

ВЛИЯНИЕ ПУЛЬС-ТЕРАПИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- α , ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 И СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТАРНО-СОСУДИСТОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

В. И. Емануйлов¹, кандидат медицинских наук,
Н. В. Емануйлова^{1*}, кандидат медицинских наук,
А. В. Аршинов¹, доктор медицинских наук

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

РЕЗЮМЕ *Цель* – изучить динамику уровня фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкина-4 (ИЛ-4), антигена фактора Виллебранда (ФВ:Аг), агрегации тромбоцитов при системной красной волчанке (СКВ) после интенсивной терапии высокими дозами глюкокортикоидов.

Материал и методы. Обследовано 13 больных СКВ. Средний возраст – 35,5 года, средняя длительность заболевания – 10 лет. Индекс SLEDAI 2K 4–12 баллов имели 9 больных, выше 12 баллов – 4 пациента. Больным проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном по 1000 мг внутривенно ежедневно в течение трех дней. Гемостазиологическое и иммунологическое обследование выполнялось до пульс-терапии и после её окончания.

Определение концентрации ФНО- α , ИЛ-4, ФВ:Аг в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА). Состояние тромбоцитарного звена гемостаза изучали на агрегометре BIOLA 230LA. Данные представлены в виде Ме (25%; 75%).

Результаты и обсуждение. Отмечено исходное повышение показателей ФНО- α , ИЛ-4, С-реактивного белка (СРБ), ФВ:Аг, спонтанной агрегации тромбоцитов. Уровень ФВ:Аг уменьшился с $1,38 \pm 0,81$ до $1,15 \pm 0,18$ Ме/мл ($p < 0,05$). После пульс-терапии концентрация ФНО- α снизилась с 13,9 (9,4–20,9) до 11,6 (4,4–16,0) пг/мл ($p < 0,05$). Уровень ИЛ-4 и параметры спонтанной агрегации тромбоцитов после пульс-терапии не отличались от аналогичных в группе контроля.

Заключение. «Классическая» трехдневная пульс-терапия метилпреднизолоном приводила к изменениям как иммунологических параметров, так и отдельных показателей тромбоцитарно-сосудистого гемостаза.

Ключевые слова: фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-4, антиген фактора Виллебранда, агрегация тромбоцитов, метилпреднизолон, гемостаз, системная красная волчанка.

* Ответственный за переписку (corresponding author): zubova1@mail.ru

При развитии системного иммуновоспалительного процесса, в частности у больных СКВ, интенсивность воспаления определяет активацию системы гемостаза. Цитокины являются одним из множества факторов, осуществляющих взаимосвязь между воспалением и процессом гемостаза.

ФНО- α является одним из основных провоспалительных цитокинов в системе иммунных реакций при заболеваниях ревматического генеза в связи с мощным деструктивным эффектом и иммунорегуляторным воздействием [12]. Экспериментальные исследования свидетельствуют о важной роли ФНО- α в гиперкоагуляции,

повреждении эндотелиальных клеток, индукции апоптоза и «предактивации» нейтрофилов [2, 9]. Данные литературы об уровне ИЛ-4 и его роли у пациентов с СКВ противоречивы [12, 13]. ИЛ-4 влияет на функциональную активность В-клеток (усиливает синтез IgG и IgE) и тучных клеток. Является также фактором роста содержания Т-лимфоцитов и индуцирует их цитотоксическую активность. Его важной особенностью является как стимулирующее, так и ингибирующее действие на систему мононуклеарных фагоцитов [10]. С другой стороны, ИЛ-4 на уровне транскрипции соответствующих генов подавляет выработку провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α [12].

Глюкокортикоиды (ГК) являются одним из наиболее часто используемых классов препаратов во всем мире. Воздействие ГК на гемокоагуляцию определить сложно, поскольку исходная форма заболевания, являющаяся показанием к назначению ГК, часто модифицирует свёртывающую систему, особенно в фазу обострения [11]. В большинстве случаев применение пульс-терапии (ПТ) ГК обуславливает активацию некоторых параметров свёртывающей системы как у пациентов с СКВ [5], так и у больных рассеянным склерозом и тиреоидной орбитопатией [11]. Вследствие воздействия ГК отмечается рост числа тромбоцитов, падение активности аденилатциклазы в них, образование циклического 3,5-аденозинмонофосфата и последующая их адгезия и агрегация [4]. Продолжительное применение ГК подавляет высвобождение простаглицина сосудистой стенкой, таким образом нарушая её антиагрегантную активность [1, 14]. При применении ГК выявлено повышение параметров концентрации фактора Виллебранда, способствующее усилению тромбогенных нарушений [7].

В то же время ГК имеют мембраностабилизирующее действие, угнетают образование и высвобождение провоспалительных цитокинов [3, 6]. При активном воспалительном процессе применение ГК может снижать протромботические эффекты провоспалительных цитокинов. Противовоспалительные препараты могут быть жизнеспособными кандидатами для блокирования ДВС-синдрома или тромбоза без воздействия на систему гемокоагуляции [8].

Цель исследования – изучить динамику уровня ФНО- α , ИЛ-4, ФВ:Аг, агрегации тромбоцитов при СКВ после интенсивной терапии высокими дозами ГК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 13 больных СКВ. Диагноз устанавливался на основании критериев Американской ревматологической ассоциации (АРА). Средний возраст пациентов с СКВ составил 35,5 года, средняя длительность заболевания – 10 лет. Индекс SLEDAI 2K 4–12 баллов имели 9 больных, выше 12 баллов – 4 пациента. Критериями исключения из исследования были: бронхиальная астма, наличие интеркуррентных инфекций, заболевания онкологического и иного, чем СКВ, иммуновоспалительного генеза, лечение дезагрегантами в высоких дозах, неконтролируемая артериальная гипертензия, низкая эффективность стандартной терапии. Все пациенты до начала ПТ получали преднизолон в дозе 10–20 мг/сут. Комплексное клиническое, гемостазиологическое и иммунологическое обследование проводилось до ПТ и на один день после её окончания. В группе пациентов с СКВ проводилась трехдневная ПТ метилпреднизолоном по 1000 мг внутривенно ежедневно.

У пациентов с СКВ до ПТ ГК отмечены следующие симптомы СКВ: повышение температуры тела – у 5 больных, суставной синдром – у 12, проявления кожного синдрома – у 11, люпус-нефрит – у 13, неврологические проявления (острые нарушения мозгового кровообращения в анамнезе, цереброваскулит, головные боли, полинейропатия) – у 10, генерализованный васкулит (сетчатое ливедо, капилляриты, синдром Рейно, трофические изменения кожи и слизистых) – у 6, серозиты – у 1, лимфаденопатия – у 1, тромбоцитопения – у 5, анемия – у 3, лейкопения – у 1, повышение СОЭ выше 30 мм/ч – у 11.

С помощью ИФА определяли концентрацию в сыворотке крови ФНО- α с использованием коммерческих реактивов Bender (Австрия), ИЛ-4 – коммерческих реактивов «Вектор-бест» (Россия), ФВ:Аг – Technozym vWF: Ag – Elisa (Австрия). Показатели тромбоцитарного гемостаза изучали на агрегометре BIOLA 230LA, измеряя уровень спонтанной агрегации (результат оценивали по размеру радиуса агрегатов в отн. ед.) и агрегации тромбоцитов (АТ) с индуктором АДФ (SIGMA,

США) в концентрации 5 мкМ; результат оценивали по коэффициенту светопропускания в %.

Группа контроля состояла из 15 здоровых женщин, средний возраст – 32 года.

Статистический анализ проводился в программном пакете STATISTICA 10.0. Для оценки соответствия вида распределения признака закону нормального распределения использовался критерий Шапиро – Уилка. Данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом 25%–75% и среднего \pm среднеквадратическое отклонение. Сравнение двух несвязанных групп проведено с использованием теста Манна – Уитни. Сравнение двух связанных групп проведено с использованием критерия Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У обследованных пациентов с СКВ исходно отмечено повышение показателей ФНО- α , ИЛ-4, спонтанной АТ, ФВ:Аг (табл.).

После ПТ в иммунологическом статусе и в тромбоцитарно-сосудистом звене гемостаза произошли изменения. Так, исходно повышенная концентрация ФНО- α достоверно снизилась, но при этом осталась выше показателей группы контроля.

Изменение уровня ИЛ-4 после ПТ было статистически не достоверным. В то же время после

проведения ПТ уже не было получено достоверных отличий от аналогичных показателей группы контроля – 12,8 (7,7–27,5) и 7,2 (3–12,5) пг/мл ($p > 0,05$).

Повышенный исходный уровень ФВ:Аг после ПТ уменьшился с $1,38 \pm 0,81$ до $1,15 \pm 0,18$ Ме/мл ($p < 0,05$), но по-прежнему превышал норму. Изменение параметров спонтанной АТ явилось статистически не достоверным ($1,86 \pm 1,56$ до $0,60 \pm 0,84$ %, $p > 0,05$). В то же время после проведения ПТ уже не было получено достоверных отличий от результатов группы сравнения ($0,60 \pm 0,84$ и $0,41 \pm 0,17$ %, $p > 0,05$).

Изменения параметров тромбоцитарного-сосудистого гемостаза после ПТ, вероятно, обусловлены стабилизацией клеточных мембран под влиянием мегадоз метилпреднизолона, которые предотвращает избыточное выделение биологически активных веществ [3]. С другой стороны, влияние на гемостаз может быть связано не только с непосредственным влиянием ГК на процессы свертывания крови, но и со значительным противовоспалительным эффектом через подавление продукции провоспалительных цитокинов, обладающих протромботическим эффектом. Следует также отметить положительную динамику клинических проявлений СКВ после ПТ метилпреднизолоном. У многих пациентов отмечалась нормализация температуры тела, уменьшение головных болей и проявлений суставного синдрома.

Таблица. Иммунологические и гемостазиологические показатели у больных системной красной волчанкой до и после пульс-терапии метилпреднизолоном (Ме (25%; 75%).

Показатель	Контроль (n = 15)	Больные СКВ (n = 13)	
		до ПТ	после ПТ
ФНО- α , пг/мл	3,73 (2,3–5,9)	13,9 (9,4–20,9) *	11,6 (4,4–16,0)*, **
ИЛ-4, пг/мл	7,2 (3–12,5)	17,5 (13,5–27,3) *	12,8 (7,7–27,5)
ФВ:Аг, Ме/мл	$0,66 \pm 0,22$	$1,38 \pm 0,81^*$	$1,15 \pm 0,18^{**}$
АТ, % спонтанная с АДФ	$0,41 \pm 0,17$	$1,86 \pm 1,56^*$	$0,60 \pm 0,84$

Примечание. * – статистическая значимость различий с показателем контрольной группы, $p < 0,05$; ** – то же с показателем до ПТ, $p < 0,05$.

ВЫВОДЫ

1. Применение трехдневной ПТ метилпреднизолоном у больных СКВ приводило к снижению исходно повышенной концентрации ФНО- α , которая, однако, не достигала нормального уровня.
2. «Классическая» трехдневная ПТ метилпреднизолоном вела к изменениям как иммунологи-

ческих параметров, так и показателей тромбоцитарно-сосудистого гемостаза (улучшению, хотя и без достижения нормы некоторыми из них), что объясняется в первую очередь давлением активности иммуновоспалительного процесса, играющего основную роль в активации системы гемокоагуляции при СКВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов А.Н., Попыхова Э.Б., Терешкина Н.Е., Степанова Т.В., Злобина О.В., Норкин И.А. Вазомоторная функция эндотелия. Успехи физиологических наук. 2020;4:82-104.
2. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Неспецифическая резистентность, иммунитет и гемостаз – единая защитная гуморальная система организма. Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. 2002;1(прил.):81-82.
3. Решетняк Т.М. Середавкина Н.М., Дыдыкина И.С., Насонов Е.Л. Глюкокортикоиды в терапии системной красной волчанки. Клиницист. 2013; 3-4:14-26.
4. Шитикова А.С. Тромбоцитарный гемостаз. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; 2000:212.
5. Шилкина Н.П., Масина И.В., Замышляев А.В. Состояние гемокоагуляции у больных системной красной волчанкой на фоне пульс-терапии. Тромбоз, гемостаз и реология. 2018;4:27-30.
6. Bhatt DL, Topol EJ. Need to test the arterial inflammation hypothesis. *Circulation*. 2002;106:136-140.
7. Chopra A, Kumar R, Kishore K, Tandon N, Yusuf T, Kumar S, Mishra P, Saxena R. Effect of glucocorticoids on von Willebrand factor levels and its correlation with von Willebrand factor gene promoter polymorphism. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2012;23(6): 514-519.
8. Esmon CT. Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis. *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 1999;1(3):343-359.
9. Foley JH, Conway EM. Cross Talk pathways between coagulation and inflammation. *Circulation Research*. 2016;118:1392-1408.
10. Fricke I, Mitchell D, Petersen F, Böhle A, Bulfone-Paus S, Brandau S Platelet factor 4 in conjunction with IL-4 directs differentiation of human monocytes into specialized antigen-presenting cells. *The FASEB Journal*. 2004;18:1588-1590.
11. Kłosowski P, Świątkowska-Stodulska R, Stodulski D, Kaszubowski M, Karaszewski B, Sworczak K Effect of Glucocorticoid Administration in Intravenous Pulses on Selected Parameters of the Coagulation System. *International Journal of Clinical Practice*. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3144685>.
12. Rojas M, Rodríguez Y, Leon KJ, Pacheco Y, Acosta-Ampudia Y, Monsalve DM, Ramírez-Santana C, Anaya J-M. Cytokines and inflammatory mediators in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Clinical Investigations*. 2018.5(1):83-92.
13. Talaat RM, Mohamed SF, Bassyouni IH, Raouf AA. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity. *Cytokine*. 2015;72(2):146-153.
14. Verhoeven F, Prati C, Maguin-Gaté K, Wendling D, Demougeot C. Glucocorticoids and endothelial function in inflammatory diseases: focus on rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2016;18:258.

INFLUENCE OF PULSE-THERAPY ON THE CONTENT OF TUMOR NECROSIS FACTOR- α , INTERLEUKIN-4 AND PLATELET VASCULAR HOMEOSTASIS IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

V. I. Emanuylov, N. V. Emanuylova, A. V. Arshinov

ABSTRACT objective – to study the dynamics of tumor necrosis factor- α level (TNF- α), interleukin-4 (IL-4), Willebrand factor antigen (WF:Ag), thrombocyte aggregation in systemic lupus erythematosus (SLE) after intensive therapy by high doses of glucocorticoids.

Material and methods. 13 patients with SLE were examined. Average age – 35,5 years, average duration of the disease – 10 years. 9 patients had SLEDAI2K index amounting to 4–12 points, 4 patients had this index parameters higher than 12 points. Pulse-therapy by methylprednisolone (1000 mg intravenously) per day within three days was administered to the patients. Hemostasiological and immunological examination was conducted before pulse-therapy and after its end.

The determination of the concentration of TNF- α , IL-4, WF:Ag in blood serum was made by enzyme immunoassay (EIA). The status of platelet link of homeostasis was studied by BIOLA230LA aggregometer. The data were presented in the form of Me (25%; 75%).

Results and discussion. Initial increase of TNF- α , IL-4, C-reactive protein (CRP), WF:Ag, spontaneous platelet aggregation parameters was marked. WF:Ag level decreased from $1,38 \pm 0,81$ to $1,15 \pm 0,18$ Me/ml ($p < 0,05$). After pulse-therapy TNF- α concentration diminished from 13,9 (9,4–20,9) to 11,6 (4,4–16,0) pg/ml ($p < 0,05$). IL-4 level and spontaneous platelet aggregation parameters after pulse-therapy did not differ from the analogous ones in the control group.

Conclusion. «Classic» three day pulse-therapy by methylprednisolone resulted in the alterations of both immunological parameters and separate indices of platelet-vascular hemostasis.

Key words: Tumor necrosis factor- α , interleukin-4, Willebrand factor antigen, platelet aggregation, methylprednisolone, hemostasis, systemic lupus erythematosus.