

УДК 616.72

## ИЗМЕНЕНИЯ В ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ОСТЕОАРТРОЗОМ

<sup>1</sup>Патрухин А.П., <sup>1</sup>Кирьянова В.В., <sup>2</sup>Прощаев К.И., <sup>2</sup>Бессарабов В.И.

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет  
им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, e-mail: apatr@mail.ru;

<sup>2</sup>АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «Геронтология»,  
Москва, e-mail: drvib500@gmail.com

Статья посвящена исследованию изменений в цитокиновой системе сыворотки крови пожилых пациентов, которые страдают остеоартрозом (ОА). Установлено, что концентрация TNF-α в сыворотке крови при ОА может служить дополнительным индикатором стадии воспалительного процесса. Концентрации IL-1β и IL-6 в сыворотке крови возможно рассматривать как дополнительные маркеры I и II стадий остеоартроза у людей пожилого возраста, а концентрацию IL-8 – как дополнительный маркер I–III стадий. При нарастании воспалительного процесса, особенно на первой и второй стадии ОА, концентрация IL-4 в сыворотке крови практически не изменяется. Показано, что при развитии иммунного воспаления, от первой к четвертой стадии ОА, концентрация IL-10 в сыворотке крови значительно уменьшается, однако экспрессия этого цитокина при ОА недостаточна и не позволяет в достаточной мере ингибировать сверхпродукцию TNF-α и, таким образом, вызвать торможение процессов ремоделирования хрящевой ткани сустава.

**Ключевые слова:** остеоартроз, цитокины, пожилой возраст

## CHANGES IN CYTOKINE SYSTEM IN SERUM OF ELDERLY PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS

<sup>1</sup>Patruhin A.P., <sup>1</sup>Kiryanova V.V., <sup>2</sup>Proshaev K.I., <sup>2</sup>Bessarabov V.I.

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,  
Saint-Petersburg, e-mail: apatr@mail.ru;

<sup>2</sup>«Gerontology» Research Medical Center, Moscow, e-mail: drvib500@gmail.com

The article investigates the changes in cytokine system in serum of elderly patients who suffer from osteoarthritis (OA). The concentration of TNF-α in serum when OA may serve as an additional indicator of the stage of an inflammatory process. The concentration of IL-1β and IL-6 in serum may be regarded as additional markers I and II stages of osteoarthritis in the elderly, and the concentration of IL-8 – as an additional marker I–III stages. With the development of the immune inflammation, especially in the first and second stages of OA, the concentration of IL-4 in the serum does not practically change. It has been shown that the development of the immune inflammation, from the first to the fourth stage of OA, the concentration of IL-10 in serum is significantly reduced but the expression of this cytokine in OA is insufficient and does not allow sufficiently inhibit overproduction of TNF-α and thus cause inhibition remodeling joint cartilage.

**Keywords:** osteoarthritis, cytokines, old age

Остеоартроз (ОА) является самым распространенным заболеванием опорно-двигательного аппарата и встречается у трети пациентов в возрасте от 45 до 64 лет и у 60–70% пациентов старше 65 лет. Социальная значимость ОА определяется связанным с ним высоким уровнем потери трудоспособности, особенно в пожилом возрасте, и существенным снижением качества жизни пациентов за счет ограничения подвижности и выраженности сопутствующего болевого синдрома [1, 4]. Вместе с тем специфические реабилитационные мероприятия, учитывающие возрастную специфику, для пациентов старших возрастных групп с остеоартрозом практически не разработаны.

Понимая, что ОА является преимущественно заболеванием пожилого и старческого возраста, следует учитывать полиморбидность заболеваемости у пациентов

этой возрастной категории, что вызывает проблемы при назначении лечебно-реабилитационных программ [2, 3, 5]. Эти особенности пожилого возраста являются прямым следствием существенных функциональных и биохимических изменений в организме по мере старения.

Этиология ОА на сегодня недостаточно изучена, однако в последнее десятилетие появились данные о существенной роли цитокинов в поддержании баланса процессов катаболизма и анаболизма в тканях сустава [6]. В то же время все еще небольшое количество работ затрагивает такую важную проблему, как нейроиммунная клеточная регуляция при ОА в пожилом возрасте.

**Целью исследования** стало изучение изменений в цитокиновой системе сыворотки крови пожилых пациентов, которые страдают ОА.

### Материал и методы исследования

В исследование было включено 526 человек пожилого возраста (возраст от 60 до 69 лет, средний возраст  $64,0 \pm 2,0$  года). Все пациенты, включенные в исследование, были разделены на несколько групп:

1. Практически здоровые люди пожилого возраста ( $n = 42$ , мужчин – 20 чел., женщин – 22 чел.).

2. Пациенты пожилого возраста, страдающие ОА коленного сустава I стадии ( $n = 122$ , мужчин – 58 чел., женщин – 64 чел.).

3. Пациенты пожилого возраста, страдающие ОА коленного сустава II стадии ( $n = 125$ , мужчин – 59 чел., женщин – 66 чел.).

4. Пациенты пожилого возраста, страдающие ОА коленного сустава III стадии ( $n = 117$ , мужчин – 57 чел., женщин – 60 чел.).

5. Пациенты пожилого возраста, страдающие ОА коленного сустава IV стадии ( $n = 120$ , мужчин – 58 чел., женщин – 62 чел.).

Диагноз ОА коленного сустава верифицировался в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов (1991 г.). Критериями исключения являлись: наличие патологических изменений в общем и биохимическом анализах крови, которые сопровождались клинической симптоматикой; наличие в анамнезе аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Все пациенты проходили клиническое и инструментальное обследование, которое включало: объективный осмотр, определение индекса массы тела, оценку интенсивности болевого синдрома при движении по 100 мм визуальной аналоговой шкале (ВАШ: 0 = отсутствие боли; 100 = невыносимая боль), оценку интенсивности боли в покое по 100 мм визуальной аналоговой шкале, общий анализ крови, общий анализ мочи, рентгенограмму коленных суставов, ультразвуковое исследование коленных суставов.

У каждого пациента было получено согласие на проведение данных исследований.

Для определения роли нейроиммуноэндокринной системы в развитии ОА у больных ОА и практически здоровых людей из контрольной группы в утреннее время натощак производили забор крови пункционным методом из локтевой вены с помощью широкой иглы в пластиковые пробирки, из которой готовили сыворотку. Полученный субстрат помещали в пробирки типа Ерпендорф и хранили при температуре  $-20^\circ\text{C}$  до момента проведения анализа.

Уровень цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, на планшетном спектрофотометре Thermo Scientific Multiskan Go.

Статистическую обработку материала выполняли на персональном компьютере в статистических программных пакетах Microsoft Excel, Statistica 6.0. При статистическом анализе материала выполняли расчет интенсивных и экстенсивных показателей средних величин, определяли достоверность различий средних и относительных величин по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови существенно зависит от стадии заболевания. Достоверно показано

( $p < 0,05$ ), что, в отличие от данных других исследований, увеличение этого показателя даже в острой первой стадии по сравнению с группой контроля не превышает уровень в 3,1 раза.

Уровень TNF- $\alpha$  при ОА наиболее высок при острой первой стадии заболевания и значительно отличается от такового у здоровых людей ( $p < 0,05$ ). Развитие патологического процесса достоверно приводит к постепенному уменьшению содержания этого цитокина в сыворотке крови, однако даже на IV стадии заболевания концентрация сигнальной молекулы приближается, но не достигает контрольного уровня. Так, уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ОА I стадии, составил  $212,4 \pm 7,0$  пг/мл против  $69,0 \pm 3,2$  пг/мл у здоровых людей ( $p < 0,05$ ), при переходе ко II, III и IV стадии –  $109,6 \pm 4,3$ ;  $95,0 \pm 3,6$  и  $78,0 \pm 3,3$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Таким образом, можно полагать, что концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови, как одного из ключевых агентов иммунного воспаления, при ОА может служить дополнительным индикатором стадии хронического воспалительного процесса. В случае нарастания полиморбидности интегральные показатели концентрации TNF- $\alpha$  в сыворотке крови более полно характеризуют уровень комплексной провоспалительной реакции за счет суммарного вклада в экспрессию цитокина как моноцитов, так и клеток эндотелия сосудистой стенки и клеток кишечника.

Уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови людей пожилого возраста, которые страдают ОА, значимо отличается от контрольных значений в группе сравнения только на острой первой стадии заболевания и на второй стадии. Достоверно показано ( $p < 0,05$ ), что концентрация этого цитокина более чем в 1,5 раза превосходит контрольный уровень на первой стадии и примерно на 25% – на второй стадии ОА по сравнению с контролем (табл. 1).

Таким образом, можно полагать, что концентрация ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови, как одного из ключевых агентов иммунного воспаления, при ОА может служить дополнительным индикатором первой и второй стадии хронического воспалительного процесса.

При исследовании сыворотки крови людей пожилого возраста с диагнозом ОА установлено, что уровень ИЛ-4 не отличается от контрольных значений в группе сравнения: уровень ИЛ-4 в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ОА I стадии, составил  $5,5 \pm 1,0$  пг/мл против  $5,0 \pm 0,9$  пг/мл у относительно здоровых людей, при переходе ко II, III и IV стадии –  $5,4 \pm 1,0$ ;  $5,4 \pm 0,9$  и  $5,2 \pm 0,9$  пг/мл ( $p > 0,05$ ) соответственно.

Таблица 1

Зависимость уровня IL-1β в сыворотке крови больных ОА  
пожилого возраста от стадии заболевания

Исследуемый показатель	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови				
	Здоровые	I стадия ОА	II стадия ОА	III стадия ОА	IV стадия ОА
IL-1β, пг/мл	192,0 ± 20,0	296,4 ± 26,1*	243,1 ± 23,3*	225,0 ± 22,6**	187,0 ± 20,3**

Примечания:

\* p < 0,05 по сравнению со здоровыми людьми;

\*\* p > 0,05 по сравнению со здоровыми людьми.

Полученные экспериментальные данные по концентрации IL-4 в сыворотке крови, по-видимому, свидетельствуют о том, что в пожилом возрасте снижается активность противовоспалительной системы организма (если судить по уровню IL-4 в сыворотке крови). При развитии иммунного воспаления, особенно на первой и второй стадии ОА, концентрация IL-4 в сыворотке крови практически не изменяется. Соответственно, этот цитокин не может оказать ингибирующее влияние на выявленную нами сверхпродукцию TNF-α и, таким образом, вызвать торможение процессов ремоделирования хрящевой ткани сустава.

Установлено, что уровень IL-6 существенно зависит от стадии заболевания: у пожилых людей, страдающих ОА I стадии, он составил 23,3 ± 2,2 пг/мл против

6,9 ± 1,3 пг/мл у относительно здоровых людей, при переходе ко II, III и IV стадии – 17,8 ± 1,9; 9,9 ± 1,3 пг/мл (p < 0,05) и 7,2 ± 1,1 пг/мл (p > 0,05) соответственно.

Такая динамика изменения концентрации IL-6 в сыворотке, по-видимому, отражает дуализм регулирующего влияния этого медиатора на иммунное воспаление при ОА: с одной стороны – подавление, с другой – активация. Учитывая существенные значимые (p < 0,05) различия в уровне IL-6 в сыворотке крови, цитокинэмию по IL-6 возможно использовать как дополнительный маркер острых воспалительных стадий ОА – первой и второй.

Одновременно установлено, что уровень IL-8 в сыворотке крови пожилых пациентов с ОА существенно зависит от стадии заболевания (табл. 2).

Таблица 2

Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ОА  
пожилого возраста от стадии заболевания

Исследуемый показатель	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови				
	Контроль	I стадия ОА	II стадия ОА	III стадия ОА	IV стадия ОА
IL-8, пг/мл	5,2 ± 0,7	20,2 ± 1,7*	16,1 ± 1,5*	9,8 ± 1,2*	6,9 ± 1,1#

Примечания:

\* p < 0,05 по сравнению с контролем;

#p > 0,05 по сравнению с контролем.

Наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что уровень IL-8 в сыворотке крови является одной из показательных характеристик воспалительной иммунной реакции при ОА. При развитии иммунного воспаления, на первой и второй стадии ОА, концентрация IL-8 в сыворотке крови существенно возрастает, почти в 4 и более чем в 3 раза соответственно по сравнению с контролем. При этом уровень цитокина имеет максимальное значение на первой стадии. Концентрация IL-8 на вто-

рой стадии ОА достоверно отличается от таковой на первой стадии (p < 0,05). При дальнейшем развитии патологического воспалительного процесса, на третьей стадии, уровень сигнальной молекулы в сыворотке крови заметно падает и к четвертой стадии практически приходит в норму и не отличается от контрольного.

Дополнительные исследования позволили установить, что уровень IL-10 в сыворотке крови людей пожилого возраста, которые страдают ОА, существенно зависит

от стадии патологического процесса: у пожилых людей, страдающих ОА I стадии, он составил  $10,5 \pm 1,5$  пг/мл против  $1,5 \pm 0,2$  пг/мл у относительно здоровых людей, при переходе ко II, III и IV стадии –  $7,4 \pm 1,0$ ;  $5,4 \pm 0,8$  и  $2,9 \pm 0,7$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Выявленная динамика изменения концентрации IL-10 в сыворотке крови больных ОА согласуется с динамикой изменения концентрации провоспалительных цитокинов – TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-8.

Очевидно, что экспрессия IL-10 при ОА недостаточна и не позволяет в достаточной мере ингибировать сверхпродукцию TNF- $\alpha$  и, таким образом, вызвать торможение процессов ремоделирования хрящевой ткани сустава.

### Выводы

1. Концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови при ОА может служить дополнительным индикатором стадии воспалительного процесса.

2. Концентрации IL-1 $\beta$  и IL-6 в сыворотке крови возможно рассматривать как дополнительные маркеры I и II стадий остеоартроза у людей пожилого возраста, а концентрацию IL-8 – как дополнительный маркер I–III стадий.

3. При развитии иммунного воспаления, от первой к четвертой стадии ОА, концентрация IL-10 в сыворотке крови значительно уменьшается, однако экспрессия этого цитокина при ОА недостаточна и не позволяет в достаточной мере ингибировать сверхпродукцию TNF- $\alpha$  и, таким образом, вызвать торможение процессов ремоделирования хрящевой ткани сустава.

### Список литературы

1. Остеоартрит: Диагностика и ведение больных остеоартритом коленных и тазобедренных суставов / под ред. О.М. Лесняк. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 176 с.

2. Прошаев К.И. Физиологическое и преждевременное старение человека и человечества в контексте обеспечения безопасности жизнедеятельности / К.И. Прошаев, Н.М. Позднякова, Х.С. Мартинес Гарсес, Ю.Ф. Дуке Кальдерон, А.Н. Ильницкий, Т.В. Павлова, В.В. Башук // Безопасность жизнедеятельности. – 2011. – № 12. – С. 45–51.

3. Прошаев К.И. Клиническая патология полиморбидности в гериатрической практике / К.И. Прошаев, А.Н. Ильницкий, Л.И. Постникова и соавт. // Успехи геронтологии. – 2011. – № 2. – С. 285–289.

4. Эрлес Ш.Ф. Проблема ревматических заболеваний в России с позиции общества и пациента / Ш.Ф. Эрлес, О.М. Фоломеева, В.Н. Амирджанова // Вестник Российской Академии медицинских наук: ежемесячный научно-теоретический журнал. – 2003. – № 7. – С. 11–14.

5. Лазебник Л.Б. Полиморбидность у пожилых // Сердце. – 2007. – № 7. – С. 25–27.

6. Fernandes J.C. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology / J.C. Fernandes, J. Martel-Pelletier, J.P. Pelletier et al. // *Biorheology*. – 2002. – Vol. 39, № 1–2. – P. 237–246.

### References

1. *Osteoarthritis: Diagnostika i vedenie bol'nyh osteoartritom kolennyh i tazobedrennyh sustavov* [Osteoarthritis: Diagnosis and management of patients with osteoarthritis of the knee and hip joints]. Ed. O.M. Lesnyak. Moscow, GEOTAR-Media, 2006. 176 p.

2. Prashchayev K.I., Pozdnjakova N.M., Martines Garses H.S., Duke Kal'deron Ju.F., Il'nickij A.N., Pavlova T.V., Bashuk V.V. *Bezopasnost' zhiznedejatel'nosti*, 2011, no. 12, pp. 45–51.

3. Prashchayev K.I., Il'nickij A.N., Postnikova L.I. et al. *Advances in Gerontology*, 2011, no. 2, pp. 285–289.

4. Jerdes Sh. F., Folomeeva O.M., Amirdzhanova V.N. *Vestnik Rossijskoj Akademii medicinskih nauk*, 2003, no. 7, pp. 11–14.

5. Lazebnik L.B. *Heart*, 2007, no. 7, pp. 25–27.

6. Fernandes J.C., Martel-Pelletier J., Pelletier J.P. et al. *Biorheology*, 2002, Vol. 39, no. 1–2, pp. 237–246.

### Рецензенты:

Ильницкий А.Н., д.м.н., профессор, первый заместитель директора, АНО НИМЦ «Геронтология», г. Москва;

Иванова М.А., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отделения организации планирования и управления научными исследованиями, ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 23.10.2014.