

УДК: 616.72–002.772–08

**ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ
ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ
И ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА-А
В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ
БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ**

Безгин А.В., Князева Л.А., Князева Л.И., Горяйнов И.И., Гришина О.В.

*Кафедра внутренних болезней №1 Курского государственного медицинского
университета, Курск, e-mail: kafedra_n1@bk.ru*

В настоящей статье представлены результаты исследования содержания цитокинов провоспалительного действия (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α), остеопротегерина (OPG), рецептора активации ядерного фактора Карра (RANKL), васкулоэндотелиального фактора роста-А (ВЭФР-А) в синовиальной жидкости у 74 больных ревматоидным артритом (РА). Установлены различия в уровне исследованных цитокинов у больных с различной длительностью заболевания. Определена большая эффективность корригирующего действия ремикейда в сравнении с метотрексатом на показатели цитокинового статуса, большая результативность терапии достигнута при раннем РА.

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, ремикейд, метотрексат, ревматоидный артрит

Ревматоидный артрит (РА) – одно из наиболее распространенных (распространенность его в популяции составляет около 1%) и тяжелых хронических воспалительных заболеваний, которое в отсутствии эффективной терапии быстро приводит к инвалидности и сокращению продолжительности жизни пациентов [7].

Долгое время РА считался неуклонно прогрессирующим заболеванием, контролировать течение которого чрезвычайно сложно. В последние годы в лечении РА наметился значительный прогресс, что во многом связано с разработкой нового класса противовоспалительных препаратов – так называемых генно-инженерных био-

логических препаратов (ГИБП), селективно блокирующих звенья иммунопатогенеза РА [5].

Внедрение ГИБП в клиническую практику позволяет не только купировать симптомы заболевания, но и делает возможным торможение эрозивного процесса в суставах, нормализацию функционального статуса и качества жизни пациента, потенциальное увеличение продолжительности жизни до популяционного уровня [4]. Известно, что ГИБП, в частности ремикейд, уже более 10 лет применяется в лечении ревматологических заболеваний, РА в том числе. Однако данные по оценке эффективности применения ремикейда при РА неод-

нозначны, имеются сведения, что примерно 40% больных РА недостаточно реагируют на лечение ингибиторами ФНО- α . Данное положение во многом обусловлено тем фактом, что РА – гетерогенное, с точки зрения патогенетических механизмов, заболевание, уточнение которых важно с позиции повышения эффективности назначаемой терапии.

Целью работы явилось изучение динамики содержания васкулоэндотелиаль-

ного фактора роста – А (ВЭФР-А) и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом под влиянием терапии инфликсимабом (ремикейдом) и метотрексатом.

Материалы и методы исследования

Обследовано 74 пациента с ревматоидным артритом с умеренной и высокой активностью; длительность заболевания составляла от 6 месяцев до 7 лет (табл. 1).

Таблица 1

Клиническая характеристика обследованных больных ревматоидным артритом

	Данные
Количество человек (женщины):	74
Средний возраст (лет)	48,2 \pm 6,5
Длительность РА: до 1,5 лет; более 1,5 лет	36 38
Степень активности РА (количество человек): Умеренная (DAS28 > 3,2) Высокая (DAS28 > 5,1)	38 36
Стадия РА (Steinbrocker) I ст. (количество человек) II ст. (количество человек) III ст. (количество человек)	10 56 8
Серопозитивные по РФ (количество человек) Серонегативные по РФ (количество человек)	36 38

Средний возраст больных составил 48,2 \pm 6,5 года. Группа контроля включала 20 здоровых доноров. Критериями включения пациентов в исследование явились: наличие РА 2-3 степени активности, (DAS28 > 3,2); наличие показаний и отсутствие противопоказаний к применению БПВП; пациенты, получавшие в качестве БПВП метотрексат и инфликсимаб;

наличие информированного согласия пациента о включении в исследование. Критериями исключения пациентов из исследования явились: РА 1 степени активности; инфекционные процессы любой локализации; сахарный диабет; хроническая почечная и сердечная недостаточность. Диагноз ревматоидного артрита устанавливался в соответствии с критериями Амери-

канской Коллегии ревматологов (ACR, 1987 года). Общая активность РА и функциональный класс (ФК) регистрировались в соответствии с классификацией РА, принятой на пленуме ассоциации ревматологов России в 2007 году. Количественная оценка активности РА проводилась с использованием индекса DAS 28 (Disease Activity Score), рекомендованного EULAR. Оценка эффективности терапии проводилась на основании анализа динамики клинической симптоматики РА по критериям EULAR и ACR. Определение уровня провоспа-

лительных цитокинов, ВЭФР-А, остеопротегерина, RANKL в синовиальной жидкости проводилось до начала терапии, после 2-х и 12-ти месяцев лечения. С учетом проводимого лечения все больные были рандомизированы на две группы: первую группу (1n=38) составили пациенты, получавшие в качестве базисной противовоспалительной терапии метотрексат (12,5-15,0 мг/неделю), вторую (2n=36) – больные, получавшие инфликсимаб (ремикейд) в сочетании с метотрексатом (табл. 2).

Таблица 2

Распределение больных РА в зависимости от проводимого лечения

№ группы	Группы обследуемых больных	n	Схема лечения
1	Больные ревматоидным артритом длительностью менее 1,5 лет	18	Метотрексат 13,75±1,25 мг/нед.
2		18	Инфликсимаб (по схеме) + метотрексат 10мг/неделю
3	Больные ревматоидным артритом длительностью более 1,5 лет	20	Метотрексат 13,75±1,25 мг/нед.
4		18	Инфликсимаб (по схеме) + метотрексат 10мг/неделю

Ремикейд вводили в/венно капельно по 200 мг/сутки в соответствии рекомендуемой схемой: 0, 2, 4, 6 неделя, затем каждые 8 недель. Содержание ВЭФР-А определяли иммуноферментным методом (Bender, Medsystems Qmbh), концентрацию ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α в синовиальной жидкости больных РА оценивали с помощью тест-систем Pro Con (НОО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). Синовиальную жидкость для исследования получали

при пункции коленных суставов. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Microsoft Excel-2000».

**Результаты исследования
и их обсуждение**

Исследование исходного содержания цитокинов провоспалительного действия в синовиальной жидкости больных РА показало достоверное увеличение их содержания в сравнении с показателями здоро-

вых людей. При сопоставлении содержания данных цитокинов у больных с различной длительностью РА было установлено, что при анамнезе болезни менее 1,5 лет имел место достоверно более высокий уровень ФНО- α , ИЛ-1 β ($498,4 \pm 13,7$ пг/мл ($p < 0,05$), $354,7 \pm 12,3$ пг/мл ($p < 0,05$) соответственно). При этом концентрация ИЛ-6 у больных этой группы была несколько ниже ($298,5 \pm 5,1$ пг/мл; $p < 0,05$) в сравнении с показателем при развернутой стадии РА. Известно, что ИЛ-1 β и ФНО- α обладают свойствами инициировать воспаление и разрушение костной и хрящевой ткани. Под влиянием ИЛ-1 хондроциты вырабатывают собственные провоспалительные медиаторы, а также повышенное количество оксида азота, приводящего к гибели хрящевых клеток. ФНО- α и ИЛ-1 β обладают синергической и самоиндуцирующей активностью, потенцируют развитие синовита с лейкоцитарной инфильтрацией сустава. Эти цитокины усиливают экспрессию молекул адгезии (ICAM -1, VCAM -1) на мембранах эндотелия сосудов синовиальной мембраны, индуцируют синтез хемотаксических факторов, стимулируют продукцию фактора роста фибробластов, вызывая тем самым прогрессирование деструкции суставов [1]. ИЛ-1 β и ФНО- α являются мощными индукторами синтеза ИЛ-6, который потенцирует эффекты ключевых медиаторов воспаления в синовиальной оболочке, запуская деструктивные процессы в суставах, стимули-

рует остеокластогенез и вместе с другими цитокинами (ИЛ-1 β и ФНО- α) способствует развитию костной и хрящевой деструкции сустава, прогрессированию заболевания [9].

Определение уровня ВЭФР-А показало его повышение в синовиальной жидкости больных РА, однако достоверно большее содержание ВЭФР-А ($326,5 \pm 36,7$ пг/мл), в 1,5 раза превышавшее показатель у больных с ранним РА, имело место в синовиальной жидкости пациентов с развернутой стадией болезни. Известно, что васкулоэндотелиальный фактор роста-А играет важную роль в неоангиогенезе, стимулируя пролиферацию эндотелиальных клеток, образование новых сосудов, секретирующийся макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, формирование паннуса при РА. Более высокое содержание ВЭФР-А у больных с развернутой стадией заболевания является следствием прогрессирования болезни, отражает активность процессов неоангиогенеза, стимулированных ВЭФР-А.

Сравнительная оценка клинической эффективности применения метотрексата и ремикейда при РА показала, что у пациентов, получавших в качестве базисного противовоспалительного препарата ремикейд, эффективность лечения (число пациентов с ответом по DAS 28 составило более 50%) была достоверно выше, чем в группе больных, получавших МТ (всего 17,5% больных с ответом по DAS 28). При этом после

12-ти месяцев терапии только у 15% больных, леченных МТ, по сравнению с 45% пациентов, получавших инфликсимаб, имели место «хороший ответ» (снижение DAS \gt 1,2) и минимальная активность заболевания (1,6 \gt DAS28 \lt 2,4). Число пациентов, «не отвечающих» на терапию (DAS28 \gt 3,7), составило соответственно 50% в группе получавших МТ и 18% – инфликсимаб.

Проведенный мониторинг лабораторных показателей (после 2-х месяцев терапии) установил достоверное снижение содержания в синовиальной жидкости больных с длительностью РА менее 1,5 лет, получавших в качестве БПВП метотрексат ВЭФР-А, – на 29,1%, ФНО- α – на 15,0%, ИЛ-1 β – на 18,0% и ИЛ-6 – на 17,3%. При этом у пациентов с ранним РА, базисная противовоспалительная терапия которых была представлена инфликсимабом, после 2-месячного лечения выявлена большая результативность коррекции изучаемых показателей: концентрация ФНО- α уменьшилась на 48,6% ($p<0,05$), ИЛ-1 β – на 39,8% ($p<0,05$), ИЛ-6 – на 32,1% ($p<0,05$); снижение концентрации ВЭФР-А в синовиальной жидкости составило 52,3% ($p<0,05$). У больных с продолжительностью заболевания более 1,5 лет применение инфликсимаба сопровождалось достоверным уменьшением концентрации ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 на 28,4%, 20,6%, 18,2% соответственно.

После 2-х первых месяцев терапии метотрексатом у больных с развернутой ста-

дией РА отмечена лишь тенденция к уменьшению уровня провоспалительных цитокинов; достоверных изменений этих показателей получено не было. Определение уровня изучаемых цитокинов после 12 месяцев терапии показало нормализацию уровня провоспалительных цитокинов у больных с ранним РА, получавших лечение ремикейдом. У пациентов с ранним РА, получавших в качестве базисной противовоспалительной терапии метотрексат, было достигнуто достоверное уменьшение концентрации ФНО- α – на 69,8%, ИЛ-1 β – на 48,5%, ИЛ-6 – на 78,3%, ВЭФР-А – на 85,4%.

У больных с анамнезом болезни более 1,5 лет применение данных БПВП обладало меньшей эффективностью корригирующего влияния на уровень ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и остеопротегерина. Так, после 12 месяцев лечения ремикейдом определено снижение уровня ФНО- α – на 86,4% ($p<0,05$), ИЛ-1 β – на 79,5% ($p<0,05$), ИЛ-6 – на 78,6% ($p<0,05$), ВЭФР-А – на 72,5% ($p<0,05$). После применения метотрексата отмечено достоверное, однако значительно меньшее по сравнению с лечением инфликсимабом снижение концентрации провоспалительных цитокинов (ФНО- α – на 68,4%, ИЛ-1 β – на 49,2%, ИЛ-6 – на 64,9%), ВЭФР-А – на 46,9%. Таким образом полученные результаты показали, что одним из преимуществ применения ремикейда в сравнении с метотрексатом при РА является более короткий период индукции клинико- лабора-

торного улучшения, что обеспечивает более быстрое купирование активности заболевания, достижение контроля за его прогрессированием, результатом которого является предотвращение процессов деструкции костной и хрящевой ткани и, следовательно, сохранение целостности и функциональной активности суставов.

Установлено также, что у больных РА имеет место существенное различие в содержании цитокинов, ВЭФР-А в синовиальной жидкости по сравнению со здоровыми донорами. Наиболее высокое содержание исследуемых цитокинов было определено в синовиальной жидкости у больных с развернутой стадией РА (с анамнезом болезни более 1,5 лет), что, по-видимому, связано с прогрессированием заболевания, формированием паннуса, увеличением зоны поражения синовиальных оболочек, хрящевой и костной тканей, измененные клетки которых являются активными продуцентами данных медиаторов [3]. При этом следует отметить, что при раннем РА преобладало содержание в синовиальной жидкости ФНО- α , ИЛ-1 β , у больных с развернутой стадией заболевания – ИЛ-6, достоверно превышавшее его уровень при раннем РА. Выявленные изменения в цитокиновом статусе, по-видимому, обусловлены патогенным значением системы цитокинов в развитии РА. Таким цитокинам, как ФНО- α , ИЛ-1 β , вырабатываемым в процессе иммунного взаимодействия макрофагов и лимфо-

цитов в синовиальной мембране, принадлежит ведущая роль в дальнейшем активировании клеток и развитии острого воспалительного процесса в суставе [8]. Гиперпродукция ФНО- α и ИЛ-1 β является основным стимулом для агрессивной пролиферации синовиальных клеток. Следует отметить, что ФНО- α в цитокиновой иерархии занимает стабильно более высокую позицию и стимулирует продукцию ИЛ-1 β , ИЛ-6 [2]. Прогрессирование заболевания, формирование паннуса при развернутой стадии РА сопряжено с гиперпродукцией ВЭФР-А. Выявленные в нашем исследовании различия в содержании изучаемых цитокинов у больных с различной длительностью РА, по-видимому, обусловлены их свойствами, установленными в экспериментальных моделях, показавших, что ФНО- α в большей степени ответственен за острое воспаление суставов, а ИЛ-1 β – за клеточную инфильтрацию и деструкцию хряща, ИЛ-6 способствует хронизации процесса, стимулируя остеокластогенез, деструкцию костной и хрящевой ткани [8]. ВЭФР-А – опосредованный рост сосудистой ткани, является неотъемлемой составляющей патогенеза РА, характерным признаком ревматоидного синовита [10].

Анализ полученных данных установил большую клиническую эффективность терапии инфликсимабом (ремикейдом) в сравнении с МТ, что подтверждает результаты исследований других авто-

ров [6]. Также установлена большая активность корригирующего влияния ремикейда на уровень ВЭФР-А, провоспалительных цитокинов в синовиальной жидкости при РА, что напрямую связано с влиянием препарата на продукцию ФНО- α . Известно, что ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α обладают частично перекрещивающейся и самоиндуцирующейся активностью [3], поэтому снижение продукции ФНО- α под влиянием лечения ремикейдом сопровождается уменьшением уровня ИЛ-1 β и ИЛ-6. Важным аспектом коррекции цитокинового статуса под влиянием ремикейда является уменьшение содержания ВЭФР-А в синовиальной жидкости больных РА.

Следует отметить более раннее достижение положительной клинико-лабораторной динамики на фоне терапии инфликсимабом в сравнении с метотрексатом, что обусловлено различными механизмами действия препаратов. Известно, что метотрексат обладает опосредованным противовоспалительным действием, заключающимся в высвобождении под его влиянием аденозина, который только после взаимодействия со своими рецепторами приобретает противовоспалительные свойства, проявляющиеся тормозящим влиянием на продукцию токсических метаболитов кислорода, угнетением продукции лейкотриенов, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-8. Полученные результаты дают основание рекомендовать применение инфликсимаба на ранних этапах развития РА,

что позволяет рассчитывать на наиболее благоприятный исход заболевания, включая достижение ремиссии.

Список литературы

1. Бадочкин В.В. Избранные лекции по клинической ревматологии / под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. – М., 2003. – 82-90 с.
2. Кетлинский С.А. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 550 с.
3. Насонова В.А. Ревматология. – М.: Медицина, 2008. – 457 с.
4. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е. и др. Современные стандарты фармакотерапии ревматоидного артрита // Клин. фармакология и терапия. – 2005. – Т. 14, № 1. – С. 72-75.
5. Насонов Е.Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита – взгляд в 21 век // Клин. мед. – 2005. – №6. – С. 8-12.
6. Насонов Е. Л. Применение ингибиторов фактора некроза опухоли при РА: место этанерцепта // Научно-практическая ревматология. – 2008. – №5. – С. 1-20.
7. Насонов Е.Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита в XXI веке: фокус на ритуксимаб // Совр. ревматология. – 2009. – №4. – С. 67-75.
8. Сигидин Я.А., Лукина Г.В. Биологическая терапия в ревматологии. – 2-е изд., доп. – М.: Практическая медицина, 2009. – 302 с.
9. Infliximab improves signs and symptoms of psoriatic arthritis: results of IMPACT 2 trial / Antoni C., Krueger G.G., K. de Vlam et al // Ann Rheum Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 197-200.
10. Kowantz M., Ferrava N. Vascular endothelium growth factor signaling pathways: therapeutic perspective // Clin. Cancer Res. – 2006. – №12 (17): 5018. – 22 p.

Рецензенты:

Вишневский В.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней Медицинского института Орловского государственного университета;

Якунченко Т.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и клинических информационных технологий медицинского факультета Белгородского государственного университета.

**THE INFLUENCE OF THE TREATMENT
ON THE PROINFLAMMATORY CYTOKINES LEVELS
ON VASCULOENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A
IN SYNOVIAL FLUID IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS**

**Bezgin A.V., Knyazeva L.A., Knyazeva L.I., Timonova A.N., Goryainov I.I.,
Grishina O.V.**

*Chair of internal illnesses №1 Kursk state medical universities,
Kursk, e-mail: kafedra_n1@bk.ru*

In this article are performed the results of investigation of proinflammatory cytokines concentration (IL- 1 β , IL-6, FNF- α), osteoprotegerin(OPG), receptor of activating of nuclear factor kappa ligand (RANKL) and vasculoendothelial growth factor-A (VEGFA) in the synovial fluid of 74 patients with rheumatoid arthritis. The analyses performed the differences between the levels of investigated cytokines in the patients with different duration of rheumatoid arthritis (RA). The corrective influence of infliximab was more effective in comparison with metotrexate, on the cytokine status of synovial fluid in RA patients. The best results were achieved in the patients with early RA.

Keywords: proinflammatory cytokines, infliximab, metotrexate, rheumatoid arthritis