

## РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ В МОНИТОРИНГЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИНГИБИТОРАМИ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ $\alpha$ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

С.С. Доценко<sup>1,3</sup>, Л.Н. Шилова<sup>1</sup>, А.В. Александров<sup>1,3</sup>, П.А. Бакумов<sup>2</sup>

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, <sup>1</sup>кафедра госпитальной терапии, ВПТ с курсом клинической ревматологии ФУВ; <sup>2</sup>кафедра профессиональных болезней с курсом общей врачебной практики ФУВ; <sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского»

В настоящее время существует несколько препаратов биологической терапии, использующихся в лечении ревматоидного артрита (РА), в связи с чем появилась проблема выбора того или иного препарата. Материалы и методы. Обследовано 18 больных РА, получающих комбинированную терапию метотрексатом (МТ) и инфликсимабом (ИФ). Всем пациентам до начала лечения ИФ и через 30 недель определяли в сыворотке крови ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6. Результаты и выводы. Гиперпродукция провоспалительных цитокинов в очередной раз подтверждает их участие в развитии и прогрессирования РА. Повышение уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2 вероятнее ассоциированы с умеренным эффектом от проводимой генно-инженерной терапии в минимальных и средних терапевтических дозировках.

*Ключевые слова:* цитокины, ревматоидный артрит, инфликсимаб, метотрексат.

DOI 10.19163/1994-9480-2018-2(66)-32-34

## THE ROLE OF LABORATORY BIOMARKERS IN MONITORING THE EFFECTIVENESS OF TREATMENT WITH INHIBITORS OF TUMOR NECROSIS FACTOR $\alpha$ IN RHEUMATOID ARTHRITIS

S.S. Dotsenko<sup>1,3</sup>, L.N. Shilova<sup>1</sup>, A.V. Alexandrov<sup>1,3</sup>, P.A. Bakumov<sup>1</sup>

FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation, <sup>1</sup>department of hospital therapy with a course of clinical rheumatology endocrinology of the Faculty of Physicians' Improvement; <sup>2</sup>department of occupational diseases with the course of general medical practice of the Faculty of Physicians' Improvement;

<sup>3</sup>FSBSI «Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology named after A.B. Zborovskiy

Currently, there are several biological therapy drugs used in the treatment of rheumatoid arthritis (RA), in connection with which there was a problem of choosing a drug. Materials and methods. 18 patients with rheumatoid arthritis, who received combination therapy with methotrexate and infliximab were examined. All patients before the start of treatment with infliximab and after 30 weeks were determined in the blood serum of TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6. Results and conclusions. Hyperproduction of proinflammatory cytokines again confirms their participation in the development and progression of the RA. Increased levels of TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2 are more likely associated with a moderate effect of the conducted gene therapy at minimal and medium therapeutic dosages.

*Key words:* cytokines, rheumatoid arthritis, infliximab, methotrexate.

РА – хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся преимущественно деструктивно-эрозивным артритом, а также системным поражением внутренних органов [1]. Социальная значимость определяется большой распространенностью (до 1 % в популяции) и высоким процентом нетрудоспособности, возникающей уже в первые несколько лет болезни [2]. Считается, что именно дисбаланс с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов лежит в основе патогенеза РА [5]. Большим достижением стало создание и внедрение в практику лечения генно-инженерных биологических препаратов, мишенями для некоторых являются провоспалительные цитокины [3]. В настоящее время широко используются блокаторы ФНО- $\alpha$ , но пока еще остаются вопросы в изучении иммунологических методов мониторинга и прогнозирования эффекта от проводимого лечения [4].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка эффективности терапии больных РА с применением препарата ИФ на основании изучения уровня циркулирующих провоспалительных (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6) цитокинов.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе ревматологического отделения ГУЗ «ГКБ СМП №25» г. Волгограда, в которое были включены 18 больных с диагнозом «РА», установленным согласно критериям ACR/EULAR 2010. Наблюдение проводилось в течение 30 недель. Среди обследованных были только женщины со средним возрастом ( $46 \pm 8,4$ ) лет, длительностью заболевания ( $13,2 \pm 5,3$ ) лет, без отягощенного семейного анамнеза. 83,3 % пациентов были серопозитивны по ревматоидному

фактору, 16,7 % – серонегативны, 66,8 % – АЦЦП-позитивны. Чаще регистрировались III и IV рентгенологические стадии – у 66,8 % человек, II – у 16,6 %, I – у 16,6 %. У 66,8 % больных выявлялась анемия легкой степени как системное проявление заболевания. Каждый пациент получал МТ в дозе 12,5–20 мг в неделю в течение не менее полугода, а также нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Половина больных принимала метилпреднизолон в дозе 8 мг в день на протяжении не менее 16 месяцев. Инфликсимаб (ИФ) назначался из расчета 3 мг/кг массы тела, введение проводилось по стандартной схеме. Точками динамического наблюдения за пациентами явились неделя 0 (до назначения комбинированной терапии), неделя 14, неделя 30 со времени назначения ИФ. Проводились общеклиническое и лабораторное (общий анализ крови, СОЭ по Вестергрену, биохимический анализ крови с определением СРБ) обследование пациентов.

Основные провоспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6) определялись на неделе 0 и 30. Лабораторное определение концентраций данных цитокинов осуществляли с использованием наборов реагентов «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «ИНТЕРЛЕЙКИН-1бета – ИФА-БЕСТ», «ИНТЕРЛЕЙКИН-2 – ИФА-БЕСТ», «ИНТЕРЛЕЙКИН-6 – ИФА-БЕСТ» АО «Вектор-бест» для иммуноферментного анализа в сыворотке крови человека. Лабораторные исследования выполняли на многоканальном микропланшетном спектрофотометре «MULTISCAN EX» (Thermo Electron Corporation) в клинико-диагностической лаборатории ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского» (г. Волгоград). После измерения оптической плотности раствора в лунках планшета на основании соответствующего калибровочного графика рассчитывали концентрацию исследуемого цитокина в анализируемых образцах согласно инструкции по применению (табл. 1).

Таблица 1

### Допустимые значения исследуемых цитокинов

Провоспалительные цитокины	Уровни цитокинов в сыворотке условно здоровых доноров, пг/мл
ФНО- $\alpha$	0–6
ИЛ-1 $\beta$	0–11
ИЛ-2	0–10
ИЛ-6	0–10

Активность заболевания оценивалась с помощью Disease Activity Score Calculator for Rheumatoid Arthritis (DAS28-CRP(4)). У большинства больных отмечалась высокая степень активности. Пациенты с низкой активностью и ремиссией в исследование не включались. Для оценки эффективности антицитокиновой терапии использовались критерии улучшения Европейской Противоревматической Лиги (EULAR), включающие динамическое изменение показателей DAS28.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программного пакета «STATISTICA 6.0». Данные представлены в виде средней арифметической (М), медианы (Ме). Для оценки достоверности различий между группами использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости  $p$  принимался за 0,05.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от клинического эффекта на фоне комбинированной терапии МТ и ИФ на 30-й неделе больные с РА были разделены на три группы. В первую группу вошли 9 пациентов, индекс активности заболевания DAS28-CRP(4) которых достоверно снижались уже через 14 недель, продолжая постепенно уменьшаться до более низких значений (<3,2 баллов) к 30-й неделе, что соответствует выраженному эффекту терапии согласно критериям улучшения Европейской Противоревматической Лиги. Индекс активности заболевания DAS28-CRP(4) у пациентов (6 человек) из 2-й группы изменялся менее выражено на фоне лечения, что соответствует умеренной эффективности терапии согласно критериям улучшения EULAR. В третью группу вошли пациенты (3 человека) с отсутствием клинического эффекта по вышеуказанным критериям.

У всех пациентов наблюдалось различное по степени выраженности улучшение в виде уменьшения интенсивности суставного синдрома, а именно снижение времени утренней скованности, боли и отечности пораженных суставов, увеличение объема движений в суставах, что выражалось в уменьшении показателя ВАШ активности пациентом.

По данным из табл. 2 заметно снижение основных лабораторных показателей маркеров воспаления у всех больных РА, а именно СОЭ и СРБ, что коррелирует с общей тенденцией улучшения клинических проявлений, уменьшением содержания ревматоидного фактора (РФ), а также сывороточных концентраций измеренных провоспалительных цитокинов, что свидетельствует об эффективности проводимой терапии ИФ в комбинации с МТ.

Таблица 2

### Динамика показателей клинической и лабораторной активности на фоне комбинированной терапии (Ме)

Показатель	0 неделя	14-я неделя	30-я неделя
ВАШ, мм	65 [50; 80]	40 [30; 80]	18 [10; 45]
РФ, МЕ/л	45295 [12830; 134920]	25375 [7080; 80350]	9920 [5600; 110230]
СОЭ, мм/ч	37 [4; 40]	10,5 [3; 51]	10 [2; 30]
СРБ, мг/л	20,8 [4,6; 194,8]	2,65 [0,4; 33,4]	5,2 [1,1; 9]
DAS28-CRP(4), балл	5,63 [4,38; 6,24]	4,5 [2,5; 6,76]	3,58 [2,25; 4,91]

У большинства больных, как видно из табл. 3, значения сывороточных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 существенно не выходили за диапазон уровней

в сыворотке условно здоровых доноров, но были выше средних значений. Во 2-й и 3-й группах отмечаются более высокие уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 по сравнению с 1-й группой, что вероятнее всего связано с большей интенсивностью суставного синдрома (в данной группе регистрировались более продолжительная утренняя скованность, более высокие значения ВАШ активности и боли пациентов), выраженным полиартритом (пациенты с умеренным эффектом имели большее число припухших и болезненных суставов с более выраженными экссудативными проявлениями в пораженных суставах). При оценке ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2 в группах больных РА наблюдались статистически значимые различия между группами, а именно между группой с хорошим эффектом на проводимую терапию и группами с умеренным эффектом и незначительным. При оценке уровня ИЛ-6 достоверных различий между группами не было получено, что, скорее всего, объясняется малой выборкой пациентов. В группе с незначительным и умеренным эффектом от комбинированной терапии отмечалось меньшая продолжительность применения МТ (в среднем 8,4 месяца) по сравнению с группой хорошего ответа (средней длительностью применения МТ 38,2 месяца).

Таблица 3

### Сравнение уровней цитокинов у пациентов с РА и группы контроля (Ме)

Показатель, пг/мл	Группы			$p$
	РА, 1-я группа	РА, 2-я группа	РА, 3-я группа	
ФНО- $\alpha$	0,77 [0,56; 1,17]	1,17 [0,82; 1,22]	1,17 [1,12; 1,38]	$p_{1-2} < 0,042$ $p_{1-3} < 0,033$
ИЛ-1	0,77 [0,67; 1,27]	1,16 [1,06; 1,62]	1,13 [1,06; 1,20]	$p_{1-2} < 0,04$
ИЛ-2	1,87 [1,6; 2,53]	2,33 [1,87; 2,8]	2,67 [2,53; 2,8]	$p_{1-3} < 0,017$
ИЛ-6	2,23 [1,03; 157,3]	10,56 [2,34; 18,13]	4,34 [4,27; 4,97]	-

Примечание.  $p_{1,2,3}$  – достоверные различия между группами 1, 2, 3 по критерию Манна-Уитни.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была выявлена положительная динамика клинико-лабораторных показателей на фоне комбинированной терапии МТ с ИФ, а именно заметное снижение показателя ВАШ активности заболевания пациентом, уровней острофазовых маркеров воспаления (СОЭ, СРБ), значения DAS28-CRP(4). К концу 30-й недели все пациенты имели низкую или умеренную активность заболевания. В группе больных с хорошим эффектом от проводимой терапии отмечалось исходно более низкое содержание ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2 по сравнению с пациентами, у кото-

рых были зарегистрированы умеренный и незначительный эффекты. Во 2-й, 3-й группе больных отмечались достоверно более высокие уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-2. Таким образом, можно считать, что исходные уровни данных цитокинов до лечения и в динамике могут быть использованы для мониторинга эффективности лечения инфликсимабом в сочетании с метотрексатом, а также позволяют прогнозировать в дальнейшем хороший эффект от данной комбинированной терапии РА, что поможет проводить выбор препарата для каждого отдельно пациента в рамках персонализированной медицины.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Каратеев Д.Е. Современный взгляд на проблему быстропрогрессирующего ревматоидного артрита // Соврем. ревматол. – 2010. – № 2. – С. 37–42.
2. Шилова Л.Н. Клинико-эпидемиологические особенности ревматологической патологии у взрослого населения Волгограда в 2008–2011 гг. / Л.Н. Шилова, А.С. Чернов, Н.А. Фофанова, О.П. Слюсарь // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – № 1 (37). – С. 7–9.
3. American College of Rheumatology. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis / K. Saag et al. // Arthritis Rheum. – 2008. – Vol. 59. – P. 762–784.
4. Brennan F., McInnes I. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis // J. Clin. Invest. – 2008. – № 118 (11). – P. 3537–45.
5. Switching between TNFalpha antagonists in rheumatoid arthritis: personal experience and review of the literature / R. Scivo et al. Reumatismo. – 2009. – Vol. 61. – P. 107–117.

### REFERENCES

1. Karateev D.E. Sovremennyy vzglyad na problemu bystroprogressiruyushchego revmatoidnogo artrita [Modern view on the problem of rapidly progressing rheumatoid arthritis]. *Sovremennaya revmatologiya* [Modern rheumatology], 2010, no. 2, pp. 37–42. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. Shilova L.N., Chernov A.S., Fofanova N.A., Slyusar O.P. Kliniko-ehpidemiologicheskie osobennosti revmatologicheskoy patologii u vzroslogo naseleniya Volgograda v 2008–2011 gg. [Clinical and epidemiological features of rheumatological pathology in adult population of Volgograd in 2008–2011]. *Volgogradskij nauchno-meditsinskij zhurnal* [Volgograd Scientific Medical Journal], 2013, no. 1 (37), pp. 7–9. (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. American College of Rheumatology. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. K. Saag et al. *Arthritis Rheum.*, 2008, Vol. 59, P. 762–784.
4. Brennan F., McInnes I. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.*, 2008, no. 118 (11), pp. 3537–45.
5. Switching between TNFalpha antagonists in rheumatoid arthritis: personal experience and review of the literature. R. Scivo et al. *Reumatismo*, 2009, Vol. 61, pp. 107–117.

### Контактная информация

Доценко Светлана Сергеевна – аспирант кафедры госпитальной терапии, ВГПТ с курсом клинической ревматологии ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: missdotsenko@yandex.ru