© Группа авторов, 2009

УДК 616.72-007.248-08-039.73:612.112.3:612.017

Влияние консервативной терапии на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с остеоартрозом I-II стадии

Н.В. Сазонова, Е.И. Кузнецова, М.В. Чепелева

The effect of conservative therapy on phagocytic activity of peripheral blood neutrophils in patients with osteoarthrosis of I-II stage

N.V. Sazonova, E.I. Kuznetsova, M.V. Chepeleva

Федеральное государственное учреждение
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган
(и.о. генерального директора — д.м.н., профессор А.Т. Худяев)

Исследовано влияние комплексного, патогенетически обоснованного консервативного лечения, включающего применение медикаментозной терапии, физиотерапевтических процедур, ЛФК на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у больных с остеоартрозами нижних конечностей (I-II степени).
Ключевые слова: остеоартроз, консервативная терапия, иммунная система, фагоцитарная активность нейтрофилов крови.

The authors have studied the effect of complex, pathogenetically substantiated conservative treatment, including the use of medicamentous therapy, physiotherapeutic procedures, exercise therapy, on phagocytic activity of peripheral blood neutrophils in patients with lower limb osteoarthroses (I-II Degree).
Keywords: osteoarthrosis, conservative therapy, immune system, phagocytic activity of blood neutrophils.

Остеоартроз (ОА) – наиболее распространенное дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, для которого характерно прогрессирующее течение и наличие хронического болевого синдрома, значительно снижающего качество жизни пациентов [10]. За период с 2004 по 2006 годы 78,4 % всех обращений в поликлинику ФГУ «РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова приходилось на заболевания крупных суставов нижних конечностей.

До сих пор остается открытым вопрос о роли иммунных механизмов в возникновении остеоартрозов. В частности, известно, что иммунологический процесс в суставном хряще и синовиальной оболочке развивается параллельно дегенеративно-дистрофическим изменениям в тканях сустава [8, 14].

В настоящее время ведется активное изучение иммунных маркеров, отражающих течение патологических процессов, происходящих при остеоартрозах в тканях сустава, с помощью которых можно осуществлять контроль над процессом лечения [7].

В последние годы большое внимание уделяется функциональным возможностям клеточных элементов крови и синовиальной жидкости – нейтрофилоцитам (Нф). Известно, что нейтрофилы участвуют в элиминации иммунных комплексов и их активность связана с активностью других компонентов иммунной системы (комплемента, концентрацией Ig G, других опсонирующих факторов), а благодаря наличию рецепторов к значительному числу эндогенных медиаторов и особенностям своего строения, нейтрофилы реагируют на малейшие изменения постоянства внутренней среды [5, 11, 12]. Однако значение нейтрофилов в этиопатогенезе ОА остается до настоящего времени недостаточно изученным.

Цель настоящей работы − изучить влияние комплексного консервативного лечения на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с остеоартрозом I-II стадии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 70 пациентов с идиопатическим остеоартрозом крупных суставов нижних конечностей I-II стадии в возрасте 43±1,43 лет, обратившихся в поликлинику ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» по поводу умеренно выраженного болевого синдрома в коленных и тазобедренных суставах и околосуставных тканях, усиливающегося после физических нагрузок. Длительность заболевания в среднем составляла около 3 лет.

Для контроля была обследована группа из 20 добровольцев аналогичного возраста, у которых отсутствовали клинические признаки ОА. Забор крови осуществлялся из локтевой вены натощак. Исследование проводилось до начала лечения, через 6 месяцев и через 1 год после проведенного лечения.

Для морфологического исследования использовали мазки крови, окраску препаратов осуществляли по Романовскому-Гимзе. Подсчет количества лейкоцитов проводили в камере Горяева. Исследование фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов (ФАН) периферической крови включало изучение следующих показателей [9]:

Фагоцитарный показатель (ФП) – процент активных нейтрофилов, вступивших в фагоцитарную реакцию, к общему числу сосчитанных нейтрофилов (в %).

Количество активных фагоцитов в одном литре крови (КАФ) (10^9/л).

Фагоцитарное число (ФЧ) − среднее количество микробных клеток (Staphylococcus epidermidis, штамм № 9198 НИИЭМ), поглощенных одним фагоцитом (у.е.).

Показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ) − отношение количества переваренных микробов (Чу) к общему числу поглощенных микробов (Чп), выраженное в процентах (используется для оценки переваривающей (бактерицидной) функции фагоцитов (в %).

$$ПЗФ=\frac{Ч_у}{Ч_п}\times 100\ \%.$$

Результаты оценивали под иммерсионной системой микроскопа с увеличением 10×90.

Статистическая обработка данных проведена с вычислением средней арифметической и ошибки средней арифметической, с применением U-критерия Вилкоксона. Для статистической обработки использовали программное обеспечение «AtteStat 1.0» [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала лечения сравнительный анализ показателей лейкограммы не выявил статистически значимых отличий между контрольной группой и больными остеоартрозом. Абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, моноцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов в обеих группах не выходило за пределы нормативных границ (табл. 1)

Медикаментозная терапия включала применение хондропротекторов, обладающих способностью ингибировать протеолитические ферменты, стимулировать синтез протеогликанов хондроцитами и гиалуроновой кислоты синовиоцитами, улучшать реологические свойства синовиальной жидкости [7, 18, 19]. 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.

Таблица 1

Показатели периферической крови после проведения курса консервативной терапии

Показатель	Контрольная группа	До лечения	6 месяцев после лечения	1 год после лечения
Лейкоциты (10^9/л)	5,6±0,47	7,1±0,68	6,3±0,3	6,4±0,3
Лимфоциты (%)	26,8±1,26	35,26±0,78	34,5±0,99	33,9±1,24
Моноциты (%)	4,0±0,36	5,5±0,3	5,94±0,37	6,23±0,44
Сегментоядерные лейкоциты (%)	63,56±1,08	51,7±0,77	53,0±1,1	52,9±1,26
Палочкоядерные лейкоциты (%)	3,1±0.31	5,17±0,34	4,4±0,3	5,3±0,4
Эозинофилы (%)	2,25±0,45	2,3±0,3	1,8±0,2	1,6±0,2
Базофилы (%)	0,3±0,01	0,3±0,01	0,2±0,01	0,1±0,1

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.

Согласно литературным данным, при ранних стадиях остеоартрозов наблюдается отсутствие глубоких нарушений в функционировании системы фагоцитоза [8], что согласуется с полученными нами результатами. До начала лечения большинство показателей практически не отличались от значений контрольной группы. Статистически значимые изменения ($p<0,05$) наблюдались в отношении фагоцитарного показателя (рис. 1), значения которого превышали контрольные, оставаясь при этом в пределах нормы, что косвенно может свидетельствовать о наличии воспалительного компонента при остеоартрозе [1, 6].

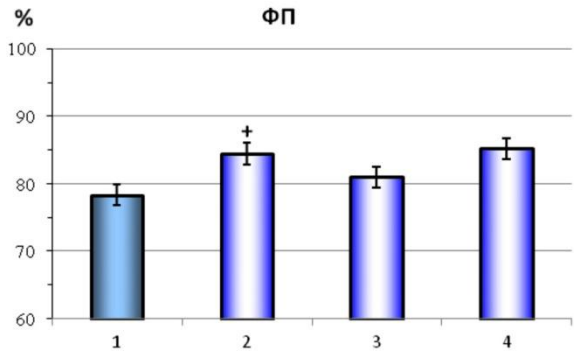

Рис. 1. Динамика фагоцитарного показателя больных ОА (I-II стадии) в процессе проведения консервативного лечения (%): 1 − контрольная группа; 2 − до проведения лечения; 3 − 6 месяцев после начала лечения; 4 – через 1 год от начала лечения; + − $p<0,05$ относительно показателей контрольной группы

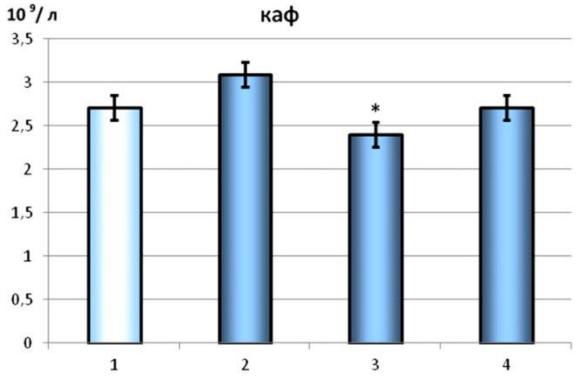

Рис. 2. Динамика изменения показателя количества активных нейтрофилов в 1 литре крови у больных ОА (I- II стадии) в процессе проведения консервативного лечения (10^9/л.): 1 − контрольная группа; 2 − до проведения лечения; 3 − 6 месяцев после начала лечения; 4 – через 1 год от начала лечения; * − $p<0,05$ относительно значений до проведения консервативной терапии

На последующем этапе исследования (через 6 месяцев после начала консервативной терапии) достоверно ($p<0,05$) снижалось количество активных фагоцитов и уменьшалась поглотительная функция нейтрофилов, что выражалось в уменьшении значений КАФ и ФЧ (рис. 3), при этом ПЗФ оставался практически без существенных изменений. По нашему мнению, данный факт говорит о снижении антигенной нагрузки в результате проведенного лечения.

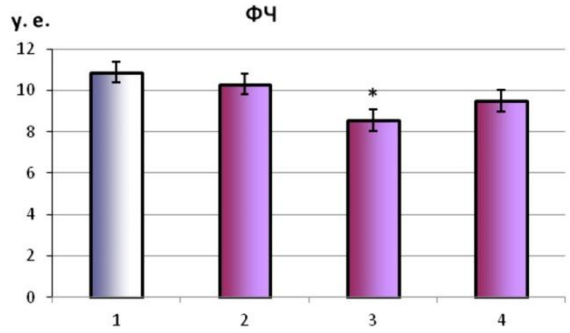

Рис. 3. Динамика фагоцитарного числа больных ОА (I-II стадии) в процессе проведения консервативного лечения (у.е.): 1 − контрольная группа; 2 − до проведения лечения; 3 − 6 месяцев после начала лечения; 4 – через 1 год от начала лечения; * − $p<0,05$ относительно значений до проведения консервативной терапии

Через 1 год от начала лечения достоверно ($p<0,05$) повышался показатель завершенности фагоцитоза, отражающий секреторную активность иммунных клеток и составляющий основу фагоцитарной функции нейтрофилов (рис. 4).

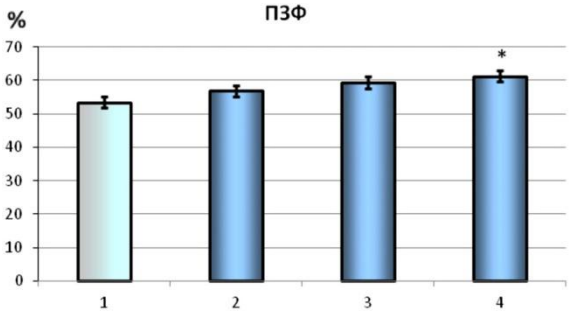

Рис. 4. Динамика показателя завершенности фагоцитоза больных ОА (I-II стадии) в процессе проведения консервативного лечения (%): 1 − контрольная группа; 2 − до проведения лечения; 3 − 6 месяцев после начала лечения; 4 – через 1 год от начала лечения; * − $p<0,05$ относительно значений до проведения консервативной терапии

Из литературных источников известно, что на ранних стадиях ОА наблюдается активация хондроцитами катаболизма протеогликанов, продукты деградации которых в большом количестве диффундируют из матрикса хряща в синовиальную жидкость, а затем попадают в периферический кровоток [13, 16]. Другими исследователями в эксперименте было доказано повышение активности лизосомальных ферментов, выделяемых иммунными клетками при их взаимодействии с продуктами деградации суставного хряща, поступившими в кровь в результате патологического процесса [4, 14, 15]. В связи с этим мы предполагаем, что повышение

ПЗФ связано с активацией протеолитических и гидролитических ферментов (коллагеназы, катепсина G, эластазы и др.), а также активных метаболитов кислорода (O_2^-, H_2O_2, OH^+), выделяемых иммунными клетками. Данные биологически активные вещества, в свою очередь, могут оказывать повреждающее действие непосредственно на ткани сустава [3, 17, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наблюдаемое у пациентов с ОА I-II стадии статистически значимое повышение количества активных нейтрофильных фагоцитов подтверждает наличие воспалительных явлений в суставе на начальном этапе развития данного заболевания. На фоне проведения комплексной, патогенетически обоснованной, консервативной терапии отмечалось снижение показателей ФАН (ФП и ФЧ), что свидетельствует о купировании воспалительного процесса в тканях больного сустава. Регистрируемое через 1 год увеличение переваривающей функции нейтрофилов (ПЗФ) указывает на активацию ферментативной и окислительной активности иммунных клеток, что говорит о том, что дегенеративно-дистрофические процессы, обусловленные биохимическими, иммунологическими и механическими изменениями в тканях сустава, продолжают развиваться.

Полученные данные говорят о том, что для достижения стойкого результата лечения ОА I-II стадии необходим длительный курс терапевтических мероприятий, а для оценки эффективности проводимой терапии можно использовать тесты по изучению фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажанов Н. Н., Петухова Н. В. О диагностике и тактике лечения при остеоартрозе // Клин. медицина. 1993. № 4. С. 58-61.
2. Гайдышев И. П. Анализ и обработка данных : спец. справочник. СПб. : Питер, 2001. 752 с.
3. Долгушин И. И., Бухарин О. В. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург : УрО РАН, 2001. 278 с.
4. Изменение показателей углеводного компонента протеогликанов тканей коленного сустава при удлинени голени у собак / Е. Л. Матвеева [и др.] // Гений ортопедии. 1997. № 1. С. 71–73.
5. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск : Наука, 1989. 344 с.
6. Клековкина Е. В., Немцов Б. Ф. Медиаторы иммунного воспаления в крови и синовиальной жидкости у больных остеоартрозом и ревматоидным артритом // Цитокины и воспаление. 2006. Т. 5, № 3. С. 49-54.
7. Коваленко В. Н., Борткевич О. П. Остеоартроз : практ. рук. 2-е изд., перераб. и доп. Киев : Морион, 2005. 592 с.
8. Корнилов Н. Н., Новоселов К. А., Корнилов Н. В. Современные взгляды на этиопатогенез, принципы диагностики и консервативную терапию дегенеративно–дистрофических заболеваний коленного сустава // Травматология и ортопедия России. 2002. № 2. С. 47–59.
9. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. В. В. Меньшикова. М. : Медицина, 1987. 365 с.
10. Насонова В. А. Проблема остеоартроза в XXI веке // Сибир. мед. журн. 2001. Т. 16, № 3-4. С. 5-9.
11. Нестерова И. В., Синельникова Е. Ю., Швыдченко И. Н. Пептидная регуляция продукции интерлейкина-8 нейтрофильными гранулоцитами в эксперименте in vitro // Иммунология. 2006. № 5. С. 274.
12. Скворцова Р. Г. Иммунный статус как компонент диагностики и мониторинга заболеваний // Клин. лаборатор. диагностика. 2002. № 10. С. 4-5.
13. Bayliss M. T. Proteoglycan structure in normal and osteoarthrotic human cartilage // Articular Cartilage Biochemistry. New York, 1986. P. 295–310.
14. Bekke S. The pathogenesis of rapidly destructive coxarthrosis // Nippon Seikeigeca Gakkai Zasshi. 1991. Vol. 9. P. 720-730.
15. Demonstration of increased proteoglycan turnover in cartilage explants from dogs with experimental osteoarthritis / S. L. Carney [et al.] // J. Orthop. Res. 1984. Vol. 2. P. 201–206.
16. Dingle J. T., Tyler J. A. Role of intercellular messengers in the control of cartilage matrix dynamics // Articular Cartilage Biochemistry. New York, 1986. P. 181–210.
17. Edwards S. W., Hallet M. B. Seeng the wood for trees : the forgotten role of neutrophils in rheumatoid arthritis // Immunol. Today. 1997. Vol. 18, No 4. P. 320–324.
18. Effect of chondroprotectors in the treatment and prophylaxis of the knee joint osteoarthrosis / I. M. Zazimiy [et al.] // Lik. Sprava. 2000. No 7-8. P. 50-52.
19. De los Reyes G. C., Koda R. T., Lien E. J. Glucosamin and chondroitin sulfates in the treatment of osteoarthritis : a survey // Prog. Drug.Res. 2000. No 55. P. 81–103.
20. Increased superoxide anion release from chondrocytes in reponse to interleukin 1 and interferons / Y. Iwasaki [et al.] // Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi. 1990. Vol. 64, No 10. P. 976–982.

Рукопись поступила 18.12.08.

Сведения об авторах:

1. Сазонова Наталья Владимировна – зам. главного врача по поликлинической работе, к.м.н.;
2. Кузнецова Елена Ивановна – младший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии;
3. Чепелева Марина Владимировна − старший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии, к.м.н.