

# Динамика уровней цитокинов на фоне терапии метотрексатом и адалимумабом у пациентов с ранним ревматоидным артритом (исследование РЕМАРКА)

Авдеева А.С., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Насонов Е.Л.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» РАН, Москва, Россия 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А

Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia 34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522

**Контакты:** Анастасия Сергеевна Авдеева; 9056249400@mail.ru

**Contact:** Anastasia Avdeeva; 9056249400@mail.ru

Поступила 28.04.14

**Цель** — оценить динамику показателей цитокинового профиля в сопоставлении с активностью заболевания у пациентов с ранним РА на фоне применения метотрексата (МТ) и адалимумаба (АДА) с соответствии с концепцией «Treat to target».

**Материал и методы.** Обследовано 45 больных ранним РА (35 женщин, средний возраст 53,5 [46; 59,5] года, длительность заболевания 7,0 [4,0; 11,5] мес, DAS28 = 5,8 [4,9; 6,4]; РФ+ — 91%, АЦЦП+ — 96%. Всем больным в качестве первого базисного противовоспалительного препарата был назначен подкожно МТ в дозе 10 мг/нед с быстрой эскалацией до 20–25 мг/нед. Концентрацию цитокинов в сыворотке крови определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP до начала терапии, а затем через 12 и 24 нед лечения.

**Результаты.** Через 12 нед терапии значение индекса DAS28 = 4,33 [3,5; 5,2] соответствовало умеренной активности заболевания ( $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем). Ответили на лечение 29 (64,4%) пациентов. 23 пациентам было решено продолжить монотерапию МТ (группа монотерапии), а 22 больным в связи с недостаточным эффектом к терапии был добавлен АДА по стандартной схеме (группа комбинированной терапии). К 24-й неделе: индекс DAS28 в группе монотерапии 2,9 [2,1; 3,6], ответили на лечение 19 (82,6%) больных. В группе комбинированной терапии DAS28 составил 3,4 [3,2; 4,4]; около 30% больных достигли ремиссии/низкой активности болезни, также значительно сократилось число пациентов с высокой активностью патологического процесса (с 59,1 до 13,6%).

В группе монотерапии к 12-й неделе выявлено снижение уровня провоспалительных (интерлейкин 6 — ИЛ6, ИЛ17, фактор некроза опухоли  $\alpha$  — ФНО $\alpha$ ), противовоспалительных (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ9, ИЛ13) цитокинов, хемокинов (IP10) и факторов роста (ФРФ;  $p < 0,05$ ), к 24-й неделе — снижение уровней ИЛ6, ИЛ9, IP10, ТФР- $\beta$ , а также повышение концентрации ИЛ10 ( $p < 0,05$ ).

В группе комбинированной терапии к 12-й неделе лечения МТ выявлено снижение ИЛ6, ИЛ1 $\alpha$ , IP10 ( $p < 0,05$ ), к 24-й неделе лечения (12 нед применения АДА) — снижение провоспалительных (ИЛ12), противовоспалительных (ИЛ9) цитокинов, хемокинов (IP10, МХБ, МИБ1 $\beta$ ), факторов роста (ВЭФР), повышение уровня ИЛ10.

**Заключение.** Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о высокой клинической эффективности терапии подкожной формой МТ, которая ассоциируется со снижением уровней ряда провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста. Лечение АДА также сопровождается снижением активности заболевания и положительной динамикой показателей цитокинового профиля, оказывая большее влияние на уровень хемокинов и факторов роста.

**Ключевые слова:** метотрексат; адалимумаб; ранний ревматоидный артрит; концепция терапии «Treat to target»; цитокиновый профиль.

**Для ссылки:** Авдеева АС, Новиков АА, Александрова ЕН и др. Динамика уровней цитокинов на фоне терапии метотрексатом и адалимумабом у пациентов с ранним ревматоидным артритом (исследование РЕМАРКА). Научно-практическая ревматология. 2014;52(3):254–262.

## CHANGES OF CYTOKINE LEVELS DURING THERAPY WITH METHOTREXATE AND ADALIMUMAB IN PATIENTS WITH EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS (REMARCA STUDY) Avdeeva A.S., Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Karateev D.E., Luchikhina E.L., Nasonov E.L.

**Objective:** to estimate changes in cytokine profile versus disease activity in patients with early rheumatoid arthritis (RA) who use methotrexate (MTX) and adalimumab (ADA) in accordance with the treat-to-target concept.

**Subjects and methods.** Forty-five patients (35 women; median age 53.5 [46; 59.5] years) with early RA (median duration 7.0 [4.0; 11.5] months; DAS28 5.8 [4.9; 6.4]; rheumatoid factor positivity (RF+) 91%; anti-cyclic citrullinated peptide antibody positivity (ACCP) + 96%) were examined. In all the patients, MTX as the first agent was subcutaneously used in a dose of 10 mg/week with its rapid escalation up to 20–25 mg/week. Serum cytokine concentrations were determined using the xMAP multiplexing technology before and 12 and 24 weeks after therapy.

**Results.** Following 12 weeks of therapy, DAS28 mean value decreased to 4.33 [3.5; 5.2] ( $p < 0.05$  vs baseline). Twenty-nine (64.4%) patients responded to treatment. It was decided to continue MTX monotherapy in 23 patients (a monotherapy group) and in 22 patients ADA was added to therapy due to its inadequate effect in accordance with the standard regimen (a combined therapy group). At 24 weeks, mean DAS28 was 2.9 [2.1; 3.6] and 19 (82.6%) patients responded to treatment in the monotherapy group. In the combined therapy group, DAS28 was 3.4 [3.2; 4.4]; nearly 30% of the patients achieved remission/low disease activity and the number of patients with the high activity of a pathological process also declined significantly (from 59.1 to 13.6%).

At 12 weeks, the monotherapy group showed reduction of the level of proinflammatory (interleukin-6 (IL-6), IL-17, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )), anti-inflammatory (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13) cytokines, chemokines (interferon induced protein-10 (IP-10)), and vascular endothelial growth factors (VEGF) ( $p < 0.05$ ); at 24 weeks, there were reductions in IL-6, IL-9, and IL-10, and transforming GF- $\beta$  and an increase in IL-10 concentration ( $p < 0.05$ ).

At 12 weeks of MTX therapy, the combined therapy group displayed a reduction in IL-6, IL-1 $\alpha$ , IP-10 ( $p < 0.05$ ); at

24 weeks of treatment (12-week ADA administration) there were decreases in proinflammatory (IL-12), anti-inflammatory (IL-9) cytokines, chemokines (IP-10, monocyte chemoattractant protein, and macrophage inflammatory protein-1 $\beta$ ), VEGF and an elevation of IL-10.

**Conclusion.** Thus, the results of the investigation suggest the high clinical efficiency of therapy with subcutaneous MTX, which is associated with the lower levels of a number of proinflammatory cytokines, chemokines, and growth factors. ADA treatment is also accompanied by decreased disease activity and positive changes in the cytokine profile, by exerting a higher impact on the level of chemokines and growth factors.

**Key words:** methotrexate; adalimumab; early rheumatoid arthritis; treat-to-target concept; cytokine profile.

**Reference:** Avdeeva AS, Novikov AA, Aleksandrova EN, et al. Changes of cytokine levels during therapy with methotrexate and adalimumab in patients with early rheumatoid arthritis (REMARCA study). Rheumatology Science and Practice. 2014;52(3):254–263.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2014-254-262>

Ревматоидный артрит (РА) является наиболее частым и тяжелым хроническим воспалительным заболеванием суставов, приводящим к ранней инвалидизации и сокращению продолжительности жизни пациентов [1]. Современные принципы фармакотерапии РА основаны на ранней агрессивной терапии базисными противовоспалительными препаратами (БПВП), основным из которых является метотрексат (МТ), в дебюте болезни (концепция «окна возможностей»), а также применение различных классов генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), что позволяет в ряде случаев добиться стойкой ремиссии заболевания [1–3]. В ряде работ продемонстрировано, что краткосрочные и долгосрочные прогнозы заболевания гораздо более благоприятны при достижении ремиссии на ранних стадиях болезни [4, 5]. В 2010 г. в клиническую практику были внедрены новые рекомендации по ведению пациентов с РА – «Treat to target» («Лечение до достижения цели») [6]. В ряде клинических исследований продемонстрирована большая эффективность концепции «Лечение до достижения цели», по сравнению со стандартным ведением пациентов [7–10].

По современным представлениям, ключевую роль в развитии синовиального воспаления и суставной деструкции при РА играют активированные CD4+ Т-хелперные (Th) клетки, вызывающие активацию В-лимфоцитов и макрофагов, а также усиление продукции цитокинов [11–13]. Важной особенностью активации CD4+ Т-лимфоцитов является поляризация иммунного ответа по Th1-типу с преобладанием синтеза провоспалительных цитокинов над противовоспалительными. Именно с эффектами провоспалительных цитокинов связывают развитие основных клинических симптомов заболевания: появление воспалительных изменений в суставах, прогрессирование костной и хрящевой деструкции, развитие системных проявлений [13]. Центральное место в развитии вос-

паления при РА занимают: фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), интерлейкин 1 $\beta$  (ИЛ1 $\beta$ ), ИЛ6, ИЛ17, ИЛ8, гранулоцитарный (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагальный (ГМ-КСФ) колониестимулирующие факторы и ряд других. В зависимости от проявляемых эффектов в настоящее время все цитокины делятся на ряд функциональных классов (табл. 1) [14–28]. Уровень провоспалительных цитокинов при РА коррелирует с активностью воспаления и отражают тяжесть заболевания, а также дальнейший прогноз [27, 28]. В зависимости от баланса между разными функциональными группами цитокинов на определенных стадиях иммуновоспалительного процесса будет зависеть степень выраженности клинических симптомов заболевания. В связи с этим наиболее информативно оценивать цитокиновый профиль в целом, а также его динамику на фоне терапии [29, 30].

**Цель исследования** – оценить динамику показателей цитокинового профиля в сопоставлении с активностью заболевания у пациентов с ранним РА на фоне применения МТ и адалимумаба (АДА) с соответствием с концепцией «Treat to target».

#### Материал и методы

Обследовано 45 больных с ранним РА (критерии Европейской антиревматической лиги – EULAR – 2010 г.), наблюдавшихся в ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАН. Все больные были включены в первое российское стратегическое исследование фармакотерапии РА – РЕМАРКА (Российское исследование МетотрексаАта и биологических препаратов при Раннем аКтивном Артрите) [31]. Клинико-иммунологическая характеристика больных представлена в табл. 2.

Как следует из табл. 2, большинство больных были женского пола, среднего возраста, с длительностью заболевания около 7 мес, серопозитивные по IgM РФ и АЦЦП,

**Таблица 1** Основные функциональные классы цитокинов

Функциональный класс	Первичный эффект	Вторичный эффект	Цитокины
Провоспалительные	Воспалительные медиаторы	Врожденный иммунитет	ИЛ1, ФНО $\alpha$ , ИЛ12, МИФ1 $\alpha$ , ИЛ6, ИЛ15
Противовоспалительные	Воспалительные гены	Аутоиммунитет	ИЛ10, ИЛ13, ИЛ1 $\beta$ (ИЛ22)
Th1-цитокины	Th1-ответ	Клональная экспансия ЦТЛ	ИФН $\gamma$ , ИЛ2, ИЛ12, ИЛ18
Th2-цитокины	Th2-ответ	Синтез антител	ИЛ4, ИЛ5, ИЛ9, зотаксин, ИЛ18, ИЛ25, ИЛ33,
Th17- цитокины	Th17-ответ, ИФН $\gamma$	Аутоиммунный ответ	ИЛ17, ИФН $\gamma$ , ИЛ23
T <sub>reg</sub> -цитокины	T <sub>reg</sub> -клетки	Аутоиммунитет	ИЛ10
Колониестимулирующие факторы	Гемопозз	Про- и противовоспалительные	ИЛ3, ИЛ7, ГМ-КСФ, Г-КСФ
Стромальные и ангиогенные факторы	Неоваскуляризация, фиброз	Метастазирование	СЭФР, ФРФ, ТФР $\beta$
Хемокины (СС и СХС)	Миграция клеток	Активация клеток	МИБ1 $\alpha$ , IP10, ИЛ8, МИФ, МХФ1

**Примечание.** МИФ1 $\alpha$  – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов 1 $\alpha$ , ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты, ИФН $\gamma$  – интерферон  $\gamma$ , СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста, ФРФ – фактор роста фибробластов, ТФР $\beta$  – трансформирующий фактор роста  $\beta$ , МИБ1 $\alpha$  – макрофагальный белок воспаления 1 $\alpha$ , МХФ – моноцитарный хемотаксический фактор.

**Таблица 2** Исходная характеристика пациентов (n=45), Ме [25-й; 75-й перцентили]

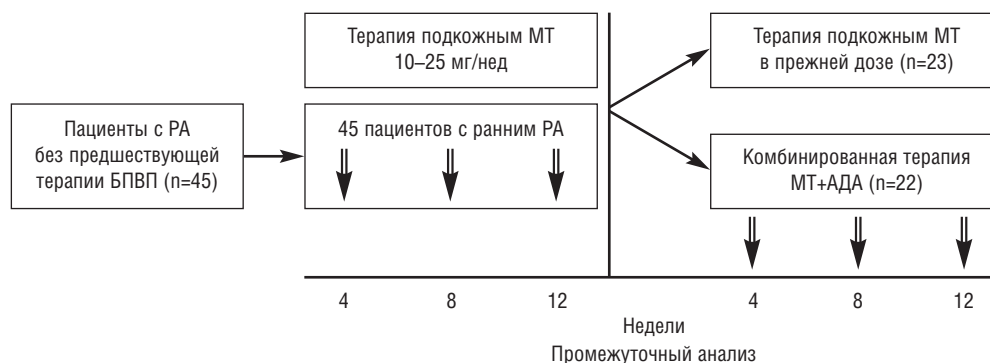
Показатель	Значения
Пол, м/ж	10/35
Возраст, годы	53,5 [46,0; 59,5]
Длительность заболевания, мес	7,0 [4,0; 11,5]
Рентгенологическая стадия (I, II, III, IV), %	11,1/84,4/4,5/0
Функциональный класс (I/II/III/IV), %	24,4/66,7/8,9/0
DAS28, баллы	5,8 [4,9; 6,4]
HAQ, баллы	1,5 [1,25; 2,0]
Уровень СРБ, мг/л	27,0 [9,7; 61,0]
IgM РФ, МЕ/мл	108,0 [32,2; 245,0]
Доля, n (%):	
негативных	4 (8,9)
низкопозитивных	10 (22,2)
высокопозитивных	31 (68,9)
АЦЦП, Ед/мл (n=25)	385,1 [200,0; 500,0]
Доля, n (%)	
негативных	2 (4,4)
низкопозитивных	3 (6,7)
высокопозитивных	40 (88,9)

**Примечание.** СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду.

имели высокую активность воспалительного процесса, I и II рентгенологическую стадию, II функциональный класс, умеренное нарушение жизнедеятельности, до включения в исследование пациенты не получали предшествующей терапии БПВП и глюкокортикоидами (ГК). Всем больным в качестве первого БПВП была назначена подкожная форма МТ (методжект, MEDAC, Германия) в начальной дозе 10 мг/нед с быстрой эскалацией дозы до 20–25 мг/нед. Через 12 нед лечения все больные были осмотрены экспертом, и в зависимости от активности заболевания решался вопрос о смене лечения или продолжении прежней терапии. Таким образом, через 12 нед все пациенты были разделены на две группы: ответившие на терапию МТ (n=23; эти больные продолжали получать прежнюю терапию) и больные с неудовлетворительным эффектом МТ (n=22). Пациентам второй группы к терапии был добавлен АДА (Хумира, Abbvie) в дозе 40 мг п/к 1 раз в 2 нед. План исследования представлен на рис. 1. Клинические и лабораторные показатели анализировались непосредственно перед началом терапии (нулевая точка), а затем через 12 и 24 нед лечения. Для оценки эффективности терапии использовали критерии EULAR [32], а также индексы активности CDAI и SDAI [33].

Определение СОЭ осуществляли стандартным международным методом по Вестергрену (норма  $\leq 30$  мм/ч). Сывороточную концентрацию СРБ и IgM РФ измеряли иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия). Нормальный уровень СРБ в сыворотке крови составлял  $\leq 5,0$  мг/л. По инструкции фирмы-изготовителя за верхнюю границу нормы IgM РФ была принята концентрация, равная 15,0 МЕ/мл. Количественное определение АЦЦП в сыворотке крови проводили электрохемилюминесцентным методом на анализаторе Cobas e411 (Roche, Швейцария; верхняя граница нормы 17,0 Ед/мл), а также методом иммуоферментного анализа с помощью коммерческого набора реагентов (Axis-Shield, Великобритания; верхняя граница нормы 5,0 Ед/мл). Концентрацию 27 цитокинов в сыворотке крови: ИЛ1 $\beta$ , ИЛ1 $\alpha$ , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13, ИЛ15, ИЛ17, эотаксин, основной фактор роста фибробластов (ФРФ-basic), Г-КСФ, ГМ-КСФ, ИФН $\gamma$ , ИФН $\gamma$ -индуцибельный белок (IP10), моноцитарный хемотаксический белок 1 (МХБ1), МИБ1 $\alpha$ , МИБ1 $\beta$ , ТФР-bb, RANTES (хемокин, выделяемый Т-клетками при активации), ФНО $\alpha$ , васкулоэндотелиальный фактор роста (ВЭФР) – определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP на анализаторе Bio-Plex array system (BIO-RAD, США). Верхняя граница нормы при исследовании 30 сывороток здоровых доноров составила (пг/мл): ИЛ1 $\beta$  – 10,2; ИЛ1 $\alpha$  – 1287,4; ИЛ2 – 153,6; ИЛ4 – 10,9; ИЛ5 – 10,6; ИЛ6 – 39,6; ИЛ7 – 287,7; ИЛ8 – 50,2; ИЛ9 – 307,5; ИЛ10 – 554,6; ИЛ12 – 53,6; ИЛ13 – 110,4; ИЛ15 – 66,8; ИЛ17 – 471,3; эотаксин – 1616; ФРФ-basic – 71,8; Г-КСФ – 52,5; ГМ-КСФ – 261,1; ИФН $\gamma$  – 4298,7; IP10 – 20 219,7; МХБ1 – 280,1; МИБ1 $\alpha$  – 42,7; МИБ1 $\beta$  – 165,9; ФНО $\alpha$  – 145,9; ВЭФР – 7693,1. Исследуемые сыворотки хранили при -70 °С.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, результаты представлены в виде медианы (Ме) с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили]. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена, кластерный анализ – методом двухходового объединения. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Концентрации цитокинов были переведены в логарифмы, и на рис. 2 представлены натуральные логарифмы медианы их концентраций.

**Рис. 1.** План исследования

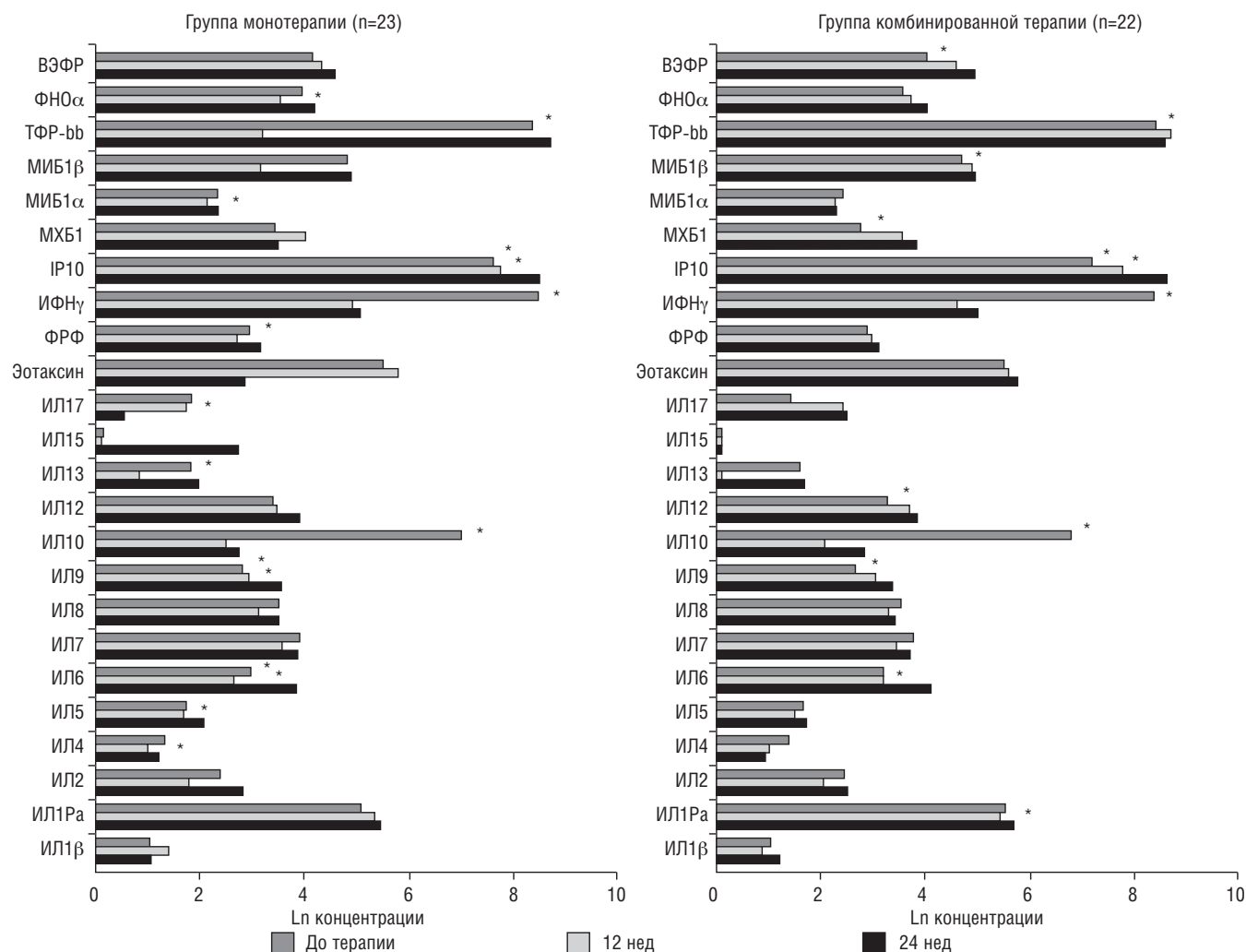


Рис. 2. Динамика показателей цитокинового профиля в группах больных РА. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем

### Результаты

До начала терапии значения индексов DAS28=5,8 [4,9; 6,4], SDAI 36,9 [21,6; 42,6] и CDAI 30,0 [18,4; 38,8] соответствовали высокой активности заболевания. На фоне лечения по группе в целом отмечалось достоверное снижение

активности по всем индексам, и к 24-й неделе значение индексов DAS28, SDAI и CDAI соответствовало низкой активности патологического процесса (табл. 3). К 12-й неделе лечения хороший ответ по критериям EULAR регистрировался у 13,3% пациентов, удовлетворительный – у 51,1%

Таблица 3 Динамика индексов активности и уровня острофазовых показателей в группах больных в зависимости от проводимой терапии, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Показатель	Срок	Все больные	Группа монотерапии	Группа комбинированной терапии
DAS28, баллы	До терапии	5,8 [4,9; 6,4]	4,9 [4,3; 6,0]	6,1 [5,9; 6,8] <sup>#</sup>
	12 нед	4,3 [3,5; 5,2]*	3,5 [2,8; 3,9]*	5,3 [4,6; 5,9]**
	24 нед	3,2 [2,7; 4,0]*	2,9 [2,1; 3,6]*	3,4 [3,2; 4,4]*
SDAI, баллы	До терапии	36,9 [21,6; 42,6]	24,2 [16,8; 38,4]	41,9 [29,6; 49,8] <sup>#</sup>
	12 нед	16,7 [8,3; 25,2]*	9,6 [4,0; 13,6]*	25,9 [21,8; 31,0]**
	24 нед	8,4 [4,7; 15,0]*	6,7 [3,3; 11,6]*	10,8 [6,0; 18,5]*
CDAI, баллы	До терапии	30,0 [18,4; 38,8]	21,5 [15,5; 32,1]	36,5 [27,0; 43,5] <sup>#</sup>
	12 нед	15,6 [7,4; 24,9]*	7,8 [4,0; 13,3]*	25,0 [21,0; 28,0]**
	24 нед	7,1 [4,5; 14,6]*	6,5 [3,0; 11,5]*	9,8 [5,0; 17,1]*
СОЭ, мм/ч	До терапии	29,0 [18,0; 44,0]	21,0 [17,0; 37,0]	36,0 [22,5; 50,0]
	12 нед	18,0 [12,0; 26,0]*	16,0 [10,0; 21,0]	20,0 [12,0; 38,0]
	24 нед	16,5 [10,0; 30,0]*	15,5 [8,0; 24,0]	16,5 [10,0; 37,5]
Уровень СРБ, мг/мл	До терапии	27,0 [9,7; 61,0]	12,8 [2,2; 38,8]	42,3 [25,3; 77,4] <sup>#</sup>
	12 нед	5,9 [1,9; 15,4]*	2,7 [0,6; 9,5]*	9,1 [4,6; 28,3]**
	24 нед	1,9 [0,9; 6,1]*	1,9 [0,6; 5,9]*	1,9 [0,9; 9,4]*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем; <sup>#</sup> –  $p < 0,05$  между группами монотерапии и комбинированной терапии.

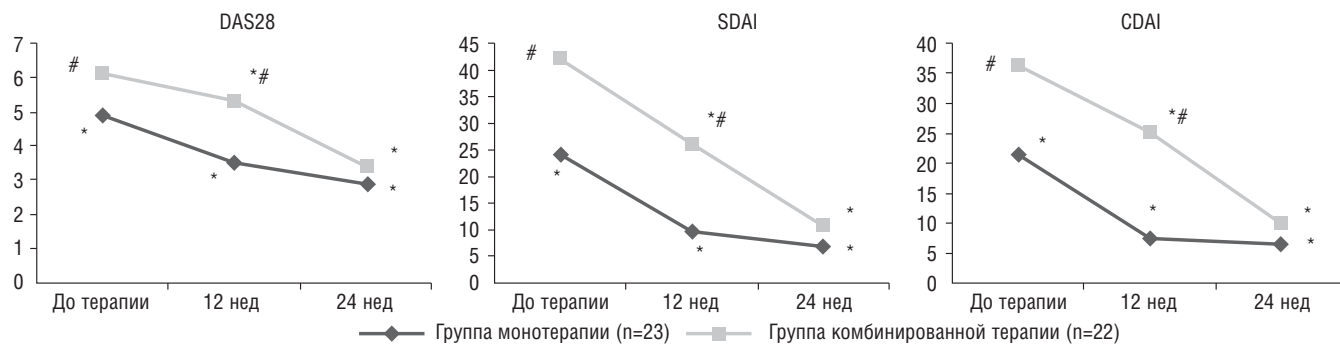


Рис. 3. Динамика индексов активности в группах больных в зависимости от проводимой терапии. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем; # –  $p < 0,05$  между группами

и отсутствовал – у 35,6% больных; к 24-й неделе – у 44,4; 33,3 и 22,2% пациентов соответственно. Ремиссия заболевания к 24-й неделе была достигнута у 26,7% больных, низкая активность – у 22,2%, высокая активность сохранялась у 11,1% пациентов.

В зависимости от эффекта МТ к 12-й неделе все больные были разделены на две группы: группа монотерапии – в нее вошло 23 больных с хорошим ответом на МТ, терапия в этой группе не менялась; и группа комбинированной терапии – ее составили 22 пациента с недостаточным эффектом МТ, пациентам этой группы к лечению был добавлен АДА по стандартной схеме. Динамика индексов активности в этих группах пациентов представлена на рис. 3. и в табл. 2. Как видно из рисунка, в группе монотерапии отмечалась исходно более низкая активность заболевания по всем трем индексам, а также регистрировался более низкий уровень СРБ, по сравнению с группой комбинированной терапии. Среди пациентов этой группы уже к 12-й неделе лечения была достигнута низкая активность по SDAI (9,6 [4,0; 13,6]) и CDAI (7,8; [4,0; 13,3]), а также отмечалась нормализация уровня СРБ.

На фоне монотерапии МТ в группе больных, у которых на 12-й неделе отмечен эффект препарата, к 24-й неделе лечения увеличилось число больных в состоянии ремиссии/низкой активности, уменьшилось число пациентов с умеренной активностью заболевания. Добавление к терапии АДА вызывает выраженное клиническое улучшение. Через 12 нед лечения у пациентов этой группы ре-

гистрировалось снижение DAS28 с 5,3 [4,6; 5,9] до 3,4 [3,2; 4,4], а также SDAI и CDAI (см. табл. 2); около 30% больных достигли ремиссии/низкой активности болезни, также значительно сократилось число пациентов с высокой активностью патологического процесса (с 59,1 до 13,6%; рис. 4).

До начала терапии в группе пациентов с РА отмечался более высокий уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ6, ИЛ12, ФНО $\alpha$ ), хемокинов (IP10, МИБ1 $\beta$ , ИЛ8) и факторов роста (ИЛ7, ТФР-bb) по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0,05$ ; рис. 5). Была выявлена положительная корреляция базальных уровней: ИЛ1 $\beta$  с уровнем СРБ ( $r = 0,32$ ;  $p = 0,03$ ); ИЛ6 с числом припухших суставов (ЧПС) из 28 ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,02$ ), DAS28 ( $r = 0,41$ ;  $p = 0,006$ ), SDAI ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,02$ ), СРБ ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,001$ ); IP10 с числом болезненных суставов (ЧБС) из 28 ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,002$ ), ЧПС28 ( $r = 0,44$ ;  $p = 0,003$ ), DAS28 ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,002$ ), SDAI ( $r = 0,49$ ;  $p = 0,001$ ), CDAI ( $r = 0,49$ ;  $p = 0,001$ ), а также уровня ВЭФР с DAS28 ( $r = 0,29$ ;  $p = 0,049$ ).

Динамика показателей цитокинового профиля анализировалась в группах больных в зависимости от проводимой терапии. В группе монотерапии к 12-й неделе лечения выявлено снижение уровня провоспалительных (ИЛ6, ИЛ17, ФНО $\alpha$ ), противовоспалительных (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ9, ИЛ13) цитокинов, хемокинов (IP10) и факторов роста (ФРФ;  $p < 0,05$ ); к 24-й неделе – снижение уровня ИЛ6, ИЛ9, IP10, ТФР-bb, а также повышение концентрации ИЛ10 ( $p < 0,05$ ; см. рис. 5). В группе комбинированной терапии к 12-й неделе лечения выявлено снижение ИЛ6,

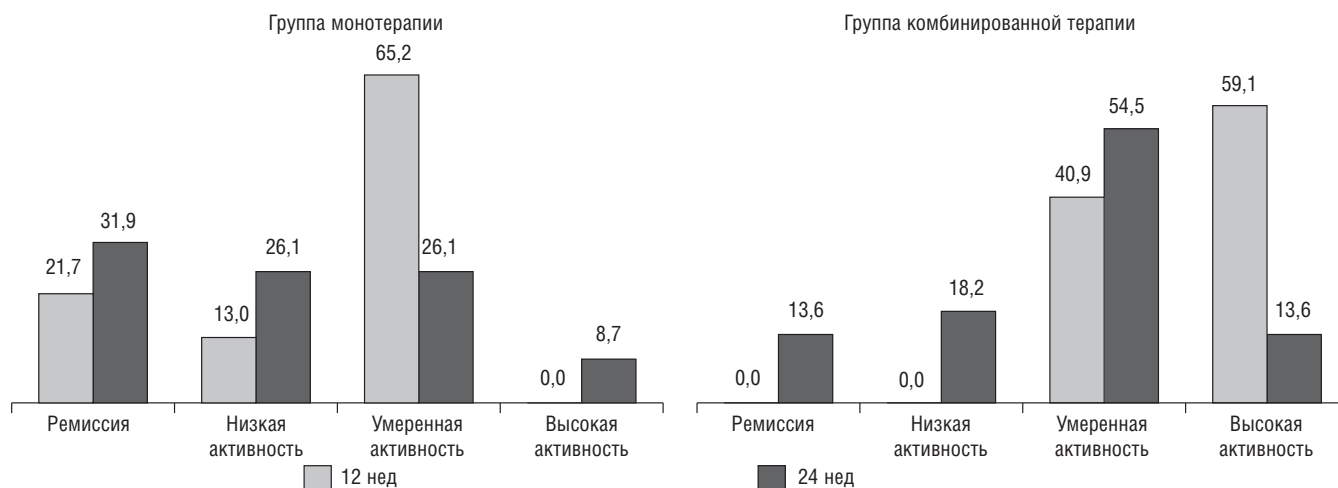


Рис. 4. Активность заболевания по DAS28 (%) в группах пациентов, в зависимости от проводимой терапии



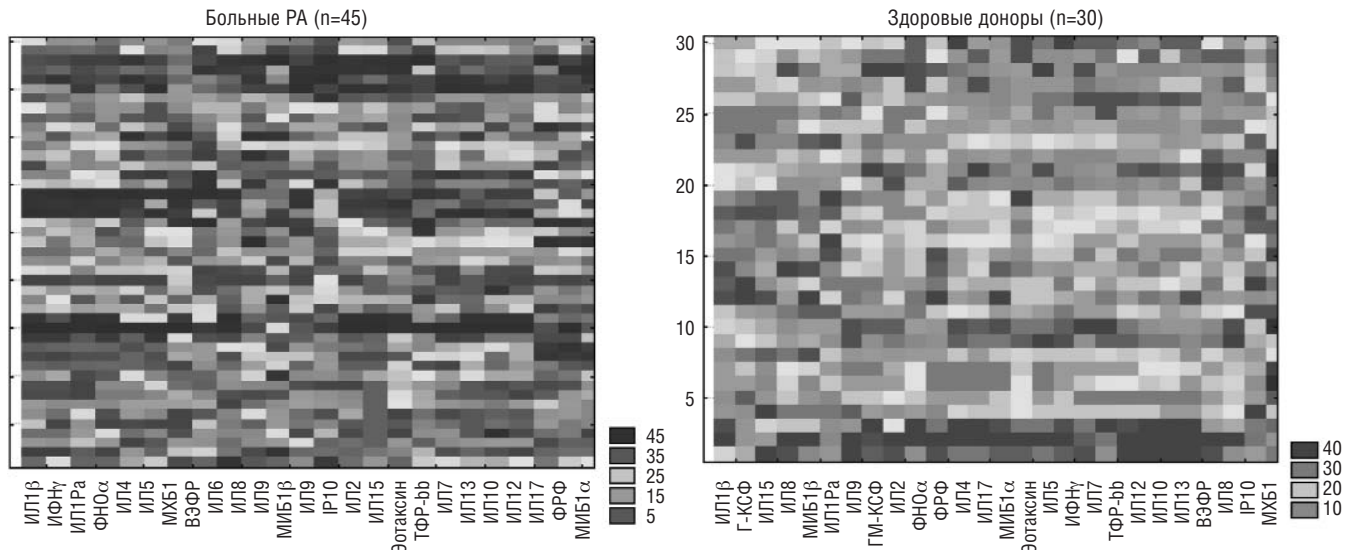


Рис. 5. Цитокиновый профиль больных РА и здоровых доноров

ИЛ1Ра, IP10 ( $p < 0,05$ ); к 24-й неделе лечения (12 нед при- менения АДА) — снижение уровня провоспалительных (ИЛ12), противовоспалительных (ИЛ9) цитокинов, хемо- кинов (IP10, МХБ1, МИБ1β), факторов роста (ВЭФР), повышение уровня ИЛ10 ( $p < 0,05$ ; см. рис. 2). Достовер- ных различий в исходном уровне цитокинов среди паци- ентов, ответивших и не ответивших на терапию МТ, к 12-й неделе лечения выявлено не было ( $p > 0,05$ , данные не представлены).

### Обсуждение

Результаты исследования свидетельствуют о высо- кой эффективности концепции «Тreat to target» в лече- нии раннего РА, что подтверждается высокой частотой достижения ремиссии/низкой активности заболевания (около 50%) уже к 24-й неделе терапии. Сходные данные получены в ряде крупных клинических исследований. Так, авторы протокола CAMERA [8] при сравнении двух стратегий терапии РА продемонстрировали достоверно более высокий процент ремиссии заболевания в группе строгого контроля по сравнению с группой «обычной» стратегии терапии (50 и 37% соответственно;  $p < 0,05$ ). Сходные данные были получены при анализе результа- тов исследования BeSt [9]. Авторы оценили эффект тера- пии 435 больных ранним РА, разделенных на две группы в зависимости от концепции лечения: группа «строгого контроля» — А ( $n = 234$ ) и группа обычной клинической практики — В, в которой решение о смене терапии при- нимал лечащий врач ( $n = 201$ ). Через год наблюдения ре- миссия заболевания была достигнута у 31% пациентов группы А и 18% больных группы В ( $p < 0,05$ ). Аналогич- ные результаты были представлены в исследованиях TICORA [7] и DREAM [10].

Применение подкожной формы МТ (методжект) при раннем РА характеризуется высокой клинической эффективностью. Так, ремиссия/низкая активность бо- лезни среди нашей группы больных была достигнута у 35% пациентов к 12-й неделе монотерапии МТ; к 24-й неделе лечения в группе ответивших на МТ 65% больных находились в состоянии ремиссии/низкой активности за- болевания. Среди не ответивших на лечение МТ к 12-й неделе комбинированной терапии МТ+АДА ремис-

сия/низкая активность болезни была достигнута у 32%. В качестве вероятных предикторов хорошего ответа на те- рапию МТ нам удалось выделить следующие: исходно бо- лее низкую активность заболевания по DAS28 и более низкий уровень СРБ. Достоверных различий в показате- лях цитокинового профиля среди ответивших и не отве- тивших на МТ выявлено не было. Данные метаанализов также подтвердили высокую эффективность монотера- пии МТ при раннем РА и не выявили преимуществ ком- бинированной терапии МТ и другими стандартными БПВП по сравнению с монотерапией МТ [34–36]. В от- крытое «стратегическое» исследование DREAM (Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring) [37, 38] вошли 534 паци- ента с очень ранним (в среднем 14 нед) активным (сред- ний индекс DAS28 = 5,0) РА. Лечение начиналось с на- значения МТ (15 мг/нед) с быстрой эскалацией дозы до 25 мг/нед. При недостаточной эффективности монотера- пии МТ ( $\text{DAS28} > 2,6$ ), в схему лечения последовательно включали сульфасалазин (СУЛЬФ; 3000 мг/сут), АДА и инфликсимаб (ИНФ) на фоне продолжающейся тера- пии МТ. Через 6 мес у 47% пациентов достигнута ремис- сия ( $\text{DAS28} < 2,6$ ), а через 12 мес — 51% больных. В целом развитие ремиссии имело место у 59,3% пациентов на фо- не монотерапии МТ, и у 22,6% — комбинированной тера- пии МТ + СУЛЬФ и 5,7% — МТ + ГИБП (5,3% — АДА, 0,4% — ИНФ). Примечательно, что у 70,5% пациентов ре- миссия имела место на фоне терапии МТ и СУЛЬФ, в том числе монотерапии МТ (43,1%), и только у 16,6% — МТ + ингибиторы ФНОα.

В исследовании S. Bosello и соавт. [39], в которое были включены пациенты с ранним РА, проводилось ле- чение МТ (максимальная доза 20 мг/нед), и при необхо- димости ( $\text{DAS44} > 2,4$ ) комбинированная терапия МТ и ингибиторами ФНОα. Через 12 мес 60,3% пациентов достигли ремиссии или низкой активности на фоне мо- нотерапии МТ и 39,7% на комбинированной терапии МТ и ингибиторами ФНОα. Единственным предиктором ре- миссии явилось раннее начало лечения ( $< 3$  мес от начала болезни).

Высокая клиническая эффективность и достижение ремиссии на фоне терапии подкожной формой МТ (ме- тоджект) ассоциируется со снижением значительного

числа провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста через 12–24 нед терапии. В литературе представлены сходные данные о положительной динамике показателей цитокинового профиля при использовании МТ. Так, в ряде работ установлено уменьшение уровня ФНО $\alpha$  и ИЛ1 в синовиальной оболочке больных РА, получающих МТ [40, 41], а также выявлено снижение плазменного уровня провоспалительных цитокинов на фоне терапии [42–44]. При оценке динамики субпопуляций Т-лимфоцитов у больных РА на фоне лечения было установлено снижение уровня ФНО $\alpha$ -позитивных CD4+ Т-лимфоцитов (с 8,53 до 6,17%;  $p=0,021$ ), а также активация ИЛ10-позитивных клеток (с 0,65 до 1,3%;  $p=0,009$ ) [45]. Также полагают, что прием МТ подавляет индуцированную ФНО $\alpha$  активацию ядерного фактора каппа В (NF $\kappa$ B), что препятствует дальнейшему синтезу провоспалительных цитокинов и хемокинов [46]. В экспериментах на культуре клеток было продемонстрировано снижение выработки провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ , ГК-КСФ) активированными Т-лимфоцитами при добавлении МТ и отсутствие влияния препарата на уровень ИЛ8 [47]. Тормозящий эффект МТ наблюдался при концентрации препарата, легко достижимых в плазме крови у пациентов при пероральном приеме. Также авторы выявили снижение продукции ИНФ $\gamma$  с 21 до 5,8 нг/мл и ГМ-КСФ в культурах клеток больных РА через 2 ч после первого приема 10 мг МТ ( $n=10$ ) [47].

Интерес вызывают полученные данные о снижении уровня IP10 на фоне терапии МТ. IP10 – хемокин, регулирующий воспаление на нескольких уровнях: он индуцирует активацию молекул адгезии, участвует в миграции Т-лимфоцитов, клеток – естественных киллеров и моноцитов в зону воспаления. Регулирует клеточный апоптоз, индуцирует синтез ИЛ8 и CXCL-5, а также костимуляторных молекул (CD54, CD80, CD86). Учитывая важное значение IP10 в регуляции воспаления, была предпринята попытка применения anti-IP10-моноклональных антител у пациентов с РА [48]. Исследуемый препарат продемонстрировал большую клиническую эффективность по сравнению с плацебо через 12 нед терапии (число пациентов, достигших ACR20, составило 54 и 17%;  $p<0,05$  соответственно; однако достоверных различий в числе пациентов, достигших улучшения ACR50 и ACR70, выявлено не было). Также представляют интерес данные о влиянии тофацитиниба на уровень IP10 при РА. D.L. Boyle и соавт. [49] оценили влияние тофацитиниба в комбинации с МТ на широкий спектр лабораторных показателей у 29 пациентов с РА. Через 4 нед терапии авторы выявили значительное снижение уровней IP10, матриксных металлопротеиназ 1 и 3, достоверного изменения уровня других биомаркеров не наблюдалось. Таким образом, ингибирование IP10 является одним из важных противовоспалительных эффектов МТ.

Применение АДА также сопровождается снижением уровня показателей цитокинового профиля в основном за счет влияния на уровень хемокинов и факторов роста. Сходные данные были получены J. Yamaoka и соавт. [50] при сравнении динамики показателей цитокинового профиля на фоне терапии тоцилизумабом (ТЦЗ) и ингибиторами ФНО $\alpha$  у 42 пациентов с РА. К 24-й неделе терапии в группе ингибиторов ФНО $\alpha$  в большей степени регистрировалось снижение уровня хемокинов (ИЛ6, ИЛ8, МИБ1, хемокин лиганд 20 – CCL20), по сравнению с группой ТЦЗ, где в первую очередь было выявлено снижение концентрации цитокинов, связанных с Т-клетками (ИЛ2, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ12, ГК-КСФ, ФНО). L. Knudsen и соавт. [51] установили снижение уровня ИЛ6, ВЭФР, сывороточного уровня хрящевого гликопротеина (YKL-40) и МИФ в периферической крови больных РА на фоне терапии этанерцептом. Интерес представляют данные J. Disseux и соавт. [52], оценивших молекулярные эффекты терапии ГИБП (ТЦЗ, ритуксимаб – РТМ, АДА) и МТ у пациентов с РА. В исследование было включено 30 больных ранним РА (длительность заболевания <1 года), не получавших предшествующей терапии БПВП. Авторы установили, что применение ТЦЗ сопровождается снижением степени синовиальной гиперплазии и лимфоплазмочитарной инфильтрации, а также уменьшением количества синовиальных CD68+, CD3+, CD138+ клеток. Также авторы выявили снижение экспрессии генов, связанных с активацией Т-лимфоцитов и продукции цитокинов и хемокинов. Молекулярные эффекты МТ были в целом аналогичны эффектам ТЦЗ, но выражены в меньшей степени. Терапия АДА оказывала отличные от ТЦЗ, РТМ и МТ эффекты и в основном влияла на экспрессию генов, индуцирующую пролиферацию клеток.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о высокой клинической эффективности терапии подкожной формой МТ, которая ассоциируется со снижением ряда провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста. Лечение АДА также сопровождается снижением активности заболевания и положительной динамикой показателей цитокинового профиля, оказывая большее влияние на уровень хемокинов и факторов роста.

#### Прозрачность исследования

*Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.*

#### Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

*Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.*

## ЛИТЕРАТУРА

- Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Балабанова РМ. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология. Национальное руководство. Под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008. С. 290–331. [Nasonov EL, Karateev DE, Balabanova RM. Rheumatoid arthritis. In: *Revmatologiya. Natsional'noe rukovodstvo* [Rheumatology. National Guide]. Nasonov EL, Nasonova VA, editors. Moscow: GEOTAR-media; 2008. P. 290–331.]
- Ревматология. Клинические рекомендации. Под ред. Е.Л. Насонова. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010. [Nasonov EL, editor. *Revmatologiya. Klinicheskie rekomendatsii* [Rheumatology. Clinical recommendations]. Moscow: GEOTAR-media; 2010.]
- Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(6):964–75. DOI: 10.1136/ard.2009.126532. Epub

- 2010 May 5.
4. Rantalaiho V, Korpela M, Laasonen L, et al.; FIN-RACo Trial Group. Early combination disease-modifying antirheumatic drug therapy and tight disease control improve long-term radiologic outcome in patients with early rheumatoid arthritis: the 11-year results of the Finnish Rheumatoid Arthritis Combination Therapy trial. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(3):R122. DOI: 10.1186/ar3060. Epub 2010 Jun 24.
5. Landewe RB, Boers M, Verhoeven AC, et al. COBRA combination therapy in patients with early rheumatoid arthritis: long-term structural benefits of a brief intervention. *Arthritis Rheum*. 2002;46(2):347–56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.10083>.
6. Smolen J, Aletaha D, Bijlma JW, et al. for the T2T Expert Committee. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(4):631–7. DOI: 10.1136/ard.2009.123919. Epub 2010 Mar 9.
7. Grigor C, Capell H, Stirling A, et al. Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;364(9430):263–9. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16676-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16676-2).
8. Verstappen SM, Jacobs JW, van der Veen MJ, et al. Intensive treatment with methotrexate in early rheumatoid arthritis: aiming for remission. Computer Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis (CAMERA, an open-label strategy trial). *Ann Rheum Dis*. 2007 Nov;66(11):1443–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2007.071092>. Epub 2007 May 22.
9. Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Kerstens PJ, et al. DAS-driven therapy versus routine care in patients with recent-onset active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):65–9. DOI: 10.1136/ard.2008.097683.
10. Schipper LG, Vermeer M, Kuper HH, et al. A tight control treatment strategy aiming for remission in early rheumatoid arthritis is more effective than usual care treatment in daily clinical practice: a study of two cohorts in the Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring registry. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(6):845–50. DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200274. Epub 2011 Dec 30.
11. Choy E. Selective modulation of T-cell co-stimulation: a novel mode of action for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(3):510–8.
12. Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003;344(6937):907–16.
13. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):429–42. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2094>.
14. Dayer J, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med*. 1985;162(6):2163–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.162.6.2163>.
15. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med*. 1996;334(26):1717–25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199606273342607>.
16. Schottelius AJ, Moldawer LL, Dinarello CA, et al. Biology of tumor necrosis factor- $\alpha$ -implications for psoriasis. *Exp Dermatol*. 2004;13(4):193–222. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0906-6705.2004.00205.x>.
17. Victor FC, Gottlieb AB, Menter A. Changing paradigms in dermatology: tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) blockade in psoriasis and psoriatic arthritis. *Clin Dermatol*. 2003 Sep-Oct;21(5):392–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2003.08.015>.
18. Taha A, Grant V, Kelly R. Urinalysis for interleukin-8 in the non-invasive diagnosis of acute and chronic inflammatory diseases. *Postgrad Med J*. 2003;79(929):159–63. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/pmj.79.929.159>.
19. Rothe L, Collin-Osdoby P, Chen Y, et al. Human osteoclasts and osteoclast-like cells synthesize and release high basal and inflammatory stimulated levels of the potent chemokine interleukin-8. *Endocrinology*. 1998;139(10):4353–63.
20. Romano M, Sironi M, Toniatti C, et al. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity*. 1997;6(3):315–25. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80334-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80334-9).
21. Lally F, Smith E, Filer A, et al. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum*. 2005;52(11):3460–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.21394>.
22. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, et al. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2007;370(9602):1861–74. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60784-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60784-3).
23. Paleolog EM. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S81–90. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar575>. Epub 2002 May 9.
24. Schett G. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. Osteoclasts. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(1):203. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar2110>.
25. Kudo O, Sabokbar A, Pocock A, et al. Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism. *Bone*. 2003;32(1):1–7. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S8756-3282\(02\)00915-8](http://dx.doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00915-8).
26. Nakahara H, Song J, Sugimoto M, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(6):1521–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.11143>.
27. Dayer JM, Choy E. Therapeutic targets in rheumatoid arthritis: the interleukin-6 receptor. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(1):15–24. DOI: 10.1093/rheumatology/kep329. Epub 2009 Oct 23.
28. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006;441(7090):235–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nature04753>. Epub 2006 Apr 30.
29. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid arthritis. *Cell*. 1996;85(3):307–10. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81109-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81109-5).
30. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:397–440. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.14.1.397>.
31. Каратеев ДЕ, Лучихина ЕЛ, Муравьев ЮВ и др. Первое российское стратегическое исследование фармакотерапии ревматоидного артрита (РЕМАРКА). Научно-практическая ревматология. 2013;51(2):117–25. [Karateev DE, Luchikhina EL, Muravyev YuV, et al. The first Russian strategic study of pharmacotherapy for rheumatoid arthritis (REMARCA). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;51(2):117–25. (In Russ.)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2013-637>.
32. Fransen J, Stucki G, van Reil PLCM. Rheumatoid arthritis measures. *Arthritis Rheum*. 2003;49:214–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.11407>.
33. Aletaha D, Nell V, Stamm T, et al. Acute phase reactants add little to composite disease activity indices for rheumatoid arthritis: validation of a clinical activity score. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(4):R796–806. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar1740>. Epub 2005 Apr 7.
34. Katchamart W, Trudeau J, Phumethum V, et al. Efficacy and toxicity of methotrexate (MTX) monotherapy versus MTX combination therapy with non-biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(7):1105–12. DOI: 10.1136/ard.2008.099861. Epub 2008 Dec 3.
35. Gaujoux-Viala C, Smolen JS, Landewe R, et al. Current evidence for the management of rheumatoid arthritis with synthetic disease modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(6):1004–9. DOI:



- 10.1136/ard.2009.127225. Epub 2010 May 6.
36. Gaujoux-Viala C, Nam JL, Ramiro S, et al. Efficacy of conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs, glucocorticoids and tofacitinib: a systematic literature review informing the 2013 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(3):510–5. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204588. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204588>. Epub 2014 Jan 6.
37. Vermeer M, Kuper HH, Hoekstra M, et al. Implementation of a Threat-to-Target Strategy in very Early Rheumatoid Arthritis. Results of the Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring Remission Induction Cohort Study. *Arthritis Rheum*. 2011;63(10):2865–72. DOI: 10.1002/art.30494.
38. Vermeer M, Kuper HH, Bernelot Moens HJ, et al. Sustained beneficial effects of a protocolized Treat-to-Target strategy in very early rheumatoid arthritis: three-year results of the Dutch rheumatoid arthritis monitoring remission induction cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013;65(8):1219–26. DOI: 10.1092/acr.21984.
39. Bosello S, Fedele AL, Peluso G, et al. Very early rheumatoid arthritis is the major predictor of major outcome: clinical ACR remission and radiographic non-progression. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(7):1292–5. DOI: 10.1136/ard.2010.142729. Epub 2011 Apr 22.
40. Dolhain RJ, Tak PP, Dijkman BA, et al. Methotrexate reduces inflammatory cell numbers, expression of monokines and of adhesion molecules in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1998;37(5):502–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/37.5.502>.
41. Kraan MC, Reece RJ, Barg EC, et al. Modulation of inflammation and metalloproteinase expression in synovial tissue by leflunomide and methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis. Findings in a prospective, randomized, double-blind, parallel-design clinical trial in thirty-nine patients at two centers. *Arthritis Rheum*. 2000;43(8):1820–30. DOI: [http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131\(200008\)43:8%3C1820::AID-ANR18%3E3.0.CO;2-D](http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131(200008)43:8%3C1820::AID-ANR18%3E3.0.CO;2-D).
42. Barrera P, Boerbooms AM, Demacker PN, et al. Circulating concentrations and production of cytokines and soluble receptors in rheumatoid arthritis patients: effects of a single dose methotrexate. *Br J Rheumatol*. 1994;33(11):1017–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/33.11.1017>.
43. Seitz M, Loetscher P, Dewald B, et al. Interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist, soluble tumor necrosis factor receptors, IL-1 beta, and IL-8-markers of remission in rheumatoid arthritis during treatment with methotrexate. *J Rheumatol*. 1996;23(9):1512–6.
44. Swaak AJ, van den Brink HG, Aarden LA. Cytokine production in whole blood cell cultures of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1997;56(11):693–5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.56.11.693>.
45. Rudwaleit M, Yin Z, Siebert S, et al. Response to methotrexate in early rheumatoid arthritis is associated with a decrease of T cell derived tumour necrosis factor alpha, increase of interleukin 10, and predicted by the initial concentration of interleukin 4. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(4):311–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.59.4.311>.
46. Majumdar S, Aggarwal BB. Methotrexate suppresses NF-kappaB activation through inhibition of IkappaBalpha phosphorylation and degradation. *J Immunol*. 2001;167(5):2911–20. DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.167.5.2911>.
47. Gerards A, de Lathouder S, de Groot E, et al. Inhibition of cytokine production by methotrexate. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42(10):1189–96. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/keg323>. Epub 2003 May 30.
48. Yellin M, Paliienko I, Balanescu A, et al. A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the efficacy and safety of mdx-1100, a fully human anti-cxcl10 monoclonal antibody, in combination with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(6):1730–39. DOI: 10.1002/art.34330. Epub 2011 Dec 6.
49. Boyle D, Wei N, Singhal A. The Jak inhibitor Tofacitinib suppresses synovial Jak-stat signalling in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(Suppl):764.
50. Yamana J, Iwahashi M, Kim M, et al. T-cell-related cytokines are inhibited in response to tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in contrast with TNF inhibitor. *Arthritis Rheum*. 2011;63(Suppl):18.
51. Knudsen LS, Hetland ML, Johansen JS, et al. Changes in plasma IL-6, plasma VEGF and serum YKL-40 during treatment with Etanercept and Methotrexate or Etanercept alone in patients with active rheumatoid arthritis despite Methotrexate therapy. *Biomark Insights*. 2009;4:91–5.
52. Ducreux O, Durez P, Galant C, et al. Global molecular effects of tocilizumab therapy in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum*. 2014;66(1):15–23. DOI: 10.1002/art.38202.