

УДК 616.72-002.18-07-092:611.018.54

Вміст цитокінів у сироватці крові хворих на остеоартроз

В. А. Філіпенко, Ф. С. Леонтєєва, Д. В. Морозенко, І. В. Корж

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

The article examines pathogenetic and diagnostic roles of the following cytokines in osteoarthritis of large joints: interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 1RA (IL-1RA), interleukin 4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6) and tumour necrosis factor-alpha (TNF- α). It was revealed that levels of IL-1 β and IL-6 increased from osteoarthritis stages I–II to III–VI. IL-1RA concentration in patients' blood at stages III–VI was lower versus I–II, IL-4 being higher only at stages III–IV of the disease, while TNF- α remained within normal values. Such changes of interleukin content in blood serum of patients with osteoarthritis demonstrated severe immunological disturbances in their organism. A correlation between cytokine production levels at different stages of osteoarthritis is indicative of the development of a natural induction of an acute inflammatory process in joints.

В статье рассмотрен вопрос патогенетической и диагностической роли при остеоартрозе крупных суставов следующих цитокинов: интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-1RA (ИЛ-1RA), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). Установлено, что уровень ИЛ-1 β и ИЛ-6 возрастал от I–II к III–VI стадиям остеоартроза. Концентрация ИЛ-1RA снизилась в крови больных на III–VI стадиях по сравнению с I–II, а ИЛ-4 увеличивался лишь на III–IV стадиях заболевания. При этом ФНО- α оставался в пределах нормы. Такие изменения содержания интерлейкинов в сыворотке крови больных остеоартрозом свидетельствуют о тяжелых иммунологических нарушениях в их организме. Корреляционная связь между уровнем продукции цитокинов на разных стадиях остеоартроза указывает на развитие закономерной индукции острого воспалительного процесса в суставах.

Ключові слова: остеоартроз, цитокіни, патогенез, діагностика

Вступ

Відомо, що на всіх стадіях остеоартрозу може розвиватися синовіт, який сприяє руйнуванню хряща через лізосомні ферменти, металопротеїнази та цитокіни, які експресують клітини інфільтратів, синовіоцити і хондроцити. Саме з цитокінами (інтерлейкін 1 (ІЛ-1), фактор некрозу пухлин альфа (ФНП- α) трансформувальний фактор росту бета (ТФР- β) та ін.), які синтезують хондроцити та клітини запалення, останнім часом пов'язують розвинення і перебіг остеоартрозу [1]. Цитокіни в організмі відповідають за розвиток місцевих реакцій у тканинах за участю різних типів клітин крові, ендотелію, епітелію та сполучної тканини. Дисбаланс цитокінів у синовіальній рідині за остеоартрозу приводить до руйнування структурної і функціональної цілісності хрящового екстрацелюлярного матриксу [2]. Цитокіни, які необхідні

у незначній кількості для підтримання гомеостазу, в процесі розвитку запалення починають надходити у надлишку до синовіальної рідини. Їх підвищена продукція сприяє прогресуванню запально-дистрофічних змін у тканинах суглобів [3–5].

За даними Л. А. Дмитрієвої та співавт. [6], у патогенезі диспластичного коксартрозу найважливіша роль належить ІЛ-1 та ФНП- α , які мають вагомий деструктивний потенціал. На думку С. О. Давидова та співавт. [1], на початкових стадіях розвитку деформівного коксартрозу прозапальні цитокіни (ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ФНП- α) відіграють головну роль у детермінації деструктивного потенціалу ефektorних клітин запального процесу в ураженому суглобі. Результати досліджень А. Д. Ахметжан та співавт. [7] свідчать, що на початкових стадіях післятравматичного остеоартрозу прозапальні цитокіни визначають перебіг деструктивного процесу

в уражених суглобах. Під час зниження активності запалення в суглобах на пізніх стадіях деформівного остеоартрозу посилюється фібрилогенез у матриці хрящової тканини під дією ТФР- β 1 з порушенням біосинтетичних процесів у хондроцитах суглобового хряща, про що свідчать результати оцінки рівня ГАГ та уронових кислот у синовіальній рідині хворих.

Значні зміни профілю прозапальних цитокінів встановлено під час дослідження хворих на остеоартроз, поєднаний із артеріальною гіпертензією [8]. Виявлено підвищення концентрації С-реактивного білка і цитокінів у пацієнтів з остеоартрозом, що свідчить про наявний запальний компонент захворювання. Також визначено відмінності у показниках ІЛ-1, ФНП- α та ІЛ-6 між групами хворих на остеоартроз та остеоартроз у поєднанні з артеріальною гіпертензією. Здатність прозапальних цитокінів змінювати функцію ендотелію судин, модулювати рівень продукції нейромедіаторів та стимулювати симпатoadреналову систему, імовірно, зумовлює розвиток артеріальної гіпертензії за остеоартрозу [9].

Метою нашої роботи було дослідження цитокінового профілю крові у хворих на різних стадіях деформівного остеоартрозу великих суглобів для оцінки імунного статусу пацієнтів і встановлення головних патогенетичних ланок захворювання.

Матеріал та методи

Матеріалом для дослідження була сироватка крові 30 хворих на деформівний остеоартроз великих суглобів (кульшового — 22 особи, колінного — 8), які проходили первинне обстеження у відділенні ортопедичної артрології та ендопротезування ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України». Вік хворих, серед яких 17 чоловіків та 13 жінок, складав від 30 до 60 років. Хворих було розподілено на дві групи відповідно до стадій остеоартрозу згідно з рентгенологічною класифікацією J. H. Kellgren і J. S. Lawrence: I та II стадії — 15 пацієнтів, III та IV стадія — 15. Контрольну групу склали 10 практично здорових людей (по 5 чоловіків та жінок) віком від

27 до 60 років. У сироватці крові хворих визначали такі цитокіни: ІЛ-1 β , ІЛ-1RA, ІЛ-4, ІЛ-6, ФНП- α — методом імуноферментного аналізу з використанням діагностичних наборів ТОВ «Вектор-Бест» (Новосибірськ, Росія). Вимірювання проводили на фотометрі «STATFAX 303 Plus» (США) з довжиною хвилі $\lambda = 450$ нм для усіх зазначених вище цитокінів. Статистичний аналіз результатів здійснено за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel XP та Statsoft Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення

Вміст ІЛ-1 β у крові хворих на остеоартроз великих суглобів поступово зростав від I–II до III–IV стадій хвороби від ($13,3 \pm 1,03$) до ($20,8 \pm 1,38$) пг/мл порівняно з контрольною групою, $p < 0,001$. Концентрація ІЛ-1RA на I–II стадіях хвороби становила ($2191,8 \pm 61,90$) пг/мл і була підвищена у 4,2 рази порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$), на 80 % — порівняно з показниками пацієнтів з III–IV стадіями остеоартрозу, $p < 0,001$ (табл. 1).

Причиною зростання ІЛ-1 β у сироватці крові хворих на остеоартроз є його важлива роль у деструкції тканин суглобів. ІЛ-1 β синтезується у вигляді неактивного попередника, а потім перетворюється на активний цитокін з молекулярною масою 17,5 кД. У тканинах суглобів, включаючи синовіальну мембрану, синовіальну рідину та суглобовий хрящ, ІЛ-1 β знаходиться у активній формі. У свою чергу, ІЛ-1RA діє як природний інгібітор ІЛ-1 β , але його вплив не дозволяє ефективно пригнічувати запальний процес, адже дія ушкоджувального фактору зазвичай сильніша.

Основним ефектом ІЛ-1 є стимуляція проліферації Т-хелперів та індукція ними синтезу ІЛ-2. ІЛ-1 є також активатором запалення як захисної реакції організму. Ця функція пов'язана з його здатністю стимулювати експресію генів фосфоліпази, антигенів та циклооксигенази, що є біохімічною передумовою синтезу простагландинів та лейкотрієнів у вогнищах запалення. ІЛ-1 індуктує синтез ІЛ-6, який значною мірою опосередкує дію ІЛ-1 на імунну регуляцію.

Таблиця 1. Вміст цитокінів у сироватці крові хворих на остеоартроз великих суглобів

Показники, пг/мл	Стадія остеоартрозу		Контрольна група, n=10
	I–II, n=15	III–IV, n=15	
ІЛ-1 β	$13,3 \pm 1,03^{2)}$	$20,8 \pm 1,38^{3)4)}$	$5,5 \pm 0,93$
ІЛ-1RA	$2191,8 \pm 61,90^{3)}$	$1239,2 \pm 21,57^{3)5)}$	$525,5 \pm 118,28$
ІЛ-4	$7,9 \pm 0,96$	$12,2 \pm 0,87^{1)}$	$6,5 \pm 1,31$
ІЛ-6	$23,7 \pm 0,93^{3)}$	$38,0 \pm 1,20^{3)5)}$	$5,1 \pm 0,98$
ФНП- α	$2,9 \pm 0,62$	$3,9 \pm 0,83$	$3,0 \pm 0,55$

Примітки: ¹⁾ $p < 0,05$; ²⁾ $p < 0,01$; ³⁾ $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи; ⁴⁾ $p < 0,01$; ⁵⁾ $p < 0,01$ у порівнянні між I–II та III–IV стадіями

Таблиця 2. Кореляційний взаємозв'язок між синтезом цитокінів у хворих на різних стадіях остеоартрозу великих суглобів

Цитокіни	I–II стадія остеоартрозу				
	ІЛ-1 β	ІЛ-1RA	ІЛ-4	ІЛ-6	ФНП- α
ІЛ-1 β	1	—	—	—	—
ІЛ-1RA	0,68	1	—	—	—
ІЛ-4	0,42	0,39	1	—	—
ІЛ-6	0,97	0,60	0,40	1	—
ФНП- α	0,84	0,55	0,46	0,82	1
III–IV стадія остеоартрозу					
ІЛ-1 β	1	—	—	—	—
ІЛ-1RA	0,10	1	—	—	—
ІЛ-4	0,54	0,28	1	—	—
ІЛ-6	0,82	0,42	0,50	1	—
ФНП- α	0,96	-0,01	0,50	0,76	1

Примітка: критичне значення коефіцієнту кореляції за Спірменом становить 0,52 ($p < 0,05$)

Таким чином, можна стверджувати, що ІЛ-1 є активатором лімфоцитів, а також стимулятором проліферації фібробластів, синтезу білків гострої фази запалення і колагенази в синовіальних оболонках суглобів, що пояснює його високий вміст у сироватці крові хворих вже на ранніх стадіях остеоартрозу.

Вміст у сироватці крові ІЛ-4 збільшився лише у пацієнтів з III–IV стадіями остеоартрозу і становив ($12,2 \pm 0,87$) пкг/мл, що на 87,7 % вище за показник у клінічно здорових людей ($p < 0,05$). ІЛ-4 є стимулятором В-лімфоцитів і, відповідно, синтезу імуноглобулінів та активації гуморального імунітету за тяжкого перебігу остеоартрозу.

Зростання в сироватці крові пацієнтів з III–IV стадіями остеоартрозу ІЛ-4 підтверджує протизапальну компенсаторну реакцію в організмі хворих, адже ІЛ-4 є не запальним, а протизапальним цитокіном. Він знижує продукцію медіаторів запалення, деяких протеаз, а також рівень NO-синтази у хондроцитах, обмежуючи їх негативну дію на метаболізм хрящової та кісткової тканин. ІЛ-4 також пригнічує активацію Т-лімфоцитів, знижує продукцію ІЛ-1 та сприяє зменшенню деструкції суглобового хряща. Крім того, ІЛ-4 здатен пригнічувати синтез прозапальних цитокінів мононуклеарними клітинами синовіальної рідини у периферичній крові, інгібує біосинтез та експресію гена циклооксигенази 2 синовіоцитами та запобігає пригніченню синтезу протеогліканів суглобового хряща.

Концентрація ІЛ-6 у сироватці крові хворих поступово зростала від I–II до III–IV стадії (від ($23,7 \pm 0,93$) до ($38,0 \pm 1,20$) пкг/мл, контроль — ($5,10 \pm 0,98$) пкг/мл). ІЛ-6 — багатофункціональний неспецифічний медіатор, який продукують макрофаги, фібробласти та активовані Т-хелпери. Він є основним індуктором гострої фази запалення. Концентрація ІЛ-1 β на I–II стадіях остеоартрозу

збільшилася у 2 рази, на III–IV стадіях — у 4,2 рази порівняно з контрольною групою.

Таким чином, цитокіновий профіль хворих на остеоартроз великих суглобів вказує на поступове зростання активності запального процесу. Вміст у крові хворих ІЛ-1 β на I–II стадіях остеоартрозу порівняно з контрольною групою був збільшений у 2,4 рази, на III–IV — у 4,2 рази; ІЛ-1RA на I–II стадіях остеоартрозу зростав у 4 рази; на III–IV — лише у 2,3 рази; ІЛ-4 збільшився лише на III–IV стадіях у 1,9 рази порівняно з контрольною групою. Вміст ІЛ-6 на I–II стадіях остеоартрозу збільшився у 4,6 рази, на III–IV — у 7,4 рази порівняно з контрольною групою.

Виявлено корелятивний взаємозв'язок між синтезом різних цитокінів та стадією остеоартрозу великих суглобів (табл. 2). Так, на I–II стадіях захворювання концентрація ІЛ-1 β корелювала із ІЛ-1RA, який, в свою чергу, корелював із ІЛ-6 та ФНП- α ($p < 0,05$), що можна пояснити компенсаторним синтезом ІЛ-1RA як прозапального фактору. Також ІЛ-1 β вірогідно корелював із рівнем у сироватці крові ІЛ-6 та ФНП- α , що є показником закономірної індукції гострого запального процесу в суглобах на початкових стадіях остеоартрозу.

На III–IV стадіях остеоартрозу кореляційні зв'язки ІЛ-1RA з іншими показниками було втрачено. При цьому зберігався взаємозв'язок між ІЛ-1 β та ІЛ-6 та ФНП- α , що свідчить про тяжкі імунологічні порушення в організмі хворих на остеоартроз внаслідок деградації колагену і протеогліканів суглобового хряща за остеоартрозу.

Таким чином, визначення цитокінового профілю сироватки крові хворих на різних стадіях остеоартрозу великих суглобів дозволяє характеризувати провідні патогенетичні ланки захворювання, а також встановлювати кореляційні взаємозв'язки між імунобіохімічними порушеннями в організмі хворих.

Висновки

На I–II стадіях остеоартрозу великих суглобів вміст ІЛ-1 β збільшився у 2,4, ІЛ-1RA — у 4,2, ІЛ-6 — у 4,6 рази порівняно з показниками контрольної групи, що свідчить про активізацію початкових стадій запально-деструктивних змін у хрящовій тканині суглобів за умов остеоартрозу.

На III–IV стадіях остеоартрозу великих суглобів вміст у крові хворих ІЛ-1 β був збільшений у 4,2 рази порівняно з контрольною групою; ІЛ-1RA — у 2,3; ІЛ-4 — у 1,9, ІЛ-6 — у 7,4, що зумовлено активізацією захисних механізмів руйнування екстрацелюлярного матриксу хрящової тканини суглобів з одночасним прогресуванням деструктивних змін.

Кореляційний зв'язок між рівнем продукції цитокінів на I–II стадіях остеоартрозу вказує на розвиток закономірної індукції гострого запального процесу в суглобах, на III–IV стадіях — про тяжкі імуннологічні порушення в організмі хворих внаслідок деградації колагену і протеогліканів суглобового хряща та прогресування системного запалення.

Таким чином, показники ІЛ-1, ІЛ-1 β , ІЛ-4 та ІЛ-6 можна використовувати для оцінки імунного статусу хворих на різних стадіях остеоартрозу з метою проведення обґрунтованої фармакотерапії та її контролю.

Список літератури

1. Спектр провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и синовиальной жидкости тазобедренного сустава при деформирующем коксартрозе / С. О. Давыдов, А. В. Олейниченко, В. А. Шильников и др. // Бюллетень СО РАМН. — 2003. — № 4 (110). — С. 63–66.
2. Sun H. B. Mechanical loading, cartilage degradation, and arthritis / Н. В. Sun // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2010. — №1211. — P. 37–50.
3. 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.
4. Идиопатический остеоартроз коленного сустава I–II стадии: иммунологические аспекты / Н. В. Сазонова, М. В. Чепелева, Е. А. Волокитина и др. // Травматология и ортопедия России. — 2008. — № 3 (49). — С. 11–14.
5. Role of interleukine-1 and tumor necrosis factor alpha in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage / М. Kobayashi et al. // Arthritis Rheum. — 2005. — Vol. 52, № 1. — P. 128–135.
6. Закономерности и механизмы формирования измененной иммунологической резистентности у больных с диспластическим коксартрозом / Л. А. Дмитриева, Е. Ю. Коршунова, В. В. Малышев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2006. — № 4 (50). — С. 70–76.
7. Про- и противовоспалительные цитокины и компоненты экстрацеллюлярного матрикса суставного хряща у больных с разными стадиями посттравматического деформирующего артроза суставов нижней конечности / А. Д. Ахметжан, З. А. Богоутдинов, И. А. Болотова и др. // Вестник новых медицинских технологий. — 2009. — Т. 16, № 2. — С. 118.
8. Алексеев Е. Ю. Оценка маркеров воспаления и показателей оксидативного стресса у больных остеоартрозом в сочетании с артериальной гипертензией / Е. Ю. Алексеев, А. В. Говорин // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — Т. 26, № 1. — С. 54–58.
9. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) / G. Torre & Amione, S. Kapadia, C. Benedict [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 1996. — Vol. 27, № 5. — P. 1201–1206.