

УДК: 616.72–002.77–08

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ РИТУКСИМАБОМ

Мещерина Н.С., Князева Л.И.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»,
Курск, e-mail: kafedra_№1@bk.ru

В данной статье представлены результаты исследования содержания цитокинов провоспалительного действия (ФНО- α , растворимых ФНО- α -рецепторов 1, ИЛ-1 β , ИЛ-6, рИЛ-6) в плазме крови у 48 больных ревматоидным артритом (РА). Установлены различия в уровне исследованных цитокинов у больных с различной длительностью заболевания. При этом следует отметить, что у больных с развернутой стадией РА преобладало содержание в сыворотке крови ФНО- α , рФНО- α -p1 и ИЛ-1 β ; у больных с длительностью РА более 2-х лет отмечена достоверно более высокая концентрация ИЛ-6, рИЛ-6. Анализ полученных данных установил высокую клиническую эффективность терапии ритуксимабом. Определена большая эффективность корригирующего действия ритуксимаба на показатели цитокинового статуса у пациентов с развернутым РА. Полученные результаты обосновывают целесообразность применения ритуксимаба на более ранних стадиях развития РА, что определяет большую эффективность терапии, включая достижение ремиссии.

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, ритуксимаб, ревматоидный артрит

RITUXIMAB INFLUENCE ON THE PROINFLAMMATORY CYTOKINEEMIA IN PATIENTS WITH DIFFERENT DURATION OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Mescherina N.S., Knyazeva L.I.

Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: kafedra_№1@bk.ru

In this article are performed the results of investigation of proinflammatory cytokines concentration (IL-1 β , IL-6, rIL-6, TNF- α , rTNF- α -r1) in plasma of 48 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). Plasma concentration of TNF- α , rTNF- α -r1 and IL-1 β was more high in patients with advanced stage of RA. In patients with RA (disease duration more then 2 years) more high IL-6, rIL-6 plasma concentration was observed. Clinical effectiveness of rituximab was improved more effective rituximab corrigative influence on cytokine status was observed in patients with advanced stage of RA. Received results based rituximab therapy in RA patients with duration of disease less 2-years to the strategy achieved a good clinical response and clinical remission.

Keywords: proinflammatory cytokines, rituximab, rheumatoid arthritis

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся воспалительно-деструктивным поражением суставов и внесуставными проявлениями с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем. РА относится к числу наиболее распространенных и тяжелых хронических заболеваний суставов и приводит к быстрой потере временной и стойкой трудоспособности, сокращению продолжительности жизни [3]. Согласно современной концепции «Лечение до достижения цели – Treat To Target», сформулированной Европейской противоревматической лигой, целью фармакотерапии ревматоидного артрита является достижение ремиссии [8, 9]. Реализация этой цели зависит от рационального использования (раннее назначение и строгий контроль эффективности терапии) традиционных базисных противовоспалительных препаратов (БПВП) и генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) [5, 7]. Заметное место среди них занимают моноклональные антитела, вызывающие деплецию В-лимфоцитов (ритуксимаб).

Следует отметить, что РА – гетерогенное с точки зрения патогенетических механизмов заболевание, что обуславливает различия в результатах лечения, поэтому актуальным представляется изучение эффективности влияния ритуксимаба на клинико-лабораторные параметры активности заболевания.

Целью работы явилось изучение динамики содержания провоспалительных цитокинов (ФНО- α , растворимых ФНО- α -рецепторов 1, ИЛ-1 β , ИЛ-6, растворимых рецепторов ИЛ-6) в сыворотке крови у больных ревматоидным артритом под влиянием терапии ритуксимабом.

Материалы и методы исследования

Обследовано 48 пациентов с ревматоидным артритом умеренной и высокой активностью; длительность заболевания составляла от 12 месяцев до 5 лет. Средний возраст больных составил $38,2 \pm 6,5$ года. Группа контроля включала 20 клинически здоровых лиц в возрасте $40,5 \pm 4,3$ года. Критериями включения пациентов в исследование явились: наличие РА 2–3-й степени активности; наличие показаний и отсутствие противопоказаний к применению ГИБП; наличие информированного согласия пациента о включении в исследование.

Критериями исключения пациентов из исследования явились: РА 1-й степени активности; инфекционные процессы любой локализации; сахарный диабет. Диагноз ревматоидного артрита устанавливался в соответствии с критериями EULAR, 2010. Общая активность РА и функциональный класс (ФК) определялись согласно классификации 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 [5]. Для оценки эффективности терапии использовались критерии EULAR, основанные на динамике индекса DAS 28. Определение показателей цитокинового статуса в сыворотке крови проводилось до начала терапии и спустя 16 недель после курса лечения ритуксимабом. Все больные были рандомизированы на две группы: первую группу ($n = 18$) составили пациенты с развернутой стадией РА (длительность заболевания до 2-х лет), вторую ($n = 36$) – больные с поздней стадией (длительностью более 2-х лет). Критериями рандомизации больных на группы явились активность и длительность течения РА. Ритуксимаб вводили в/венно капельно по 500 мг/сутки в соответствии с рекомендуемой схемой: дважды с интервалом 2 недели на фоне приема метотрексата $12,5 \pm 2,5$ мг/неделю. Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α в сыворотке крови больных РА оценивали с помощью тест-систем Pro Con (НПО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). Уровень растворимых рецепторов ИЛ-6 (рИЛ-6) в сыворотке крови определяли количественным иммуноферментным методом (ОМБ, Москва), растворимых ФНО- α -рецепторов 1 (рФНО- α -p1) – Biosorce (Бельгия). Статистический анализ проводился с использованием программы Statistica 6.0. Применялись параметрические и непараметрические методы описательной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты определения исходного уровня цитокинов провоспалительного действия в сыворотке крови больных РА показали достоверное повышение концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , рФНО- α -p1, ИЛ-6, рИЛ-6 по сравнению с группой контроля (таблица). При сопоставлении содержания данных цитокинов у больных с различной длительностью РА было установлено, что при развернутой стадии имел место достоверно более высокий уровень ФНО- α рФНО- α -p1 и ИЛ-1 β , превосходящий на $14,9 \pm 0,8\%$ ($p < 0,05$), $16,9 \pm 0,7\%$ ($p < 0,05$) и $19,3 \pm 1,1\%$ ($p < 0,05$) соответственно концентрацию данных цитокинов у больных с поздней стадией болезни. Надо при этом отметить, что концентрация ИЛ-6 у больных с развернутой стадией болезни (длительностью менее 2-х лет) была ниже на $14,3 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$). Известно, что для проявления биологической активности ИЛ-6 необходимо связывание ИЛ-6 с рецепторным комплексом (рИЛ-6). Поэтому полноценный иммунный ответ на действие ИЛ-6 достигается при адекватной экспрессии рИЛ-6 [2]. Проведенная оценка содержания рИЛ-6 в сыворотке крови больных РА показала достоверно более высокий уровень при позднем РА ($2883,5 \pm 33,2$ мг/л, $p < 0,05$), который на $33,4 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$) превышает данный показатель у больных с развернутой стадией болезни и в $2,9 \pm 0,3$ раза ($p < 0,05$) значения контроля.

Влияние терапии на показатели цитокинового статуса в сыворотке крови больных ревматоидным артритом в зависимости от длительности на фоне терапии ритуксимабом ($M \pm m$)

Показатели	Группы обследованных				
	Группа контроля ($n = 20$)	Больные с длительностью РА до 2-х лет до лечения ($n = 18$)	Больные с длительностью РА до 2-х лет через 16 недель после терапии ($n = 18$)	Больные с длительностью РА более 2-х лет до лечения ($n = 36$)	Больные РА с длительностью заболевания более 2-х лет через 16 недель терапии ($n = 20$)
	1	2	3	4	5
ФНО- α , пг/мл	$32,2 \pm 4,6$	$198,4 \pm 9,1^{*1}$	$39,8 \pm 5,7^{*2}$	$168,5 \pm 8,8^{*1,2}$	$56,6 \pm 10,7^{*1-4}$
рФНО- α -p1, нг/мл	$2,2 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,8^{*1}$	$3,4 \pm 0,6^{*2}$	$2,4 \pm 0,4^{*1,2}$	$2,8 \pm 0,3^{*1-4}$
ИЛ-1 β , пг/мл	$36,1 \pm 6,3$	$164,7 \pm 12,3^{*1}$	$42,4 \pm 6,9^{*2}$	$129,3 \pm 10,1^{*1,2}$	$65,3 \pm 9,2^{*1-4}$
ИЛ-6, пг/мл	$13,2 \pm 1,9$	$189,5 \pm 9,1^{*1}$	$19,6 \pm 4,4^{*2}$	$233,6 \pm 7,8^{*1,2}$	$92,6 \pm 5,4^{*1-4}$
рИЛ-6, мг/л	$1002,4 \pm 29,8$	$1960,8 \pm 32,1^{*1}$	$1103,5 \pm 23,8^{*2}$	$2883,5 \pm 33,2^{*1,2}$	$1696,3 \pm 27,2^{*1-4}$

Примечание: * отмечены достоверные различия средних арифметических ($p < 0,05$), цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы эти различия достоверны.

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 ме-

диаторы, а также повышенное количество оксида азота, приводящего к гибели хрящевых клеток. ФНО- α и ИЛ-1 β обладают синергической и самоиндуцирующей активностью, потенцируют развитие синови-

та с лейкоцитарной инфильтрацией сустава. Эти цитокины усиливают экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1) на мембранах эндотелия сосудов синовиальной мембраны, индуцируют синтез хемотоксических факторов, стимулируют продукцию фактора роста фибробластов, вызывая, тем самым, прогрессирование деструкции суставов [1]. Следует отметить важную роль рФНО- α -p1 в реализации основных функций ФНО- α , при этом надо подчеркнуть, что экспрессия рФНО- α -p1 характерна для РА, что отличает его от артритов другого происхождения [2]. ИЛ-1 β и ФНО- α являются мощными индукторами синтеза ИЛ-6 и рИЛ-6, гиперэкспрессия которых потенцирует эффекты ключевых медиаторов воспаления в синовиальной оболочке, запуская деструктивные процессы в суставах, стимулирует остеокластогенез и вместе с другими цитокинами (ИЛ-1 β , ФНО- α) способствует развитию костной и хрящевой деструкции сустава, прогрессированию заболевания [10].

Изучение клинической эффективности лечения через 16 недель после курса терапии показало наличие «хорошего ответа» на лечение (DAS28 < 3,2) у 81,2% (39 человек); ремиссия (DAS28 < 2,6) была определена у 5 (10,4%) больных с длительностью РА менее 2-х лет, умеренная активность заболевания (3,2 > DAS28 < 5,1) сохранилась у 4 (8,4%) человек. Следует отметить большую эффективность проведенной терапии ($\chi^2 = 12,69$; $p < 0,05$) у больных с развернутой стадией РА.

Исследование динамики лабораторных показателей спустя 16 недель после проведенной терапии ритуксимабом установило, что у больных с длительностью РА менее 2-х лет уровень провоспалительных цитокинов не имел достоверных отличий от показателей контроля.

У больных с анамнезом болезни более 2-х лет (поздняя стадия) снижение среднего уровня исследуемых показателей составило соответственно: ФНО- α – на $53,9 \pm 2,5\%$ ($p < 0,05$), рФНО- α -p1 – на $54,8 \pm 2,9\%$, ИЛ-1 β – на $48,3 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$), ИЛ-6 – на $51,6 \pm 2,8\%$ ($p < 0,05$), рИЛ-6 – на $21,5 \pm 2,4\%$ ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты показали, что у больных РА имеет место существенное различие в содержании цитокинов провоспалительного действия в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами. При этом следует отметить, что у больных с развернутой стадией (длительность менее 2-х лет) РА преобладало содержание в сыворотке крови ФНО- α , рФНО- α -p1 и ИЛ-1 β ; у больных с длительностью РА более 2-х лет отмечена достоверно более

высокая концентрация ИЛ-6, рИЛ-6. Выявленные в нашем исследовании различия в содержании изучаемых цитокинов у больных с различной длительностью РА, по-видимому обусловлены их свойствами, установленными в экспериментальных моделях, показавшими, 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, рост и пролиферацию паннуса, деструкцию костной и хрящевой ткани [6].

Анализ полученных данных установил высокую клиническую эффективность терапии ритуксимабом, что подтверждает результаты исследований других авторов [4]. Установлена большая активность корригирующего действия ритуксимаба на провоспалительную цитокинемию у больных с длительностью болезни менее 2-х лет. Полученные результаты обосновывают целесообразность применения ритуксимаба на более ранних стадиях прогрессирования РА, что позволяет рассчитывать на наиболее благоприятный исход заболевания, включая достижение ремиссии.

Список литературы

1. Бадюкин В.В. Избранные лекции по клинической ревматологии / под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. – М., 2003. – С. 82–90.
2. Кетлинский С.А. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 550 с.
3. Насонов Е.Л. Ревматоидный артрит как общемедицинская проблема // *Терапевт.* – 2004. – № 5. – С. 5–7.
4. Насонов Е.Л. Применение ритуксимаба при ревматоидном артрите / Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова // *Науч.-практ. ревматология.* – 2009. – №1. – С. 3–22.
5. Ревматология: национальное руководство / под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 852 с.
6. Сигидин, Я. А. Биологическая терапия в ревматологии / Я.А. Сигидин, Г.В. Лукина. – 2-е изд., доп. – М.: Практическая медицина, 2009. – 302 с.
7. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2010 / D.E. Furst, E.C. Keystone, R. Fleischmann et al. // *Ann Rheum Dis.* – 2010. – №69 (Suppl II). – i2-i29.
8. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force / J.S. Smolen, D. Aletaha, J.W.J. Bijlma et al. // *Ann Rheum Dis.* – 2010. – №69. – P. 631–7.
9. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs / J.S. Smolen, R. Landewe, F.C. Breedveld et al. // *Ann Rheum Dis.* – 2010. – №69. – P. 964–75.
10. Tumor necrosis factor antagonists mechanisms of actions: a comprehensive review / D. Tracey, L. Klareskog, E.H. Sasso et al. // *Pharmacol Therapeut.* – 2008. – №117. – P. 244–279.

Рецензенты:

Ефремова О.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней №2 Белгородского государственного университета, г. Белгород; Вишневецкий В.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет», г. Орёл.

Работа поступила в редакцию 26.12.2011.

УДК 616.13-004.6-02:616.36-074

ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ВЫРАЖЕННОСТИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА БРАХИОЦЕФАЛИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ ШЕИ

Новицкий В.В., Котловский М.Ю., Карпов Р.С., Якимович И.Ю., Кириченко Д.А., Попельшева А.Э., Терешина Д.С., Кирсанова Т.В., Котловский Ю.В.

ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. Войно-Ясенецкого», Красноярск, e-mail: astheno@mail.ru

Проведено исследование синтетической функции печени у 78 пациентов с выявленным атеросклеротическим поражением брахиоцефалических артерий на стадии локального, диффузного утолщения интимы и сформировавшихся атеросклеротических бляшек. Оценка функционирования проводилась по показателям активности неспецифической холинэстеразы, содержанию альбумина, общего белка в сыворотке и фибриногена в плазме крови. На стадии локального утолщения интимы сосудов установлено выборочное увеличение исследуемых показателей, среди которых важное значение имела активность холинэстеразы. При диффузном утолщении интимы показана максимальная активность синтетической функции печени, где содержание альбумина выявлено в качестве наиболее показательного маркера развития данного патологического процесса, тогда как на стадии формирования бляшки происходило снижение функционирования печени и основным маркером вновь выступала активность холинэстеразы.

Ключевые слова: неспецифическая холинэстераза, альбумин, общий белок, фибриноген, синтетическая функция печени, атеросклероз

THE STUDY OF MARKERS OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN PATIENTS WITH VARYING DEGREES OF SEVERITY OF THE ATHEROSCLEROTIC PROCESS OF BRACHIOCEPHALIC ARTERY OF THE NECK

Novitsky V.V., Kotlovsky M.Y., Karpov R.S., Yakimovich I.Y., Kirichenko D.A., Popelysheva A.E., Tereshina D.S., Kirsanova T.V., Kotlovsky Y.V.

Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, e-mail: astheno@mail.ru

The research of a synthetic liver function in 78 patients diagnosed with atherosclerotic lesions of the brachiocephalic artery of the neck under local, diffuse thickening of the intima and atherosclerotic plaques was carried out. The evaluation of the activity was carried out on indicators of a non-specific cholinesterase, an albumin, a total protein in the serum and a fibrinogen in the plasma. A selective increase in blood indices, among which was the importance of cholinesterase activity, was noted at the stage of a local thickening of the walls of the blood vessels. The maximum activity of the synthetic function of the liver, where albumin revealed as the most indicative marker of this disease process showed in the diffuse thickening of the vascular wall. At that time there was a decrease in liver function at the stage of plaque formation and the main marker of the newly was a cholinesterase activity.

Keywords: non-specific cholinesterase, albumin, total protein, fibrinogen, synthetic liver function, atherosclerosis

Атеросклероз является многофакторным заболеванием [1, 16], большую роль в развитии которого отводят нарушению обмена липопротеидов [5, 7, 21], изменению спектра жирных кислот [3, 13], реологических свойств крови [2, 11, 12], а также воспалительному процессу [17, 18].

Известно, что печени в организме отводится основная роль в производстве и утилизации биологически активных веществ, оказывающих влияние на эндотелий сосудов, участвующих в патогенезе атеросклероза [8, 10], поэтому представляется интересным провести анализ изменения синтетической функции данного органа в зависимости от выраженности исследуемого патологического процесса.

В качестве маркеров, отражающих функцию печени, в литературе предлагается использовать такие показатели, как ак-

тивность неспецифической сывороточной холинэстеразы, содержание альбумина, фибриногена, общего белка факторов свертывания [4, 6, 14, 15].

Цель исследования – установить особенности изменения синтетической функции печени в зависимости от степени выраженности атеросклеротического процесса брахиоцефалических артерий и выявить маркер, наиболее отображающий степень развития данного патологического процесса.

Материал и методы исследования

Обследовано 150 пациентов обоего пола, средний возраст которых составил $49,93 \pm 0,54$. Группу здоровых лиц (контрольная группа) составили 72 пациента. Критериями исключения для данной группы являлись: возраст – моложе 40 лет, наличие острых, в том числе сосудистых заболеваний на момент обследования и атеросклеротических поражений магистральных сосудов шеи.