-1 – за клеточную инфильтрацию и деструкцию хряща [10].

Согласно результатам наших исследований, концентрация TNF α в периферической крови больных остеоартрозом I-II стадии достоверно превышала контрольные значения ($p < 0,05$).

В последние годы большое внимание уделяется функциональным возможностям клеточных элементов крови и синовиальной жидкости – нейтрофилам (Нф). Известно, что нейтрофилы участвуют в элиминации иммунных комплексов и их активность связана с активностью других компонентов иммунной системы (концентрацией Ig G, интерлейкинами), а благодаря наличию рецепторов к значительному числу эндогенных медиаторов и особенностям своего строения, нейтрофилы реагируют на малейшие изменения постоянства внутренней среды [4].

Таблица 1

Уровень сывороточных цитокинов у пациентов с ОА I-II стадии на этапах консервативного лечения

Показатель	Остеоартроз I-II стадии			Контрольная группа
	До лечения	6 месяцев	12 месяцев	
IL-1 β (пг/мл)	11,5 \pm 6,07	\downarrow 3,0 \pm 2,01*	\downarrow 3,7 \pm 1,91*	3,5 \pm 2,31
TNF α (пг/мл)	\uparrow 8,1 \pm 1,77+	\uparrow 8,1 \pm 1,77+	\downarrow 1,7 \pm 0,33*	2,0 \pm 0,99

Примечания: + – $p < 0,05$ относительно значений контрольной группы; * – $p < 0,05$ относительно показателей, зарегистрированных до начала лечения.

Таблица 2

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов с ОА I-II стадии на этапах консервативного лечения

Показатель	Остеоартроз I-II стадии			Контрольная группа
	До лечения	6 месяцев	12 месяцев	
ФП (%)	88,1 ± 1,33+	↓81,0 ± 2,56*	85,2 ± 2,47	71,0 ± 1,27
ФЧ (%)	9,0 ± 0,28+	8,56 ± 0,47	9,5 ± 0,79	7,3 ± 0,18
КАФ (109/л)	3,28 ± 0,33+	↓2,4 ± 0,31 *	2,71 ± 0,18	2,3 ± 0,19
АФП (109/л)	28,6 ± 2,99+	27,1 ± 4,39	30,3 ± 2,59	24,0 ± 1,99

Примечания: + – $p < 0,05$ относительно значений контрольной группы; * – $p < 0,05$ относительно показателей, зарегистрированных до начала лечения.

Согласно литературным данным, на ранних стадиях остеоартроза наблюдается активация фагоцитарного звена иммунной системы [2], что согласуется с результатами наших исследований и косвенно свидетельствует о наличии воспалительного компонента в патогенезе ОА на данной стадии патологического процесса [1]. В результате взаимодействия продуктов деградации суставного хряща с иммунными клетками образуется большое количество протеолитических и гидролитических ферментов (коллагеназы, катепсина G, эластазы), а также активных метаболитов кислорода (O_2^- , H_2O_2 , OH^+), выделяемых фагоцитирующими лейкоцитами. Протеолитические ферменты, в свою очередь, опосредованно участвуют в формировании воспалительной реакции. Избыточная активация нейтрофилов оказывает повреждающее действие на ткани сустава при остеоартрозе [3, 7, 9].

Статистически значимые изменения ($p < 0,05$) относительно значений контрольной группы были выявлены в отношении ФП, ФЧ, КАФ и АФП (табл. 2).

Основной целью терапии артроза является предотвращение прогрессирования дегенерации хряща и максимально возможное сохранение функции сустава. Лечение должно включать в себя как методы воздействия на местный процесс в суставе, околоуставных тканях, так и на организм в целом. Медикаментозная терапия включала применение хондропротекторов, обладающих способностью ингибировать протеолитические ферменты, стимулировать синтез протеогликанов хондроцитами и гиалуроновой кислоты синовиоцитами, улучшать реологические свойства синовиальной жидкости [11]. Больные получали хондролон или алфлутоп по 1 мл (№ 15) внутримышечно, далее – терафлекс по 2 капсулы 3 раза в сутки на протяжении 3 недель, в последующем – по 1 капсуле

2 раза в сутки в течение 2 месяцев. В комплекс лечебных мероприятий также входили нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), обезболивающее и противовоспалительное действие которых обусловлено угнетением активности циклооксигеназы – ключевого фермента метаболизма арахидоновой кислоты. Нимулид применялся по 1 таблетке 2 раза в сутки в течение 14 дней, диклофенак – по 1 таблетке (25 мг) 3 раза в сутки на протяжении 7 дней. Для профилактики осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта всем пациентам назначался Омез по 1 капсуле перед завтраком на время приёма НПВП. В схему комплексной терапии также входили физиотерапевтические процедуры – электрофорез лекарственных препаратов (новокаин, димексид), ультразвук с гидрокортизоном, лазер, магнитотерапия, которые были направлены на уменьшение болевого синдрома, мышечного спазма, улучшения микроциркуляции и благоприятно воздействовали на метаболические процессы в тканях сустава. Больным остеоартрозами проводился массаж четырехглавой мышцы бедра и задней группы мышц голени, а также лечебная физкультура со щадящими механическими нагрузками на суставы (сидя, лежа) для снижения болевого мышечного спазма и усиления трофики пораженных суставов. Перечисленные лечебные мероприятия осуществлялись в течение 2–3 недель с повторением и были направлены на купирование болевого синдрома.

В результате проведенного лечения у больных объективно наблюдалось улучшение функции суставов, снижение интенсивности болевого синдрома до полного исчезновения болей в суставе, увеличение объема движений в пораженном суставе, уменьшилась или исчезла хромота. В течение срока наблюдения положительные результаты были достигнуты у 87,4%

пролеченных больных. На фоне улучшения клинической симптоматики у больных через 6 месяцев после начала консервативной терапии регистрировалось достоверное снижение уровня сывороточного IL-1 β ($p < 0,05$) (табл. 1), а также ФЧ ($p < 0,05$) и КАФ ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 12 месяцев после проведения консервативной терапии было выявлено снижение концентрации TNF α ($p < 0,05$), уровень сывороточного IL-1 β ($p < 0,05$) по-прежнему оставался сниженным. В то же время поглотительная активность нейтрофильных фагоцитов (АФП) и их процентное содержание (ФП) на данном этапе возвращались к исходным значениям, что косвенно свидетельствовало о том, что дегенеративно-дистрофические процессы, обусловленные биохимическими, иммунологическими и механическими изменениями в тканях сустава, продолжают развиваться. Следовательно, для достижения стойкого результата лечения ОА I–II стадии необходим длительный курс терапевтических мероприятий, а для оценки эффективности проводимой терапии можно использовать иммунологические тесты.

Заключение

Проведение комплексной, патогенетически обоснованной, консервативной терапии, включающей применение хондропротекторов, НПВП, препаратов кальция, физиотерапевтических процедур, ЛФК, оказывает влияние на уровень сывороточных цитокинов – IL-1 β и TNF α , в наибольшей степени причастных к процессам резорбции костной ткани, а также снижает антигенную нагрузку, что приводит к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов.

Для оценки эффективности лечебных мероприятий у пациентов с остеоартрозом крупных суставов I–II стадии в амбулатор-

но-поликлинических условиях рекомендуется исследование сывороточных цитокинов IL-1 β и TNF α , а также показателей фагоцитоза (ФЧ, ФП, КАФ и АФП) до лечения и в процессе проведения консервативной терапии.

Список литературы

1. Клековкина Е.В. Медиаторы иммунного воспаления в крови и синовиальной жидкости у больных остеоартрозом и ревматоидным артритом / Е.В. Клековкина, Б.Ф. Немцов // Цитокины и воспаление. – 2006. Т. 5, № 3. – С. 49–54.
2. Клинико-иммунологические маркеры деформирующего остеоартроза / И.В. Коктыш и др. // Иммунология. – 2007. – Т. 9, № 2–3. – С. 322–323.
3. Корнилов Н.Н. Современные взгляды на этиопатогенез, принципы диагностики и консервативную терапию дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава / Н.Н. Корнилов, К.А. Новоселов, Н.В. Корнилов // Травматология и ортопедия России. – 2002. – № 2. – С. 47–59.
4. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1989. – 344 с.
5. Насонова В.А. Проблема остеоартроза в XXI веке // Сибир. мед. журн. – 2001. – Т. 16, № 3–4. – С. 5–9.
6. Чепелева М.В. Концентрации иммуноглобулинов и цитокинов в синовиальной жидкости пациентов с остеоартрозом при наличии и отсутствии клинических признаков синовита / М.В. Чепелева, Н.В. Сазонова, Е.И. Кузнецова // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – Т. 35, № 2. – С. 69–72.
7. Bekke S. The pathogenesis of rapidly destructive coxarthrosis // Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi. – 1991. – Vol. 9. – P. 720–730.
8. Cytokines, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta, differentially regulate apoptosis in osteoarthritis cultured human chondrocytes / M.G. Lopez – Armada [et al] // Osteoarthritis Cartilage. – 2006. – Vol. 14, № 7. – P. 660–669.
9. Mastbergen S.C., Bijlsma J.W., Lafeber F.P. Synthesis and release of human cartilage matrix proteoglycans are differentially regulated by nitric oxide and prostaglandin-E2 // Ann Rheum Dis. – 2008. – № 67. (1). – S 52–S 58.
10. Role of interleukine-1 and tumor necrosis factor alpha in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage / M. Kobayashi et al. // Arthritis Rheum. – 2005. – Vol. 52, № 1. – P. 128–135.
11. Verbruggen G. Chondroprotective drugs in degenerative joint diseases // Rheumatology. – 2006. – Vol. 45, № 2. – P. 129–138.
12. Walsh M.C. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism / M.C. Walsh et al. // Annu Rev. – 2006, № 24. – P. 33–36.