

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ СИМВАСТАТИНОМ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Ширинский И.В., Ширинский В.С.

Лаборатория клинической иммунофармакологии ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

Резюме. Терапия статинами приводит к клиническому улучшению у одной трети больных ревматоидным артритом (РА). Целью настоящего исследования являлось определение факторов, позволяющих до начала лечения прогнозировать развитие клинического ответа при приеме симвастатина. Изучалась связь эффективности терапии с базовыми клиническими и лабораторными параметрами – показателями активности болезни, содержанием цитокинов в сыворотке и супернатантах культур мононуклеаров периферической крови. В исследование было включено 33 больных с активным РА. В течение 3 месяцев пациенты получали терапию симвастатином 40 мг в сутки. Умеренный ответ в соответствии с критериями EULAR развился у 11 (33%) пациентов. Показано, что содержание IL-10 в сыворотке было выше у респондеров и положительно коррелировало с клиническим ответом на терапию симвастатином. Был проведен ROC-анализ определения операционных характеристик теста прогнозирования клинического ответа на симвастатин, основанного на определении сывороточного IL-10. Точкой разделения, соответствующей максимальным показателями чувствительности и специфичности (89 и 62%) была 6,5 пг/мл. Заключается, что измерение содержания циркулирующего IL-10 до лечения позволяет с достаточной информативностью прогнозировать развитие EULAR-ответа при использовании симвастатина больными РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, прогноз, лечение, статины.

Shirinsky I.V., Shirinsky V.S.

PREDICTION OF CLINICAL EFFICIENCY OF SIMVASTATIN TREATMENT IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract. Treatment with statins results in reduction of disease activity in one-third of patients with rheumatoid arthritis (RA). The aim of this study was to assess some factors that may predict clinical response to simvastatin therapy before starting the treatment. We evaluated an association of treatment efficacy with baseline clinical and laboratory parameters including disease activity measures, cytokine profiles in sera and culture supernatants of peripheral blood mononuclear cells. Thirty-three patients with active RA were enrolled in the study. The patients were treated with simvastatin at 40 mg/day for three months. Eleven patients (33%) developed a moderate response according to EULAR criteria. It was shown that serum IL-10 concentrations was higher in responders, and positively correlated with clinical response to simvastatin. We carried out a receiver operating characteristic curve (ROC) analysis in order to assess the accuracy of serum IL-10 for the predicting of EULAR response development. The cut-off threshold corresponding to the highest sensitivity (89%) and specificity (62%) was a value of 6.5 pg/ml. In conclusion, the performance characteristics of serum IL-10 measurement proved to be good enough to predict EULAR response to simvastatin therapy in RA patients. (*Med. Immunol., vol. 11, N 2-3, pp 221-226*)

Адрес для переписки:

Лаборатория клинической иммунофармакологии
ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14.
Тел./факс: (7-383) 228-25-47.
E-mail: ishirinsky@mail.ru

Введение

Одной из актуальных проблем современной медицины является выявление прогностических факторов, связанных с конкретными исходами заболевания при его клиническом течении. Это касается, в первую очередь, хронических

заболеваний, при которых эффективность лечения достигается после достаточно продолжительной терапии и лишь у части пациентов.

Ранее нами было показано, что при применении симвастатина у больных ревматоидным артритом (РА) регистрируется более выраженное снижение DAS28, чем в группе контроля [1]. Размер эффекта составил 0,76 (95% ДИ – 0,01-1,5), что согласно критериям Cohen следует считать умеренным эффектом [5]. В соответствии с этим умеренный ответ на лечение симвастатином выявлен у 1/3 пациентов (33%), что совпадает с данными исследования TARA [9], показавшими, что EULAR-ответ при использовании аторвастатина регистрируется у 31% больных РА. Поскольку клинически значимое улучшение при применении статинов развивается у небольшой части пациентов, актуальным является поиск прогностических факторов, определяющих ответ на терапию. Выявление таких факторов позволит индивидуализировать терапию и улучшить фармакоэкономические параметры.

Задачей настоящего исследования являлось выявление предикторов ответа на лечение симвастатином больных РА.

Материалы и методы

Настоящее исследование является частью работы по оценке эффективности и безопасности симвастатина у больных РА, основные результаты которого были представлены ранее [1, 2]. В открытое сравнительное исследование с непараллельным контролем было включено 33 пациента с активным РА.

Основными критериями включения были возраст от 18 до 80 лет; РА, удовлетворяющий пересмотренным критериям Американской коллегии ревматологов 1987 года [3]; активный РА, определяемый как число припухших суставов ≥ 6 плюс одно из перечисленного:

- число болезненных суставов ≥ 9 ;
- утренняя скованность ≥ 30 минут;
- СОЭ ≥ 28 мм/час.

Пациенты могли получать любые DMARDs в стабильной дозировке за 1 месяц до включения в исследование. В течение исследования запрещалось увеличивать дозу DMARD или принимать новые DMARD.

Группа контроля была сформирована из 9 пациентов, принимавших плацебо в сочетании с DMARD.

Дополнительно к проводимой терапии пациентам опытной группы назначался симвастатин в дозе 40 мг однократно в сутки в течение 12 недель.

В конце терапии проводилась оценка ответа на лечение в соответствии с критериям Европей-

ской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism, EULAR) [14]. В зависимости от наличия EULAR-ответа опытная группа пациентов была подразделена на подгруппы респондеров и нереспондеров.

Далее изучалась способность следующих клинических и лабораторных параметров прогнозировать развитие EULAR-ответа после терапии симвастатином.

Клинические параметры

Оценивался индекс активности болезни с 28-суставным счетом (disease activity score with 28 joint count, DAS28), основанный на числе припухших и болезненных суставов, уровня СОЭ и общей оценке состояния здоровья пациентом по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) [10]. Помимо этого, у пациентов регистрировали продолжительность утренней скованности, уровень боли по ВАШ, степень влияния артрита на качества жизни с помощью опросника состояния здоровья (Health Assessment Questionnaire, HAQ) [7], активность болезни, оцениваемую по ВАШ пациентом и врачом.

Лабораторные параметры

У каждого больного до курса лечения было забрано по 16 мл венозной крови в обработанные гепарином пробирки (Vacuette, Greiner Labor technik, Kremsmünster, Austria). МНК ПК выделялись на градиенте плотности фиколл-верографин в соответствии с методом Boyum [4]. Далее МНК ПК (1×10^6 /мл) культивировали в среде RPMI-1640 («Sigma», США), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 10% фетальной сыворотки теллят («Sigma», США). Для стимуляции использовались моноклональные анти-CD3-антитела ICO-90 (анти-CD3, «Медбиоспектр», Москва) в концентрации 1 мкг/мл. в сыворотках и супернатантах культур МНК ПК, собранных через 48 часов после начала культивирования, оценивалось содержание IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ , IL-10 и IL-17. Содержание цитокинов определялось с помощью коммерческих наборов для проведения иммуноферментного анализа (IL-6, IL-8, TNF α и IFN γ ELISA-Best, Вектор-Бест, Россия и IL-10 и IL-17A ELISA Ready-SET-Go!, eBioscience, USA) в соответствии с инструкциями производителя. Пороговые величины определения IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ , IL-10 и IL-17 были 0,5 пг/мл, 2 пг/мл, 2 пг/мл, 2 пг/мл, 2 пг/мл и 4 пг/мл соответственно.

С помощью корреляционного анализа проводилось выявление ассоциации выраженности изменения DAS28 в динамике лечения с базовыми клиническими и лабораторными параметрами.

На каждом визите осуществлялась оценка безопасности, включавшая клиническое обследо-

ТАБЛИЦА 1. СРАВНЕНИЕ ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПАЦИЕНТОВ, ОТВЕТИВШИХ И НЕ ОТВЕТИВШИХ НА СИМВАСТАТИН

Параметр	Нереспондеры		Респондеры		р
	Медиана	25-75% квартили	Медиана	25-75% квартили	
Возраст, лет	55	50-68	49	42,5-56,5	0,071
Продолжительность болезни, лет	10	5-14	8,5	5,5-10,75	0,709
DAS28	6,59	6,14-7,46	7,07	6,23-7,918	0,337
Число припухших суставов	11	8-14	11,5	9-15,75	0,454
Число болезненных суставов	22	14-26	19,5	14,5-26,5	0,829
Утренняя скованность, мм	120	70-420	180	55-1080	0,922
Уровень боли (ВАШ), мм	55	40-65	56,5	48-67	0,624
Активность болезни (врач)	60	60-80	60	60-72,5	0,722
Активность болезни (пациент)	70	50-80	65	47,5-70	0,562
Общее состояние здоровья	60	50-70	62,5	54,5-71,25	0,582
HAQ	1,75	1,375-2,125	2	1-2,281	0,953
СОЭ, мм/ч	33	18-62	51	34,75-58,5	0,147

дование, определение активности трансаминаз в сыворотке крови. Визиты проводились 1 раз в 4 недели.

Для сравнения непрерывных параметров использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Для выявления различий между категориальными параметрами применялся критерий χ^2 . Корреляционный анализ осуществлялся с использованием критерия Спирмана. Для определения способности клинических и лабораторных параметров предсказывать развитие клинического ответа на терапию статинами использовались кривые ROC (receiver-operator characteristic). Построение ROC заключается в расположении на осях X и Y частоты истинно положительных результатов (чувствительность) и ложно положительных результатов (100-специфичность) для каждой точки разделения. Для чувствительности и специфичности подсчитывались 95% доверительные интервалы (ДИ). Каждая точка на кривой ROC соответствует определенной точке разделения [6]. Статистический анализ и построение графиков проводились с помощью компьютерной программы Graph Pad Prism 4 (USA).

Результаты

У 11 (33%) больных опытной группы зарегистрирован умеренный ответ в соответствии с критериями EULAR. Как сообщалось нами ранее, в группе симвастина по сравнению с группой контроля выявлялось достоверно более выраженное снижение показателей активности болезни [1]. В последующем на основании критериев EULAR опытная группа была подразделена

на подгруппы ответивших на терапию симвастином (респондеры) и не ответивших (нереспондеры).

Респондеры и нереспондеры не отличались по демографическим и клиническим показателям (табл. 1).

Перечень лабораторных показателей, отобранных нами в качестве кандидатов на роль прогностических критериев клинического ответа, представлен в таблице 2. Установлено, что среди достаточно большого количества параметров достоверные различия между сравниваемыми группами выявлялись только по содержанию сывороточного IL-10. Различий по другим лабораторным и клиническим параметрам между группами выявлено не было.

Сходные закономерности зарегистрированы при использовании корреляционного анализа. Корреляционных связей между динамикой DAS28, клиническими и лабораторными параметрами, за исключением IL-10, не установлено. Рисунок 1 демонстрирует прямую корреляцию базового содержания IL-10 и изменения DAS28 в динамике лечения симвастином.

Эти данные послужили основанием для анализа операционных характеристик теста прогнозирования клинического ответа на симвастин, основанного на определении сывороточного IL-10. Для этого нами была построена характеристическая кривая (receiver-operator curve, ROC).

На рисунке 2 показана ROC кривая для IL-10. Площадь под кривой составила 0,76 (95% доверительный интервал 0,58-0,95, $p = 0,03$). В соответствии с классификацией Swets [13] площадь под ROC кривой от 0,5 до 0,7 свидетельствуют от невысокой точности теста, тест с площа-

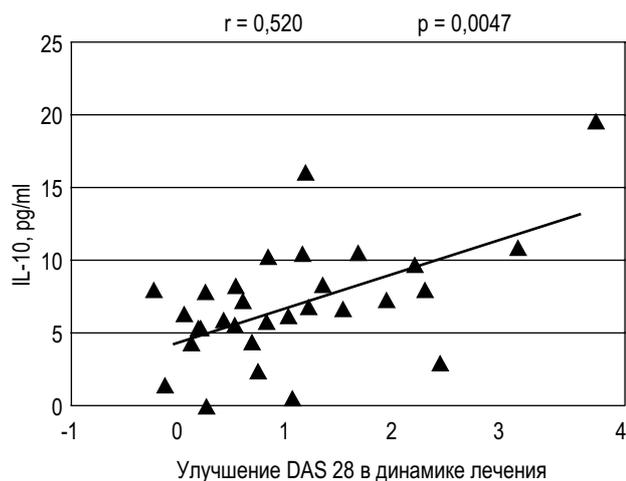


Рисунок 1. Корреляция содержания IL-10 в сыворотке и выраженности улучшения DAS28

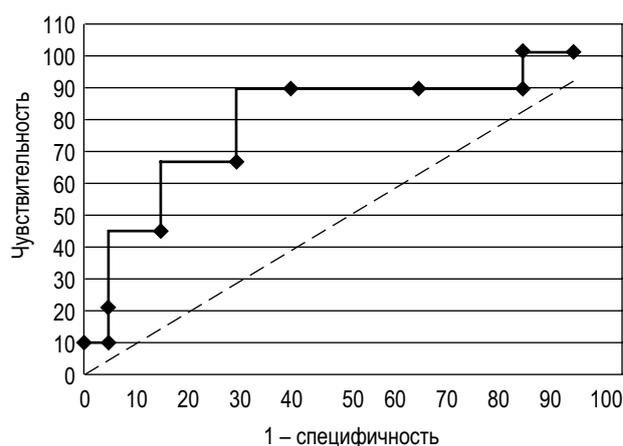


Рисунок 2. Кривая ROC, иллюстрирующая отношение между чувствительностью и специфичностью для различных точек разделения содержания сывороточного IL-10 в отношении прогнозирования EULAR-ответа

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКАХ (СЫВ.) И СУПЕНАТАНТАХ КУЛЬТУР СТИМУЛИРОВАННЫХ (С) И НЕСТИМУЛИРОВАННЫХ (НС) МНК ПК ПАЦИЕНТОВ, ОТВЕТИВШИХ И НЕ ОТВЕТИВШИХ НА ТЕРАПИЮ СИМВАСТАТИНОМ

Цитокин	Содержание цитокинов (пг/мл)				p
	Респондеры		Нереспондеры		
	Медиана	25-75% квартили	Медиана	25-75% квартили	
IFN γ сыв.	13,47	1,325-19,15	5,71	4,86-16,53	0,8383
IL-6 сыв.	18,37	7,265-41,32	26,7	11,49-41,1	0,7514
TNF α сыв.	2,86	2,185-3,505	2,53	2,03-3,06	0,3774
IL-8 сыв.	12,87	1,775-27,29	11,91	4,37-21,58	0,6186
IL-17 сыв.	120,3	27,68-202,4	169,6	121,5-197,7	0,2767
IL-10 сыв.	5,99	4,53-8,005	8,33	7,095-10,72	0,025
IL-17 (нс)	13,83	0,1625-28,52	2,28	0-4,56	0,3549
IL-17 (с)	180,1	84,23-469,8	49,45	16,09-82,8	0,1778
IL-10 (нс)	3,67	0-12,59	3,515	1,04-5,99	0,8949
IL-10 (с)	346,9	29,3-746,3	523,2	474-572,4	0,8949
IFN γ (нс)	15,72	3,978-21,42	3,05	0,085-14,91	0,2828
IFN γ (с)	16926	1447-37224	2102	1140-30544	0,6993
TNF α (нс)	5,605	3,375-11,77	3,93	1,88-11,12	0,6828
TNF α (с)	291,2	86,2-2476	194,7	166,3-2410	0,7879
IL-6 (нс)	206,2	140,9-278,1	264,8	258,3-343,2	0,1535
IL-6 (с)	2966	1099-3119	333,4	303,7-2478	0,3677
IL-8 (нс)	447,1	330,2-448,3	285,3	277,3-404,4	0,106
IL-8 (с)	29655	5804-31193	280,7	278,2-23973	0,6828

дью под кривой ROC от 0,7 до 0,9 может быть использован в практике и площадь под ROC кривой выше 0,9 характеризует тест, обладающий высокой точностью. На основании кривой ROC, представленной на рисунке 2, были подсчитаны чувствительность и специфичность для различных точек разделения (табл. 2). Точкой разделения, соответствующей максимальным показателями чувствительности и специфичности, была 6,5 пг/мл. Этой точке разделения соответствуют чувствительность 89%, специфичность 62% и отношение правдоподобия 2,33 (табл. 2).

Обсуждение

При разработке прогностических тестов ROC кривая показывает, насколько сложен компромисс между чувствительностью и специфичностью прогностического теста. В нашем исследовании в качестве оптимальной точки разделения выбрано содержание IL-10 в сыворотке 6,5 пг/мл. Тест обладает высокой чувствительностью (89%), и при принятии решения о назначения симвастатина у больных РА будет пропущен всего лишь один больной из десяти потенциальных респондеров.

Относительно невысокая специфичность (62%) теста при выбранной точке разделения может привести к тому, что у достаточно большой части пациентов (38%) с положительным результатом теста клинический ответ на симвастатин не будет развиваться. Однако это не снижает клинической ценности теста, принимая во внимание липидкорректирующее, антиатеросклеротическое действие статинов, их низкую стоимость и хорошую переносимость.

Таким образом, в выбранном компромиссе между чувствительностью и специфичностью теста при использовании низкотоксичных и недорогих препаратов предпочтение следует отдать высокочувствительным тестам, возможно, даже в ущерб специфичности. В таком случае клиницист получает возможность выявлять максимально большее количество пациентов, у которых терапия будет эффективна.

Вряде исследований предпринимались попытки определения предикторов клинического ответа на стандартные болезнь-модифицирующие препараты у больных РА. Так, Seitz et al. показали, что продукция IL-1 β или отношение содержания синтеза IL-1 α /IL-1 β в культурах МНК ПК может использоваться для предсказания эффективности терапии метотрексатом. Клинический ответ на метотрексат не был сопряжен с содержанием сывороточных цитокинов [11]. в другой работе было показано, что повышение LPS-стимулированной продукции IL-10 МНК ПК

ассоциировано с клиническим улучшением при использовании метотрексата [12].

Отсутствие связи продукции про- и противовоспалительных цитокинов МНК ПК *ex vivo* и клинического ответа на симвастатин, выявленное в настоящем исследовании, можно объяснить несколькими причинами. Это может свидетельствовать о принципиально иных, по сравнению с метотрексатом, молекулярных механизмах противовоспалительных эффектов статинов при РА [8]. Можно предположить, что клетками-мишенями статинов являются, в первую очередь, синовиальные фибробласты [15], а не иммунокомпетентные клетки.

Таким образом, измерение содержания сывороточного IL-10 до начала терапии позволяет с достаточной информативностью прогнозировать развитие EULAR-ответа на терапию симвастатином больных РА.

Список литературы

1. Ширинский И.В., Желтова О.И., Соловьева Н.Ю., Ширинский В.С., Козлов В.А. Механизмы действия, эффективность и безопасность использования статинов при ревматоидном артрите // Российский иммунологический журнал. — 2008. — № 2-3. — С. 241.
2. Ширинский И.В., Желтова О.И., Соловьева Н.Ю., Ширинский В.С., Козлов В.А. Клиническая эффективность статинов при ревматоидном артрите — пилотное исследование // Медицинская иммунология. — 2007. — № 4-5. — С. 505-508.
3. Arnett F.C., Edworthy S.M., Bloch D.A., McShane D.J., Fries J.F., Cooper N.S., Healey L.A., Kaplan S.R., Liang M.H., Luthra H.S., et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* — 1988. — Vol. 31. — P. 315-324.
4. Boyum A. Isolation of leucocytes from human blood. A two-phase system for removal of red cells with methylcellulose as erythrocyte-aggregating agent // *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* — 1968. — Vol. 97. — P. 9-29.
5. Cohen J. A power primer. // *Psychol. Bull.* — 1992. — Vol. 112. — P. 155-159.
6. Deyo R.A., Diehr P., Patrick D.L. Reproducibility and responsiveness of health status measures. Statistics and strategies for evaluation // *Control. Clin. Trials.* — 1991. — Vol. 12. — P. 142-158.
7. Fries J.F., Spitz P., Kraines R.G., Holman H.R. Measurement of patient outcome in arthritis // *Arthritis Rheum.* — 1980. — Vol. 23. — P. 137-145.
8. Greenwood J., Steinman L., Zamvil S.S. Statin therapy and autoimmune disease: from protein

prenylation to immunomodulation // Nat. Rev. Immunol. – 2006. – Vol. 6 – P. 358-370.

9. McCarey D.W., McInnes I.B., Madhok R., Hampson R., Scherbakov O., Ford I., Capell H.A., Sattar N. Trial of Atorvastatin in Rheumatoid Arthritis (TARA): double-blind, randomised placebo-controlled trial // Lancet. – 2004. – Vol. 363. – P. 2015-2021.

10. Prevoo M.L., van 't Hof M.A., Kuper H.H., van Leeuwen M.A., van de Putte L.B., van Riel P.L. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis // Arthritis Rheum. – 1995. – Vol. 38. – P. 44-48.

11. Seitz M., Zwicker M., Villiger P.M. Pretreatment cytokine profiles of peripheral blood mononuclear cells and serum from patients with rheumatoid arthritis in different american college of rheumatology response groups to methotrexate // J. Rheumatol. – 2003. – Vol. 30. – P. 28-35.

12. Seitz M., Zwicker M., Wider B. Enhanced in vitro induced production of interleukin 10 by peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid

arthritis is associated with clinical response to methotrexate treatment // J. Rheumatol. – 2001. – Vol. 28. – P. 496-501.

13. Swets J.A. Measuring the accuracy of diagnostic systems // Science. – 1988. – Vol. 240. – P. 1285-1293.

14. van Gestel A.M., Prevoo M.L., van't Hof M.A., van Rijswijk M.H., van de Putte L.B., van Riel P.L. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization / International League Against Rheumatism Criteria // Arthritis Rheum. – 1996. – Vol. 39. – P. 34-40.

15. Yokota K., Miyazaki T., Hirano M., Akiyama Y., Mimura T. Simvastatin inhibits production of interleukin 6 (IL-6) and IL-8 and cell proliferation induced by tumor necrosis factor-alpha in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis // J. Rheumatol. – 2006. – Vol. 33. – P. 463-471.

поступила в редакцию 30.09.2008

принята к печати 25.10.2008