

Диагностические маркеры и цитокиновый профиль при ревматоидном артрите на фоне базисной терапии

М.С. Воронина, А.А. Виноградов, Н.П. Шилкина

Ярославская
государственная
медицинская академия

Yaroslavl State Medical
Academy

Контакты: Воронина
Мария Сергеевна
knopselgula@rambler.ru

Contact: Voronina Maria
Sergeevna knopselgu-
la@rambler.ru

Поступила 03.06.11

Цель — изучить взаимосвязь титров антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ), IgM ревматоидного фактора (РФ), интерлейкина (ИЛ) 4, ИЛ6 и ИЛ8 между собой, со степенью активности ревматоидного артрита (РА), системными проявлениями, динамикой активности и функционального статуса на фоне терапии метотрексатом (МТ).

Материал и методы. Обследовано 76 больных РА: 44 — принимали МТ, 32 — не получали базисную терапию <3 мес. IgM РФ и С-реактивный белок (СРБ) определяли в сыворотке крови методом иммунонефелометрии, АМЦВ, ИЛ6, ИЛ8, нг/мл — твердофазным иммуноферментным методом.

Результаты. Не наблюдалось взаимосвязи уровня АМЦВ со степенью активности РА ($p>0,05$). У больных с системными проявлениями были выявлены более высокие титры АМЦВ, чем при их отсутствии ($p=0,002$). В группе пациентов с исходной концентрацией АМЦВ >500 Ед/мл был достоверно более низкий уровень ИЛ6 ($p=0,03$), наблюдалась тенденция к снижению уровня АМЦВ ($p=0,06$) и увеличению значения DAS28 после 12 мес лечения МТ ($p>0,05$). Титр IgM РФ был достоверно больше при высокой степени активности ($p=0,0006$) и у больных с системными проявлениями ($p=0,04$). У пациентов с исходной концентрацией IgM РФ >100 МЕ/мл отмечались достоверно более высокий уровень ИЛ6 ($p=0,01$) и тенденция к снижению значения DAS28 после 12 мес лечения МТ ($p>0,05$).

Ключевые слова: антитела к модифицированному цитруллинированному виментину, интерлейкин 6, ревматоидный артрит, метотрексат.

DIAGNOSTIC MARKERS AND CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS RECEIVING DMARDS

M.S. Voronina, A.A. Vinogradov, N.P. Shilkina

Objective — to evaluate the relationship between antibody titers against modified citrullinated vimentin (AMCV), IgM rheumatoid factor (RF), interleukin (IL) 4, IL6 and IL8, and their correlation with rheumatoid arthritis (RA) activity indicators, systemic manifestations, evolution of disease activity and functional status in patients treated with methotrexate (MT).

Material and methods. 76 RA patients were evaluated: 44 — were on MT, 32 — were not receiving DMARDs for <3 months. Serum IgM RF and C-reactive protein (CRP) levels were measured by immunonephelometry, AMCV, IL6, IL8 (ng/ml) — by solid-phase immunoenzyme analysis.

Results. There was no correlation between AMCV levels and RA activity measures ($p>0,05$). Higher AMCV titers were detected in patients with systemic manifestations vs patients without such symptoms ($p=0,002$). In subgroup of patients with baseline AMCV >500 U/ml a significantly lower level of IL6 was observed ($p=0,03$) with a tendency for AMCV level reduction ($p=0,06$) and an increase in DAS28 scores after 12 mo of MT therapy ($p>0,05$). IgM RF titers were significantly higher in patients with high disease activity ($p=0,0006$) and in patients with systemic manifestations ($p=0,04$). Significantly higher IL6 levels ($p=0,01$) and a tendency to DAS28 measures reduction after 12 mo of MT therapy was observed in patients with baseline IgM RF >100 IU/ml ($p>0,05$).

Key words: antibodies against modified citrullinated vimentin, interleukin 6, rheumatoid arthritis, methotrexate.

Ревматоидный артрит (РА) относится к группе заболеваний, для которых характерна поляризация иммунного ответа по Th1-типу, проявляющаяся гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ) 6 и фактор некроза опухоли α (ФНО α). РА в то же время является классическим В-клеточным аутоиммунным заболеванием, характерное проявление которого — синтез широкого спектра аутоантител, включая IgM ревматоидный фактор (РФ) и антитела к цитруллинированным пептидам, обладающие способностью индуцировать поражение суставов [1].

Данные литературы указывают на достаточно высокую чувствительность и специфичность определения антител к модифицированному цитруллинированному виментину

(АМЦВ) для диагностики РА [2, 3]. Имеются противоречивые сведения о взаимосвязи АМЦВ с активностью заболевания [2, 4, 5].

Современные подходы к лечению РА основаны на «агрессивной терапии» на самой ранней стадии заболевания с использованием базисных противовоспалительных препаратов. До сих пор «золотым стандартом» для лечения активного РА остается метотрексат (МТ) [6].

Характерной особенностью РА является дисбаланс между гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, преимущественно макрофагальной природы (ФНО α , ИЛ1, ИЛ6), и противовоспалительных цитокинов (ИЛ10, растворимый антагонист ИЛ1, растворимые рецепторы ФНО α , ИЛ4) с преобладанием продукции первых над вторыми [7, 8].

Актуальным вопросом является изучение серологических маркеров, позволяющих оценивать активность и характер прогрессирования иммуновоспалительного процесса и контролировать эффективность терапии при РА. Данные, касающиеся роли IgM РФ, антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), АМЦВ, ИЛ4, ИЛ6 и ИЛ8 для контроля активности и в качестве предикторов эффективности терапии, противоречивы.

Материал и методы

Критериям включения соответствовали 76 (59 женщин, 17 мужчин) пациентов с достоверным диагнозом РА. Контрольная группа состояла из 30 здоровых лиц без РА, сопоставимых по полу и возрасту. Всем пациентам было выполнено клинико-лабораторное и иммунологическое исследование с определением титра IgM РФ, уровня С-реактивного белка (СРБ), АМЦВ, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8. Повторно, через 12 мес, обследован 51 больной (45 женщин, 6 мужчин) с достоверным диагнозом РА. Клинико-лабораторная характеристика пациентов по группам представлена в табл. 1. Внесуставные проявления диагностированы у 23 (30,3%) пациентов: анемия у 12 (15,8%), альвеолит в анамнезе у 3 (3,9%), плеврит в анамнезе у 3 (3,9%), ревматоидные узелки у 6 (7,9%).

Активность заболевания определяли в соответствии с рекомендациями В.А. Насоновой и М.Г. Астапенко (1989), а также по индексу DAS28. Функциональную недостаточность оценивали по Стэнфордскому опроснику состояния здоровья — Health Assessment Questionnaire (HAQ). СРБ и IgM РФ определяли в сыворотке крови методом иммунонефелометрии на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring, Германия). Определение концентрации ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8 осуществляли с помощью твердофазного иммуноферментного метода с использованием коммерческих реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Россия); верхняя граница нормы составляла 30 пг/мл для ИЛ4, 10 пг/мл — для ИЛ6, 210 нг/мл — для ИЛ8. АМЦВ определяли твердофазным иммуноферментным методом реактивами компании ORGENTEC (Германия); верхняя граница нормы 20 Ед/мл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft. Inc., США). Данные представлены в виде медианы (Ме) [25-го; 75-го перцентилей]. Достоверность различий между несвязанными группами оценивали с помощью критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллеса. В связанных группах использовали критерий Уилкоксона (W-тест). Взаимосвязь признаков оценивали с использованием критерия ранговой корреляции Спирмена (r). Уровень статистической значимости принимался $p < 0,05$; для теста Краскела–Уоллеса при сравнении трех групп — $p < 0,02$.

Результаты

Концентрация АМЦВ у пациентов с РА составила 232,7 [3,6; 653,6] Ед/мл, в группе контроля — 2,8 [2,2; 3,4] Ед/мл ($p < 0,01$). Серопозитивными по АМЦВ на первом визите были 52 (68,4 %) больных РА. У 12 (46,2%) из 26 пациентов, серонегативных по IgM РФ, обнаружены АМЦВ на первом осмотре. Больные, серопозитивные по АМЦВ, были разделены на группы:

с исходной концентрацией АМЦВ от 20 до 500 Ед/мл (РА1; $n=27$) и >500 Ед/мл (РА2; $n=25$). Через 12 мес 34 больных были позитивны и 17 — негативны по АМЦВ. Титр ИЛ6 у больных РА составлял 99,3 [70,8; 141,5] пг/мл, в группе контроля — 8,0 [2,0; 10,0] пг/мл ($p < 0,01$). Уровень ИЛ6 был достоверно ниже ($p=0,03$) при концентрации АМЦВ >500 Ед/мл (табл. 2). Не наблюдалось достоверных корреляций уровня АМЦВ с основными клинико-лабораторными показателями, отражающими активность РА: числом припухших (ЧПС) и болезненных (ЧБС) суставов, длительностью утренней скованности, интенсивностью боли в суставах, HAQ, DAS28, СРБ, СОЭ ($p > 0,05$). У больных РА с системными проявлениями были выявлены более высокие титры АМЦВ, чем при их отсутствии ($p=0,002$). У пациентов с исходной концентрацией АМЦВ >500 Ед/мл отмечалась тенденция к снижению уровня АМЦВ ($p=0,06$) и увеличению значения DAS28 после 12 мес лечения МТ ($p > 0,05$).

Содержание IgM РФ у пациентов с РА составило 51,7 [5,1; 136,5] МЕ/мл, в группе контроля — 4,0 [2,0; 5,0] МЕ/мл ($p < 0,01$). Среди пациентов с РА позитивными по IgM РФ изначально были 47 (61,8%) человек. У 10 (41,6%) из 24 пациентов, негативных по АМЦВ, определялся IgM РФ. Больные, серопозитивные по IgM РФ, были разделены на группы: с исходной его концентрацией от 15 до 100 МЕ/мл (РА1рф; $n=22$) и >100 МЕ/мл (РА2рф; $n=25$). Титр IgM РФ был достоверно выше при высокой степени активности ($p=0,0006$). Среди больных с исходной концентрацией IgM РФ >100 МЕ/мл преобладали женщины (92%). В данной группе значения индекса DAS28 ($p=0,006$), ЧПС ($p=0,05$) и уровень ИЛ6 ($p=0,01$) были достоверно выше, чем при более низких титрах IgM РФ (табл. 3). У этих пациентов на фоне приема МТ DAS28 за 12 мес снижался с 4,0 [3,4; 5,4] до 2,9 [2,3; 3,4] ($p > 0,05$).

Таблица 1 Клиническая характеристика больных

Параметр/группа	РА (n=76)	
	число больных	%
Женщины	59	77,6
Мужчины	17	22,4
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	57 [50; 61]	
Длительность РА, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	9 [6; 21]	
до 1 года	10	13,2
1–5 лет	16	21
более 5 лет	50	65,8
Степень активности:		
низкая	21	27,6
средняя	43	56,6
высокая	12	15,8
Ревматоидный фактор:		
+	47	61,8
-	29	38,2
Рентгенологическая стадия		
I	2	2,6
II	69	90,8
III	5	6,6
Функциональный класс		
II	65	85,5
III	11	14,5

Таблица 2 Клинико-лабораторные показатели у больных РА с различной концентрацией АМЦВ (n=52)

Параметр/группа	АМЦВ ≤500 Ед/мл (n=27)	АМЦВ >500 Ед/мл (n=25)
Женщины, n (%)	24 (88,9)	22 (88)
Мужчины, n (%)	3 (11,1)	3 (12)
Возраст, годы	57,5 [49,0; 61,0]	57,5 [54,0; 59,0]
DAS28, баллы	3,4 [2,4; 4,9]	3,4 [2,4; 4,3]
HAQ, баллы	1,0 [0,6; 1,6]	1,1 [1,0; 2,0]
Утренняя скованность, ч	1,5 [0,3; 2,0]	1,5 [0,5; 3,0]
ЧПС	2,0 [2,0; 7,0]	4,0 [2,0; 10,0]
ЧБС	11,0 [6,0; 15,0]	10,5 [1,0; 12,0]
Боль по ВАШ, см	2,5 [1,0; 4,5]	5,0 [3,5; 7,5]
IgM РФ, МЕ/мл	57,6 [10,8; 124,5]	25,4 [5,1; 182,5]
СРБ, мг/л	18,0 [7,4; 56,0]	17,0 [2,0; 42,0]
ИЛ4, пг/мл	2,1 [1,9; 2,5]	1,9 [1,8; 3,1]
ИЛ6, пг/мл	125,1 [79,0; 142,2]*	70,8 [55,5; 87,1]*
ИЛ8, нг/мл	347,1 [292,3; 507,3]	281,7 [269,6; 504,8]
СОЭ, мм/ч	20,5 [11,5; 30,0]	21,0 [5,0; 31,0]

Примечание. * – $p=0,03$ (достоверность различий показателей у больных со средними и высокими титрами АМЦВ).

Содержание ИЛ8 в группе больных РА составляло 437,2 [295,0; 570,5] нг/мл, в группе контроля – 208,0 [206,0; 211,0] нг/мл ($p<0,01$). Концентрация ИЛ8 была достоверно выше у пациентов с низкой степенью активности ($p=0,04$) и/или сопутствующей ИБС ($p=0,01$). У больных РА уровень ИЛ4 был таким же, как в контроле, – соответственно 2,2 [1,9; 2,9] и 2,1 [1,9; 2,9] пг/мл ($p>0,05$). Не выявлено взаимосвязи концентрации ИЛ4 и ИЛ8 с уровнем IgM РФ, АМЦВ, наличием системных проявлений и эффективностью терапии МТ ($p>0,05$).

Обсуждение

По данным ряда исследований, при РА терапия ингибиторами ФНОα менее эффективна у пациентов с вы-

сокими титрами АЦЦП [9–11]. При недифференцированном артрите высокий уровень АЦЦП ассоциировался с недостаточной эффективностью МТ [12], а также инфликсимаба [13] в отношении предотвращения развития РА. Недавно были получены данные о том, что снижение концентрации АЦЦП не зависит от эффективности терапии [14].

В настоящем исследовании у пациентов с исходной концентрацией АМЦВ >500 Ед/мл отмечался достоверно более низкий уровень ИЛ6 при первичном обследовании ($p=0,03$), наблюдалась тенденция к снижению уровня АМЦВ на фоне приема МТ ($p=0,06$). Вместе с тем у этих больных выявлена тенденция к увеличению значения DAS28 через 12 мес на фоне приема МТ ($p>0,05$). Снижение уровня Т-лимфоцитов, экспрессирующих

Таблица 3 Клинико-лабораторные показатели у больных РА с различной концентрацией IgM РФ (n=47)

Параметр/группа	IgM РФ ≤100 МЕ/мл (n=22)	IgM РФ >100 МЕ/мл (n=25)
Женщины, n (%)	15 (68,2)	23 (92)
Мужчины, n (%)	7 (31,8)	2 (8)
Возраст, годы	52,5 [47,5; 58,0]	58,5 [52,0; 61,0]
DAS28	2,9 [2,4; 3,8]*	4,0 [3,4; 5,4]*
HAQ	1,0 [0,6; 1,4]	2,2 [0,8; 2,3]
Утренняя скованность, ч	2,0 [1,0; 3,5]	1,5 [0,5; 2,0]
ЧПС	2,0 [0; 2,0]**	9,5 [6,0; 29,0]**
ЧБС	4,0 [2,0; 12,0]	15,0 [9,5; 33,5]
Боль по ВАШ, см	5,0 [4,0; 9,0]	4,3 [3,0; 8,8]
АМЦВ, Ед /мл	203,0 [3,4; 653,6]	392,2 [151,2; 595,0]
СРБ, мг/л	30,0 [17,0; 46,0]	46,0 [14,3; 96,0]
ИЛ4, пг/мл	2,3 [2,0; 2,9]	1,9 [1,8; 2,9]
ИЛ6, пг/мл	93,9 [72,0; 125,1]***	155,2 [130,8; 160,9]***
ИЛ8, нг/мл	472,6 [305,8; 541,1]	384,0 [275,5; 523,0]
СОЭ, мм/ч	23,0 [17,0; 32,0]	26,0 [8,0; 48,0]

Примечание: * – $p=0,006$; ** – $p=0,05$; *** – $p=0,01$ (достоверность различий показателей у больных со средними и высокими титрами РФ IgM).

ИЛ6, под влиянием МТ приводит к улучшению клинико-лабораторных показателей активности РА и развитию клинической ремиссии [15]. Можно полагать, что недостаточная эффективность МТ у больных с исходной концентрацией АМЦВ >500 Ед/мл связана с низким уровнем ИЛ6.

АМЦВ — чувствительный маркер РА, который определялся у 46,2% больных, серонегативных по IgM РФ. Не выявлено взаимосвязи титра АМЦВ со степенью ак-

тивности РА ($p > 0,05$). Уровень АМЦВ >500 Ед/мл ассоциировался с наличием системных проявлений ($p = 0,002$). Снижение концентрации АМЦВ ($p = 0,06$) при этом не зависело от эффективности терапии МТ. Уровень IgM РФ >100 МЕ/мл у больных РА ассоциировался с высокой степенью активности ($p = 0,0006$), наличием системных проявлений ($p = 0,04$), высоким уровнем ИЛ6 ($p = 0,01$), хорошим и удовлетворительным эффектом терапии МТ (DAS28 >0,6).

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Клиническое значение антител к циклическому цитруллинированному пептиду: новые данные. *Клин мед* 2007;85(8):4–9.
- Bang H., Luthke K., Gauliard A. et al. Mutated citrullinated vimentin (MCV) as a candidate autoantigen for diagnosis and monitoring of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006;65(2):144.
- Mathsson L., Mullazehi M., Wick M.C. et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthr Rheum* 2008;58(1):36–45.
- Ursum J., Nielen M.M., van Schaardenburg D. et al. Antibodies to mutated citrullinated vimentin and disease activity score in early arthritis: a cohort study. *Arthr Res Ther* 2008;10(1):12.
- Zimmermann C., Hoefler E., Steiner G. Diagnostic value of anti-CCP and anti-mutated citrullinated vimentin (MCV) testing in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67(2):149.
- Насонов Е.Л., Андрианова И.А., Фоломеева О.М. и др. Ревматоидный артрит в ревматологической практике России: тяжесть заболевания в российской популяции больных. Одномоментное (поперечное) эпидемиологическое исследование (RAISER). *Науч-практич ревматол* 2010;1:50–61.
- Насонова В.А., Бунчук Н.В. Избранные лекции по клинической ревматологии. М.: Медицина, 2001; 272 с.
- Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А. и др. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита. *Науч-практич ревматол* 2010;2:71–83.
- Bobbio-Pallavicini F., Capoorali R., Alpini C. et al. High IgA rheumatoid factor levels are associated with poor clinical response to tumor necrosis factor alpha inhibitors in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66(3):302–7.
- Klaasen R., Cantaert T., Wijbrandts C.A. et al. The relationship between different isotypes (IgM, IgG and IgA) of rheumatoid factor and IgG anticyclic citrullinated peptide antibody and clinical response to infliximab in rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 2009;60(1):373–4.
- Poter C., Hyrich K.L., Tracey A. et al. Association of rheumatoid factor and anticyclic citrullinated peptide positivity, but not carriage of shared epitope or PTPN22 susceptibility variants, with anti-tumor necrosis factor response in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68(2):69–74.
- Visser K., Verpoot K.N., van Dongen H. et al. Pretreatment serum levels of anticyclic citrullinated peptide antibodies are associated with the response to methotrexate on recent-onset arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67(7):1194–5.
- Saleem B., Nizam S., Emery P. Can remission be maintained with or without further drug therapy in rheumatoid arthritis? *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(6):33–6.
- Groot Kormelink T.G., Tekstra J., Thurling R.M. et al. Decrease in immunoglobulin free light chains in patients with rheumatoid arthritis Rituximab (anti-CD20) treatment correlates with decrease activity. *Ann Rheum Dis* 2010;10(2):1136.
- Беляева И.Б., Мазуров В.И. Факторы риска развития эрозивного процесса при раннем ревматоидном артрите (PPA). Матер V съезда ревматологов России. М., 2009;65:21.