

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЛИЯНИЯ РИТУКСИМАБА НА ПАРАМЕТРЫ ИММУННОГО СТАТУСА И КЛИНИЧЕСКУЮ СИМПТОМАТИКУ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

А.В. БЕЗГИН¹
Л.А. КНЯЗЕВА¹
Н.С. МЕЩЕРИНА¹
А.Н. ТИМОНОВА²

¹⁾ Курский государственный
медицинский университет

²⁾ Городская больница № 2,
г. Белгород

e-mail: kafedra_No1@bk.ru

В данной статье проведена оценка показателей цитокинового статуса в синовиальной жидкости и качества жизни у 64 больных ревматоидным артритом (РА). Установлены отличия в содержании ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и васкулоэндотелиального фактора роста-А (ВЭФР-А) в синовиальной жидкости больных в зависимости от позитивности по ревматоидному фактору (РФ). У серопозитивных по РФ пациентов преобладало содержание ИЛ-1 β и ВЭФР-А, при серонегативном РА – ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8. Определена большая эффективность влияния ритуксимаба на показатели цитокинового статуса и качество жизни у больных с серопозитивным по РФ вариантом РА.

Ключевые слова: цитокины, васкулоэндотелиальный фактор роста-А, ревматоидный артрит, ритуксимаб, НАQ.

Ревматоидный артрит (РА) является одним из самых тяжелых заболеваний человека, и представляет серьезную медико-социальную проблему из-за прогрессирующего характера течения, приводящего к быстрому развитию инвалидности вследствие функциональной недостаточности суставов, ограничению социальной активности [3].

В последние годы в лечении РА наметился значительный прогресс, что напрямую связано с разработкой и внедрением в клиническую практику нового класса противовоспалительных средств – генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), значительно расширивших терапевтические возможности и сделавших достижимым торможение эрозивного процесса в суставах и ремиссию заболевания [2]. Среди широкого спектра ГИБП, применяющихся для лечения РА, уникальное место принадлежит препарату ритуксимаб, представляющему собой химерные моноклональные антитела к мембранному CD 20 антигену В-клеток, вызывающие деплецию различных субпопуляций В-клеток, играющих фундаментальную роль в иммунопатогенезе РА и других аутоиммунных заболеваний [4]. Результаты рандомизированных плацебо контролируемых исследований (РПКИ) РТМ свидетельствуют о высокой клинической эффективности РТМ при РА [6]. Следует при этом отметить, что первые полученные результаты, показавшие достаточно высокую эффективность терапевтического действия ритуксимаба при ревматологической патологии, явились основанием для дальнейших исследований, направленных на оптимизацию терапии РТМ, разработку персонифицированных подходов к терапии, определение показаний для повторных курсов терапии. Уточнение данных положений будет способствовать индивидуализации и повышению эффективности терапии.

Целью работы явилось проведение сравнительной оценки влияния терапии ритуксимабом на содержание в синовиальной жидкости цитокинов провоспалительного действия (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α), васкулоэндотелиального фактора роста – А (ВЭФР-А) и клиническую симптоматику у больных с различными вариантами ревматоидного артрита.

Материалы и методы исследования. На базе ревматологического отделения областной клинической больницы г. Курска обследовано 64 пациента ревматоидным артритом с умеренной и высокой активностью; длительность заболевания колебалась от 6 месяцев до 7 лет. Средний возраст больных составил $48,2 \pm 6,5$ года. Группа контроля включала 20 здоровых доноров. Критериями включения пациентов в исследование явились: РА 2-3 степени активности, (DAS 28 > 3,2); наличие показаний и отсутствие

противопоказаний к применению БПВП; пациенты, получавшие в качестве БПВП метотрексат; наличие информированного согласия пациента о включении в исследование. Критериями исключения пациентов из исследования: РА 1 степени активности; инфекционные процессы любой локализации. Диагноз ревматоидного артрита устанавливался в соответствии с критериями Европейской антиревматической лиги (EULAR, 2010). 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 показателей цитокинового статуса, ВЭФР-А в синовиальной жидкости проводилась до начала терапии, и после 4-х месяцев лечения. Все обследованные больные были рандомизированы на две группы в зависимости от серопозитивности по РФ: первую группу (1n=38) составили пациенты с серопозитивным по РФ РА, вторую (2n=26) – больные с серонегативным по РФ вариантом РА. Все больные получали в качестве базисной противовоспалительной терапии ритуксимаб – вводили в/венно капельно по 1000 мг/сутки в соответствии рекомендуемой схемой: 0, 2 неделя, на фоне приема метотрексата 10 мг/нед. Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-8 в синовиальной жидкости больных РА оценивали с помощью тест-систем Pro Con (НПО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). Васкулоэндотелиальный фактор роста – А (ВЭФР-А) исследовали иммуноферментным методом (Bender, Medsystems Qmbh). Ревматоидный фактор определяли иммуноферментным методом (Orgentect). Синовиальную жидкость для исследования получали при пункции коленных суставов. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием парного и непарного критерия Стьюдента, коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение. Исследование исходного содержания цитокинов провоспалительного действия в синовиальной жидкости больных РА показало достоверное увеличение их содержания: ФНО- α – 426,5 \pm 14,8 пг/мл; ИЛ-1 β – 288,4 \pm 11,7 пг/мл; ИЛ-6 – 234,5 \pm 13,1 пг/мл; ИЛ-8 – 148,6 \pm 16,1 пг/мл в сравнении с показателями здоровых людей. У всех обследованных больных РА определено повышение уровня ВЭФР – А (76,8 \pm 10,6 пмоль/л; $p < 0,05$) в синовиальной жидкости. При сравнении содержания изучаемых цитокинов у больных в зависимости от серопозитивности по РФ, было установлено, что при серонегативном варианте РА (уровень РФ в сыворотке крови составил 10,1 \pm 3,6 МЕ/мл) в синовиальной жидкости имел место более высокий уровень ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 (498,4 \pm 13,7 пг/мл, $p < 0,05$; 298,5 \pm 19,1 пг/мл, $p < 0,05$; 398,6 \pm 19,7 пг/мл, $p < 0,05$ соответственно) (табл.1).

Таблица 1

Влияние терапии на показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости больных с серонегативным по РФ ревматоидным артритом

Группы обследованных	№ n/p	Показатели				
		ФНО- α (пг/мл)	ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	ВЭФР-А (пмоль/л)	ИЛ-8 (пг/мл)
Группа контроля (n=20)	1	35,2 \pm 4,6	16,1 \pm 6,3	6,2 \pm 0,9	15,6 \pm 3,6	6,8 \pm 2,1
До лечения: больные с серонегативным по РФ РА (n=26)	2	498,4 \pm 13,7 *1	204,7 \pm 12,3 *1	298,5 \pm 19,1 *1	76,8 \pm 10,6 *1	398,6 \pm 19,7 *1
Через 4 месяца после введения ритуксимаба (n=26)	3	256,2 \pm 3,7 *1-2	123,2 \pm 2,8 *1-2	202,7 \pm 1,8 *1-2	36,6 \pm 4,5 *1-2	260,3 \pm 3,6 *1-2

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

Концентрация ИЛ-1 β и ВЭФР – А у больных этой группы составляла соответственно: 204,7 \pm 12,3 пг/мл и 76,8 \pm 10,6 пг/мл, и была достоверно ниже в сравнении с показателями при серопозитивном по РФ варианте РА; при котором уровень ИЛ-1 β и ВЭФР – А соответственно был равен: 318,4 \pm 24,7 пг/мл и 393,7 \pm 25,2 пг/мл (табл.2), у



больных этой группы концентрация РФ в сыворотке крови ($65,2 \pm 5,4$ МЕ/мл) достоверно превышала показатель группы контроля ($12,3 \pm 4,6$ МЕ/мл). Т. о. проведенные исследования выявили особенности в содержании исследуемых цитокинов в синовиальной жидкости больных в зависимости от серопозитивности по РФ.

Таблица 2

Влияние терапии на показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости больных с серопозитивным по РФ ревматоидным артритом

Группы обследованных	№ п/п	Показатели				
		ФНО- α (пг/мл)	ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	ВЭФР-А (пмоль/л)	ИЛ-8 (пг/мл)
Группа контроля (n= 20)	1	35,2 \pm 4,6	16,1 \pm 6,3	6,2 \pm 0,9	15,6 \pm 3,6	6,8 \pm 2,1
До лечения: больные с серопозитивным по РФ РА (n=38)	2	128,5 \pm 14,8 ^{*1}	318,4 \pm 24,7 ^{*1}	232,5 \pm 8,4 ^{*1}	393,7 \pm 25,2 ^{*1}	160,3 \pm 6,8 ^{*1}
Через 4 месяца после введения ритуксимаба (n=38)	3	38,8 \pm 6,2 ^{*2}	100,3 \pm 10,2 ^{*1-2}	50,5 \pm 9,8 ^{*1-2}	57,5 \pm 15,8 ^{*1-2}	44,2 \pm 4,9 ^{*1-2}

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

При серонегативном варианте РА в синовиальной жидкости преобладало содержание ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8. У больных с серопозитивной формой РА отмечена значительно большая концентрация ИЛ-1 β , ВЭФР-А, при меньшем уровне ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-8, что отражает особенности патогенеза данных вариантов РА. Следует отметить, что нарушения в системе цитокинов имеют патогенное значение в развитии РА. Таким цитокинам, как ФНО- α , ИЛ-6, вырабатываемым в процессе иммунного взаимодействия макрофагов и лимфоцитов в синовиальной мембране, принадлежит ведущая роль в дальнейшем активировании клеток и развитии острого воспалительного процесса в суставе [5], прежде всего при серонегативном варианте РА. Гиперпродукция ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 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. Гиперпродукция ИЛ-6 активирует экспрессию молекул адгезии на эндотелии синови, усиливает активность фибробластов и остеокластов, тем самым потенцирует воспаление при РА [1]. Важным свойством ИЛ-8 является стимуляция ангиогенеза путем активации пролиферации эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток, усиления продукции ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α [1]. Преимущественное увеличение уровня ИЛ-8 при негативном по РФ варианте РА можно рассматривать в качестве компенсаторной реакции, направленной на частичное замещение в ангиогенезе активности ВЭФР-А, содержание которого у больных этой группы оказалось достоверно ниже в сравнении с серопозитивным по РФ ревматоидным артритом. Прогрессирование заболевания, формирование паннуса при РА сопряжено с гиперпродукцией ВЭФР-А, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , обладающих свойствами инициировать воспаление и разрушение костной и хрящевой ткани. ФНО- α потенцирует эффекты ключевых медиаторов воспаления в синовиальной оболочке, запуская деструктивные процессы в суставах, стимулирует остеокластогенез и вместе с другими цитокинами (ИЛ-1 β и ИЛ-6) способствует развитию костной и хрящевой деструкции сустава, прогрессированию заболевания. Под влиянием ФНО- α активируется продукция ИЛ-8, который в свою очередь, обладает способностью потенцировать синтез клетками ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , также ИЛ-8 играет ключевую роль в миграции нейтрофилов в очаг воспаления в синовиальной ткани. Источником ИЛ-8 в полости суставов могут являться синовиальные клетки, гиперэкспрессия ИЛ-8 обуславливает прогрессирование воспаления синовиальной оболочки суставов [2]. Под влиянием ИЛ-1 β хондроциты



вырабатывают собственные провоспалительные медиаторы, а повышенное количество оксида азота, приводит к гибели хондроцитов. ИЛ-1 β и ФНО- α 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 прогрессирующую деструкцию суставов. Следует подчеркнуть важную роль ИЛ-1 β в активировании экспрессии ВЭФР-А [10].

Определение в синовиальной жидкости у обследованных больных РА уровня ВЭФР – А показало, что его концентрация при серопозитивном варианте болезни была в 5,1 раза выше, чем у больных с серонегативным РА. Известно, что васкулоэндотелиальный фактор роста – А, секретирующийся макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, играет важную роль в неоангиогенезе при РА, осуществляя стимуляцию пролиферации синовиальных и эндотелиальных клеток, образование новых сосудов, активный рост паннуса с обилием в нем кровеносных сосудов [9]. Более высокое содержание ВЭФР-А у больных с серопозитивным вариантом заболевания отражает прогрессирующую болезнь, высокую активность процессов неоангиогенеза, стимулированных ВЭФР-А. При этом надо отметить, что процессы деструкции хряща и кости при РА связаны не столько с механическим давлением растущего паннуса, сколько с гиперпродукцией провоспалительных медиаторов, в том числе ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α [6].

Сравнительная оценка клинической эффективности применения ритуксимаба у больных РА в зависимости от серопозитивности по РФ показала, что у серопозитивных пациентов, получавших ритуксимаб, эффективность лечения (число пациентов с ответом по DAS 28 составило более 75%) была достоверно выше, чем в группе серонегативных по РФ больных (всего 27,5% больных с ответом по DAS 28). При этом спустя 4-е месяца после проведенной терапии только у 15% больных, негативных по РФ, в сравнении с 65% пациентов позитивных по РФ, имел место «хороший ответ» (снижение DAS >1,2) и минимальная активность заболевания (3,2 > DAS28 < 2,6). Число пациентов, «не отвечающих» на терапию (DAS28 > 3,7), составило 18% у больных с серонегативным вариантом РА, в группе с РФ – позитивным РА таких пациентов выявлено не было.

Определение уровня изучаемых цитокинов спустя 4-е месяца после терапии показало, что у больных с РФ – позитивным РА, на фоне лечения было достигнуто достоверное уменьшение концентрации ФНО- α – на 69,8 \pm 2,1%, ИЛ-1 β – на 68,5 \pm 2,9%, ИЛ-6 – на 78,3 \pm 3,1%, ИЛ-8 – 72,4 \pm 2,8%, ВЭФР-А – на 85,4 \pm 2,9%. Уровень РФ в сыворотке крови составил 21,3 \pm 4,2 МЕ/мл и достоверно не отличался от показателя контрольной группы. У пациентов с РФ – негативным вариантом РА, спустя 4-е месяца после инфузий ритуксимаба, выявлена меньшая результативность коррекции изучаемых показателей: концентрация ФНО- α уменьшилась на 48,6 \pm 1,2% (p<0,05), ИЛ-1 β – на 39,8 \pm 2,1% (p<0,05), ИЛ-6 – на 32,1 \pm 2,1% (p<0,05); ИЛ-8 – на 34,7 \pm 2,3% (p<0,05); снижение концентрации ВЭФР-А в синовиальной жидкости составило 52,3 \pm 2,6% (p<0,05). Анализ полученных данных установил большую клинико-лабораторную активность терапии ритуксимабом при серопозитивном варианте РА, что напрямую связано с блокированием ведущих звеньев патогенеза. Следует отметить, что В-клетки вызывают активацию Т-клеток и индуцируют тем самым синтез широкого спектра провоспалительных цитокинов, поэтому деплеция В-клеток под влиянием ритуксимаба сопровождается снижением продукции таких медиаторов воспаления, как ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-1 β , ВЭФР-А. Существенное изменение функции моноцитов/макрофагов под воздействием препарата приводит к снижению синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α), имеющих фундаментальное значение в развитии РА [7]. В качестве одного из механизмов терапевтического действия препарата следует отметить уменьшение продукции РФ до значений контроля под влиянием ритуксимаба, что важно с позиций роли РФ в поддержании воспалительного процесса [11]. Известно, что РФ принимает участие в активации системы комплемента, сопровождающейся выработкой значительного количества медиаторов воспаления, способствующих самоподдержанию и хронизации

воспалительного процесса [8]. Эти результаты являются отражением большей терапевтической активности ритуксимаба у больных с серопозитивным по РФ РА, при РФ – негативном варианте РА, терапия ритуксимабом оказалась менее эффективной по влиянию на качество жизни пациентов.

Полученные результаты дают основание рекомендовать применение ритуксимаба у больных серопозитивным по РФ вариантом РА, вследствие большей результативности действия препарата, что обеспечивает достаточно быстрое и эффективное купирование активности заболевания, достижение контроля за его прогрессированием, что лежит в основе предотвращения процессов деструкции костной и хрящевой ткани и, следовательно, сохранения целостности и функциональной активности суставов.

Литература

1. Кетлинский, С.А. Цитокины. /С.А. Кетлинский//С-Пб.- Фолиант, -2008.- 550 с.
2. Каратеев, Д.Е. Современная медикаментозная терапия ревматоидного артрита / Д.Е. Каратеев// Лечащий врач.- 2007.-, № 2.- 40-46 с.
3. Насонов, Е.Л. Ревматоидный артрит как общемедицинская проблема./ Е.Л. Насонов// Терапевт.- 2004.-№ 5.- 5-7 с.
4. Насонов, Е.Л. Применение ритуксимаба при РА./Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова// Научно-практическая ревматология.- 2010.- № 4.- 10-40 с.
5. Сигидин, Я.А. Биологическая терапия в ревматологии – 2-е изд., доп.// Я.С. Сигидин, Г.В. Лукина – М.: Практическая медицина,-2009. – 302 с.
6. Emery P., Fleishmann R., Filipowicz-Sosnowska A. et al. for the DANCER study group. The efficacy and safety of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment./ P. Emery [et al.]// Results of a phase ii b randomized, double-blind, placebo-controlled dose- range trial. Arthr. Rheum. 2006, 54: 1390-400.
7. Jocibi E., Kesser A., G. Slobodin. Macrophage function following rituximab treatment in patients with rheumatoid arthritis./ E. Jocibi, A. Kesser, G. Slobodin // Ann. Rheumatic Disease, 2006, 5 Dec.
8. Rheumatoid factor on a daily bases./ Y. Renaudineau [et al.] // Autoimmunity 2005 ; 38 :11-6.
9. Smolen, J.S. When patients with rheumatoid fail tumor necrosis factor inhibitors what is the next step./ J.S. Smolen, M. Weinblatt // J Ann Rheum Dis.- 2008.- Vol. 67.- 1497-1498 p.
10. Kowantz, M. Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective./M. Kowantz, N. Ferrava // Clin. Cancer Res 2006; 12 (17): 5018- 22 p.
11. Youinou, P. B-cell: a logical target for treatment of rheumatoid arthritis./P. Youinou, C. Janin, A. Saraux // Clin. Exp. Rheumatol., 2007, 25; 318-28.

THE EFFICIENCY OF RITUXIMAB INFLUENCE ON THE INDEX OF IMMUNE STATUS AND CLINICAL SYMPTOMS IN PATIENTS WITH DIFFERENT VARIANTS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

A. V. BEZGIN¹
L. A. KNYAZEVA¹
N.S. MESCHERINA¹
A.N. TIMONOVA²

¹⁾ *Kursk State Medical University*

²⁾ *Municipal hospital №2, Belgorod*

e-mail: kafedra_№1@bk.ru

The research of cytokine status of synovial fluid and quality of life in 64 patients with rheumatoid arthritis is analyzed in the article. The differences in the concentrations of interleukins (IL- 1 β , IL-6, IL-8), tumor necrosis factor (TNF- α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) – A in the synovial fluid of the patients with rheumatoid arthritis, dependently their serological subtype, according rheumatoid factor (RF) were identified. In seropositive patients were found higher concentrations of IL-1 β and VEGF-A; in seronegative – TNF α , IL-6, IL-8. Higher efficiency of rituximab treatment on the local cytokine status and quality of life in seropositive patients with rheumatoid arthritis was found.

Key-words: cytokines, vascular endothelial growth factor-A, rheumatoid arthritis, rituximab, HAQ.