

Е.Н. Александрова, Е.Ю. Панасюк, А.С. Авдеева, А.А. Новиков,
Г.В. Лукина, М.В. Черкасова, Н.В. Климова, Е.Л. Насонов

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт ревматологии РАМН, Москва

ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ТОЦИЛИЗУМАБОМ

Контакты: Елена Николаевна Александрова irramnlab@rambler.ru

Цель — изучить динамику лабораторных биомаркеров у больных ревматоидным артритом (РА) через 2, 4 и 8 нед после начала лечения тоцилизумабом (ТЦЗ).

Материал и методы. Обследовано 42 больных РА, получивших по две инфузии ТЦЗ в дозе 8 мг/кг внутривенно с интервалом в 4 нед на фоне стабильной терапии базисными противовоспалительными препаратами и глюкокортикоидами. К 8-й неделе терапии у 21 больного наблюдался хороший эффект по критериям EULAR, у 20 — умеренный, у 1 пациента эффект отсутствовал. СОЭ определяли по методу Вестергрена, уровень С-реактивного белка (СРБ) и IgM ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке — нефелометрическим методом, антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) — иммунохемилюминесцентным методом. Сывороточную концентрацию интерлейкина (ИЛ) 6 измеряли с помощью мультиплексного анализа, IgA РФ, антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) и растворимых рецепторов ИЛ 6 (рИЛ-6Р) — методом иммуноферментного анализа.

Результаты. У ответивших на терапию ТЦЗ базальные значения: Ме (ИР 25–75 процентиля) составляли для СОЭ — 42 (30–70) мм/ч, СРБ — 35,2 (19,2–62,7) мг/л, IgM РФ — 263,0 (95,3–663,0) МЕ/мл, IgA РФ — 347,0 (131,2–789,0) ЕД/мл, АЦЦП — 378,8 (85,8–500,0) ЕД/мл, АМЦВ — 778,6 (190,7–2393,1) ЕД/мл, ИЛ 6 — 182,2 (106,1–462,3) пг/мл, рИЛ-6Р — 267,2 (212,5–310,0) нг/мл. На 2-й неделе терапии ТЦЗ отмечено снижение СОЭ — 12 (6–18) мм/ч, уровней СРБ — 0,5 (0,3–0,9) мг/л, IgM РФ — 174,0 (40,8–513,0) МЕ/мл, IgA РФ — 227,2 (62,1–570,8) ЕД/мл, на 4-й неделе: титров АМЦВ — 313,5 (79,9–960,3) ЕД/мл, сохранявшееся до 8-й недели ($p < 0,01$). Концентрация ИЛ 6 возрастала на 2-й и уменьшалась на 8-й неделе: соответственно 418,4 (287,0–678,3) и 103,4 (39,1–208,5) ОЦ/ЛК ($P < 0,01$). Повышение уровня рИЛ-6Р — 1250,0 (1250,0–1475,0) нг/мл регистрировалось со 2-й по 8-ю неделю применения ТЦЗ ($p < 0,01$).

Заключение. Промежуточный анализ эффективности двух инфузий ТЦЗ через 2, 4 и 8 нед после начала терапии свидетельствует о способности ТЦЗ очень быстро индуцировать стойкую положительную динамику иммуновоспалительных маркеров у больных РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, интерлейкин 6, рецепторы интерлейкина 6, тоцилизумаб, СОЭ, С-реактивный белок, IgM/IgA ревматоидные факторы, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, антитела к модифицированному цитруллинированному виментину

TIME COURSE OF CHANGES IN LABORATORY BIOMARKERS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS DURING TOCILIZUMAB THERAPY

E.N. Aleksandrova, E.Yu. Panasyuk, A.S. Avdeyeva, A.A. Novikov, G.V. Lukina, M.V. Cherkasova, N.V. Klimova, E.L. Nasonov
Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Contact: Elena Nikolayevna Aleksandrova irramnlab@rambler.ru

Objective: to study the time course of changes in laboratory biomarkers in patients with rheumatoid arthritis (RA) 2, 4, and 8 weeks after the initiation of tocilizumab (TCZ) therapy.

Subjects and methods. Forty-two RA patients receiving two intravenous infusions of TCZ (8 mg/kg each) at a 4-week interval during steady-state therapy with disease-modifying anti-inflammatory agents and glucocorticoids were examined. At week 8 of therapy, there were good and moderate effects in 21 and 20 patients, respectively, according to the EULAR criteria; no effect was found in 1 patient.

Erythrocyte sedimentation rate (ESR) was determined by the Westergren method; the serum levels of C-reactive protein (CRP) and IgM rheumatoid factor (RF) were measured by the nephelometric method; anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (ACCPA) were estimated by an immunoluminescence assay. Serum interleukin (IL) 6 concentrations were measured by multiplex analysis; IgA RF, anti-modified citrullinated vimentin (anti-MCV) antibodies, and soluble IL-6 receptors (sIL-6R) were determined by enzyme immunoassay.

Results. The patients who showed a response to TCZ therapy had the basal values: Me (RI 25–75 percentile) was 42 (30–70) mm/hr for ESR, 35.2 (19.2–62.7) mg/l for CRP, 263.0 (95.3–663.0) IU/ml for IgM RF, 347.0 (131.2–789.0) IU/ml for IgA RF, 378.8 (85.8–500.0) IU/ml for ACCPA, 778.6 (190.7–2393.1) IU/ml for anti-MCV, 182.2 (106.1–462.3) pg/ml for IL-6, and 267.2 (212.5–310.0) ng/ml for sIL-6R. At TCZ therapy week 2, there were reductions in ESR [12 (6–18) mm/hr], CRP [0.5 (0.3–0.9) mg/l], IgM RF [174.0 (40.8–513.0) IU/ml], and IgA RF [227.2 (62.1–570.8) IU/ml]; at week 4, anti-MCV titers were 313.5 (79.9–960.3) IU/ml, which remained until week 8 ($p < 0.01$). IL-6 concentrations were increased at week 2 and reduced at week 8; these were 418.4 (287.0–678.3) and 103.4 (39.1–208.5) pg/ml, respectively ($p < 0.01$). The elevated sIL-6R level of 1250.0 (1250.0–1475.0) ng/ml was recorded at weeks 2 to 8 of TCZ use ($p < 0.01$).

Conclusion. The interim analysis of the efficacy of two TCZ infusions 2, 4, and 8 weeks after the initiation of the therapy suggests that TCZ is able to induce steady-state positive changes in immune-inflammatory markers very rapidly in patients with RA.

Key words: rheumatoid arthritis, interleukin-6, interleukin-6 receptors, tocilizumab, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, IgM/IgA rheumatoid factors, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-modified citrullinated vimentin antibodies

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки суставов, прогрессирующей деструкцией хрящевой и костной ткани и системным воспалительным поражением внутренних органов [1].

Важным фактором патогенеза РА является антиген-специфическая активация CD4⁺ Т-лимфоцитов по Th1-типу с преобладанием синтеза провоспалительных: интерлейкин (ИЛ) 12, интерферон γ (ИФН γ), фактор некроза опухоли α (ФНО α), ИЛ 1 β , 6, 7, 15, 17 и 18 — над противовоспалительными: ИЛ 4, 5, 10, 13, трансформирующий фактор роста β (ТФР β) цитокинами [2, 3]. Среди провоспалительных цитокинов, синтезируемых активированными Т-клетками, макрофагами и В-клетками, центральное место в развитии суставной деструкции и системного воспаления занимает ИЛ 6 [4, 5]. Он способствует развитию локального воспаления, вызывая активацию эндотелия и накопление лейкоцитов в полости сустава [6, 7], секрецию протеаз и матриксных металлопротеиназ [8]; индуцирует костную деструкцию [9, 10] и образование паннуса [11]; приводит к аутоиммунным нарушениям, стимулируя дифференцировку В-лимфоцитов в зрелые плазматические клетки, секретирующие аутоантитела (ревматоидный фактор — РФ, антитела к цитруллинированным белкам) и иммуноглобулины [4], образование Th17-клеток [12]; вызывает системные эффекты в виде продукции гепатоцитами белков острой фазы воспаления [13], участвует в развитии анемии [14], поражения ЦНС [15]. Повышение уровня ИЛ 6 и его растворимых рецепторов в сыворотке крови коррелирует со стадией РА, титрами РФ, лейкоцитарной инфильтрацией синовиальной ткани, тяжестью деструктивного поражения суставов и дисфункцией эндотелия [16–21].

В связи с этим значительный интерес представляет препарат Тоцилизумаб (ТЦЗ; Tocilizumab, Актемра, «Ф. Хоффман-ля Рош Лтд», Швейцария) — гуманизированные моноклональные антитела (IgG1) к ИЛ 6Р, которые обладают способностью блокировать ИЛ 6-зависимые воспалительные реакции [22]. Важной особенностью ТЦЗ является очень быстрое развитие клинического улучшения у больных РА через 2–4 нед после первой инфузии препарата, которое тесно взаимосвязано с быстрой и стойкой нормализацией уровня лабораторных показателей воспалительной активности заболевания (СОЭ, С-реактивного белка — СРБ, сывороточного амилоидного белка А — САА) [23–27] и маркеров метаболизма костной и хрящевой ткани [28]. Анализ промежуточных данных первого российского открытого многоцентрового 24-недельного исследования IV фазы по изучению эффективности и безопасности ТЦЗ у больных РА убедительно свидетельствует, что лечение ТЦЗ позволяет добиться быстрого снижения клинической и лабораторной активности заболевания и значительно повысить функциональную активность и качество жизни больных уже на 4-й неделе применения препарата [29].

Цель исследования — изучить раннюю динамику показателей острой фазы воспаления (СОЭ, СРБ), аутоантител (IgM/IgA РФ, антител к цитруллинированным белкам), ИЛ 6 и рИЛ 6 у больных РА через 2, 4 и 8 нед после начала лечения ТЦЗ.

Материал и методы

Обследовано 42 больных с достоверным по классификационным критериям ACR (1987) диагнозом РА, наблюдавшихся в НИИР РАМН в период с 2009 по 2010 г. Все больные

были включены в российское открытое многоцентровое 24-недельное исследование IV фазы ЛОРНЕТ, посвященное изучению эффективности и безопасности ТЦЗ при РА. Общая клинико-иммунологическая характеристика больных представлена в табл. 1. Как следует из таблицы, большинство больных были женского пола, среднего возраста, с длительным течением заболевания, серопозитивные по IgM РФ и антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП),

Таблица 1

Клинико-иммунологическая характеристика больных РА до назначения ТЦЗ (n=42)

Показатель	Значение
Пол, м/ж*	10/32
Возраст, годы*	50,5 (43–55)
Длительность заболевания, мес*	56,5 (23–81)
Стадия РА, n (%)	
I	1 (2,4)
II	17 (40,5)
III	21 (50)
IV	3 (7,1)
Функциональный класс, n (%)	
I	8 (19)
II	34 (81)
III	0
IV	0
DAS 28*	6,4 (5,8–7,05)
HAQ*	1,75 (1,25–2,25)
Предшествующая терапия БПВП, n (%)	
метотрексат	35 (83,3)
лефлуномид	6 (14,3)
сульфасалазин и др.	5 (11,9)
комбинация двух БПВП	4 (9,5)
Прием ГК, n (%)	25 (59,5)
СОЭ, мм/ч*	41 (30–70)
СРБ, мг/мл*	36,4 (19,2–62,7)
IgM РФ, МЕ/мл*	262,0 (95,3–663,0)
Уровень, n (%)	
высоко позитивный	34 (80,9)
низко позитивный	2 (4,8)
негативный	6 (14,3)
IgA РФ, Ед/мл*, **	337,0 (74,3–789,9)
Уровень, n (%)	
высоко позитивный	27 (79,4)
низко позитивный	6 (17,6)
негативный	1 (2,9)
АЦЦП, Ед/мл*	366,8 (76,9–500,0)
Уровень, n (%)	
высоко позитивный	34 (80,9)
низко позитивный	3 (7,1)
негативный	5 (11,9)
АМЦВ, Ед/мл*, **	762,3 (106,9–2393,1)
Уровень, n (%)	
высоко позитивный	27 (79,4)
низко позитивный	3 (8,8)
негативный	4 (11,8)

Примечание. * — Ме (ИР); ** — n=34.

имели высокую активность воспалительного процесса, II или III рентгенологическую стадию, II функциональный класс, умеренное нарушение жизнедеятельности, до начала терапии ТЦЗ получали различные базисные противовоспалительные препараты (БПВП) и глюкокортикоиды (ГК) без достаточного терапевтического эффекта. Частота обнаружения IgM РФ составляла 85,9%, IgA РФ – 94,2%, АЦЦП – 88,0%, АМЦВ – 85,7%, при этом преобладали больные РА с высокой концентрацией исследуемых аутоантител в сыворотке крови.

Всем больным проводили по две инфузии ТЦЗ в дозе 8 мг/кг внутривенно с интервалом в 4 нед на фоне терапии БПВП, нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) и ГК. Клинические и лабораторные показатели анализировали непосредственно перед началом терапии (нулевая точка) и через 2, 4, 8 нед после первой инфузии ТЦЗ. Для оценки эффективности терапии ТЦЗ использовали критерии EULAR, основанные на динамике индекса DAS 28. В зависимости от ответа на 8-й неделе терапии ТЦЗ больные РА были разделены на две группы: I группа (n=21) – с хорошим эффектом, II группа (n=21) – с умеренным эффектом (n=20) или его отсутствием (n=1).

СОЭ определяли по Вестергрену (норма ≤ 30 мм/ч). Сывороточную концентрацию СРБ и IgM РФ оценивали иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия), при этом для определения СРБ использовали высокочувствительный тест с латексным усилением (чувствительность 0,175 мг/л). 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. Выделены высоко позитивные ($>45,0$ МЕ/мл), низко позитивные (15,0–45,0 МЕ/мл) и негативные ($\leq 15,0$ МЕ/мл) уровни IgM РФ. Количественное определение АЦЦП в сыворотке крови проводили иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе Cobas e411 (Roche, Швейцария); за верхнюю границу нормы принимали 17,0 ЕД/мл. Отмечены высоко позитивные ($>50,0$ ЕД/мл), низко позитивные (17,0–50,0 ЕД/мл) и негативные ($\leq 17,0$ ЕД/мл) уровни АЦЦП. Определение концентрации IgA РФ и антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерче-

Таблица 2

Уровни острофазовых показателей и иммунологических маркеров у больных РА в зависимости от ответа на терапию ТЦЗ, Ме (ИР)

Показатель	Неделя	Все ответившие на терапию (n=41)	Хороший эффект (n=21)	Умеренный эффект (n=20)/ без эффекта (n=1)
DAS 28	0	6,50 (5,90–7,04)	6,00 (5,54–6,80)	6,82 (6,13–7,10)
	2	Н/д	Н/д	Н/д
	4	4,10 (3,60–4,60); p<0,01	4,02 (3,06–4,37); p<0,01	4,76 (4,10–5,01); p<0,01
	8	3,10 (2,06–3,50); p<0,01	2,60 (2,19–2,86); p<0,01	3,60 (3,38–4,18); p<0,01
СОЭ, мм/ч	0	42 (30–70)	42 (32–70)	40 (30–66)
	2	12 (6–18); p<0,01	16 (6–18); p<0,01	10 (6–18); p<0,01
	4	10 (6–16); p<0,01	10 (6–15); p<0,01	10 (6–16); p<0,01
	8	6 (4–9); p<0,01	6 (4–6); p<0,01	6 (4–10); p<0,01
СРБ, мг/л	0	35,2 (19,2–62,7)	37,5 (24,2–63,0)	35,2 (17,5–56,6)
	2	0,5 (0,3–0,9); p<0,01	0,6 (0,4–0,9); p<0,01	0,5 (0,3–1,0); p<0,01
	4	0,8 (0,4–2,9); p<0,01	0,6 (0,3–1,2); p<0,01	1,3 (0,4–17,7); p<0,01
	8	0,5 (0,17–0,7); p<0,01	0,3 (0,15–0,7); p<0,01	0,6 (0,3–1,9); p<0,01
IgM РФ, МЕ/мл	0	263,0 (95,3–663,0)	255,0 (18,4–663,0)	263,0 (109,9–635,6)
	2	174,0 (40,8–513,0); p<0,01	161,0 (10,9–524,0); p<0,01	236,0 (104,0–468,0); p<0,01
	4	189,0 (54,7–365,0); p<0,01	219,5 (15,1–407,5); p<0,01	148,0 (67,5–339,5); p<0,01
	8	95,5 (28,2–233,0); p<0,01	95,5 (9,5–233,0); p<0,01	95,4 (36,5–177,0); p<0,01
IgA РФ, ЕД/мл	0	347,0 (131,2–789,0); n=33	388,2 (41,9–749,0); n=17	254,7 (153,2–1409,0); n=17
	2	227,2 (62,1–570,8); p<0,01	203,5 (30,6–547,4); p<0,02	242,4 (132,3–715,9); p<0,2
	4	165,0 (72,4–500,0); p<0,07	151,7 (29,5–455,8); p<0,3	204,3 (126,2–475,3); p<0,26
	8	88,1 (42,5–343,1); p<0,01	105,1 (24,2–312,6); p<0,01	77,8 (53,1–461,2); p<0,01
АЦЦП, ЕД/мл	0	378,8 (85,8–500,0)	200,8 (76,9–500,0)	386,8 (135,3–500,0)
	2	330,5 (67,2–436,0); p<0,03	246,3 (67,2–436,0); p<0,23	340,1 (65,6–413,6); p<0,06
	4	424,1 (104,1–500,0); p<0,07	238,1 (83,7–500,0); p<0,04	450,2 (120,3–500,0); p<0,38
	8	500,0 (96,2–500,0); p<0,048	252,6 (73,5–500,0); p<0,2	500,0 (102,0–500,0); p<0,08
АМЦВ, ЕД/мл	0	778,6 (190,7–2393,1); n=33	762,3 (106,9–2431,3); n=17	778,6 (297,1–2249,9); n=17
	2	687,3 (200,7–1728,2); p<0,2	883,9 (116,6–1323,5); p<0,8	580,6 (319,5–2468,1); p<0,1
	4	313,5 (79,9–960,3); p<0,01	194,2 (78,8–799,9); p<0,01	397,4 (136,5–1063,0); p<0,01
	8	300,0 (85,8–927,0); p<0,01	354,1 (57,3–490,6); p<0,01	233,0 (88,4–965,4); p<0,01
ИЛ 6, пг/мл	0	182,2 (106,1–462,3); n=33	157,5 (83,9–480,6); n=17	213,2 (150,7–370,7); n=17
	2	418,4 (287,0–678,3); p<0,01	425,1 (284,7–695,2); p<0,07	407,2 (311,1–678,3); p<0,01
	4	163,6 (106,0–314,9); p<0,2	174,3 (105,7–382,2); p<0,9	165,9 (108,1–333,6); p<0,2
	8	103,4 (39,1–208,5); p<0,01	83,7 (39,1–151,3); p<0,01	111,1 (29,6–217,3); p<0,02
рИЛ-6Р, нг/мл	0	267,2 (212,5–310,0); n=33	232,5 (212,5–302,5); n=17	275,0 (237,5–342,5); n=17
	2	1250,0 (1250,0–1361,3); p<0,01, n=33	1250,0 (1250,0–1485,0); p<0,01, n=17	1250,0 (1250,0–1250,0); p<0,01, n=17
	4	Н/д	Н/д	Н/д
	8	1250,0 (1250,0–1475,0); p<0,01, n=18	1250,0 (1250,0–1492,5); p<0,01, n=10	1250,0 (1195,0–1407,5); p<0,01, n=9

ских наборов реагентов (ORGENTEC Diagnostika, Германия). Согласно рекомендациям фирмы-изготовителя верхняя граница нормы для IgA РФ и АМЦВ составляла 20,0 ЕД/мл. Выделены высоко позитивные ($>60,0$ ЕД/мл), низко позитивные (20,0–60,0 ЕД/мл) и негативные ($\leq 20,0$ ЕД/мл) уровни IgA РФ и АМЦВ. Концентрацию ИЛ 6 в сыворотке крови измеряли при мультиплексном анализе 27 цитокинов с помощью технологии ХМАР на анализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США); нормальный уровень при исследовании 38 сывороток здоровых доноров не превышал 17,4 пг/мл. Сывороточную концентрацию рИЛ-6Р измеряли методом ИФА с помощью коммерческого набора реагентов фирмы Bender MedSystems (Австрия); нормальный уровень $<203,0$ нг/мл. Исследуемые сыворотки хранили при -70°C .

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уол-

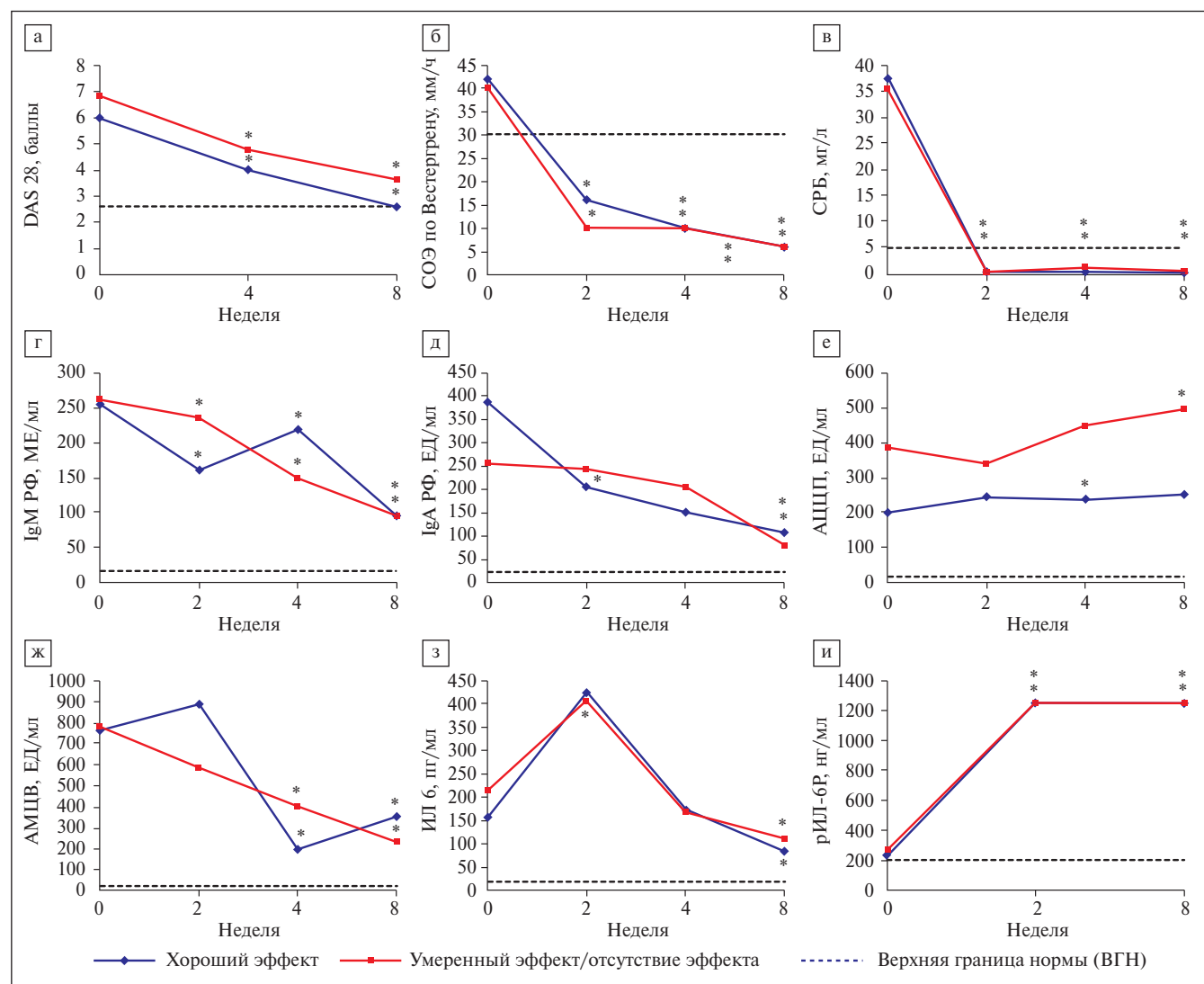
леса, результаты представлены в виде медианы (Ме) с интерквартильным размахом (ИР, 25-й–75-й процентиля). Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Динамика лабораторных биомаркеров у больных РА при терапии ТЦЗ в зависимости от ответа на данный препарат представлена в табл. 2 и на рисунке.

Из табл. 2 видно, что до лечения ТЦЗ средние уровни исследуемых показателей (Ме; ИР) в группе больных с хорошим эффектом достоверно не отличались от таковых у больных с умеренным/отсутствующим эффектом ($p > 0,05$).

У ответивших на терапию индекс DAS 28 достоверно снижался на 4-й и 8-й неделях (см. рисунок, а), а уровень лабораторных маркеров активности воспаления (СОЭ, СРБ) – на 2, 4, 8-й неделях применения ТЦЗ (см. рисунок, б и в). В группах больных РА с хорошим и умеренным эффектом уже через 2 нед после первой инфузии препарата СОЭ и концентрация СРБ снижались до нормы, оставаясь в пределах нормальных значений до 8-й недели терапии ТЦЗ. По срав-



Динамика маркеров острой фазы воспаления и иммунологических показателей у больных РА на фоне терапии ТЦЗ.

Результаты измерения показателей представлены в виде медианы (Ме).

* $p < 0,05$ по сравнению с уровнем показателя до начала терапии ТЦЗ

нению с исходными данными к 8-й неделе применения ТЦЗ уровень СОЭ снижался в 7 раз у всех ответивших на терапию, а СРБ — в 100 раз у больных с хорошим ответом и в 50 раз у больных с удовлетворительным ответом.

На фоне лечения ТЦЗ достоверное уменьшение концентрации IgM РФ в сыворотках ответивших на терапию выявлено на 2, 4, 8-й неделях и составляло 34; 28 и 63% от исходного уровня (см. табл. 2, рисунок, г), при этом у 8% IgM РФ-позитивных больных РА произошла сероконверсия в IgM РФ-отрицательные результаты. Уровень IgA РФ снижался на 48 и 73% на 2-й и 8-й неделях терапии ТЦЗ у больных с хорошим эффектом и на 70% через 8 нед у больных с удовлетворительным эффектом (см. табл. 2, рисунок, д).

В обеих группах больных концентрация АЦЦП не менялась, в то время как уровень АМЦВ достоверно уменьшался на 60% через 4 и 8 нед после начала применения ТЦЗ (см. табл. 2, рисунок, е и ж).

Эффективность терапии ТЦЗ у больных РА в зависимости от исходных уровней серопозитивности по IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ представлена в табл. 3. Из табл. 3 следует, что у больных с высоко позитивными уровнями исследуемых аутоантител хороший и удовлетворительный ответы на ТЦЗ развивались примерно с одинаковой частотой (44–56%), в то время как негативные/низко позитивные результаты определения IgM/IgA РФ и АЦЦП чаще ассоциировались с хорошим эффектом ТЦЗ (у 63–75% больных).

До лечения ТЦЗ уровень ИЛ 6 в сыворотках у всех обследованных больных РА (182,2; 106,1–462,3 пг/мл) был значительно выше, чем у здоровых доноров (6,71; 3,46–12,8 пг/мл; $p < 0,001$). При этом у больных РА выявлена прямая корреляция базальных уровней ИЛ 6 и DAS 28 ($r = 0,445$; $p < 0,01$). Наряду с этим уровень ИЛ 6 при РА положительно коррелировал с концентрацией IgA РФ ($r = 0,386$; $p < 0,02$), АЦЦП ($r = 0,394$; $p < 0,02$) и АМЦВ ($r = 0,443$; $p < 0,02$). По сравнению с исходной концентрацией под влиянием терапии ТЦЗ уровень ИЛ 6 среди ответивших на лечение возрастал в 2,3 раза на 2-й неделе ($p < 0,01$) и снижался в 1,8 раза на 8-й неделе ($p < 0,01$) с его нормализацией у 5 из 34 больных РА (см. рисунок, з). Повышение уровня рИЛ-6Р (в 4,5–5,4 раза) у больных с хорошим и умеренным эффектом ТЦЗ регистрировалось со 2-й по 8-ю неделю применения препарата (см. рисунок, и).

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что через 8 нед после начала терапии ТЦЗ у больных РА наряду с быстрым развитием клинического эффекта, оцениваемого по динамике индекса DAS 28, наблюдается значительное снижение лабораторных показателей воспалительной активности заболевания (СОЭ, СРБ), а также концентрации аутоантител (IgM/IgA РФ, АМЦВ) и ИЛ 6.

Наиболее существенное влияние ТЦЗ оказывал на уровни острофазовых маркеров воспаления, особенно СРБ. Стойкая нормализация сывороточной концентрации СРБ достигалась уже на 2-й неделе применения ТЦЗ и сохранялась в течение 8 нед. По данным других авторов, назначение ТЦЗ в дозе 8 мг/кг в качестве монопрепарата или в сочетании с БПВП также приводит к быстрому снижению уровня СРБ до нормальных значений через 2 нед после первой инфузии препарата, а начиная с 6-й или 10-й недели и по 24-ю неделю терапии ТЦЗ концентрация СРБ остается в пределах нормы, не превышая 3 мг/л [25, 26, 30–36]. В исследованиях OPTION, TOWARD, RADIATE и AMBITION, включавших более 2000 больных РА, показано, что изменение концентрации СРБ и других сывороточных биомаркеров (СОЭ, САА, ИЛ 6 и рИЛ-6Р) зависит от уровня и продолжительности циркуляции в крови ТЦЗ. Высокая экспозиция ТЦЗ сопровождается наибольшим снижением уровня СРБ, СОЭ, САА и увеличением концентрации ИЛ 6 и рИЛ-6Р в крови на 2-й неделе лечения препаратом [31–33].

N. Nishimoto и соавт. [27] продемонстрировали, что практически весь пул рИЛ-6Р циркулирует в виде иммунных комплексов с ТЦЗ, при этом уровень СРБ остается низким, а рИЛ-6Р — повышенным до тех пор, пока концентрация ТЦЗ в крови составляет > 1 мкг/мл. Было установлено увеличение концентрации рИЛ-6Р в 10 раз на 6-й неделе, ИЛ 6 — в 1,5 раза на 2-й неделе терапии ТЦЗ. По мнению авторов, повышение сывороточного уровня ИЛ 6 на фоне лечения ТЦЗ связано не с увеличением продукции данного цитокина, а с нарушением его клиренса, опосредуемым рИЛ-6Р, которые заблокированы ТЦЗ. Концентрация свободного ИЛ 6 при РА в течение всего времени лечения ТЦЗ четко отражает продукцию эндогенного ИЛ 6 и положительно коррелирует с истинной активностью заболевания. В частности, была обнаружена прямая корреляция базального уровня СРБ с

концентрацией ИЛ 6 до и после лечения ТЦЗ. В большинстве исследований прослеживалась четкая тенденция к снижению концентрации ИЛ 6 на 24-й неделе терапии ТЦЗ [32, 37]. Так, в исследовании SATORI у 52% больных РА, получавших ТЦЗ, отмечалась нормализация уровня ИЛ 6 в сыворотке крови, которая в 61% случаев ассоциировалась с достижением клинической ремиссии по индексу DAS 28 [37]. В нашей работе уровень ИЛ 6 до начала лечения положительно коррелировал с индексом DAS 28, а также ассоциировался с гиперпродукцией аутоантител (IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ). На фоне терапии ТЦЗ у пациентов с «хорошим» эффектом терапии уже на 8-й неделе после первой инфузии препарата происходило уменьшение медианы концентрации ИЛ 6 ниже ее базального

Таблица 3

Эффективность терапии ТЦЗ у больных РА в зависимости от уровней позитивности IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ

Уровень позитивности показателей	Хороший эффект, n (%)	Умеренный эффект или отсутствие эффекта, n (%)
IgM РФ:		
высоко позитивный (n=34)	17 (50)	17 (50)
негативный/низко позитивный (n=8)	6 (75)	2 (25)
IgA РА:		
высоко позитивный (n=27)	12 (44)	15 (56)
негативный/низко позитивный (n=7)	5 (71)	2 (29)
АЦЦП:		
высоко позитивный (n=34)	17 (50)	17 (50)
негативный/низко позитивный (n=8)	5 (63)	3 (37)
АМЦВ:		
высоко позитивный (n=27)	13 (48)	14 (52)
негативный/низко позитивный (n=7)	4 (57)	3 (43)

уровня, причем у 14,7% больных значения ИЛ-6 соответствовали норме. Вместе с тем повышение уровня рИЛ-6Р в сыворотках больных РА, получающих ТЦЗ, было менее выраженным по сравнению с результатами N. Nishimoto и соавт. [27].

Впервые получены данные о том, что терапия ТЦЗ в течение 8 нед приводит к уменьшению концентрации IgM/IgA РФ и АМЦВ у больных РА и не оказывает существенного влияния на титры АЦЦП. Особый интерес вызывают результаты, указывающие на более высокую эффек-

тивность ТЦЗ через 8 нед после назначения препарата у негативных/низкопозитивных по IgM/IgA РФ и АЦЦП больных РА, однако эти данные нуждаются в уточнении и проведении дополнительных исследований.

Таким образом, промежуточный анализ эффективности двух инфузий ТЦЗ через 2, 4 и 8 нед после начала терапии свидетельствует о способности ТЦЗ очень быстро индуцировать стойкую положительную динамику иммуновоспалительных маркеров у больных РА.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология. Национальное руководство. Под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008;290–331.
2. Firestein G.S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 2003;423:356–61.
3. Brennan F.M., McInnes I.B. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2008;118:3537–45.
4. Dayer J.M., Choy E. Therapeutic targets in rheumatoid arthritis: the interleukin-6 receptor. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:15–24.
5. Fonseca J.E., Santos M.J., Canha H., Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev* 2009;8:538–42.
6. Romano M., Polentarutti N., Fruscella P. et al. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity* 1997;6:315–25.
7. Lally F., Smith E., Filer A. et al. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. *Arthr Rheum* 2005;52:3460–9.
8. Smolen J.S., Aletaha D., Koeller M. et al. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet* 2007;370:1861–74.
9. Schett G. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. *Osteoclasts. Arthr Res Ther* 2007;9:203.
10. Kudo O., Sabokbar A., Pocock A. et al. Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism. *Bone* 2003;32:1–7.
11. Paleolog E.M. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthr Res* 2002;4(Suppl. 3):81–90.
12. Bettelli E., Carrier Y., Gao W. et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235–8.
13. Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340:448–54.
14. Andrews N.C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 2004;113:1251–3.
15. Chrousos G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995;332:1351–62.
16. Madhok R., Crilly A., Watson J., Capell H.A. Serum interleukin 6 levels in rheumatoid arthritis: correlations with clinical and laboratory indices of disease activity. *Ann Rheum Dis* 1993;52:232–4.
17. Robak T., Gladalska A., Stepień H., Robak E. Serum levels of interleukin-6 type cytokines and soluble-6 receptor in patients with rheumatoid arthritis. *Med Inflam* 1998;7:347–53.
18. Chung S.-J., Kwon Y.-J., Park M.-C. et al. The correlation between increased serum concentrations of interleukin-6 family cytokines and disease activity in rheumatoid arthritis patients. *Yonsei Med J* 2011;52:113–20.
19. Okamoto H., Yamamura M., Morita Y. et al. The synovial expression and serum levels of interleukin-6, interleukin-11, leukemia inhibitory factor, oncostatin M in rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1997;40:1096–105.
20. Houssiau F.A., Devogelaer J.P., van Damme J. et al. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthr Rheum* 1988;31:784–8.
21. Kotake S., Sato K., Kim K.J. et al. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J Bone Miner Res* 1996;11:88–95.
22. Nishimoto N., Kishimoto T. Humanized antihuman IL-6 receptor antibody, tocilizumab. *Handb Exp Pharmacol* 2008;181:151–60.
23. Oldfield V., Dhillon S., Plosker G.L. Tocilizumab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2009;69:609–32.
24. Насонов Е.Л. Новые подходы к фармакотерапии ревматоидного артрита: перспективы применения тоцилизумаба (моноклональные антитела к рецептору интерлейкина-6). *Тер арх* 2010;5:64–71.
25. Frey N., Grange S., Woodworth T. Relationship between serum concentration of the interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab and C-reactive protein reduction in RA patients: 6 months data from a phase 3 study. *Arthr Rheum* 2007;56(Suppl. 9):148–9.
26. Choy E.H., Isenberg D.A., Garrood T. et al. Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Arthr Rheum* 2002;46:3143–50.
27. Nishimoto N., Terao K., Mima T. et al. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood* 2008;112:3959–64.
28. Garnero P., Mareau E., Thompson T. et al. The anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab combined with methotrexate has beneficial effects on bone and cartilage metabolism in patients with rheumatoid arthritis: results of a phase III 24-week randomized placebo-controlled study. *Ann Rheum Dis* 2008;67(Suppl. II):178.
29. Насонов Е.Л., Панасюк Е.Ю., Булдаков С.Г. и др. Эффективность и безопасность тоцилизумаба при ревматоидном артрите (промежуточные результаты российского многоцентрового исследования). *Науч-практич ревматол* 2009;2:21–9.
30. Myers G.L., Rifai N., Tracy R.P. et al. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: report from the laboratory science discussion group. *Circulation* 2004;110:545–9.
31. Jones G., Gu J.R., Lowenstein M. et al. Tocilizumab monotherapy is superior to methotrexate monotherapy in reducing disease activity in patients with rheumatoid arthritis: the ambition study. *Ann Rheum Dis* 2008;67(Suppl. II):89.
32. Levi M., Frey N., Grange S. et al. Reduction in inflammatory biomarkers with increasing exposure to the IL-6 inhibitor, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis: graphical analysis of pooled data. *Ann Rheum Dis* 2008;67(Suppl. II):192.
33. Beaulieu A., McKay J., Pavelka K. et al. Treatment with the humanized anti-interleukin-6 receptor antibody tocilizumab results in rapid improvements in the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: results from a pooled analysis of clinical trial data from option and toward. *Ann Rheum Dis* 2008;67(Suppl. II):195.
34. Smolen J.S., Beaulieu A., Rubbert-Roth A. et al. Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet* 2008;371:987–97.
35. Genovese M.C., McKay J.D., Nasonov E.L. et al. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs: the tocilizumab in combination with traditional disease-modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthr Rheum* 2008;58:2968–80.
36. Emery P., Keystone E., Tony H.P. et al. IL-6 receptor inhibition with tocilizumab improves treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumour necrosis factor biologicals: results from a 24-week multicentre randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1516–23.
37. Nishimoto N., Miyasaka N., Yamamoto K. et al. Relationship between serum IL-6 levels after tocilizumab treatment and clinical remission in active rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2008;67(Suppl. II):90.

Поступила 13.01.2011