

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ

*Аннотация.* Приведены результаты иммунологического исследования 58 больных ювенильным идиопатическим артритом. Было выявлено, что при всех формах заболевания отмечаются существенные изменения цитокинового статуса в сыворотке крови и синовиальной жидкости, при этом степень выраженности зависит от варианта и активности воспалительного процесса. Изучение клеточного иммунитета проводилось с целью дифференцированного подхода к выбору терапии, так как эффективность препаратов различалась в зависимости от варианта заболевания. Наибольшая эффективность при лечении полиартикулярной и олигоартикулярной распространяющийся формы отмечена у ремикейда, комбинированную терапию сандиммуном-неоралом и метотрексатом предпочтительнее использовать при олигоартикулярном персистирующем варианте ювенильного идиопатического артрита.

*Ключевые слова:* ювенильный идиопатический артрит, интерлейкин-17, ремикейд.

*Abstract.* The article introduces the results of immunological study of 58 patients with juvenile idiopathic arthritis. The author has detected substantial changes of cytokine status in serum and synovial fluid in all forms of the disease, with a degree of severity depending on the variant and the activity of the inflammatory process. The study of cellular immunity has been conducted in order to establish a differentiated approach to the choice of therapy, and caused by the differences in drug efficiency depending on the variant of the disease. The greatest efficiency of the treatment of polyarticular and oligoarticular spreading form has been observed in remicade; combined therapy with sandimmun-neoral and methotrexate is preferable to use at oligoarticular persistent form of juvenile idiopathic arthritis.

*Key words:* juvenile idiopathic arthritis, interleukin-17, remicade.

### Введение

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) – одно из наиболее частых ревматических заболеваний, характеризующееся воспалением синовиальной оболочки суставов, деструкцией хрящевой и костной тканей, развитием спектра внесуставных проявлений, преимущественно дебютирующее у детей до 16 лет [1]. В развитии ювенильного идиопатического артрита значительное место отводится активации Т-клеточного звена иммунитета с последующим синтезом провоспалительных цитокинов [2].

Показано, что Th-17 и вырабатываемые цитокины участвуют в патогенезе воспалительных, аллергических и аутоиммунных заболеваний, а также защищают организм от внеклеточных микробов и паразитов [3].

Исследования, проведенные на культурах клеток животных, и клинические опыты подтверждают участие интерлейкина-17 в развитии ревматоидного артрита [4].

Изучение механизмов развития и дифференцировки этого цитокина при ревматоидном артрите позволило выявить участие интерлейкина-6 в инициации процесса выработки ИЛ-17, а также влияние ИЛ-17 на продукцию других цитокинов [5].

Изучение роли интерлейкина-17 при ювенильном идиопатическом артрите позволит углубить представления о патогенезе, разработать критерии ранней диагностики, эффективности лечения заболевания.

В настоящее время для лечения ювенильного идиопатического артрита используется широкий спектр противоревматических средств (сульфасалазин, препараты золота, метотрексат, сандимун-неорал и др.), обладающих общим иммуносупрессивным эффектом [6].

Кроме того, в последние годы внедряются препараты с селективным действием на иммунную систему. Инфликсимаб (ремикейд) стал одним из первых широко использоваться в ревматологической практике [7, 8]. Он представляет собой моноклональные антитела к фактору некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ). Предварительный анализ эффективности антицитокиновой терапии позволил установить, что у большинства обследованных больных отмечалось значительное клиническое улучшение, выражавшееся в уменьшении болей и отежности пораженных суставов, длительности утренней скованности, увеличении объема движений в суставах, улучшении общего самочувствия [9–11].

Однако эффективность используемых препаратов напрямую зависит от правильно подобранной схемы лечения. Комплексное исследование иммунокомпетентных клеток имеет важное значение для подбора адекватной терапии, поскольку своевременность начала и адекватность проводимого лечения определяют длительность и качество жизни ребенка.

**Цели исследования:** изучить показатели цитокинового статуса у детей, страдающих ювенильным идиопатическим артритом, разработать дифференцированный подход к назначению лекарственных препаратов для лечения заболевания.

## 1. Материалы и методы исследования

В комплексное клинико-иммунологическое исследование были включены 58 детей в возрасте от 2 до 17 лет, больных различными вариантами ювенильного идиопатического артрита. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей той же возрастной категории. На включение в исследование получено информированное согласие детей старше 14 лет или родителей детей младше 14 лет.

Клинические исследования проводились на базе детского кардиоревматологического и кардиохирургического отделения Самарского областного клинического кардиологического диспансера.

Иммунологические исследования выполнены на базе Центральной научной исследовательской лаборатории Самарского государственного медицинского университета.

Комплексное клиническое обследование включало изучение данных анамнеза, общеклинических показателей, проведение лабораторных и инструментальных методов исследования. Количественное определение содержания лимфоцитов и их субпопуляций (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD3+HLADR+) в сыворотке крови осуществляли стандартным методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител ИКО-86 и ИКО-31 к их поверхностным антигенам (НПК «Препарат», Россия).

Количественные показатели ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-17 в сыворотке крови, содержание ИЛ-6, ИЛ-17, ФНО- $\alpha$  в синовиальной жидкости

больных с ЮИА, определяли методом иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Клинический диагноз ставился на основании классификации ювенильных идиопатических артритов EULAR (Durban, 1997, Edmonton, 2001), в соответствии с которой у детей были выделены 3 варианта ЮИА:

1) олигоартрит персистирующий – артрит, поражающий не более чем 4 сустава на протяжении всего времени заболевания – 20 человек (34,4 %);

2) олигоартрит распространяющийся – артрит, поражающий 4 и более суставов после первых 6 месяцев болезни – 19 человек (32,8 %);

3) полиартрит серонегативный – артрит, вовлекающий в воспалительный процесс 5 и более суставов в течение первых 6 месяцев заболевания, РФ-отрицательный – 19 человек (32,8 %).

Средний возраст больных составил  $7,1 \pm 0,5$  года, средняя продолжительность заболевания –  $2,8 \pm 0,4$  года.

Все дети, больные ювенильным идиопатическим артритом, были распределены на группы в зависимости от получаемой модифицирующей терапии.

Формирование групп проводилось так, чтобы в каждой группе были представлены все возрастные категории, распределение детей осуществлялось по полу, лабораторной активности и количеству пораженных суставов.

Комбинированная терапия (сандиммун-неорал + метотрексат) была назначена 16 больным (27 %), 10 человек (17 %) находились на лечении ремикейдом, 12 (21 %) – сульфасалазином, 20 человек (35 %) получали метотрексат в виде монотерапии.

Лечение сульфасалазином начинали с дозы 5–10 мг/кг/сутки, постепенно повышая до 30–40 мг/кг/сутки. Сандиммун-неорал назначали в дозе 1,5–3,5 мг/кг/сутки, метотрексат – 7,5–15 мг/м<sup>2</sup>/неделя внутримышечно 1 раз в неделю, инфликсимаб (Ремикейд) – по 6 мг/кг первые две инфузии через 2, 4 недели, затем каждые 8 недель.

Для статистической обработки использовался расчет средних величин ( $M$ ), среднеквадратичных отклонений ( $m$ ). Достоверность различий средних значений между двумя выборками определяли по  $t$ -критерию Стьюдента. Критический уровень статистической значимости ( $p$ ) принимали равным 0,05.

## **2. Результаты исследования и обсуждение**

Показатели количественного распределения цитокинов при различных вариантах ЮИА представлены в табл. 1.

Наиболее выраженными изменениями в клеточных популяциях лимфоцитов сопровождался полиартикулярный вариант ЮИА. Изменения состава CD-маркеров при этом варианте носили четко определенный характер, соответствующий основным патогенетическим механизмам заболевания: увеличение общего количества лимфоцитов (CD3+) и активированных форм (CD3+HLADR+), существенное повышение Т-лимфоцитов-хелперов (CD4+), снижение активности Т-лимфоцитов с цитотоксической активностью (CD8+), умеренное увеличение содержания В-лимфоцитов (CD19+).

При олигоартрите распространившемся направленность изменений показателей клеточного иммунитета носила тот же характер, что и при полиартикулярном варианте, только степень этих изменений была менее выражена.

Таблица 1  
Соотношение показателей субпопуляций лимфоцитов и цитокинов в зависимости от варианта ЮИА

| Вариант<br>заболевания            | Показатели цитокинового профиля, пг/мл |                |                |                 |                  |                | Показатели субпопуляций лимфоцитов, пг/мл |                |                 |                |
|-----------------------------------|----------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------|
|                                   | ИЛ-2                                   | ИЛ-4           | ИЛ-6           | ИЛ-17           | ФНО- $\alpha$    | CD3+           | CD19+                                     | CD3<br>HLADR+  | CD4+            | CD8+           |
| Контрольная<br>группа             | 20 $\pm$ 0,3                           | 6 $\pm$ 0,4*   | 2,5 $\pm$ 0,2  | 0,5 $\pm$ 0,1*  | 0,3 $\pm$ 0,4    | 1,7 $\pm$ 0,05 | 0,5 $\pm$ 0,1*                            | 15 $\pm$ 0,5*  | 1,1 $\pm$ 0,1*  | 0,9 $\pm$ 0,4  |
| Олигоартрит<br>персистирующий     | 18,3 $\pm$ 0,5*                        | 3,7 $\pm$ 0,3* | 4,54 $\pm$ 0,5 | 0,5 $\pm$ 0,3   | 0,4 $\pm$ 0,1    | 2,4 $\pm$ 0,3  | 0,5 $\pm$ 0,1                             | 15 $\pm$ 0,09* | 1,2 $\pm$ 0,05* | 0,9 $\pm$ 0,2  |
| Олигоартрит<br>распространяющийся | 19,2 $\pm$ 0,1                         | 2,4 $\pm$ 0,1  | 7,2 $\pm$ 0,3  | 0,78 $\pm$ 0,1* | 0,58 $\pm$ 0,05  | 3,2 $\pm$ 0,2  | 0,6 $\pm$ 0,2                             | 16 $\pm$ 0,2*  | 1,5 $\pm$ 0,06  | 0,7 $\pm$ 0,6* |
| Полиартрит<br>серонегативный      | 21,3 $\pm$ 0,05                        | 0,9 $\pm$ 0,1  | 24,6 $\pm$ 0,1 | 0,99 $\pm$ 0,2  | 0,72 $\pm$ 0,04* | 3,2 $\pm$ 0,4  | 0,81 $\pm$ 0,5*                           | 16,8 $\pm$ 0,1 | 1,9 $\pm$ 0,1   | 0,3 $\pm$ 0,5  |

**Примечание.** \* – статистически достоверные различия с контролем при  $p < 0,05$ .

При персистирующем артрите также выявлены изменения субпопуляций лимфоцитов, но большинство показателей соответствует норме.

Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови показал значительное повышение уровня провоспалительного ИЛ-2, ИЛ-6, увеличение содержания ИЛ-17, ФНО- $\alpha$ , снижение концентрации противовоспалительного ИЛ-4 при всех вариантах ювенильного идиопатического артрита. Более существенный процент отклонения от нормы отмечен при полиартикулярном варианте ЮИА, что связано с течением заболевания на фоне максимальной активности воспалительного процесса.

Было изучено содержание отдельных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-17, ФНО- $\alpha$ ) в синовиальной жидкости пораженных суставов (табл. 2).

Таблица 2

Уровни содержания ИЛ-6, ИЛ-17, ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных ЮИА

| Наименование цитокинов | Показатели цитокинов в сыворотке крови, пг/мл | Показатели цитокинов в синовиальной жидкости, пг/мл |
|------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| ИЛ-6                   | $12,1 \pm 0,1$                                | $369,9 \pm 0,3$                                     |
| ИЛ-17                  | $2,27 \pm 0,05$                               | $48,55 \pm 0,1$                                     |
| ФНО- $\alpha$          | $0,67 \pm 0,3$                                | $8,45 \pm 0,05$                                     |

**Примечание.** Различия статистически достоверны,  $p < 0,05$ .

Показатели цитокинов в синовиальной жидкости намного превышают таковые в сыворотке крови больных ЮИА. Наиболее высокое содержание в сыворотке крови и синовиальной жидкости отмечено у ИЛ-6 ( $12,1 \pm 0,1$ ;  $369,9 \pm 0,3$  соответственно). Кроме того, выявлены высокие показатели ИЛ-17 и ФНО- $\alpha$ .

Таким образом, для детей с ювенильным идиопатическим артритом характерно увеличение концентрации провоспалительных цитокинов как в сыворотке крови, так и в синовиальной жидкости, что может быть использовано для ранней диагностики заболевания. При этом показатели достоверно отличались от контрольной группы и зависели от варианта заболевания и от степени активности воспалительного процесса. Снижение уровня интерлейкина-4 может свидетельствовать о понижении противовоспалительной активности у больных с ЮИА.

Клиническая эффективность препаратов оценивалась по динамике суставного синдрома и активности воспалительного процесса по критериям Американской ассоциации ревматологов ACR 30 Pedi, которые являются общепризнанными критериями и показывают суммарное улучшение клинико-лабораторных показателей (не менее 5 из 8) у конкретного больного на 30 % (ACR Pedi 30), на 50 % (ACR Pedi 50), на 70 % и более (ACR Pedi 70).

Для оценки динамики основных иммунологических показателей была использована аналогичная система иммунологического улучшения, в которой отсутствие или низкая эффективность – улучшение менее чем на 25 % от исходного уровня, удовлетворительный эффект – улучшение до 50 % (ИИУ 50), хороший эффект – улучшение до 75 % (ИИУ 75), отличный эффект – улучшение более чем на 75 % (ИИУ 100) (рис. 1–3).

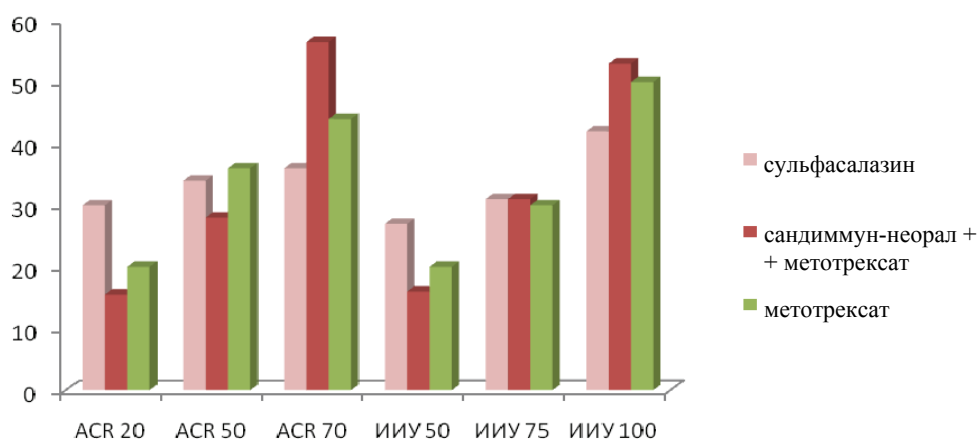


Рис. 1. Динамика критериев ACR и ИИУ в зависимости от вида терапии у детей с олигоарткулярным персистирующим вариантом артрита

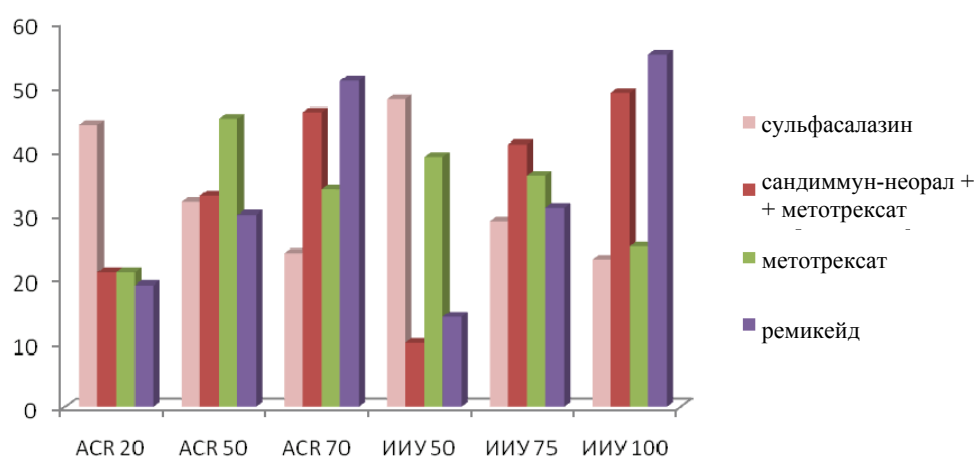


Рис. 2. Динамика критериев ACR и ИИУ в зависимости от вида терапии у детей с олигоарткулярным распространенным вариантом артрита

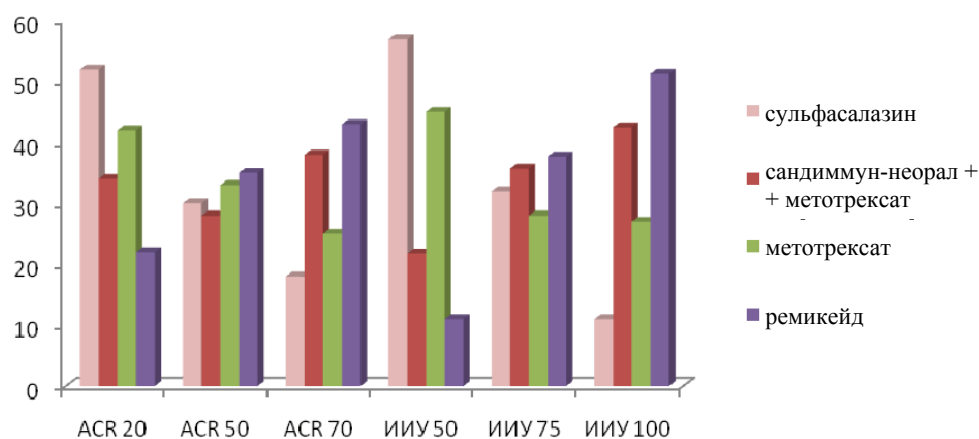


Рис. 3. Динамика критериев ACR и ИИУ в зависимости от вида терапии у детей с полиарткулярным серонегативным вариантом артрита

При анализе полученных данных было выявлено, что в эффективность базисных препаратов различается в зависимости от варианта ЮИА. При персистирующем олигоартрите высокие клинические и иммунологические показатели были получены при комбинированной терапии сандиммуном-неоралом и метотрексатом – 56,5; 53 %. При лечении ремикейдом наблюдались наиболее высокие клинико-иммунологические показатели при олигоартикулярном распространенном и полиартикулярном варианте ЮИА – 51, 55 % и 43, 51,3 % соответственно. Отмечена эффективность комбинированной терапии сандиммуном-неоралом и метотрексатом по сравнению с монотерапией метотрексатом. При применении сульфасалазина выявлены наиболее низкие показатели при всех формах заболевания.

Резюмируя полученные данные, можно констатировать, что оптимальный выбор базисного препарата должен осуществляться для конкретной формы ЮИА. Результаты сравнительных иммунологических испытаний показали, что раннее дифференцированное назначение базисных препаратов является высокоэффективным и способствует стабилизации аутоиммунного процесса.

### **Заключение**

1. При всех формах ЮИА отмечается изменение цитокинового и клеточного статуса в сыворотке крови. Выраженность этих изменений зависит от варианта и степени активности воспалительного процесса.

2. Концентрация цитокинов в синовиальной жидкости значительно превышает показатели в сыворотке крови больных ЮИА.

3. Наибольшей эффективностью для лечения полиартикулярной и олигоартикулярной распространяющейся формы обладает ремикейд, при лечении персистирующего варианта олигоартрита предпочтительнее использовать комбинированную терапию сандиммуном-неоралом и метотрексатом.

### **Список литературы**

1. **Кельцев, В. А.** Клиническая артродология / В. А. Кельцев. – Самара, 2010. – 594 с.
2. **Жолобова, Е. С.** Роль наследственных (иммуногенетических) и средовых (инфекционных) факторов в развитии ювенильных артритов : автореф. дис. ... докт. мед. наук / Жолобова Е. С. – М., 2005. – 50 с.
3. **Ouyang, W.** The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation / W. Ouyang, J. K. Kolls, Y. Zheng // *Immunity*. – 2008. – V. 28. – P. 454–467.
4. **Shahrara, S.** TH-17 cells in rheumatoid arthritis / S. Shahrara, Q. Huang, A. M. Mandelin // *Arthritis Research & Therapy*. – 2008. – V. 10. – P. 56–64.
5. **Кетлинский, С. А.** Th17 – новая линия дифференцировки Т-хелперов: обзор данных / С. А. Кетлинский // *Цитокины и воспаление* – 2009. – № 2. – С. 34–38.
6. **Видманова, Е. Э.** Совершенствование диагностики и лечения олигоартикулярного и полиартикулярного вариантов ювенильного идиопатического артрита : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Видманова Е. Э. – Самара, 2005. – 26 с.
7. **Насонов, Е. Л.** Теоретическое обоснование антицитокиновой терапии при ревматических заболеваниях / Е. Л. Насонов // *Тезисы докладов научно-практической конференции школы для терапевтов по ревматологии*. – М., 2004. – С. 4–5.
8. **Степанец, О. В.** Клиническое значение растворимых рецепторов фактора некроза опухоли α5 kDa при ревматоидном артрите : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Степанец О. В. – М., 2001. – 22 с.

9. **Honkanen, V.** Infliximab treatment the refractory chronic uveitis of juvenile idiopathic arthritis (JIA) / V. Honkanen, M. Lappi, L. Koskinen et al. // Ann. Eur. Cong. Rheum. – EULAR. – 2002. – P. 126.
10. **Lahdenne, P.** Infliximab or etanercept in the treatment of children with refractory juvenile idiopathic arthritis: an open label study / P. Lahdenne, P. V. Vahasalo // Honkanen Ann Rheum Dis. – 2003. – V. 62. – P. 245–247.
11. **Mangge, H.** Therapeutic experience with infliximab in a patient with polyarticular juvenile idiopathic arthritis and uveitis / H. Mangge, B. Heinzl, H.-M. Grubbauer et al. // Rheumatol Int. – 2003. – V. 23. – P. 258–261.

---

**Тепикина Екатерина Николаевна**  
аспирант, Самарский государственный  
медицинский университет

**Терикина Ekaterina Nikolaevna**  
Postgraduate student,  
Samara State Medical University

E-mail: semenukova@rambler.ru

---

УДК 616.72-002:612.017-053.2-08

**Тепикина, Е. Н.**

**Иммунологический статус детей и подростков, больных ювенильным идиопатическим артритом на фоне проводимой терапии / Е. Н. Тепикина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2011. – № 3 (19). – С. 106–113.**