

ВЛИЯНИЕ КЛАДРИБИНА КАК КОМПОНЕНТА КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С МЕТОТРЕКСАТОМ НА ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

О.П. Сирои, Н.Ф. Сорока

Белорусский государственный медицинский университет

В настоящее время, несмотря на достигнутый прогресс в лечении ревматоидного артрита (РА), фармакотерапия данного заболевания продолжает оставаться сложной проблемой клинической медицины [2]. Патогенетической основой лечения данной патологии является медикаментозная терапия базисными противовоспалительными препаратами (БПВП) [3], которые назначают в виде монотерапии или комбинированной терапии. Комбинированное применение БПВП продолжает оставаться важным направлением фармакотерапии РА. Концепция комбинированной терапии основана на том, что БПВП с учетом их разных механизмов действия могут проявлять синергические эффекты в отношении механизмов развития РА. В настоящее время наиболее часто применяемым компонентом комбинированной терапии БПВП является лекарственное средство метотрексат [4]. Сегодня все новые БПВП (синтетические и биологические) проходят испытания в качестве компонента комбинированной терапии у пациентов с недостаточным эффектом метотрексата. Анализ результатов этих клинических испытаний показал, что комбинированная терапия, в качестве обязательного компонента которой применяется метотрексат, действительно, во многих случаях более эффективна, чем монотерапия метотрексатом [1].

Цель исследования. Изучить влияние кладрибина, как компонента комбинированной терапии с метотрексатом, на популяционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с ревматоидным артритом.

Задачи исследования:

1. Оценить динамику лимфоцитов периферической крови на фоне цитостатической терапии у пациентов с ревматоидным артритом.
2. Изучить динамику популяционного состава лимфоцитов периферической крови на фоне метотрексата и комбинированной терапии (метотрексат и кладрибин).

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты с достоверным диагнозом РА (средний возраст 45 лет, средняя длительность заболевания 4 года). Первую группу составили пациенты (n=12), у которых на фоне приема метотрексата (более 3 месяцев) в дозе 10–12,5 мг/неделю сохранялась умеренная или высокая степень активности заболевания. Пациентам

данной группы дополнительно назначали препарат «Лейкладин» (кладрибин) производства РУП «Белмедпрепараты» в дозе 0,075 мг/кг/сутки в виде двухчасовой внутривенной инфузии в течение 7 дней на фоне приема метотрексата в прежней дозе. Пациентам 2-й группы (n=11) был назначен только метотрексат в дозе 10 — 12,5 мг/неделю.

Лейкладин (2-хлор-2'-дезоксиаденозин, кладрибин) — отечественный цитостатический препарат из класса нуклеозидов. Данный препарат является аналогом 2'-дезоксиаденозина, входящего в состав молекулы ДНК. Лимфоидные клетки являются более чувствительными к лейкладину, который проявляет цитотоксические эффекты в отношении делящихся и неделящихся клеток, ингибируя синтез и репарацию ДНК.

Все пациенты находились под наблюдением в течение трех месяцев. Исследование количества лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитофлуорометрии. Для определения количества Т-клеток использовали маркер CD3+ (BD, США), В-клеток — CD19+ (BD, США). Процент апоптотических клеток определяли с помощью аннексина 5 (Annexin V; BD, США), связывающего ранний маркер апоптоза — фосфатидилсерин. Полученные данные обрабатывали с помощью программы «StatSoft STATISTICA 6.0» с использованием непараметрических методов статистики (вычисление медианы, 25 и 75 перцентилей методом Манна–Уитни).

Результаты и их обсуждение. Проведенный анализ динамики общего количества лимфоцитов периферической крови пациентов обеих групп свидетельствует, что на фоне комбинированной терапии (метотрексат и кладрибин) наблюдается достоверное снижение общего количества лимфоцитов по сравнению с группой пациентов, получающих монотерапию метотрексатом, в течение трех месяцев наблюдения (таблица 1). Данный результат подтверждает наличие цитотоксического эффекта кладрибина в отношении лимфоидных клеток периферической крови.

Таблица 1

Динамика общего количества лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)

Срок наблюдения	Группа 1	Группа 2
до лечения	1,73 (1,41; 2,16)	2,19 (2,14; 2,34)
+3 день	0,98 (0,77; 1,19)*	2,27 (1,38; 2,52)
+21 день	0,99 (0,86; 1,34)*	1,71 (1,31; 2,19)
+3 месяца	1,22 (0,99; 1,32)*	2,00 (1,79; 2,28)

Примечание: * — достоверность различий между группами $p < 0,05$

Кроме этого, нами было выявлено изменение популяционного состава лимфоцитов периферической крови. Снижение концентрации Т-лимфоцитов мы наблюдали в обеих группах с достоверным снижением в группе 1 по сравнению с группой 2 через 3 месяца наблюдения (таблица 2).

Таблица 2

Динамика Т-лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)

Срок наблюдения	Группа 1	Группа 2
до лечения	1,30 (1,04; 1,80)	1,63 (1,38; 1,75)
+3 день	0,78 (0,66; 1,02)	1,64 (0,90; 2,02)
+21 день	0,76 (0,62; 1,19)	1,28 (1,00; 1,56)
+3 месяца	0,93 (0,75; 1,00)*	1,38 (1,27; 1,61)

Примечание: * — достоверность различий между группами $p < 0,05$

В тоже время, снижение концентрации В-лимфоцитов было выявлено только в группе пациентов, получающей комбинированную терапию. В этой группе снижение уровня

В-лимфоцитов мы наблюдали с +3 дня с максимальным снижением на +21 день наблюдения. Достоверные различия в уровне В-лимфоцитов между группами сохранялись в течение трех месяцев наблюдения (таблица 3).

Динамика В-лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)

Срок наблюдения	Группа 1	Группа 2
до лечения	0,09 (0,05; 0,11)	0,16 (0,09; 0,40)
+3 день	0,02 (0,01; 0,03)*	0,16 (0,06; 0,19)
+21 день	0,01 (0,009; 0,02)*	0,22 (0,21; 0,23)
+3 месяца	0,03 (0,01; 0,04)*	0,20 (0,19; 0,28)

Примечание: * — достоверность различий между группами $p < 0,05$

На момент включения пациентов в исследование и на +3 день мы проводили определение раннего маркера апоптоза на мембранах лимфоцитов периферической крови. Проведенный корреляционный анализ выявил статистически значимую обратную линейную связь между количеством В-лимфоцитов в периферической крови на +21 день и содержанием В-лимфоцитов, подвергшихся апоптозу на +3 день, в группе пациентов, получающих комбинированную терапию ($r = -0,6$, $p = 0,03$).

Установленное нами изменение популяционного состава лимфоцитов периферической крови после назначения курса кладрибина связано, вероятно, с высоким процентом элиминации

В-лимфоцитов из периферической крови на +21 день исследования вследствие апоптоза этих клеток.

Выводы.

Таким образом, добавление кладрибина к метотрексату приводит к достоверному снижению количества лимфоцитов периферической крови у пациентов с ревматоидным артритом. На фоне данной схемы комбинированной терапии происходит изменение популяционного состава лимфоцитов периферической крови: значительное снижение В-лимфоцитов, которое вызвано апоптозом данных клеток.

THE INFLUENCE OF KLADRIBINE AND METHOTREXATE COMBINATION THERAPY ON POPULATION OF LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

O.P. Sirosh, N.F. Soroka

The aim of research is to study the influence of cladribine and methotrexate combination therapy on population of lymphocytes of peripheral blood in patients with rheumatoid arthritis (RA).

Materials and methods. Active RA was observed in patients of the 1st group who took 10 — 12,5 mg of methotrexate per week (>3 months). In addition they were prescribed cladribine: 0,075 mg/kg/day for 7 days intravenously. Patients of the 2nd group were prescribed only methotrexate: 10 — 12,5 mg per week. The patients were observed for 3 months. Lymphocytes were assessed with the help of flow cytofluorimetry method (CD3+, CD19+), apoptotic cells were assessed with the help of annexin 5.

Results. There was observed a significant decrease of CD19+ in the 1st group in comparison with the 2nd one. There is a statistically significant inverse linear relationship between the amount of CD19+ and the content of CD19+ that have undergone apoptosis in the 1st group ($r = -0,6$, $p = 0,03$).

Conclusion. Addition of cladribine to methotrexate in patients with RA leads to the changes in population of lymphocytes of peripheral blood: significant decrease of CD19+, which is caused by apoptosis of these cells.

Keywords: rheumatoid arthritis, lymphocytes, apoptosis, cladribine.

Литература.

1. Насонов Е. Л. Перспективы фармакотерапии ревматоидного артрита. Науч.-практич. ревматология; 2005; 6: 5 – 7.
2. Насонов Е. Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита в эру генно-инженерных биологических препаратов. Тер. архив 2007; 5: 5 – 8.
3. Ревматология: национальное руководство под ред. Насонова Е. Л., Насоновой В. А. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
4. Pincus T., Yazici Y., Sokka T., et al. Methotrexate as the «anchor drug» for the treatment of early arthritis. Clin. Exp. Rheumatol., 2003, 21, suppl 31, S 179 – 185.