УДК 617.72-002.77:616.018.74-008.6

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ МЕДИАТОРЫ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Князева Л.И., Мещерина Н.С., Князева Л.А., Горяйнов И.И., Степченко М.А., Безгин А.В.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: n.mescherina@yandex.ru

Проведено изучение взаимосвязи провоспалительных медиаторов (вч-СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-1β) с показателями функционального состояния эндотелия на микро- и макроциркуляторном уровне сосудистого русла у больных РА без сопутствующей кардиоваскулярной патологии. Учитывали клинико-иммунологический вариант и длительность заболевания. Полученные результаты свидетельствуют, что гиперпродукция ФНО-α и ИЛ-1β на ранних стадиях РА индуцирует дисфункцию эндотелия преимущественно на микроциркуляторном уровне, в то время как избыточный синтез ИЛ-6 и вч-СРБ по мере прогрессирования заболевания потенцирует развитие макрососудистой эндотелиальной дисфункции, в большей степени при РФ/АЦЦП-серопозитивном субтипе.

Ключевые слова: окклюзионная проба, провоспалительные цитокины, ревматоидный артрит, эндотелиальная дисфункция

PROINFLAMMATORY MEDIATORS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Knyazeva L.I., Mescherina N.S., Knyazeva L.A., Goryaynov I.I., Stepchenko M.A., Bezgin A.V.

Kursk State Medical University Ministry of Health of Russia, Kursk, e-mail: n.mescherina@yandex.ru

The study of the relationship of proinflammatory mediators (hs-CRP, TNF-α, IL-6 and IL-1β) with indicators of endothelial function at the micro level and makrotsirkulyatornom vascular bed in RA patients without concomitant cardiovascular disease. Take into account the clinical and immunological variant and disease duration. The results suggest that overproduction of TNF-α and IL-1β in the early stages of RA induces endothelial dysfunction mainly on the microcirculatory level, while the excessive synthesis of IL-6 and hs-CRP as the disease progresses potentiates the development of macrovascular endothelial dysfunction, more degree at RF / CCPA-seropositive subtype.

Keywords: occlusion test, proinflammatory cytokines, rheumatoid arthritis, endothelial dysfunction

В связи с широкой распространенностью, тяжелым течением с развитием прогрессирующей деструкции хрящевой и костной ткани, ранней инвалидизацией больных ревматоидный артрит (РА) имеет большое общемедицинское и социальное значение, приводя к колоссальным экономическим потерям [3]. Существенно отягощающим проблему РА аспектом является высокая распространенность сердечно-сосудистой патологии и избыточная смертность, обусловленная атеросклеротическим поражением сосудов, при данном заболевании [8]. Принимая во внимание наличие хронического иммунно-воспалительного процесса при РА, приводящего к увеличению содержания в крови белков острой фазы, цитокинов, хемокинов и молекул адгезии [7], перспективным направлением исследований является изучение вклада «болезнь-опосредованных» факторов риска в развитие и прогрессирование ССЗ. Необходимо отметить, что наиболее ранним этапом атерогенеза является эндотелиальная дисфункция (ЭД), одним из наиболее распространенных методов неинвазивной диагностики которой в настоящее время является определение вазомоторной функции эндотелия как в микроциркуляторном русле, так и в сосудах большего калибра [2]. При этом маркеры и механизмы прогрессирования атеросклеротического поражения сосудистого русла при РА в условиях персистирующего аутоиммунного воспаления остаются предметом научных дискуссий, что обусловливает актуальность проведения дальнейших исследований.

Целью исследования явилось изучение связи провоспалительных медиаторов (вч-СРБ, ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-1β) с показателями функционального состояния эндотелия микро- и макроциркуляторного артериального русла у больных РА без сопутствующей кардиоваскулярной патологии.

Материалы и методы исследования

Обследовано 84 больных с достоверным по критериям ACR (1987) и/или ACR/EULAR (2010) диагнозом РА, длительностью заболевания от 6 месяцев до 5 лет. Средний возраст больных РА составил 39,4 [31, 6; 49,1] лет.

Критерии включения: возраст не моложе 18 и не старше 50 лет, активное течение РА в течение последних 3 месяцев, индекс DAS28 на момент включения в исследование – 3,2 балла и выше, сохраненная способность к самообслуживанию, информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: низкая активность РА (индекс DAS28 менее 3,2 баллов), наличие коморбидной кардиоваскулярной патологии (АГ, любые формы ИБС, ХСН), СД, заболеваний почек (уровень креатинина выше 133 мкмоль/л) и печени (уровень АСТ, АЛТ, билирубина в 3 и более раза превышающие нормальные значения), ожирения (ИМТ более 30кг/м^2), прием преднизолона или его эквивалентов внутрь в дозе более 20 мг/сут.

Среди обследованного контингента преобладали женщины (n = 67), внесуставные проявления РА определялись у 68 (80 %) больных, наиболее часто встречались: ревматоидные узелки – у 38 (55 %) больных, амиотрофический синдром – у 49 (72 %) больных, анемия – у 18 (26 %) больных, периферическая нейропатия – у 12 (18 %) больных, капилляриты – у 8 (12 %) больных. Большинство больных РА (n = 61) до включения в исследование получали в качестве БПВП метотрексат (15,0-20,0 мг/ неделю), 32 пациента принимали системные глюкокортикоиды (ГК). У 14 пациентов с РА, включенных в исследование, имел место отягощенный по ССЗ семейный анамнез, умеренный (n = 52) или низкий (n = 18) кардиоваскулярный риск (КВР) при оценке по шкале SCORE.

Все больные РА, включенные в исследование, с учетом иммунологического субтипа и длительности заболевания были рандомизированы на 4 группы: 1-я группа – больные с дительностью РФ/АЦЦП-негативного РА менее 2-х лет (n = 18), 2-я группа – больные с длительностью РФ/АЦЦП-негативного РА более 2-х лет (n = 22), 3-я группа – больные с длительностью РФ/АЦЦП-позитивного РА менее 2-х (n = 24). 4-я группа – больные с длительностью РФ/АЦЦП-позитивного РА более 2-х лет (n = 20).

Группу контроля составили 26 клинически здоровых лиц в возрасте 38,6 [32,1; 47,8] лет (из них 20 (77 %) женщин и 6 (23 %) мужчин).

В ходе исследования у больных РА иммуноферментным методом оценивали уровень IgM РФ и АЦЦП («ORGenTec Diagnostika», Германия). Концентрацию С-реактивного белка (вч СРБ) определяли высокочувствительным иммуноферментным методом («F. Hoffman-LaRoche», Австрия). Содержание в сыворотке крови ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 устанавливали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург) в соответствии с прилагаемыми инструкциями.

Исследование эндотелиальной функции включало проведение пробы с реактивной гиперемией на аппарате «АнгиоСкан-01» (ООО «АнгиоСкан-Электроникс», Россия) в соответствии с требованиями по подготовке испытуемого и процедуре проведения теста [4].

Статистическая обработка цифровых данных произведена с применением стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA Base for Windows версия 6,0 (StatSoft). Полученные результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом 25–75 процентиль ([25Q;75Q]). Для установления значимости различий между группами применялся непараметрический дисперсионный анализ (ANOVA) по критерию Крускала – Уоллиса. Для оценки взаимосвязи между изучаемыми количественными параметрами применялся метод ранговой корреляции Спирмена (r). Во всех процедурах статистического анализа за критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали p = 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты определения в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6) при РА показали статистически значимое повышение их концентрации во всех группах обследованных больных в сравнении с контролем, при этом выявлены отличия в их содержании у пациентов с различными клинико-иммунологическими вариантами и длительностью РА (табл. 1). Наиболее высокая концентрация ФНО-α и ИЛ-1β имела место у больных с анамнезом РА менее 2-х лет, которая в 1-ой группе в среднем на 22,6 % (p = 0,028) и 18,2 % (p = 0,016) соответственно была выше этих показателей у больных 2-й группы. Средняя концентрация ФНО-α у пациентов 3-ей группы на 12,6 % (p = 0,046), ИЛ-1β на 10,6 % (p = 0,048) превосходила данные показатели у больных 4-ой группы. При этом более низкий уровень ИЛ-6 определен в сыворотке крови пациентов 1-ой группы, который соответственно на 21,2 % (p = 0,02) и на 23,5 % (p = 0,026) был ниже, чем во 2-ой и 4-ой группах обследованных. Следует подчеркнуть, что наибольший уровень ФНО-α (206,1 [168,3; 248,4] пг/мл, p = 0,001) и ИЛ-1β (164,7 [140,3; 180,1] пг/мл, p = 0,001) имел место у больных 1-ой группы; при этом максимальная концентрация ИЛ-6 (234,6 [212,3; 288,1] пг/мл, p = 0,001) отмечалась у больных 4-й группы.

Выполненный корреляционный анализ показал наличие взаимосвязей между уровнем провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6), длительностью (r = 0,61, p = 0,001; r = 0,54, p = 0,01 и r = 0,88, p = 0,008 соответственно) и активностью РА (индекс DAS 28) (r = 0,62, p = 0,001; r = 0,56, p = 0,04 и r = 0,64, p = 0,01 соответственно). Кроме того, выявлено наличие прямых связей между уровнем ИЛ-6 и концентрацией РФ и АЦЦП (r = 0,54, p = 0,022 и r = 0,61, p = 0,018 соответственно); обратная зависимость имела место между концентрацией ФНО-α, уровнем РФ и АЦЦП (r = –0,48, p = 0,039 и r = –0,62, p = 0,01).

Определенные в нашем исследовании различия в содержании провоспалительных цитокинов у больных РА во многом обусловлены их свойствами, установленными в экспериментальных моделях, показавших, что ФНО-α и ИЛ-1β принадлежит ведущая роль в развитии острого воспалительного процесса в суставе, пролиферации синовиальных клеток и формировании паннуса, при этом ИЛ-6 способствует хронизации

процесса, стимулируя остеокластогенез, деструкцию костной и хрящевой ткани, и, как следствие, прогрессированию заболевания [6].

Таблица 1

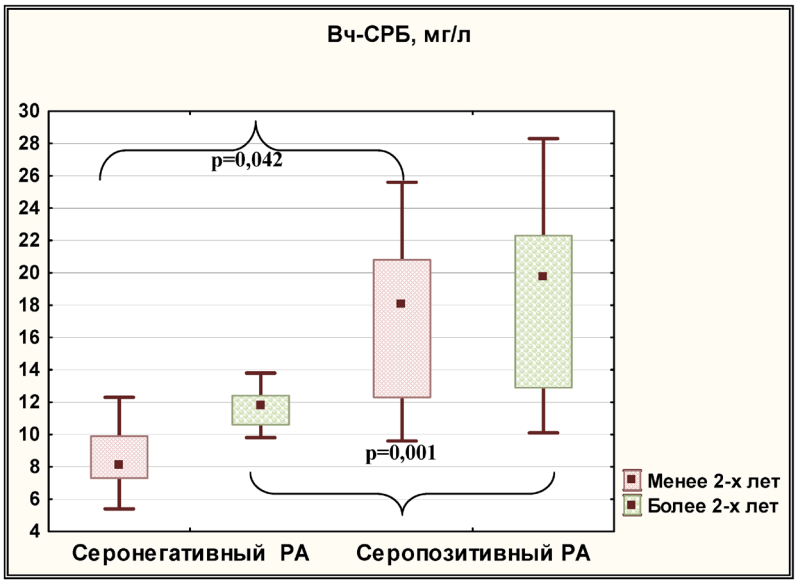
Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных РА

Группа обследованных	№ п/п	Показатель					
		ФНО-α, пг/мл		ИЛ-1β, пг/мл		ИЛ-6, пг/мл	
Контроль (n = 24)	1	34,3 [16,3; 41,1]	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,008$ $p_{2-3} = 0,028$ $p_{1-4} = 0,001$ $p_{1-5} = 0,012$ $p_{4-5} = 0,046$	28,9 [4,07; 30,2]	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,016$ $p_{1-4} = 0,001$ $p_{1-5} = 0,004$ $p_{4-5} = 0,048$	8,78 [4,13; 30,47]	$p_{1-2} = 0,005$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,02$ $p_{1-4} = 0,008$ $p_{1-5} = 0,001$ $p_{4-5} = 0,026$
1-я группа (n = 18)	2	206,1 [168,3; 248,4]		164,7 [140,3; 180,1]		136,5 [121,6; 161,8]	
2-я группа (n = 22)	3	146,4 [109,7; 204,6]		116,3 [98,5; 146,8]		177,3 [140,8; 208,6]	
3-я группа (n = 24)	4	168,6 [150,7; 183,4]		148,2 [130,4; 168,2]		183,4 [169,1; 201,5]	
4-я группа (n = 20)	5	142,3 [119,2; 182,7]		135,7 [116,3; 158,6]		234,6 [212,3; 288,1]	

Примечание. Здесь и далее полученные результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом 25–75 процентиль ([25Q; 75Q]), статистическую значимость определяли с помощью ДА (ANOVA) по критерию Крускала – Уоллиса, разницу показателей считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Определение уровня вч-СРБ в сыворотке крови больных с серонегативным по РФ/АЦЦП РА показало значимо большую концентрацию вч-СРБ во 2-ой группе, которая в среднем на 28,6% ($p = 0,05$) превышала его содержание у больных 1-ой группы (рис. 1). При этом в 4-ой группе обследованных уровень вч-СРБ был выше показателей 2-ой и 3-ей групп в 1,3 раза ($p = 0,05$) и в 1,6 раза ($p = 0,001$) соответственно.

Известно, что вч-СРБ является одним из основных маркеров воспаления, при этом ведущими факторами, стимулирующими его образование, наряду с ИЛ-6 являются ИЛ-1β, ФНО-α, что косвенно подтверждается установленными в нашей работе корреляционными связями между данными медиаторами ($r = 0,68$, $p = 0,02$; $r = 0,49$, $p = 0,05$; $r = 0,53$, $p = 0,042$ соответственно). Так же определена прямая корреляция между уровнем вч-СРБ и индексом DAS28 ($r = 0,78$, $p < 0,0001$); вч-СРБ и концентрацией IgM РФ, АЦЦП ($r = 0,52$, $p = 0,02$; $r = 0,61$, $p = 0,05$ соответственно).



Концентрация вч-СРБ в сыворотке крови больных РА в зависимости от клинико-иммунологического варианта и длительности заболевания

Сравнительная оценка показателей вазомоторной функции эндотелия у больных РА показала снижение индекса окклюзии по амплитуде по сравнению с контролем в 1-ой группе в среднем на 25,7% ($p = 0,04$) и на 46,3% ($p = 0,01$) во 2-ой группе (табл. 2). Надо отметить отсутствие статистически значимой разницы между данными показателями в группах больных с различной длительностью РФ/АЦЦП-серонегативного РА ($p = 0,068$). Результаты окклюзионной пробы выявили более низкую величину сдвига фаз между каналами у больных 1-й и 2-й групп в сравнении с контролем в среднем в 1,4 раза ($p = 0,036$) и в 1,7 раза ($p = 0,008$) соответственно.

Таблица 2

Параметры окклюзионной пробы у больных РА

Группа обследованных	№ п/п	Показатель			
		Индекс окклюзии по амплитуде		Сдвиг фаз между каналами, мс	
Контроль (n = 24)	1	2,1 [1,8; 2,3]	$p_{1-2} = 0,04$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} = 0,068$ $p_{1-4} = 0,03$ $p_{1-5} = 0,01$ $p_{4-5} = 0,08$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-5} = 0,008$	11,2 [8,1; 15,4]	$p_{1-2} = 0,036$ $p_{1-3} = 0,008$ $p_{2-3} = 0,055$ $p_{1-4} = 0,008$ $p_{1-5} = 0,001$ $p_{4-5} = 0,04$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-5} = 0,008$
1-я группа (n = 18)	2	1,55 [1,3; 1,8]		8,0 [5,7; 9,9]	
2-я группа (n = 22)	3	1,4 [1,2; 1,8]		6,8 [4,1; 9,3]	
3-я группа (n = 24)	4	1,4 [1,1; 1,7]		1,2 [0,9; 1,6]	
4-я группа (n = 20)	5	7,1 [5,7; 8,7]		4,9 [1,6; 7,8]	

При РФ/АЦЦП-серопозитивном РА также было выявлено снижение индекса окклюзии по амплитуде, причем у больных 3-ей группы этот показатель был ниже в среднем на 34,6% ($p = 0,03$), а в 4-ой группе – на 42,3% ($p = 0,01$) в сравнении с контрольным. При серопозитивном варианте РА величина сдвига фаз между каналами у больных 4-й группы была более чем в 3 раза ($p = 0,001$) ниже контрольной; в 3-ей группе пациентов её значение было на 30,8% ($p = 0,04$) меньше контроля. Установлены взаимосвязи между длительностью РА, индексом окклюзии по амплитуде ($r = – 0,53$, $p = 0,01$) и показателем сдвига фаз по каналам ($r = – 0,42$, $p = 0,022$); обратные зависимости были определены между индексом окклюзии по амплитуде и DAS28 ($r = – 0,68$, $p = 0,01$); между показателем сдвига фаз по каналам и уровнем IgM РФ ($r = – 0,52$, $p = 0,01$).

Полученные данные свидетельствуют о наличии у больных РА без ССЗ вазомоторной дисфункции эндотелия, как в системе мелких резистивных сосудов (снижение индекса окклюзии по амплитуде менее 2,0), так и в крупных мышечных артериях (уменьшение величины сдвига фаз между каналами менее 10 мс) уже при ранних стадиях заболевания.

Проведенный корреляционный анализ выявил обратные зависимости между уровнем провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6) и характеристиками вазомоторной функции эндотелия: индексом окклюзии по амплитуде ($r = – 0,64$, $p < 0,001$; $r = – 0,56$, $p < 0,01$; $r = – 0,66$, $p < 0,001$ соответственно) и величиной сдвига фаз между каналами ($r = – 0,48$, $p < 0,01$; $r = – 0,52$, $p < 0,01$; $r = – 0,64$, $p < 0,01$ соответственно. Таким образом, ФНО-α, ИЛ-1β потенцируют развитие вазомоторной дисфункции эндотелия преимущественно в системе мелких резистивных сосудов, в основном за счет локальных эффектов провоспалительных цитокинов на сосудистую стенку, включающего гиперэкспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелиоцитов с развитием воспалительной инфильтрации, что приводит к активации системы свертывания крови и усиливает тромбогенную и вазоконстрикторную активность эндотелия [9].

В свою очередь ИЛ-6 путем активации эндотелиальных клеток, пролиферации и миграции гладкомышечных клеток [5], усиливает продукцию и агрегацию тромбоцитов, повышает секрецию СРБ, транскрипцию гена фактора VIII, экспрессию поверхностного тканевого фактора моноцитами, уровень циркулирующего фактора Виллебранда и снижает концентрацию протеина S и антитромбина [1], обусловливая тем самым прогрессирование микро- и макроциркуляторной дисфункции эндотелия.

Также выявлены обратные корреляционные зависимости между концентрацией вч-СРБ, индексом окклюзии по амплитуде и величиной сдвига фаз между каналами ($r = – 0,54$, $p < 0,05$ и $r = – 0,68$, $p < 0,001$ соответственно). Известно, что данный медиатор участвует в активации

гладкомышечных клеток и сосудов, уменьшает образование NO, что приводит к нарушению вазореактивности эндотелия и запускает проатерогенные, провоспалительные и прокоагуляционные эффекты в сосудистом эндотелии [9]. Указанные механизмы лежат в основе самоподдержания и хронизации воспаления в эндотелии сосудистого русла, прогрессирования ЭД при РА.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что гиперпродукция ФНО-α и ИЛ-1β на ранних стадиях РА индуцирует дисфункцию эндотелия преимущественно на микроциркуляторном уровне, в то время как избыточный синтез ИЛ-6 и вч-СРБ по мере прогрессирования заболевания потенцирует развитие макрососудистой эндотелиальной дисфункции, в большей степени при РФ/АЦЦП-серопозитивном субтипе.

Список литературы

1. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита / под ред. Е.Л. Насонова. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2013. – 552 с. : ил.

2. Канищева Е.М., Федорович А.А. Возможности оценки состояния микроциркуляторного русла и стенок крупных сосудов // Сердце. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 65–70.

3. Насонов Е.Л. Ревматоидный артрит: проблемы и значение персонифицированной медицины // Терапевт. арх. – 2012. – № 5. – С. 5–9.

4. Парфёнов А.С. Экспресс диагностика сердечно-сосудистых заболеваний // Мир измерений. – 2008. – № 6. – С. 74–82.

5. Попкова Т.В., Новикова Д.С., Насонов Е.Л. Интерлейкин-6 и сердечно-сосудистая патология при ревматоидном артрите // Науч.-практ. ревматология. – 2011. – № 4. – С. 64–72.

6. Сидигин Я.А., Лукина Г.В. Биологическая терапия в ревматологии: 2–е изд., доп. – М.: Практ. медицина, 2009. – 302 с.

7. Bartoloni E., Shoenfeld Y., Gerli R. Inflammatory and autoimmune mechanisms in the induction of atherosclerotic damage in systemic rheumatic diseases: two faces of the same coin // Arthritis Care Res. – 2011. – Vol. 63, № 2. – P. 178–183.

8. Kaplan M.J. Cardiovascular complications of Rheumatoid Arthritis. Assessment, prevention and treatment // Rheum. Dis. Clin. North. Am. – 2010. – Vol. 36, № 2. – P. 405–426. DOI:10.1016/j.rdc.2010.02.002.

9. Kozera L., Andrews J., Morgan A.W. Cardiovascular risk and rheumatoid arthritis–the next step: differentiating true soluble biomarkers of cardiovascular risk from surrogate measures of inflammation // Rheumatology. – 2011. – Vol. 50, № 11. – P. 1944–1954.

References

1. Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita / pod red. E.L. Nasonova. M.: IMA-PRESS, 2013. 552 p.: il.

2. Kanishcheva E.M., Fedorovich A.A. Vozmozhnosti otsenki sostoyaniya mikrotsirkulyatornogo rusla i stenok krupnykh sosudov // Serdtse. 2010. T. 9, no. 1. pp. 65–70.

3. Nasonov E.L. Revmatoidnyy artrit: problemy i znachenie personifitsirovannoy meditsiny // Terapevt. arkh. 2012. no. 5. pp. 5–9.

4. Parfyenov A.S. Ekspress diagnostika serdechno-sosudistykh zabolevaniy // Mir izmereniy. 2008. no. 6. pp. 74–82.

5. Popkova T.V., Novikova D.S., Nasonov E.L. Interleykin-6 i serdechno-sosudistaya patologiya pri revmatoidnom artrite // Nauch.-prakt. revmatologiya. 2011. no. 4. pp. 64–72.

6. Sidigin Ya.A., Lukina G.V. Biologicheskaya terapiya v revmatologii: 2–e izd., dop. M.: Prakt. meditsina, 2009. 302 p.

7. Bartoloni E., Shoenfeld Y., Gerli R. Inflammatory and autoimmune mechanisms in the induction of atherosclerotic damage in systemic rheumatic diseases: two faces of the same coin // Arthritis Care Res. 2011. Vol. 63, no. 2. pp. 178–183.

8. Kaplan M. J. Cardiovascular complications of Rheumatoid Arthritis. Assessment, prevention and treatment // Rheum. Dis. Clin. North. Am. 2010. Vol. 36, no. 2. pp. 405–426. DOI:10.1016/j.rdc.2010.02.002.

9. Kozera L., Andrews J., Morgan A.W. Cardiovascular risk and rheumatoid arthritis–the next step: differentiating true soluble biomarkers of cardiovascular risk from surrogate measures of inflammation // Rheumatology. 2011. Vol. 50, no. 11. pp. 1944–1954.