

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ ЦИТОКИНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕРАПИИ

© *Мащенко Е.В., Калашникова М.В., Князева Л.А., Безгин А.В., Горайнов И.И.*

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

В данной статье представлены результаты исследования показателей цитокинового статуса в синовиальной жидкости у 76 больных псориатическим артритом и сравнительной оценки эффективности их коррекции метотрексатом и метотрексатом в комбинации с инфликсимабом. Установлена, достоверно большая эффективность корригирующего влияния инфликсимаба в комбинации с метотрексатом на уровень провоспалительных цитокинов в синовиальной жидкости у больных псориатическим артритом в сравнении с монотерапией метотрексатом.

Ключевые слова: цитокиновый статус, провоспалительные цитокины, псориатический артрит, метотрексат, инфликсимаб.

CHANGES OF PROINFLAMMATORY CITOKINS CONTANCE IN SINOVIAL LIQUID AT PATIENTS WITH PSORIATIC ARTHRITIS DUE TO THERAPY

Maschenko E.V., Kalashnikova M.V., Knyazeva L.A., Bezgin A.V., Goryainov I.I.

Department of Internal Diseases N 1 of the Kursk State Medical University, Kursk

In this article is observed the results of investigations of cytokins status in synovial liquid of the 76 patients with psoriatic arthritis, treated with metotrexate (MT) in comparison with MT + infliximab (INF) treatment. So, it is found that the influence of INF + MT concentration of moderate proinflammatory cytokins in synovial liquid of psoriatic arthritis patients is much more effective in comparison with MT therapy.

Keywords: cytokins status, proinflammatory cytokins, infliximab, metotrexate.

Согласно современным данным, распространенность псориаза (ПсА) в популяции составляет 1-3%, а частота псориатического артрита может достигать 1% [4]. В последнее время установлено, что примерно у половины больных даже с ранним ПсА (длительностью не более 2 лет) определяются рентгенологические признаки деструкции суставных поверхностей, прогрессирующее течение заболевания [4, 5]. ПсА имеет в целом такую же степень тяжести по прогнозу и течению, что и ревматоидный артрит (РА). Следует отметить, что, несмотря на многочисленные исследования, терапия ПсА по-прежнему остается трудной задачей. Примерно у 30-60% больных развивается рефрактерность к проводимой терапии, что сопряжено с быстрым прогрессированием функциональной недостаточности опорно-двигательного аппарата, ранней инвалидизацией [4, 8].

Согласно современным представлениям ПсА имеет мультифакториальную природу, в его развитии принимают участие многие факторы, включая генетические, приобретенные и иммунологические [1]. Исследования последних лет показали важную роль иммунных механизмов в инициации и хронизации заболевания. При этом в качестве важного звена патогенеза ПсА рассматривается дезрегуляция в цитокиновом статусе [5]. Следует отметить, что особенностью ПсА является чрезвычайный полиморфизм клинических про-

явлений, в основе которого лежит гетерогенность с точки зрения патогенетических механизмов. Выделяют пять клинических вариантов ПсА, при этом одной из наиболее тяжелых по клиническому течению и прогнозу форм ПсА является полиартритическая (ревматоидоподобная) [3]. В изучении патогенеза артритов, ПсА в том числе, наиболее информативным является исследование цитокинового профиля синовиальной ткани, однако в клинической практике ее образцы можно получить на поздних стадиях заболевания. Поэтому для оценки патогенетических изменений, происходящих на разных стадиях течения ПсА, изучение цитокинового статуса производится в синовиальной жидкости и периферической крови [12], поскольку известно, что синовиальная жидкость является одним из основных органоспецифических компонентов сустава, напрямую определяющих его морфофункциональное состояние [7]. Кроме того, надо отметить, что в большинстве выполненных к настоящему времени исследований представлена характеристика показателей системного иммунитета при псориазе, мало изученными остаются параметры иммунного статуса в синовиальной жидкости в зависимости от клинических вариантов ПсА. Определение показателей иммунного статуса в синовиальной жидкости больных с полиартритической (ревматоидоподобной) формой ПсА позволит уточнить меха-

низмы ее прогрессирования, что, в свою очередь, открывает возможности для оптимизации методов лечения одной из наиболее тяжелых форм ПсА. Это особенно важно с позиций недостаточной эффективности используемых в настоящее время препаратов базисной противовоспалительной (БПВТ) терапии ПсА, в том числе метотрексата, применение которого далеко не всегда сопровождается достижением контроля за прогрессированием заболевания, развитием функциональной недостаточности суставов [7].

Надо отметить, что в последние годы появились обнадеживающие перспективы в лечении ПсА, связанные с появлением нового класса противовоспалительных средств - генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП). Создание ГИБП непосредственно связано с представлением о ключевых механизмах патогенеза ревматологической патологии, на которые они оказывают модифицирующее действие [8]. ГИБП, в частности инфликсимаб, уже более 10 лет применяются в лечении ревматологических заболеваний, псориаза и ПсА в том числе. Однако полученные к настоящему времени сведения по эффективности использования инфликсимаба при ПсА немногочисленны и неоднозначны, что во многом обусловлено многообразием его клинических и патогенетических форм. Эти положения свидетельствуют о необходимости продолжения исследований по уточнению механизмов формирования ПсА, в том числе полиартритического варианта заболевания, что будет способствовать оптимизации лечения данного заболевания, по-прежнему остающегося до конца не решенной проблемой современной медицины.

Поэтому целью исследования явилось проведение сравнительной оценки эффективности влияния метотрексата и ингибитора ФНО α – инфликсимаба на клиническую симптоматику и показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости у больных с полиартритическим вариантом ПсА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе кафедры внутренних болезней № 1, ревматологического отделения областной клинической больницы г. Курска) обследовано 76 больных с полиартритическим вариантом ПсА, умеренной активностью ($2,4 < DAS4 \leq 3,7$) и высокой ($DAS4 > 3,7$), из них 50 женщин и 26 мужчин; длительностью заболевания от 6 месяцев до 5 лет (ранняя стадия ПсА у 34 больных; развернутая стадия ПсА длительностью более

года была у 42 больных). Средний возраст обследованных составил $42,3 \pm 6,2$ года. Группу контроля составили 20 здоровых доноров. А I функциональный класс недостаточности суставов был определен у 14 больных, II ФК у 51 пациента, III ФК у 11 больных ПсА.

Критериями включения пациентов в исследование явились: полиартритическая (ревматоидоподобная) форма ПсА; умеренная ($2,4 < DAS4 \leq 3,7$) и высокая ($DAS4 > 3,7$) активность ПсА; наличие показаний и отсутствие противопоказаний к применению базисных противовоспалительных препаратов (БПВП); пациенты, получавшие в качестве БПВП метотрексат и инфликсимаб; наличие информированного согласия пациента о включении в исследование.

Критерии исключения из исследования: ПсА с минимальной активностью; все другие формы ПсА за исключением, полиартритической; инфекционно-воспалительные процессы любой локализации; сахарный диабет; хроническая почечная недостаточность.

Контроль эффективности проводимой терапии осуществлялся на основании анализа динамики клинической симптоматики ПсА с использованием комбинированного индекса активности заболевания индекс PASI (Psoriatic Area Severity Index); DAS4 (Disease Activity Score) и PSARC (Psoriatic Arthritis Response Citeias) [8] после 52 недель приема препаратов.

Уровень интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8 и фактора некроза опухоли (ФНО α) в синовиальной жидкости больных ПсА определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем Pro Con (производства НОО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) согласно инструкциям к тест-системам.

Синовиальную жидкость получали при пункции коленных суставов.

С учетом проводимого лечения все больные были рандомизированы на две группы: первую группу составили больные ПсА ($n=38$), получавшие в качестве базисной противовоспалительной терапии метотрексат 12,5-15,0 мг/нед., вторую – больные ($n=38$), лечение которых наряду с приемом 10 мг метотрексата в неделю включало инфликсимаб. Инфликсимаб вводили в/вено капельно по 200 мг в соответствии рекомендуемой схемой: через 2, 4, 6 недель после первой инфузии, затем после каждые 8 недель. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием парного и непарного критерия Стьюдента, коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование исходного уровня цитокинов провоспалительного действия в синовиальной жидкости у больных ПсА показало достоверно более высокое их содержание в сравнении с контролем. При этом у пациентов с развернутой стадией болезни (длительность более 1,5 года), имел место достоверно более высокий уровень ФНО α - 183,9 \pm 16,7 пг/мл; ИЛ-1 β - 139,7 \pm 12,3 пг/мл; ИЛ-6 - 198,5 \pm 5,1 пг/мл; ИЛ-2 - 53,6 \pm 6,4 пг/мл; ИЛ-8 - 164,8 \pm 14,2 пг/мл в сравнении с показателями при раннем ПсА (табл. 2). Следует отметить, что при развернутой стадии ПсА в большей степени была повышена концентрация в синовиальной жидко-

сти ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-8, соответственно на 42% ($p < 0,05$), 49%, ($p < 0,05$) и 39,8% ($p < 0,05$), в меньшей степени была увеличена концентрация ФНО α и ИЛ-1 β (на 14% и 12%, $p < 0,05$ соответственно). У больных с ранним ПсА (длительностью менее 1,5 года) в синовиальной жидкости преобладало содержание ФНО α , ИЛ-1 β (табл. 1), при меньшем увеличении уровня ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8.

Оценка клинической симптоматики суставного синдрома после проведенного лечения показала следующие результаты. На фоне применения в качестве БПВП инфликсимаба эффективность лечения была достоверно выше (число пациентов с ответом по DAS4 составило более 70%), чем в группе больных, получавших в качестве БПВП метотрексат (всего 17,5% больных с ответом по

Таблица 1

Влияние терапии на показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости больных с ранним псориатическим артритом

Группы обследованных			№ n/n	Показатели				
				ФНО α (пг/мл)	ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-2 (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	ИЛ-8 (пг/мл)
Группа контроля (n= 20)			1	35,2 \pm 4,6	16,1 \pm 6,3	1,48 \pm 0,4	6,2 \pm 0,9	6,8 \pm 2,1
До лечения: больные с длительностью ПсА до 1,5 года (n=38)			2	268,4 \pm 13,7 * ¹	198,2 \pm 12,3 * ¹	42,1 \pm 6,9 * ¹	151,3 \pm 4,7 * ¹	134,7 \pm 5,2 * ¹
Больные ПсА с длительностью заболевания менее 1,5 года (n= 38)	Через 52 недели терапии	Метотрексат (n= 19)	3	199,7 \pm 9,3 * ¹⁻²	153,6 \pm 10,8 * ¹⁻²	31,5 \pm 6,2 * ¹⁻²	108,6 \pm 12,3 * ¹⁻²	108 \pm 1,3 * ¹⁻²
		Инфликсимаб+метотрексат (n= 19)	4	36,7 \pm 4,8 * ²⁻³	17,4 \pm 2,6 * ²⁻³	1,6 \pm 0,2 * ²⁻³	8,3 \pm 2,4 * ²⁻³	9,1 \pm 3,2 * ²⁻³

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

Таблица 2

Влияние терапии на показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости больных при развернутой стадии псориатического артрита

Группы обследованных			№ n/n	Показатели				
				ФНО α (пг/мл)	ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-2 (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	ИЛ-8 (пг/мл)
Группа контроля (n= 20)			1	35,2 \pm 4,6	16,1 \pm 6,3	1,48 \pm 0,4	6,2 \pm 0,9	6,8 \pm 2,1
До лечения: больные с длительностью ПсА более 1,5 года (n=38)			2	183,9 \pm 16,7* ¹	139,7 \pm 12,3* ¹	53,6 \pm 6,4* ¹	198,5 \pm 5,1* ¹	164,8 \pm 14,2* ¹
Больные ПсА с длительностью заболевания более 1,5 года (n= 38)	Через 52 недели терапии	Метотрексат (n= 19)	3	153,6 \pm 8,4* ¹⁻²	119 \pm 7,8* ¹⁻²	46,9 \pm 6,2* ¹⁻²	171,5 \pm 10,3* ¹⁻²	148,2 \pm 1,8* ¹⁻²
		Инфликсимаб+метотрексат (n= 19)	4	47,3 \pm 3,8* ¹⁻³	47,8 \pm 2,6* ¹⁻³	19,2 \pm 1,3* ¹⁻³	91,7 \pm 5,4* ¹⁻³	47,5 \pm 3,2* ¹⁻³

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

DAS4). При этом только у 10% больных, леченных метотрексатом, по сравнению с 65% пациентов, получавших инфликсимаб, имел место «хороший ответ» (снижение DAS4 $>$ 1,2) и минимальная активность заболевания (1,6 $>$ DAS4 $<$ 2,4) после 52 недель терапии. Число пациентов, «не отвечающих» на терапию (DAS4 $>$ 3,7), составило соответственно 50%, в группе получавших метотрексат, и 12% ($P<0,05$) - инфликсимаб. Общее снижение среднегруппового индекса PASI после 52 недель терапии составило 85% на фоне инфузии инфликсимаба и 27% на фоне приема метотрексата (MT).

В процессе лабораторного исследования после 52 недель лечения было установлено достоверное снижение содержания исследуемых цитокинов ФНО α - на 25,6%, ИЛ-1 β - на 22,49%, ИЛ-6 - на 28,2%, ИЛ-2 - на 25,2%, ИЛ-8 - на 19,8% в синовиальной жидкости больных с ранним ПсА (длительность менее 1,5 года), получавших в качестве БПВП метотрексат (табл. 1). При развернутой стадии болезни (длительность более 1,5 года) на фоне лечения MT концентрация в синовиальной жидкости ФНО α , ИЛ-1 β и ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-8 уменьшилась соответственно на 16,5% ($p<0,05$), 14,8% ($p<0,05$) и 13,6% ($p<0,05$), 12,5% ($p<0,05$), и 10,1% ($p<0,05$) (табл. 2). Оценка влияния инфликсимаба на цитокиновый статус у больных с ранним ПсА не выявила в синовиальной жидкости статистически значимых отличий с показателями контрольной группы (табл. 1). У больных с продолжительностью заболевания более 1,5 года применение инфликсимаба сопровождалось достоверным уменьшением концентрации в синовиальной жидкости исследуемых цитокинов: ФНО α - на 74,3%, ИЛ-1 β - на 65,8%, ИЛ-6 - на 53,8%, ИЛ-2 - на 64,2%, ИЛ-8 - на 71,2% (табл. 2).

Таким образом, полученные результаты показали, что у больных с различной длительностью полиартритического варианта ПсА имеют место существенные различия в содержании цитокинов в синовиальной жидкости, достоверно отличающиеся также от показателей здоровых доноров. Установлено, что у больных с ранним ПсА в синовиальной жидкости преобладало содержание ФНО α и ИЛ-1 β , при развернутой стадии болезни (с анамнезом ПсА более 1,5 года) установлен более высокий уровень ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-8. Выявленные изменения в цитокиновом статусе, по-видимому, обусловлены патогенным значением системы цитокинов в формировании ПсА. Известно, что ФНО α отводится основная роль в патогенезе ПсА, что обусловлено основными патогенетическими эффектами ФНО α , включающими индукцию гиперэкспрессии молекул адгезии, металлопротеиназ, хемокинов, простагландинов,

продукцию ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8. ФНО α обладает свойствами инициировать воспаление и разрушать костную и хрящевую ткань [7]. С высоким уровнем ФНО α связывают такие клинические проявления ПсА, как остеолитиз, энтезопатии, ишемический некроз костей [2]. ФНО α и ИЛ-1 β являются мощными индукторами синтеза ИЛ-6, который потенцирует эффекты ключевых медиаторов воспаления в синовиальной оболочке, запуская деструктивные процессы в суставах, стимулирует остеокластогенез, вместе с другими цитокинами (ИЛ-1 β и ФНО α) способствуют развитию костной и хрящевой деструкции сустава [11]. Согласно данным экспериментальных исследований, ФНО α в большей степени ответствен за острое воспаление суставов, а ИЛ-1 β - за клеточную инфильтрацию и деструкцию хряща. ФНО α и ИЛ-1 β обладают синергической и самоиндуцирующей активностью, потенцируют развитие синовиита с лейкоцитарной инфильтрацией сустава [4, 10]. Эти цитокины усиливают экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1) на мембранах эндотелия сосудов синовиальной мембраны [1, 2]. ИЛ-6 способствует хронизации процесса, стимулируя остеокластогенез, деструкцию суставов [9]. Свойствами ИЛ-8 является способность усиливать продукцию клетками ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α ; кроме того, ИЛ-8 играет ключевую роль в миграции нейтрофилов в очаг воспаления в синовиальной ткани. При ПсА концентрация ИЛ-8 в синовиальной жидкости может возрастать за счет его гиперпродукции нейтрофилами и отражает прогрессирование артрита [13]. При ПсА увеличение концентрации ИЛ-2, в большей степени при развернутой стадии заболевания, отражает активацию CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов (Th1). Установлено, что ИЛ-2 обладает свойством стимулировать гиперпродукцию моноцитами ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α [14]. Важная роль в инициации воспаления при ПсА отводится ИЛ-1 β под действием которого хондроциты вырабатывают собственные провоспалительные медиаторы, а также повышенное количество оксида азота, приводящего к гибели клеток хрящевой ткани. Повышение уровня ИЛ-1 β в синовии считают фактором неблагоприятного прогноза для развития полиартрикулярной формы ПсА [6]. Поэтому установленные в нашей работе различия в цитокиновом статусе синовиальной жидкости у больных с полиартритическим вариантом ПсА, по-видимому, отражают особенности механизмов прогрессирования заболевания, напрямую связанные с увеличением зоны поражения синовиальных оболочек, хрящевой и костной тканей, измененные клетки которых приобретают свойства продуцировать цитокины провоспалительного действия [9]. Результаты проведенных исследований также показали большую кли-

ническую эффективность терапии ПсА инфликсимабом в сравнении с МТ, что подтверждается наблюдениями других авторов [1]. Следует отметить также, что терапия с применением инфликсимаба обладала большей активностью корригирующего влияния на клиническую симптоматику и показатели цитокинового статуса в синовиальной жидкости у больных с ранним ПсА. Известно, что провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α , ИЛ-2, ИЛ-8) обладают частично перекрещивающейся и самоиндуцирующейся активностью [5]. Поэтому подавление продукции ФНО α на фоне лечения инфликсимабом приводит к снижению уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-8 в синовиальной жидкости. У больных с анамнезом заболевания более 1,5 года лечение инфликсимабом приводило также к достоверному, однако меньшему в сравнении с ранним ПсА, снижению уровня исследуемых цитокинов, что сочеталось с менее выраженной клинической динамикой, что обосновывает целесообразность применения инфликсимаба у больных с ранней стадией развития ПсА.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бадюкин В.В.* Избранные лекции по клинической ревматологии / под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. – М., 2003. – С. 82–90.
2. *Бадюкин В.В.* Псориаз и псориатический артрит // Псориаз и псориатический артрит / под ред. В.А. Молочкова. – Товарищество научных изданий КМК. Авторская академия. – М., 2007. – С. 197–276.
3. *Бадюкин В.В.* Антицитокиновая терапия псориатического артрита // Рус. мед. ж. – 2006. – № 8. – С. 605–609.
4. *Бадюкин В.В.* Серонегативные спондилоартриты. Качество жизни // Медицина. – 2003. – № 3. – С. 21–25.
5. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. – СПб., 2008. – 550 с.
6. *Коротаева Т.В.* Методы оценки активности и критерии оценки ответа на терапию. – М., 2007. – С. 51–54.
7. *Коротаева Т.В.* Международные индексы оценки активности функционального статуса и качества жизни больных ревматоидными заболеваниями. – М., 2007. – 88 с.
8. *Насонова В.А.* Ревматология. – М.: Медицина, 2008. – 457 с.
9. *Насонов Е.Л.* Применение инфликсимаба (моноклональные антитела к ФНО α) в ревматологии: новые факты и идеи // Рус. мед. журн. – 2004. – № 12. – С. 64–73.
10. *Сигидин Я.А., Лукина Г.В.* Биологическая терапия в ревматологии; 2-ое изд., доп. – М: Практическая медицина, 2009. – 302 с.
11. *Baker B.S., Fry L.* The immunology of psoriasis // Br. J. Dermatol. – 2001. – Vol. 126. – P. 1–9.
12. *Brand J., Braun J.* Anti-TNF-agents in the treatment of Psoriatic Arthritis // Expert Opin. Biol. Ther. – 2006. – Vol. 2, N 6. – P. 99–107.
13. *Breunan F.* Cytokines I that cytokines play a role in rheumatoid arthritis // J Clin Invest. – 2008. – Vol. 3537, N 118/11. – P. 45.
14. *Kraun M., Patel D., Haermans J.* The development of clinical signs of rheumatoid synovial inflammation is associated with increased synthesis of the chemokine CXCL 8 (interleukin 8) // Arthr. Res. – 2001. – N 3. – P. 65–71.
15. *Ye X., Tang B., Ma Z. et al.* The roles of interleukin-18 in collagen-included arthritis in the BB rat // Clin. Exp. Immunol. – 2004. – Vol. 3, N 136. – P. 440–447.