

The estimation of the indices of the inflammatory and immune response in children with juvenile rheumatoid arthritis

V. M. Dudnik, *I. V. Vyzhga

Department of Pediatrics, N. I. Pirogov National Medical University of Vinnitsa, Ukraine

Corresponding author: yulia tokarchuk@yahoo.com. Manuscript received January 04, 2013; accepted April 18, 2013

Abstract

The increase of the frequency of inflammatory and degenerative injuries of joints, especially juvenile rheumatoid arthritis (JRA) as the most common rheumatic disease in children is observed all over the world. The main directions of the problem study are the detailing of the clinical peculiarities in the course of the disease and the improvement of the diagnostics and treatment. The aim of the study is to check inflammatory and immune responses in children with JRA. During the study we have examined 149 children with JRA aged 12 ± 2.4 using general clinical, biochemical and immune-enzyme methods. The control group has included 30 healthy children of the same age. The analysis of the data has been made according to the requirements for the medical and biological research. So, we have come to the conclusion that the most common is a joint form of the disease by the type of monoarthritis with such main clinical signs as intoxication syndrome and joint damage. We have also defined that during the course of JRA are shown the enlarged indices of inflammatory cytokines, C-reactive protein level and antibodies to modified citrullinated vimentin, the meaning of which being more than 20 U/ml is important for the diagnostics of the disease.

Key words: juvenile rheumatoid arthritis, inflammation, immune response, children.

Реферат

Во всем мире наблюдается рост частоты воспалительных и дегенеративных поражений суставов, в том числе и ювенильного ревматоидного артрита (ЮРА), как наиболее распространенного ревматологического заболевания детского возраста. Приоритетными направлениями научных исследований проблемы являются детализация клинических особенностей течения заболевания и усовершенствование диагностики и лечения. Цель исследования – изучение особенностей воспалительного и иммунного ответов у детей с ЮРА. С применением общеклинических, биохимических, иммуноферментных методов комплексно обследовано 149 детей с ЮРА, средний возраст которых составил $12 \pm 2,4$ лет. В контрольную группу вошли 30 практически здоровых детей такого же возраста. Анализ результатов проводился согласно требованиям к обработке данных медико-биологических исследований. Исследование показало, что наиболее часто встречается суставная форма заболевания по типу моноартрита, а клиническими ведущими показателями являются поражение сустава и интоксикационный синдром. Установлено, что ЮРА сопровождается повышенным содержанием провоспалительных цитокинов, повышенным уровнем С-реактивного пептида, а также антител к модифицированному цитруллинированному виментину, значение которого свыше 20 Ед/мл является значимым для диагностики заболевания.

Ключевые слова: ювенильный ревматоидный артрит, воспаление, иммунологический ответ, дети.

Актуальность

Ювенильные артриты представляют собой гетерогенную группу заболеваний, дифференциальная диагностика которых осложняется за счет отсутствия четких критериев и особенностей клинических проявлений с отсроченной манифестацией [1]. Ювенильные артриты – обобщающее понятие, которое объединяет разнородную группу хронических заболеваний суставов с разной этиологией и патогенезом [1, 2]. Решение вопроса о нозологической принадлежности артрита, поиск новых диагностических критериев, уточнение клинико-лабораторного течения заболевания – актуальные задачи современной ревматологии [2].

За последнее десятилетие достигнут существенный успех в изучении отдельных звеньев патогенеза системных заболеваний соединительной ткани, в том числе и ювенильного ревматоидного артрита (ЮРА), как наиболее распространенного среди ювенильных артритов [2, 3]. ЮРА (класс XIII, М 08.0) – хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание соединительной ткани, которое проявляется до 16-летнего возраста преимущественным поражением суставов в виде эрозивно-деструктивного прогрессирующего полиартрита с по-

следующей деформацией суставов и возможным вовлечением в патологический процесс других органов и систем. Согласно статистическим данным в Украине насчитывается более трех тысяч детей с ЮРА (0,4 на 1000 детского населения), заболеваемость ЮРА составляет от 2 до 16 случаев на 10000 детского населения в возрасте до 16 лет [3, 4, 5].

Последние исследования продемонстрировали важную роль отдельных иммунокомпетентных клеток и цитокинов в развитии изменений в суставах при ЮРА. Существенная роль в развитии и последующем поддержании патологического процесса в суставах, внутренних органах и коже у пациентов с ЮРА принадлежит иммунологическим нарушениям [4, 5]. В основе развития иммунологической реакции лежит нарушение регуляции эфферентных цепей иммунитета с последующим развитием иммунопатологических реакций, где гуморальным звеньям отведена главная роль [6]. Заслуживает внимания иммуногенность цитруллинированных α - и β -цепей фибрина в синовиальной ткани, цитруллинированный белок виментин, а также пептиды в составе коллагена I и II типа, которые рассматриваются в контексте основных иммунологических маркеров про-

цесса [7, 8]. Именно определение антител к цитруллинированным пептидам, особенно последних – третьего и четвертого поколения – часто оказывается предиктором неблагоприятного течения заболевания [9]. Важным в патогенезе ЮРА является и взаимодействие на молекулярном уровне между иммунocyтaми, связанными с ними цитокинами, и клетками мезенхимального матрикса (макрофагами и фибробластами) [10, 11]. К диагностическим лабораторным показателям, клиническое значение которых является предметом наиболее интенсивных исследований в детской кардиоревматологии, относят белки острой фазы воспаления, провоспалительные цитокины, а также аутоантитела разных классов. Особенно значимым является дисбаланс между содержанием про- и противовоспалительных цитокинов преобладанием первых над вторыми [9, 11]. Детальное изучение особенностей патогенеза заболевания совместно с клинической манифестацией разрешит улучшить диагностику и усовершенствовать подходы к лечению ЮРА [14].

Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования является комплексная оценка воспалительного и иммунологического ответа у детей с ЮРА.

Материал и методы

Нами комплексно обследовано 149 детей с ЮРА, которые находились на диспансерном учете и лечении в Винницкой, Житомирской и Хмельницкой областных детских больницах. На момент обследования все дети имели клинические и лабораторные признаки обострения заболевания. Возраст детей составлял от 2 до 17 ($12 \pm 2,4$) лет. В контрольную группу включили 30 практически здоровых детей того же возраста.

Мы учитывали оценку жалоб ребенка и результаты объективного обследования, определение активности воспалительного процесса и степени дегенеративно-деструктивных изменений во время осмотра. Общее состояние пациента оценивали с использованием визуальных аналоговых шкал. Оценка суставного синдрома проводили с использованием индекса Ричи, который определяет число болезненных суставов и степень их болезненности. Лабораторно-инструментальные исследования заключались в проведении общеклинических тестов в соответствии со стандартными методиками. Иммунологический компонент исследования устанавливался путем определения содержания общего IgG в сыворотке крови и циркулирующих иммунных комплексах с помощью тест-систем «Микроанализ» АО «НПО СИНТЕКО», Россия. Содержание показателей активности воспалительного процесса – провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) – определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Вектор-Бест», Россия. Содержание антител к модифицированному цитруллинированному виментину (анти-МЦВ) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом ELISA с помощью

ридера SunRise с использованием тест-системы фирмы «ТЕСОН», Австрия. На основании полученных результатов, а именно СОЭ и содержания С-реактивного протеина, была рассчитана активность заболевания (DAS) с использованием стандартизированных формул АРА.

Полученные результаты проанализированы в соответствии с рекомендациями по статистической обработке данных медико-биологических исследований с использованием компьютерной программы Statistica 6.0. Для каждой группы показателей определяли среднее арифметическое (M), среднее квадратичное отклонение (σ), среднюю погрешность (m). Достоверность разницы между средними значениями оценивали по таблице критериев Стьюдента для непараметрических показателей. Разница считалась достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У большинства детей 137 (88,6%) течение ЮРА сопровождалось суставной формой поражения, в то же время, суставно-висцеральная форма была диагностирована только у 17 (11,4%). Течение суставно-висцеральной формы ЮРА характеризовалось ограниченными висцеритами с поражением сердечно-сосудистой системы в 9 (52,9%), ревматоидным васкулитом – 4 (23,5%), пульмонитом – 3 (17,6%) и нефритом с развитием хронической почечной недостаточности в 1 (6%) случаях. Суставной синдром по типу моноартрита отмечался у 63 (42,3%), олигоартритический вариант у 54 (36,2%) пациентов, а у 32 (21,5%) детей течение ЮРА сопровождалось полиартритом. Среднее количество пораженных суставов у одного ребенка составило $2,1 \pm 0,3$.

Клинически суставной синдром проявлялся чувством артралгий, отеком периартикулярных тканей и утренней скованностью длительностью до 1 часа у 90,6% обследованных детей. Болевой синдром в виде полиартралгии, миалгии, осалгии отмечался у всех детей с ЮРА. Вместе с тем, болевой синдром носил как постоянный, так и периодический характер, усиливался во время пальпации, активных или пассивных движений ребенка. Оценка болевого синдрома проводилась с использованием индекса Ричи, который составил $2,11 \pm 0,28$. Исследование показало, что наиболее часто в патологический процесс вовлекаются коленные суставы – 40,9%, голеностопные – 19,7%, лучезапястные – 17,4%. Реже у обследованных детей были поражены локтевые суставы – 8,1%, дистальные фаланговые суставы – 4,5%, а также тазобедренные суставы – 3,4%. У 1 пациента (0,7%) отмечалось поражение шейного отдела позвоночника, что свидетельствует о более тяжелом течении заболевания. Одновременно с суставным синдромом у 13 детей (8,7%) определялась выраженная мышечная атрофия, преимущественно проксимально от пораженного сустава. У 18,1% детей особенностью течения заболевания было развитие тендосиновиитов и бурситов локтевых и коленных суставов. Кроме суставного синдрома у 68 (45,6%) пациентов ЮРА проявлялся также интокси-

кационным синдром разной степени тяжести, сопровождающийся ощущениями общего недомогания, эмоциональной лабильностью, головными болями, снижением аппетита, ухудшением сна.

На активность воспалительного процесса у детей с ЮРА указывал анализ лабораторных показателей, а именно, присутствие лейкоцитоза, повышение СОЭ и содержание СРП. По результатам исследования у 12 (8%) обследованных детей был отмечен лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом влево. Показатель СОЭ варьировал в пределах от 3 до 64 мм/час, его повышение отмечалось у большинства обследованных детей (57,7%). В пользу сохранения активности воспалительного процесса у детей с ЮРА свидетельствовало также повышение содержания СРП в сыворотке крови ($7,85 \pm 1,3$), которое определялось в 83 (63%) случаев. На основании вышеприведенных результатов нами проанализирована активность заболевания (DAS) по формуле с использованием СОЭ и содержанием СРП – как более модернизированного варианта. Таким образом, DAS с использованием СОЭ составил $2,71 \pm 0,11$, что свидетельствует об умеренной активности заболевания обследованных детей. В то же время, DAS с использованием СРП оказался немного ниже, чем показатель DAS-СОЭ и составил $2,6 \pm 0,08$, ($p < 0,05$). Следует обратить внимание, что по результатам детального сравнения клинико-лабораторных показателей заболевания, DAS-СРП оказался более чувствительным и с большей точностью отображал активность процесса в каждом конкретном случае заболевания ЮРА (табл. 1).

Таблица 1

Показатели активности воспалительного ответа у детей с ЮРА

Показатель	Основная группа дети с ЮРА (n = 149)	Контрольная группа – практически здоровые дети (n = 30)
С-реактивный пептид, г/л	$7,85 \pm 1,3^*$	$0,14 \pm 0,05$
Интерлейкин-1 β , пг/л	$7,08 \pm 0,23^*$	$0,86 \pm 0,12$
Интерлейкин-6, пг/л	$5,7 \pm 0,14^*$	$0,38 \pm 0,06$

* $p < 0,05$

Анализ показателей содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови детей с ЮРА продемонстрировал, что у 97 (65%) детей отмечалось повы-

шение содержания интерлейкина-1 β и интерлейкина-6. Содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови было повышено у 71 (54%) детей основной группы, а ИЛ-6 у 36% обследованных пациентов.

Проведенный анализ иммунологических показателей у детей с ЮРА указал на гиперпродукцию сывороточных иммуноглобулинов, в частности IgG и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Мы определили, что у 67 (45%) детей с ЮРА показатель содержания IgG превышал референтные значения контрольной группы практически здоровых детей. Повышение содержания ЦИК было отмечено у 106 (71,1%) обследованных детей. Полученные результаты исследования подтверждают роль иммуновоспалительного ответа в качестве одного из основных патогенетических звеньев заболевания.

В качестве маркера иммунологического происхождения заболевания нами изучено содержание антител к модифицированному цитруллинированному виментину (анти-МЦВ). Именно анти-МЦВ – цитруллинированный пептид последнего поколения, который обладает наивысшей специфичностью и чувствительностью из всех белков этого класса, и рассматривается в качестве раннего диагностического маркера заболевания, поскольку появляется до клинической манифестации и может влиять на его прогноз. Наше исследование продемонстрировало превышение содержания анти-МЦВ у 87 (58,3%) детей исследуемой группы (табл. 2).

Таблица 2

Показатели иммунологического ответа у детей с ЮРА

Показатели	Основная группа – дети с ЮРА (n = 149)	Контрольная группа – практически здоровые дети (n = 30)
IgG, г/л	$14,4 \pm 0,7^*$	$3,7 \pm 0,16$
ЦИК, опт. ед.	$103,5 \pm 2,4^*$	$12,1 \pm 0,9$
Анти-МЦВ, Ед/мл	$26,9 \pm 0,06^*$	$0,57 \pm 0,06$

* $p < 0,05$

Проведенный анализ лабораторных маркеров иммунологического и воспалительного ответа у детей с ЮРА указал, что в отличие от показателей активности воспалительного процесса, содержание анти-МЦВ не зависит от длительности заболевания.

Проведенный корреляционный анализ показателей иммунологического (анти-МЦВ) и воспалитель-

Таблица 3

Оценка показателей воспалительного и иммунологического ответа в зависимости от длительности заболевания

Длительность заболевания	Количество детей, n (%)	Анти-МЦВ, Ед/мл	СРП, мг/л	ИЛ – 1 β , пг/мл	ИЛ – 6, пг/мл
До 6-ти месяцев	11 (16,7%)	$24 \pm 0,16$	$13 \pm 0,7$	$8,7 \pm 0,09$	$7,9 \pm 0,03$
От 6 до 12 месяцев	19 (28,8%)	$24,34 \pm 0,1$	$7,7 \pm 0,34$	$11,1 \pm 0,16$	$3,55 \pm 0,04$
От 12 до 24 месяцев	36 (54,5%)	$23,7 \pm 0,08$	$7,9 \pm 0,28$	$9,54 \pm 0,14$	$5,8 \pm 0,06$

ного ответов (СРП, ИЛ-1 β и ИЛ-6) у детей с ЮРА продемонстрировал наличие средней силы прямой связи между указанными показателями ($r = 0,5-0,72$ при $p < 0,05$) (табл. 3).

Выводы

1. У детей с ЮРА наиболее часто встречается суставная форма поражения (88,6%), по типу моноартрита (42,3%), с формированием выраженного суставного (90,6%), а также интоксикационного (45,6%) синдромов.

2. Изменения в системе воспалительного и иммунологического ответа проявляются повышением содержания сывороточных провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β ($7,08 \pm 0,23$ пг/л), ИЛ-6 ($5,7 \pm 0,14$ пг/л), СРП ($7,85 \pm 1,3$ г/л), анти-МЦВ ($26,9 \pm 0,06$ Ед/мл), которые находятся в прямой корреляционной связи ($r_{xy} = +0,5-0,72$, $p < 0,05$).

3. Комплексная оценка воспалительного и иммунологического ответа, в частности определения уровня анти-МЦВ при его значениях > 20 Ед/мл, позволяет значительно ускорить и усовершенствовать диагностику ЮРА.

References

1. Arnet FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.* 2008;31:315-324.
2. Mangge H, Kenzian H, Siegfried G, et al. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* 2010;38:211-220.
3. Demidova NV, Guseva IA, Karateev DE. Kliniko-immunologicheskie aspekty rannego revmatoidnogo artrita [Clinical and immunological aspects of the early rheumatoid arthritis]. *Terapevticheskiy arkhiv*

[Therapeutic archive]. 2010;5:71-75.

4. Bereznyi VV, Marushko TV, Marushko YuV. Klinichna revmatologia dutyachogo viky [Clinical rheumatology of the children's age]. 2009;192.
5. Marushko TV, Bereznyi VV, Gavrylenko TI. Rol pro- i protizapalnikh zitokiniv y rozvitky zapalnogo procesy pry yuvenilnomye revmatoidnomye artriti [The role of the inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the development of the juvenile rheumatoid arthritis]. *Ukrainskiy revmatologichnyi zhurnal [Ukrainian rheumatology journal]*. 2006;1:33-36.
6. Omelchenko LI, Oshlanska OA, Zinenko LO. Viyavlennya aytoantitil do cyklichnogo citrylinovanogo peptidy pri syglobovomy syndromi y ditei [Identification of auto antibodies to cyclic citrullinated peptide with articulate syndrome in children]. *Sovremennaya pediatriya [Modern pediatric]*. 2009;4:68-72.
7. Brunner J, Sitzmann FC. The diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in children with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clinical Experimental Rheumatology.* 2006;24:449-451.
8. Agrawal Sumeet, Ramnath Misra, Amita Aggarwal. Auto antibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA. *Clinical Rheumatology.* 2007;26:201-204.
9. Hahn YS, Kim JG. Pathogenesis and clinical manifestations of juvenile rheumatoid arthritis. *Korean Journal Pediatrics.* 2010;11:921-930.
10. Isenock M, Grosel JM. Juvenile idiopathic arthritis: can you recognize this complex diagnosis? *JAAPA.* 2011;1:22-27.
11. Martini A. It is time to rethink juvenile idiopathic arthritis classification and nomenclature. *Annals Rheumatic Diseases.* 2012;9:1437-1439.
12. Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, et al. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmune Review.* 2011;8:482-489.
13. Omar A, Abo-Elyoun I, Hussein H, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibody in juvenile idiopathic arthritis (JIA): Correlations with disease activity and severity of joint damage (a multicenter trial). *Join Bone Spine.* 2012;5:341-345.
14. Rosendahl Karen. Juvenile idiopathic arthritis-recent advances. *Pediatric Radiology.* 2011;41:110-112.