

# БАЛАНС ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ И СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ИНФЕКЦИЕЙ *Chlamydia trachomatis*

Талако Т.М., Афанасенко К.В.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
научно-исследовательская часть,  
г. Минск*

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, синовиальная жидкость, интерлейкин.

**Резюме:** Работа посвящена изучению баланса про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови (ПК) и синовиальной жидкости (СЖ) у пациентов на разных стадиях ревматоидного артрита (РА), ассоциированного с хламидийной инфекцией. Уровни интерлейкинов-2, 6 и 10 были значимо выше в СЖ по сравнению с ПК. На II, III и IV стадиях РА наблюдалась локальная (внутрисуставная) гиперпродукция интерлейкина-6.

**Resume:** The paper analyzes the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in peripheral blood (PB) and synovial fluid (SF) in patients with rheumatoid arthritis (RA), associated with *Chlamydia trachomatis* infection. The level of interleukin-2, 6 and 10 were significantly higher in SF than in PB. Local (intraarticular) hyperproduction of interleukin 6 was observed at II, III and IV stages of RA.

**Актуальность.** Среди системных заболеваний соединительной ткани особое место принадлежит ревматоидному артриту (РА). Он характеризуется медленным, но неуклонным прогрессированием, сопровождающимся

повреждением суставов, жизненно-важных органов и систем. Распространённость в Республике Беларусь составляет около 1%, а экономические потери для общества растут из года в год и сопоставимы с таковыми от ишемической болезни сердца [1,2]. Распространённость хламидийной инфекции значительно увеличилась во всем мире, в реальной клинической практике все чаще диагностируется реактивный хламидиоиндуцированный артрит. На настоящий момент особое внимание врачей и исследователей занимает хроническая хламидийная инфекция (*Chlamydia trachomatis*) у пациентов с РА. Установлено, что РА протекает на фоне сопутствующей хламидийной инфекции не реже чем в 15% случаев [2]. Присутствие *C. trachomatis* у пациентов с РА играет существенную роль, придавая артриту своеобразную клиническую симптоматику, оказывая влияние на эффективность традиционно применяемых лекарственных препаратов, так как иммуносупрессивная терапия не может оказать адекватного эффекта, способствуя активации хламидийной инфекции в организме. Проблема хламидийной инфекции у пациентов с РА весьма актуальна в настоящее время и требует дальнейшего изучения для разработки эффективного метода лечения.

**Цель:** определить баланс про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови и синовиальной жидкости пациентов на разных стадиях РА, ассоциированным с хламидийной инфекцией.

**Задачи:** 1. Определить содержание провоспалительных цитокинов в периферической крови (ПК) и синовиальной жидкости (СЖ) пациентов; 2. Определить содержание противовоспалительных цитокинов в ПК и СЖ пациентов; 3. Определить баланс цитокинов в ПК и СЖ пациентов.

**Материал и методы.** В исследование были включены 43 пациента с РА, ассоциированным с хламидийной инфекцией, в возрасте от 24 до 60 лет, 6 мужчин и 37 женщин, которые поступили для стационарного лечения в отделение ревматологии учреждения здравоохранения «9-я городская клиническая больница» г. Минска. Пациенты были разделены на группы согласно рентгенологическим стадиям РА (по Штейнброкеру): со II стадией - 16 пациентов, с III стадией - 17 пациентов, с IV стадией - 10 пациентов. Длительность РА составила от 2 до 20 лет. Наличие *C. trachomatis* было подтверждено при исследовании соскоба из цервикального канала и уретры и/или полости рта методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или исследованием СЖ: культуральным методом или методом ПЦР. Противовоспалительная терапия пациентов включала назначение сульфасалазина в качестве медленнодействующего лекарственного средства в дозе 2,0 г/сутки, метилпреднизолон - 6-12 мг/сутки, мелоксикама - 15 мг/сутки.

От каждого пациента были получены образцы ПК и СЖ. ПК получали путем венепункции локтевой вены, СЖ - при выполнении пункции пораженного сустава. Образцы центрифугировались в течение 20 минут на скорости 1500 оборотов в минуту (ПК) и 10 минут 3000 оборотов в минуту (СЖ), сыворотка

крови и надосадочная СЖ собиралась в пробирки «Эппендорф» и замораживалась при  $-20^{\circ}\text{C}$  для дальнейшего исследования.

В качестве противовоспалительных цитокинов изучались интерлейкины (ИЛ)-2,6 и  $\gamma$ -интерферон (ИНФ), противовоспалительных – ИЛ-4,10. Определение их в ПК и СЖ проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич» вариантом с использованием наборов «Интерлейкин-2-ИФА-Бест», «Интерлейкин-4-ИФА-Бест», «Интерлейкин-6-ИФА-Бест», «Интерлейкин-10-ИФА-Бест», «Гамма – Интерферон-ИФА-Бест» (Новосибирск, Россия) согласно рекомендациям производителя.

Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10.0 непараметрическими методами. Данные представлены медианой (25-75 квартили). Различия между независимыми группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Разницу считали значимой при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Содержание ИЛ-2,6 и  $\gamma$ -ИНФ в ПК и СЖ пациентов на разных стадиях РА представлено в таблице 1. Уровень ИЛ-6 в ПК на всех стадиях РА превышал его средние значения у условно здоровых доноров в 6-10 раз, а в СЖ – 50-60 раз (приложение в инструкции к набору для исследования).

**Таблица 1.** Содержание провоспалительных цитокинов в периферической крови и синовиальной жидкости пациентов с РА, ассоциированного с хламидийной инфекцией.

Стадии РА	ИЛ-2, пг/мл		ИЛ-6, пг/мл		$\gamma$ -ИНФ, пг/мл	
	ПК	СЖ	ПК	СЖ	ПК	СЖ
II стадия	0,00 (0,00-7,92)	10,46 (0,82-122,46)	13,31 (3,38-82,99)	549,25* (163,28-552,03)	0,06 (0,00-0,06)	0,06 (0,00-0,06)
III стадия	0,00 (0,00-7,53)	0,49 (0,0-12,43)	13,76 (4,16-59,53)	550,18* (430,94-606,3)	0,00 (0,00-0,16)	0,06 (0,00-126,13)
IV стадия	0,00 (0,00-9,00)	17,58* (15,38-21,72)	52,58 (5,46-221,41)	439,76* (296,66-913,58)	0,06 (0,0-0,06)	0,06 (0,00-0,06)

примечание: \*- $p < 0,05$  по сравнению с ПК той же стадии РА

При сравнении содержания изучаемых провоспалительных цитокинов в ПК и СЖ было выявлено, что у пациентов со II стадией РА уровень ИЛ-6 был значимо выше в СЖ ( $p=0,0060$ ), что отражает способность организма к ограничению воспалительного процесса зоной пораженного сустава. У пациентов с III стадией РА уровень ИЛ-6 также оказался значимо выше в СЖ ( $p=0,0003$ ), что может свидетельствовать в пользу сохранения более

локального характера воспалительного процесса даже на III стадии заболевания.

У пациентов с IV стадией РА содержание ИЛ-2 и ИЛ-6 было значимо выше в СЖ ( $p=0,0320$  и  $p=0,0020$ , соответственно). Это указывает на поддержание интенсивного аутоиммунного воспаления внутри пораженного сустава.

Содержание ИЛ-4 и ИЛ-10 в ПК и СЖ пациентов на разных стадиях РА представлено в таблице 2. Уровень ИЛ-10 в ПК на III стадии РА превышал его средние значения у условно здоровых доноров в 1,5 раза, а в СЖ на всех стадиях – в 3-4 раза (приложение в инструкции к набору для исследования).

**Таблица 2.** Содержание противовоспалительных цитокинов в периферической крови и синовиальной жидкости пациентов с РА, ассоциированного с хламидийной инфекцией.

Стадии РА	ИЛ-4, пг/мл		ИЛ-10, пг/мл	
	ПК	СЖ	ПК	СЖ
II стадия	0,00 (0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)	5,74 (0,00-7,94)	66,07* (41,98-92,85)
III стадия	0,06 (0,00-1,98)	0,00 (0,00-0,06)	16,64 (4,34-43,26)	71,00* (46,63-148,01)
IV стадия	0,06 (0,06-0,42)	0,03 (0,00-0,06)	9,00 (6,00-25,87)	27,50 (15,50-60,00)

примечание: \*- $p < 0,05$  по сравнению с ПК той же стадии РА

У пациентов со II и III стадией РА уровень ИЛ-10 был значимо выше в СЖ ( $p=0,0001$  и  $p=0,0400$ , соответственно) по сравнению с ПК, что свидетельствует в пользу преимущественно локального характера воспалительного процесса и направленности на ограничение аутоагрессии на этих стадиях РА.

В ПК и СЖ пациентов с IV стадией РА уровни изучаемых противовоспалительных цитокинов значимо не отличались друг от друга.

ИЛ-6 играет ключевую роль в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекцию или повреждение тканей. Высокие концентрации ИЛ-6 способствуют дифференциации «наивных» Т-клеток в Th 2 типа, которые активируют дифференцировку В-клеток в плазматические клетки [4]. ИЛ-6 индуцирует синтез ИЛ-10 в моноцитах, Т- и В-клетках, натуральных киллерных и тучных клетках. Более высокий уровень ИЛ-6 в СЖ по сравнению с ПК у пациентов с РА, ассоциированным с хламидийной инфекцией, может быть вызван избыточной его продукцией клетками

синовиальной ткани, а также, возможно, высвобождением его из погибающих клеток.

Известно, что содержание  $\gamma$ -ИНФ на высоком уровне и последующая супрессия иммунного ответа вследствие продукции ИЛ-4 ведет к развитию иммунного ответа по пути Т-хелперов (Тх) 1 типа, уничтожающего внутриклеточные патогены [5]. У пациентов с РА, ассоциированным с хламидийной инфекцией, на разных стадиях заболевания уровень  $\gamma$ -ИНФ был практически одинаково низок, что может быть как причиной персистенции *S. trachomatis*, так и ее следствием.

ИЛ-10 обладает мощным противовоспалительным, иммуномодулирующим, иммуносупрессивным эффектом. Главная роль ИЛ-10 – ингибирование избыточного синтеза провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8,  $\alpha$ -ФНО,  $\gamma$ -ИНФ активированными макрофагами и Тх 1 типа. В то же время ИЛ-10 повышает активность Тх 2 типа и синтез продуцируемых ими цитокинов, то есть вызывает изменение иммунного ответа с Тх1 на Тх2 путь.

Большинство исследователей полагают, что реакция Тх1 типа первостепенна в разрешении инфекции, а реакция Тх2 типа оказывается пагубной. Иммунный ответ по Тх1 типу, участвуя в защитном иммунитете, способствует становлению нарушенного цикла мультпликации возбудителя. Во время этого цикла, белок теплового шока сHSP60, производимый бактериями, способствует становлению иммунного ответа типа по Тх2 типу, профиль цитокинов которого ассоциируется с фиброзом, а также развитию аутоиммунного ответа по причине антигенного родства между сHSP60 хламидий и человека [3].

Полученные в результате работы данные свидетельствуют в пользу развития иммунологического ответа по пути Тх 2 типа при РА, ассоциированном с хламидийной инфекцией, что резко снижает возможности организма в подавлении хламидийной инфекции.

**Выводы:** 1. У пациентов с РА, ассоциированным с хламидийной инфекцией, превалирует локальная гиперпродукция провоспалительного цитокина ИЛ-6. 2. Более высокое содержание про- и противовоспалительных цитокинов в синовиальной жидкости по сравнению с периферической кровью имеет место на II, III и на IV стадиях (в отношении провоспалительных цитокинов), что отражает процесс локализации иммунного воспаления внутрисуставно даже в случае развития значимого разрушения сустава.

#### Литература

1. Насонов, Е. Л. Современные проблемы иммунопатологии ревматических заболеваний / Е.Л. Насонов // Российские медицинские вести. - 2001.- № 2.- С. 67-69.
2. Сорока, Н. Ф. Ревматоидный артрит, ассоциированный с хламидийной инфекцией / Н.Ф. Сорока // Здоровоохранение. - 2009. - № 1.- С. 15-19.
3. Шубин, С.В., Урумова, М.М., Агабабова, Э.Р. и соавторы. Хламидийная инфекция при ревматических заболеваниях / С.В. Шубин, М.М. Урумова, Э.Р. Агабабова, В.Р. Мартынова, Н.И. Колкова, Е.Ю. Моргунова, С.А. Сергиенко, Ю.А. Олюнин, С.И. Солдатова // Научно-практическая ревматология. - 2008. - №1. - С. 17-24.

4. Akira, S., Taga, T., Kishimoto, T. Interleukin-6 in biology and medicine / S Akira, T Taga, T Kishimoto // *Advanced Immunology*. – 1993. - № 54. – P. 71-78.
5. Kidd, P. Th1/Th2 Balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease / P Kidd // *Alternative medicine review*. – 2003. - V.8. - № 3. - P. 223-246.