

Г.И. Лысенко  
Л.В. Химион  
И.В. Крикливый

Национальная медицинская академия последипломного образования  
им. П.Л. Шупика, Киев

## СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ВЫБОРА ЭФФЕКТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

**Резюме.** В статье приведен короткий обзор международных исследований, посвященных вопросам современных методов серологической диагностики ревматоидного артрита (РА) с помощью определения антител к циклическому цитруллинсодержащему пептиду (антиЦЦПат). Представлены результаты собственного исследования определения антиЦЦПат в плазме крови разных групп пациентов, изменения этого показателя в процессе лечения, показана возможность применения данного теста для выбора терапии при РА.

### Ключевые слова:

диагностика и лечение ревматоидного артрита (РА), антиЦЦПат.

Ревматоидный артрит (РА) — одно из самых часто развивающихся хронических воспалительных прогрессирующих заболеваний суставов, распространенность которого среди взрослого населения Европы составляет около 0,2–2%.

Персистирующий аутоиммунный системный воспалительный процесс при РА неуклонно и необратимо разрушает костную систему, нарушает функцию суставов, поражает внутренние органы, что приводит к 100% инвалидизации, снижению качества жизни и преждевременной смерти больных.

Благодаря использованию чувствительных современных методов обследования костной системы (МРТ, ультразвуковое сканирование кистей) установлено, что необратимые эрозивные изменения в костно-суставной системе происходят уже на самых ранних стадиях развития РА, а у 30% пациентов выявляют такие изменения уже на момент установления диагноза согласно критериям ACR (1987), что, несомненно, требует пересмотра диагностических критериев РА, дополнения их чувствительными и специфичными лабораторными тестами (Mottonen T.T., 1988; Heijde van der D.M., 1995).

В последнее десятилетие также значительным изменениям подверглась сама парадигма лечения при РА благодаря внедрению в мировую клиническую практику препаратов так называемой биологической терапии, в частности ингибиторов ключевого воспалительного цитокина в патогенезе РА — фактора некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$ . В ряде клинических исследований установлено, что раннее применение комплексного лечения при РА метотрексатом сочетанно с ингибитором ФНО- $\alpha$  не только замедляет прогрессирование поврежденных суставов, но и в некоторых случаях приводит к восстановлению структуры костной ткани (Egsmose S. et al., 1995; Heijde van der D.M. et al., 1996; Strenger A.A. et al., 1998; Lard L.R. et al., 2001; O'Dell J.R., 2002).

Для достижения максимальной эффективности терапии при РА, прекращения прогрессирования/репарации костных повреждений необходи-

мо начинать лечение в ранний период течения РА, «благоприятный период» или «окно возможностей» (window of opportunity) течения раннего артрита (Kim J.M., Weisman M.H., 2000; Moreland L.W., Bridges S.L., 2001; O'Dell J.R., 2002) (рис. 1).

Новая парадигма лечения РА

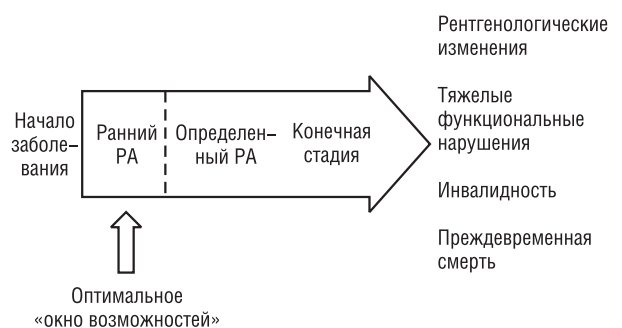


Рис. 1. Лечение пациентов с РА

Промедление в назначении должной терапии обуславливает более быстрое и необратимое течение артрита (Kim J.M., Weisman M.H., 2000; Moreland L.W., Bridges S.L., 2001; Lard L.R. et al., 2001; O'Dell J.R., 2002) (рис. 2).

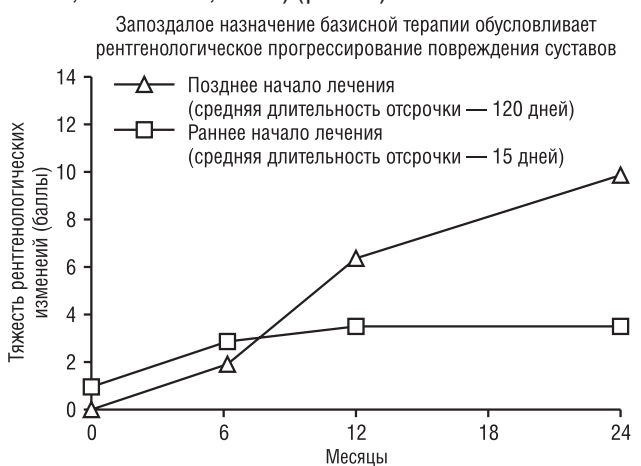


Рис. 2. Связь начала применения базисной терапии и прогрессирования РА

В то же время раннее назначение лечения требует точных методов диагностики, в том числе дифференциальной диагностики артрита; а гетероген-

ность самого РА, течение которого, как известно, варьирует от самолимитирующих, медленно прогрессирующих форм до агрессивного раннего эрозивного артрита, требует также критериев для возможно более раннего прогнозирования течения артрита у конкретного пациента для оптимального подбора медикаментозной терапии.

В течение около 50 лет в качестве такого теста повсеместно применяется определение ревматоидного фактора (РФ), который, однако, на сегодня не вполне соответствует требованиям клиники в связи с невысокой чувствительностью (54–88%) и специфичностью (48–92%). Известно, что РФ в различных титрах выявляют и у здоровых людей, особенно в старшей возрастной группе, определяют при других аутоиммунных заболеваниях, при хронических инфекциях (van Boekel M.A. et al., 2002).

В поисках более точных объективных лабораторных методов диагностики РА установили частую выявляемость среди больных с РА ряда аутоантител — антикератиновых (АКА), к перинуклеарному фактору (АПФ, филаггину) и др. Несмотря на достаточную специфичность (70–99%), эти тесты не получили широкого практического применения из-за трудностей стандартизации и интерпретации результатов — поскольку антитела определяют методом непрямой иммунофлуоресценции, оценка которого субъективна, а субстратом служат ткани пищевода мышей (Girbal-Neuhausser E. et al., 1999; van Boekel M.A. et al., 2002).

Результаты дальнейших исследований в этом направлении свидетельствуют о том, что основным антигенным фактором в указанных соединениях является так называемый цитруллиновый остаток — посттрансляционная модификация аминокислоты аргинина. Цитруллинирование, или деиминизация, — ферментативный процесс, в результате которого положительно заряженная  $\text{NH}_2$ -группа аминокислоты аргинина подвергается гидролизу с образованием нейтральной кислородной группы в составе пептида цитруллина: эта кислородная группа и является участком цитруллина, который распознается антителами у больных с РА (Girbal-Neuhausser E. et al., 1999; Schellkens G.A. et al., 2000; van Boekel M.A. et al., 2002) (рис. 3).

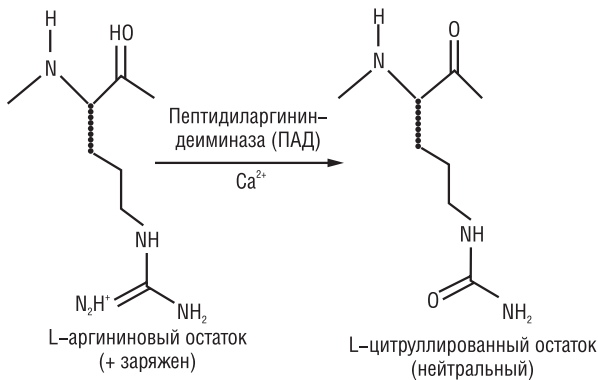


Рис. 3. Цитруллинизация

На сегодня известно 4 типа ферментов (пептидиларгининдеиминаз — ПАД), участвующих в этом преобразовании в человеческом организме, одна-

ко нет точных данных об их субстратной специфичности, локализации в клетках, факторах и путях их активизации. Известно лишь, что эти ферменты обладают тканевой специфичностью; в эксперименте на мышях установлено, что образование и активация ПАД происходит под влиянием женских половых гормонов. Продолжается изучение возможной патогенетической роли цитруллированных пептидов в развитии РА. На сегодня установлено, что цитруллинированные белки образуются в конечный период жизни некоторых клеток; например филаггин подвергается цитруллинированию во время окончательной дифференциации эпидермальных клеток. Виментин и гистоны цитруллинируются в процессе апоптоза макрофагов и HL-клеток. О возможном важном патогенетическом значении цитруллированных производных и антител к ним в развитии РА свидетельствуют следующие факты, полученные в эксперименте и в ходе клинических исследований (Girbal-Neuhausser E. et al., 1999; Masson-Beissare C. et al., 2000; Schellkens G.A. et al., 2000; van Boekel M.A. et al., 2002; Lee D.M., Schur P.H., 2003; van Gaalen F.A. et al., 2004a, b):

- выявление цитруллинированного фибрина в суставных тканях при воспалении;
- локальное образование антител к циклическому цитруллинсодержащему пептиду (антиЦЦПат) в воспаленной синовию сустава;
- достоверно более высокие титры антиЦЦПат в паннусах по сравнению с синовиальной жидкостью и плазмой крови у больных с РА;
- спонтанная продукция В-лимфоцитами синовиальной жидкости антиЦЦП-позитивных больных с РА антиЦЦПат, и отсутствие такой продукции у антиЦЦП-негативных больных;
- имеются отдельные доказательства единства генотипа, индуцирующего развитие РА и образования антиЦЦПат.

Это открытие легло в основу создания новых диагностических тестов с применением циклических цитруллированных пептидов как источника цитруллированных антигенов для выявления антител к ним в плазме крови. На сегодня разработано выявление этих антител (так называемых антиЦЦПат) иммуноферментным методом (ИФА), что дает возможность широко применять этот тест в рутинной лабораторной практике; сейчас наиболее распространена вторая генерация теста (антиЦЦПат-2).

Результаты исследований демонстрируют следующие преимущества применения определения антиЦЦПат: (табл. 1 и 2) (Girbal-Neuhausser E. et al., 1999; Masson-Beissare C. et al., 2000; Schellkens G.A. et al., 2000; van Boekel M.A. et al., 2002; Lee D.M., Schur P.H., 2003; van Gaalen F.A. et al., 2004a, b).

Таблица 1

Чувствительность и специфичность серологических тестов у больных с РА

Тест	Чувствительность, %	Специфичность, %	ППЗ	НПЗ
АнтиЦЦПат	66,0	90,4	82,9	79,0
РФ	71,6	80,3	76,8	75,2
АнтиЦЦПат + РФ	56,9	91,1	85,3	82,4

ППЗ – позитивное прогностическое значение; НПЗ – негативное прогностическое значение.

Таблица 2

## Значение выявления антиЦЦПат в диагностическом титре

Можно считать установленным	Требует дальнейших исследований
Высокоспецифично для РА, в том числе раннего	Участие в патогенезе РА, системных проявлений РА
Предиктор раннего необратимого эрозивного поражения суставов при РА	Прогностическое значение изменения титра для определения эффективности лечения при РА (критерий достижения ремиссии?)
Критерий необходимости назначения ранней комплексной «агрессивной» медикаментозной терапии	Прогностический критерий эффективности применения препаратов биологической терапии РА (критерий отбора пациентов для лечения антиФНО-препаратами?)
Предиктор развития РА при выявлении в высоком титре у здоровых лиц	Прогностическое значение изменения титра для предупреждения/прекращения прогрессирования деструкции суставов

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено определение титра антиЦЦПат у 80 пациентов с разной ревматологической патологией, наблюдавшихся в Киевской областной клинической больнице в 2005–2006 гг., и у здоровых лиц с применением лабораторных тестов «Иммуноскан РА» (Нидерланды) методом ИФА.

1-ю группу составили 50 больных с достоверным РА (соответственно критериям ACR, 1987), 2-ю — 10 больных с остеоартрозом (ОА), 3-ю — 10 больных системной красной волчанкой (СКВ), 4-ю — 10 практически здоровых лиц (некоторые характеристики обследованных пациентов представлены в табл. 3).

Таблица 3

## Характеристика обследованных пациентов

Показатель	Группа			
	1-я (n=50)	2-я (n=10)	3-я (n=10)	4-я (n=10)
Средний возраст, лет	47,6±9,2	53,5±5,2	34,2±7,2	38,5±10,5
Женщины, %	90	70	100	50
Средняя продолжительность основного заболевания, лет	7,1±4,4	3,5±2,8	3,1±1,6	—
Медикаментозная терапия	Метотрексат + НПВП ± ГКС	НПВП + Хондропротекторы	Азатиоприн + НПВП + ГКС	—

НПВП — нестероидный противовоспалительный препарат; ГКС — глюкокортикостероиды.

Всем включенным в исследование больным с РА проводили физикальное обследование, определение активности артрита (DAS28), сбор анамнеза и ответ на применявшееся лечение (метотрексат по 7,5–15 мг/нед + НПВП ± ГКС в дозе не более 15 мг/сут по преднизолону) за предшествующие 6 мес, проводили определение антиЦЦПат в плазме крови методом ИФА.

Концентрацию антиЦЦПат определяли методом ИФА в плазме крови у всех пациентов. Диагностическим считали титр антиЦЦПат более 20 ЕД/мл (согласно инструкции изготовителя тестовых лабораторных наборов).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольшая частота выявления антиЦЦПат зарегистрирована в 1-й группе (36 (72%) пациентов были антиЦЦП-позитивными), в то время как в трех других обследованных группах частота выявления антиЦЦПат в диагностическом титре была достоверно ниже: во 2-й — 0 (0%), 3-й — 1 (10%), 4-й — 0 (0%).

Концентрация антиЦЦПат у обследованных больных с РА колебалась в широких пределах: от 5 до 1600 ЕД/мл, что трактовалось нами следующим образом:

- 5–20 ЕД/мл — отрицательный титр;
- 21–250 ЕД/мл — невысокий;
- >250<1000 ЕД/мл — высокий;
- >1000 ЕД/мл — очень высокий.

Результаты анализа клинико-лабораторных показателей активности РА в динамике за 6 мес в ответ на применяемое стандартное лечение с определением DAS28 (количество болезненных и припухших суставов из 28 анализируемых, СОЭ, общая оценка активности артрита пациентом по визуальной аналоговой шкале) свидетельствуют о том, что у 27 (54%) больных с РА отмечали недостаточный ответ на медикаментозную терапию. В этой подгруппе (группа А) у 24 (88,2%) больных с РА выявлены антиЦЦПат в диагностическом титре, причем у большинства (82,5%) в высоком и очень высоком титре; в то время, как среди пациентов с адекватным клиническим ответом на стандартную терапию РА (группа Б) антиЦЦПат выявлены у 52,1% (разница между группами достоверна), очень высокие титры антиЦЦПат у больных этой подгруппы не отмечены (табл. 4).

Таблица 4

## Частота выявления разных концентраций антиЦЦПат у антиЦЦП-позитивных обследованных пациентов, n (%)

Концентрация антиЦЦПат, ЕД/мл	Ответ на стандартную медикаментозную терапию у антиЦЦП-позитивных больных с РА, 36 (72)		СКВ, 1
	А — недостаточный, 24 (75)	Б — адекватный, 12 (25)	
21–250	4 (16,7)	7 (58,3)	1 (100)
251–1000	9 (37,5)	5 (41,0)	—
>1000	11 (45,0)	—	—

Результаты анализа показателей активности РА согласно подсчету DAS28 в подгруппах свидетельствуют о том, что у пациентов группы А с высокой и очень высокой концентрацией антиЦЦПат отмечали более высокие показатели активности РА (табл. 6).

Таблица 6

## Концентрация антиЦЦПат и DAS28 в подгруппах больных с РА, ЕД/мл

Подгруппа А		Подгруппа Б	
АнтиЦЦПат	DAS28	АнтиЦЦПат	DAS28
1450,3±120,2	6,1±0,52	—	—
565,2±95,5	5,0±0,35	635±42,5	4,3±0,44
160,4±85,4	4,6±0,42	125,5±55,5	4,2±0,24

## ВЫВОДЫ

1. Выявление антиЦЦПат в плазме крови высокоспецифично для РА.
2. Высокая и очень высокая концентрация антиЦЦПат в плазме крови больных с РА часто сопровождается недостаточным ответом на стандартное лечение метотрексатом, что, вероятно, может быть использовано как критерий отбора пациентов для назначения более «агрессивного» комплексного лечения при РА.
3. Определение антиЦЦПат в плазме крови больных с РА можно использовать как предиктор ответа на стандартное лечение при РА метотрексатом.

## ЛИТЕРАТУРА

- Egsmose C., Lund B., Borg G. et al.** (1995) Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2<sup>nd</sup> line therapy: 5 year follow up of prospective double blind placebo controlled study. *J. Rheumatol.*, 22: 2208–2213.
- Heijde van der D.M.** (1995) Joint erosions and patients with early rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheum.*, 34(suppl): 1–8.
- Heijde van der D.M., Jacobs J.W.G., Bijlsma J.W.J. et al.** (1996) The effectiveness of early treatment with «second-line» antirheumatic drugs. A randomized, controlled trial. *Ann. Int. Med.*, 124: 699–707.
- Girbal-Neuhauser E., Durieux J.-J., Arnaud M. et al.** (1999) The epitops targeted by the rheumatoid arthritis – associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) filaggrin by deimination of arginine residues. *J. Immunol.*, 162: 585–594
- Kim J.M., Weisman M.H.** (2000) When does rheumatoid arthritis start and why do we need to know? *Art. Rheum.* 43: 473–484.
- Lard LR, Visser H., Speyer I. et al.** (2001) Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am. J. Med.*, 111: 446–451.
- Lee D.M, Schur P.H.** (2003) Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.*, 62: 870–874.
- Masson-Beissare C., Sebbag M., Durieux J.-J.** (2000) In the rheumatoid pannus anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin. Exp. Immunol.*, 119: 544–552.
- Moreland L.W., Bridges S.L.** (2001) Early rheumatoid arthritis: a medical emergency? *Am. J. Med.*, 111: 498–500.
- Mottonen T.T.** (1988) Prediction of erosiveness and rate of development of new erosions in early rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 47: 648–653.
- O'Dell J.R.** (2002) Treating of rheumatoid arthritis early: a window of opportunity? *Art. Rheum.* 46: 283–285.
- Schellekens G.A., Visser H., De Jong B.A., van den Hoogen F.H.** (2000). The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Art. Rheum.*, 43: 155–163.
- Strenger A.A., Leewen M.A., Houtman P.M.** (1998) Early effective suppression of inflammation in rheumatoid arthritis reduces radiographic progression. *Br. J. Rheumatol.*, 37: 1157–1163.
- van Boekel M.A., Vossenaar E.R., van den Hoogen F.H., van Venrooij W.J.** (2002) Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Art. Res.*, 4: 87–93.
- van Gaalen F.A., Linn-Rasker S.P., van Venrooij W.J., de Jong B.A. et al.** (2004) Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Art. Rheum.*, 50: 709–715.
- van Gaalen F.A., van Aken J., Huizinga T.W., Schreuder G.M. et al.** (2004) Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Art. Rheum.*, 50: 2113–2121.

## СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ І ВИБОРУ ЕФЕКТИВНОГО ЛІКУВАННЯ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

*Г.І. Лисенко, Л.В. Хімйон, І.В. Крикливий*

**Резюме.** У статті наведено короткий огляд міжнародних досліджень, присвячених питанням сучасних методів серологічної діагностики ревматоїдного артриту (РА) за допомогою визначення антитіл до циклічного цитрулінмісного пептиду (антиЦЦП-антитіл). Наведено результати власного дослідження визначення антиЦЦП-антитіл у плазмі крові різних груп пацієнтів, зміни цього показника в процесі лікування, виявлено можливість застосування цього тесту для вибору терапії при РА.

**Ключові слова:** діагностика і лікування ревматоїдного артриту (РА), антиЦЦП-антитіла.

## MODERN POSSIBILITIES FOR RHEUMATOID ARTHRITIS DIAGNOSIS AND EFFECTIVE TREATMENT CHOICE

*G.I. Lysenko, L.V. Khimion, I.V. Kryklyvyi*

**Summary.** Short review of international data about modern serologic diagnostic tools of rheumatoid arthritis (RA) with use of anti-cyclic Citrullinated Peptide antibodies (anti-CCP antibodies) test and its values is done. Original data about anti-CCP status of different patients groups and its utility for treatment prescription in RA patients is shown.

**Key words:** diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis (RA), anti-CCP antibodies

**Адрес для переписки:**

Лысенко Григорий Иванович  
04112, Киев, ул. Дорогожицкая, 9  
Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика  
МОЗ Украины