

## ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОАРТРОЗА СИМПТОММОДИФИЦИРУЮЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ БЫСТРОГО И МЕДЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

**Л. Широкова**<sup>1</sup>, доктор медицинских наук,  
**С. Носков**<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор,  
**К. Широкова**<sup>1</sup>,  
**С. Дыбин**<sup>2</sup>, кандидат медицинских наук,  
**Я. Политов**<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук,  
**М. Мокроусова**<sup>1, 2</sup>,  
**Е. Андрейченко**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ярославская государственная медицинская академия

<sup>2</sup>ЯО Клиническая больница №3, Ярославль

**E-mail:** Larshir@gmail.com

*Исследование, проведенное у 111 пациентов с остеоартрозом (ОА), показало, что более значительно снижают интенсивность оксидативного стресса препараты, воздействующие на прямую и избирательную ингибицию выработки интерлейкина-1 $\beta$  и участвующие в механизме блокирования рецепторов данного цитокина – одного из ключевых факторов патогенеза ОА.*

**Ключевые слова:** остеоартроз, оксидативный стресс, диеновые конъюгаты, нитрат-ионы, симптоммодифицирующие препараты.

**О**стеоартроз (ОА) – самое распространенное заболевание синовиальных суставов человека, существенно ухудшающее качество жизни из-за постоянного болевого синдрома [1]. При ОА приоритетное значение сохраняет симптоматическое лечение нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) [4]. При ОА крупных суставов в случаях недостаточной эффективности НПВП на патогенетические воспалительные механизмы воздействуют глюкокортикостероидами (ГКС). В группу симптоммодифицирующих средств медленного действия, используемых при ОА, входят производные гиалуроновой кислоты (ГК) с разной молекулярной массой, пероральные хондропротекторы – глюкозамин и хондроитинасульфат, а также ингибитор интерлейкина (ИЛ)-1 (ИЛ1 $\beta$ ) диацереин [2]. Сегодня именно ИЛ1 $\beta$  признают главным фактором хрящевой деструкции [12]. Установлено, что ИЛ1 и фактор некроза опухоли- $\alpha$  ухудшают метаболизм синовиальных тканей [8]. Они стимулируют производство оксида азота (NO) и перекисных радикалов кислорода, которые вовлечены в катаболизм хряща и, кроме этого, могут приводить к повреждению ДНК и апоптозу хондроцитов [9, 10].

Крайне актуальным представляется применение при ОА биотехнологии получения аутологичной активированной сыворотки (ААС), обогащенной блокаторами рецепторов провоспалительного цитокина ИЛ1 $\beta$ . В медицине и ветеринарии с определенным успехом применяется аутологичная

кондиционированная, приготовленная по технологиям IRAP (США) и Orthokine (Германия) [11, 13]. В нашей клинике разработана медицинская технология применения ААС на основе противовоспалительных и анаболических цитокинов при разных клинических формах ОА [5].

Определенный научный интерес представляет влияние симптоммодифицирующих препаратов разных групп при ОА на изменения интенсивности перекисных процессов и показатели действия токсичного NO, которые вовлечены в процесс разрушения хряща [3, 9]. Кроме того, параметры оксидативного стресса могут быть дополнительными лабораторными маркерами эффективности терапии.

Нами проанализирована интенсивность окислительного стресса по титрам диеновых конъюгатов (ДК) и стабильных метаболитов NO в виде нитрат-ионов (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) при применении разных методов симптоммодифицирующей терапии у больных ОА коленных суставов (КС). Уровни ДК в плазме крови определяли методом [7], модифицированным в Ярославской государственной медицинской академии. Концентрацию NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в биологических средах оценивали с помощью потенциометра ЭВ-74 [6].

На 1-м этапе работы изучали влияние локальной терапии ААС, ГКС и низкомолекулярной ГК на уровни ДК и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> у больных с достоверным диагнозом ОА КС. Рентгенологическую стадию гонартроза (ГА) определяли согласно классификации Келлгрена–Лоуренса. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1. В зависимости от выраженности синовита пациенты с ГА были рандомизированы в 2 группы: группа с субклиническим синовитом получала терапию ААС (n=21) или ГК (n=19), группа с умеренно выраженным синовитом – ААС (n=24) или ГКС (n=29). Группы были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела (ИМТ), стадии и длительности ГА, выраженности суставного синдрома. ААС по 2 мл вводили в полость КС 2 раза в неделю в течение 3 нед, протез синовиальной жидкости Синокрот – внутрисуставно по 20 мг 1 раз в неделю в течение 3 нед, препарат триамцинолона Кеналог в дозе 40 мг – однократно с 2 последующими инъекциями 2% лидокаина по 2,0 мл 1 раз в неделю. Пациентов наблюдали до начала терапии, а также через 1, 3 и 6 мес после ее начала.

На 2-м этапе работы изучали влияние диацереина (100 мг/сут на 3 мес) на показатели окислительного стресса при ОА КС (n=18) в сравнении с группой контроля. По выраженности синовита в КС пациенты распределились следующим образом: 14 человек – с субклиническим синовитом, 4 – с умеренно выраженным. В этот этап исследования

включали пациентов с оценкой боли по визуальной аналоговой шкале >40 мм, не принимающих НПВП или медленно действующие симптоммодифицирующие препараты. Уровни NO<sub>3</sub><sup>-</sup> исследовали до начала терапии и через 3 мес. Группу контроля составили 26 относительно здоровых лиц без жалоб на боли в суставах, которым ранее никогда не ставили диагноз ОА; группа контроля была сопоставима по полу и возрасту с основной группой. Кроме того, на этом этапе исследования с помощью УЗИ на ультрасонографе Vivid-3 (Япония) с использованием линейных датчиков с частотой 7,5–10,0 МГц анализировали динамику толщины синовиальной оболочки при поперечном супрапателлярном сканировании и количестве синовиальной жидкости в супрапателлярном завороте, выраженные в миллиметрах.

Статистическую обработку результатов производили, используя пакет прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoftInc.). Результаты представлены в виде средней величины ± стандартное отклонение (M±σ). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при нормальном распределении признаков, при непараметрическом – по Z-критерию Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при p<0,05.

Данные о влиянии симптоммодифицирующих препаратов разных групп на титры ДК и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> у больных ОА приведены в табл. 2–5.

При клинически минимальном синовите анализ показателей ДК не выявил статистически значимых изменений ни в одной из сравниваемых групп за 6 мес наблюдения. При умеренно выраженном синовите первоначально группы ААС- и ГКС-терапии не различались по количеству ДК в плазме. Через 1 мес лечения содержание ДК в группе ААС было на 6,7%, через 3 мес – на 26,3%, через 6 мес – на 21,8% ниже, чем в группе ГКС.

У больных с субклиническим синовитом титры NO<sub>3</sub><sup>-</sup> как в плазме, так и в цельной крови достоверно регрессировали только на фоне терапии ААС. Через 1 мес лечения различия между группами ААС- и ГК-терапии составили 41,8%, через 3 мес – 43,7%, через 6 мес – 56,5%. Подобным образом снижались и плазменные концентрации NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в плазме крови при клинически очевидном синовите, в то время как в цельной крови они существенно не изменялись.

На 2-м этапе исследования уровень стабильных метаболитов NO в плазме крови у пациентов с ОА изначально был выше на 32,2%, чем в контроле; 3-месячный курс диацереина способствовал снижению концентрации в плазме крови NO<sub>3</sub><sup>-</sup> на 26,0%. Существенной динамики NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в цельной крови на этом этапе не зарегистрировано.

Таблица 1  
Клиническая характеристика больных ОА, включенных в исследование по показателям оксидативного стресса (M±σ)

Показатель	Группа			
	ААС	ГКС	ГК	диацереина
Женщины, n	45	29	19	18
Возраст, годы	57,6±10,3	58,3±8,2	55,3±6,5	57,4±5,9
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,1±4,1	32,9±3,8	31,8±5,7	40,9±5,3
Длительность ГА, годы	8,4±5,3	8,3±4,8	7,5±3,9	10,2±6,4
ОА, абс.:				
первичный	45	29	19	18
медленно прогрессирующий	45	29	19	18

Таблица 2

## Динамика содержания ДК в плазме крови у больных ОА КС при лечении ААС и ГК

ОА КС	Лечение	Уровень ДК, мкмоль/л; M±σ			
		исходно (0)	через 1 мес (1)	через 3 мес (3)	через 6 мес (6)
Субклинический синовит	ААС (n=21)	12,1±4,6	11,1±3,2; -8,3%	11,1±2,6; -8,3%	12,0±1,6; -0,8%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -0,81; =0,418	t; p <sub>3-0</sub> : -0,86; =0,391	t; p <sub>6-0</sub> : -0,09; =0,926
	ГК (n=19)	14,8±5,0	12,2±5,8; -17,5%	12,2±3,2; -17,5%	12,6±3,2; -14,8%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -1,48; =0,148	t; p <sub>3-0</sub> : -1,91; =0,064	t; p <sub>6-0</sub> : -1,61; =0,115
t, p <sub>ААС-ГК</sub>		-1,779 =0,083	-0,752 =0,456	-1,198 =0,238	-0,761 =0,451
Умеренно выраженный синовит	ААС (n=24)	16,3±3,2	12,6±2,4**; -22,7%	10,9±3,0**#; -33,1%	12,9±2,5**#; -20,8%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -4,53; =0,000	t; p <sub>3-0</sub> : -6,03; =0,000	t; p <sub>6-0</sub> : -4,10; =0,000
	ГК (n=29)	18,9±6,4	13,5±5,8*; -28,5%	14,8±3,9*; -21,7%	16,5±5,5; -12,7%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -3,36; =0,001	t; p <sub>3-0</sub> : -2,94; =0,005	t; p <sub>6-0</sub> : -1,53; =0,131
t, p <sub>ААС-ГК</sub>		-1,810 =0,076	-0,711 =0,481	-4,012 =0,000	-2,960 =0,005

**Примечание.** Достоверность различий: \* – p<0,01 и \*\* – p<0,001 – внутри группы; # – p<0,01 – между группами.

Таблица 3

Динамика содержания NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в плазме и цельной крови у больных ОА КС при лечении ААС и ГК

ОА КС	Лечение	Уровень NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> в плазме крови, ммоль/л, M±σ			
		исходно (0)	через 1 мес (1)	через 3 мес (3)	через 6 мес (6)
Субклинический синовит	ААС (n=21)	1,74±0,76	1,03±0,36**; -40,8%	1,29±0,65*; -25,8%	0,83±0,19**; -52,3%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -3,86; =0,000	t; p <sub>3-0</sub> : -2,06; =0,046	t; p <sub>6-0</sub> : -5,32; =0,000
	ГК (n=19)	2,15±1,75	1,77±1,24#; -17,7%	2,29±0,54##; +6,5%	1,91±0,16##; -11,2%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -0,77; =0,445	t; p <sub>3-0</sub> : 0,33; =0,741	t; p <sub>6-0</sub> : -0,59; =0,555
t, p <sub>ААС-ГК</sub>		-0,978 =0,334	-2,619 =0,013	-5,260 =0,000	-19,334 =0,000
ОА КС	Лечение	Уровень NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> в цельной крови, ммоль/л, M±σ			
		исходно (0)	через 1 мес (1)	через 3 мес (3)	через 6 мес (6)
Субклинический синовит	ААС (n=21)	1,53±0,47	1,45±0,66; -5,2%	1,41±0,38; -7,8%	0,96±0,38**; -37,2%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : -0,45; =0,653	t; p <sub>3-0</sub> : -0,910; =0,368	t; p <sub>6-0</sub> : -4,322; =0,000
	ГК (n=19)	2,00±1,10	2,63±1,42#; +31,5%	1,98±0,98#; -1,0%	1,49±0,15##; -25,5%
	Статистическая достоверность		t; p <sub>1-0</sub> : 1,577; =0,123	t; p <sub>3-0</sub> : -0,06; =0,952	t; p <sub>6-0</sub> : -2,002; =0,052
t, p <sub>ААС-ГК</sub>		-1,788 =0,082	-3,424 =0,001	-2,471 =0,018	-5,686 =0,000

**Примечание.** Здесь и в табл. 4: \* – p<0,05 и \*\* – p<0,001 – статистически значимые различия внутри группы; # – p<0,05 и ## – p<0,001 – между группами.

При УЗИ КС толщина синовиальной оболочки до начала лечения диацереином составляла 3,50±1,38 мм, через 3 мес лечения – 2,67±0,81 мм, уменьшившись на 23,7% (t=2,39; p=0,028). Количество синовиальной жидкости в супрапателлярном завороте первоначально составляла 3,73±2,42 мм и снизилось на 48,2% к окончанию 3-месячного лечения диацереином, достигнув значения 1,93±2,20 мм (Z=3,295; p=0,0009).

Таким образом, у больных ОА КС как с минимальной, так и с клинически очевидной выраженностью синовита только терапия ААС снижает содержание NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в плазме крови с сохранением эффекта через 3 и 6 мес после начала ле-

чения. Внутрисуставное введение препарата ГК и триамсинолона не влияет на уровень NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в плазме крови. Терапия ААС оказалась предпочтительнее терапии препаратом ГК у пациентов с ОА КС с субклиническим синовитом, исходя из данных о регрессе уровня NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в цельной крови как через 1 мес после начала лечения, так и через 3 и 6 мес. У пациентов с ОА КС с субклиническим и умеренно выраженным синовитом на фоне 3-месячной терапии диацереином отмечена нормализация содержания стабильных метаболитов NO в плазме крови, что сопровождается уменьшением толщины синовиальной оболочки и количества выпота в супрапателлярном завороте КС.

Таблица 4

Динамика содержания  $\text{NO}_3^-$  в плазме крови у больных ОА КС при лечении ААС и ГКС

ОА КС	Лечение	Уровень $\text{NO}_3^-$ в плазме крови, ммоль/л; $M \pm \sigma$			
		исходно (0)	через 1 мес (1)	через 3 мес (3)	через 6 мес (6)
Умеренно выраженный синовит	ААС (n=24)	1,76±0,59	1,44±0,66; -18,2%	1,36±0,76*; -22,7%	0,97±0,35**; -44,8%
	Статистическая достоверность		t; $p_{1-0}$ : -1,77; =0,083	t; $p_{3-0}$ : -2,04; =0,047	t; $p_{6-0}$ : -5,64; =0,000
	ГКС (n=29)	1,77±0,90	2,06±1,26#; +16,3%	1,92±0,68##; +8,4%	1,66±0,93##; -6,2%
	Статистическая достоверность		t; $p_{1-0}$ : 1,01; =0,318	t; $p_{3-0}$ : 0,71; =0,477	t; $p_{6-0}$ : -0,45; =0,649
$t, p_{\text{ААС-ГКС}}$		-0,047 =0,963	-2,174 =0,034	-2,830 =0,007	-3,434 =0,001

Таблица 5

Динамика уровня  $\text{NO}_3^-$  в плазме и цельной крови у больных ОА КС при лечении диацереином;  $M \pm \sigma$ 

Уровень $\text{NO}_3^-$ , ммоль/л	Контроль (n=26)		ОА (n=18)		$t_{0-1}$ $p_{0-1}$	$t_{0-3}$ $p_{0-3}$	$t_{1-3}$ $p_{1-3}$
	(0)	исходно (1)	через 3 мес (3)				
В плазме крови	0,90±0,31	1,19±0,27#; +32,2% (0–1)	0,88±0,12*; -26,0% (1–3)		-3,21 0,003	0,26 0,80	4,451 0,000
В цельной крови	1,25±0,50	1,23±0,53; -1,6% (0–1)	1,00±0,22; -18,6% (1–3)		0,127 0,899	1,98 0,053	1,700 0,098

**Примечание.** \* – достоверность различий: внутри группы до лечения и через 3 мес лечения ( $p < 0,001$ ); # – между контролем и группой ОА КС ( $p < 0,01$ ).

Проведенное исследование показывает, что более значимый лабораторный эффект (снижение интенсификации окислительного стресса) дают препараты, механизм действия которых связан с прямой и избирательной ингибировкой выработки ИЛ1 $\beta$  или блокадой рецепторов этого цитокина, являющегося одним из основных медиаторов воспаления и катаболизма хряща при ОА.

## Литература

- Алексеева Л.И., Шарапова Е.П. Результаты многоцентрового годичного исследования препарата Дьюралан // Эффективн. фармакотер. – 2011; 1: 50–7.
- Бадалов Н.Г. Комплексное лечение больных остеоартрозом // Consilium Medicum. – 2008; 10 (7): 10–4.
- Дубиков А.И., Череповский А.В., Белоголовых Л.А. и др. Роль оксида азота в патологии опорно-двигательного аппарата // Научно-практ. ревматол. – 2004; 3: 78–83.
- Насонов Е.Л., Насонова В.А. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний / М.: Литтерра, 2007; 448 с.
- Носков С.М., Дыбин С.Д., Широкова Л.Ю. и др. Способ локальной терапии производными аутологичной крови пациентов ревматологического профиля. Разрешение на применение новой медицинской технологии. Заявитель МКУЗ «МСЧ ЯЗДА», рег. уд. ФС № 2010/327.
- Слесарев В.И. Химия: Основы химии живого / СПб.: Химиздат, 2005; 784 с.
- Стальная И.Д. Современные методы в биохимии / М.: Медицина, 1977; 63–4.
- Calich A., Domiciano D., Fuller R. Osteoarthritis: can anti-cytokine therapy play a role in treatment? // J. Clin. Rheumatol. – 2010; 29 (5): 451–5.

9. Davies C., Guilak F., Weinberg J. et al. Reactive nitrogen and oxygen species in interleukin-1-mediated DNA damage associated with osteoarthritis // Osteoarthr. Cartil. – 2008; 16 (5): 624–30.

10. de Isla N., Stoltz J. In vitro inhibition of IL-1 $\beta$  catabolic effects on cartilage: a mechanism involved on diacerein anti-OA properties // J. Biorheol. – 2008; 45 (3): 433–8.

11. Frisbie D., Kawcak C., Wery N. et al. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis // Am. J. Vet. Res. – 2007; 68 (3): 290–6.

12. Lim W., Toothman J., Miller J. et al. IL-1  $\beta$  inhibits TGF- $\beta$  in the temporomandibular joint // J. Dent. Res. – 2009; 88 (6): 557–62.

13. Wehling P., Moser C., Frisbie D. et al. Autologous conditioned serum in the treatment of orthopedic diseases: the orthokine therapy // J. BioDrugs. – 2007; 21 (5): 323–32.

## OXIDATIVE STRESS INDICATORS IN THE DYNAMICS OF TREATMENT WITH RAPID- AND SLOW-ACTING SYMPTOM-MODIFYING DRUGS FOR OSTEOARTHRITIS

L. Shirokova<sup>1</sup>, MD; Professor S. Noskov<sup>1</sup>, MD; K. Shirokova<sup>1</sup>; S. Dybin<sup>2</sup>, Candidate of Medical Sciences; Ya. Politov<sup>1</sup>, Candidate of Medical Sciences;

M. Mokrousova<sup>1,2</sup>; E. Andreichenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yaroslavl State Medical Academy

<sup>2</sup>Yaroslavl Regional Clinical Hospital Three, Yaroslavl

The investigation conducted in 111 patients with osteoarthritis (OA) has shown that the rate of oxidative stress is more significantly decreased by drugs that affect the direct and selective inhibition of interleukin-1 $\beta$  elaboration and are involved in the mechanism responsible for blocking the receptors of this cytokine, one of the key factors of the pathogenesis of OA.

**Key words:** osteoarthritis, oxidative stress, diene conjugates, nitrate ions, symptom-modifying drugs.