



Оригинальная статья

Особенности цитокинового профиля при ревматоидном артрите

Новиков А.А.¹ • Александрова Е.Н.¹ • Лукина Г.В.^{1,2}

Новиков Александр Александрович – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2738-2956>
✉ 111123, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86, Российская Федерация. Тел.: +7 (909) 686 77 22. E-mail: a.novikov@mknc.ru

Александрова Елена Николаевна – д-р мед. наук, заведующая лабораторией клинической иммунологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4074-5907>. E-mail: e.alexandrova@mknc.ru

Лукина Галина Викторовна – д-р мед. наук, профессор, заведующая научно-исследовательским отделом ревматологии¹, вед. науч. сотр. лаборатории мониторинга безопасности антиревматических препаратов². E-mail: g.lukina@mknc.ru

Обоснование. Важная особенность иммунопатологического процесса при ревматоидном артрите (РА) – дефект В-клеточной толерантности, сопровождающийся продукцией аутоантител, и антигенспецифическая активация CD4⁺ Т-лимфоцитов по типу Th1 с преобладанием синтеза провоспалительных цитокинов над противовоспалительными. Провоспалительные цитокины способствуют возникновению локальных воспалительных эффектов, индуцируют костную деструкцию и образование паннуса, участвуют в развитии аутоиммунных нарушений и системных проявлений. Противовоспалительные цитокины способны замедлять суставную деструкцию. Существуют данные об участии Th2 цитокинов в развитии раннего РА. Эти факты свидетельствуют о необходимости более тщательного изучения баланса между Th1 и Th2 типами иммунного ответа на разных стадиях данного заболевания. **Цель** – оценить значение анализа цитокинового профиля в изучении особенностей иммунологических нарушений при РА. **Материал и методы.** В ходе описательного контролируемого ретроспективного исследования обследовано 118 пациентов с РА и 33 здоровых донора. Концентрацию иммуноглобулина (Ig) класса М ревматоидного фактора (РФ) и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови измеряли иммунонефелометрическим методом, антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) – методом иммуноферментного анализа, цитокинов – методом мультиплексного анализа “xMAP”. **Результаты.** Уровни цитокинов в сыворотке крови изменяются в зависимости от длительности РА. Цитокиновый профиль при раннем РА, в отличие от развернутого РА

(длительностью > 6 мес.), характеризуется более высокой концентрацией провоспалительных (MIP-1α), Th1 (IFN-γ), Th17 (IL-17) цитокинов, колониестимулирующих факторов (IL-7, G-CSF) и хемокинов (IL-8, IP-10) (p < 0,05 во всех случаях). При развернутом РА уровни провоспалительных (IL-1β, -6, -15, TNF-α), противовоспалительных (IL-1ra, -10, -13, -5), Th1 (IL-2, -12), Th2 (IL-9) цитокинов и колониестимулирующих факторов (G-CSF, GM-CSF) коррелируют с концентрацией IgM РФ и антителами к цитруллинированным белкам (АЦЦП, АМЦВ) (p < 0,05 во всех случаях). Обнаружена также прямая взаимосвязь (p < 0,05) концентрации СРБ с провоспалительными (IL-1β, -6, TNF-α), Th1 (IL-12), Th2 (IL-5, -9) цитокинами, а DAS28 – с провоспалительными цитокинами (IL-6) и колониестимулирующими факторами (G-CSF) (p < 0,05 во всех случаях). **Заключение.** При РА уровень цитокинов, хемокинов и колониестимулирующих факторов отражает воспалительную активность заболевания. Изменение концентраций цитокинов в крови больных РА позволяет получить представление о сложном взаимоотношении многочисленных медиаторов врожденного и приобретенного иммунитета.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, патогенез, цитокиновый профиль

Для цитирования: Новиков АА, Александрова ЕН, Лукина ГВ. Особенности цитокинового профиля при ревматоидном артрите. Альманах клинической медицины. 2019;47(5):393–9. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-058.

Поступила 22.09.2019; доработана 16.10.2019; принята к публикации 28.10.2019; опубликована онлайн 11.11.2019

¹ ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; 111123, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86, Российская Федерация

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой»; 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34А, Российская Федерация

Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов [1]. В основе патогенеза РА лежит генетически

детерминированная и индуцированная факторами внешней среды (курение, инфекции и др.) персистирующая активация приобретенного и врожденного иммунного ответа, направленного против разнообразных патогенов, что ведет к потере иммунологической толерантности



в отношении собственных антигенов организма [2, 3]. Важная особенность иммунопатологического процесса при РА – дефект В-клеточной толерантности, сопровождающийся продукцией аутоантител, и антиген-специфическая активация CD4⁺ Т-лимфоцитов по Th1 типу с преобладанием синтеза провоспалительных цитокинов над противовоспалительными [4, 5]. Провоспалительные цитокины способствуют возникновению локальных провоспалительных эффектов, вызывая активацию эндотелия и накопление лейкоцитов в полости сустава, секрецию протеаз и матриксных металлопротеиназ; индуцируют костную деструкцию и образование паннуса; участвуют в развитии аутоиммунных нарушений и системных проявлений при РА [6–8]. Противовоспалительные цитокины способны замедлять суставную деструкцию. Существуют данные об участии не только Th1, но и Th2 цитокинов в развитии раннего РА. Эти факты свидетельствуют о необходимости более тщательного изучения баланса между Th1 и Th2 типами иммунного ответа на разных стадиях заболевания [9, 10].

Материал и методы

Обследовано 118 пациентов с РА, из них 37 с ранним и 81 с развернутым РА, наблюдавшихся в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» (ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой) в период с 2010 по 2012 г. (табл. 1). Группу сравнения составили 33 здоровых донора, сопоставимые по полу и возрасту с обследованными больными.

Исследование является описательным, контролируемым, ретроспективным. Его проведение одобрено решением этического комитета ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой (протокол № 19 от 18.09.2009). От всех участников исследования получено информированное согласие.

Концентрацию IgM ревматоидного фактора (IgM РФ) и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови измеряли иммунонефелометрическим методом на анализаторе “BN-ProSpec” (Siemens, ФРГ), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) – методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора реагентов “anti-CCP” (Axis-Shield, Великобритания) и “anti-MCV” (Orgentec, ФРГ) соответственно. Цитокины определяли методом мультиплексного анализа, технологией “xMAP”, на анализаторе “Bio-Plex 200” (Bio-Rad, США).

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика больных ревматоидным артритом

Характеристика	Ранний РА	Развернутый РА
Количество пациентов, абс.	37	81
Женщины / мужчины	28/9	71/10
Возраст, годы	51 (41–62)	46 (35–58)
Длительность РА, мес.	4 (2,4–6)	9 (36–192)
DAS28, баллы	5,0 (3,9–6,0)	4,6 (3,4–5,2)
СОЭ, мм/ч	61,0 (33,0–70,0)	36,0 (24,0–45,0)
СРБ, мг/л	14,0 (6,5–28,7)	20,9 (7,6–39,4)
IgM РФ, МЕ/мл	69,5 (15,0–187,7)	42,7 (0,1–259,1)
АЦЦП, Ед/мл	64,1 (0,9–100,0)	18,8 (0,6–100,0)

АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, РА – ревматоидный артрит, РФ – ревматоидный фактор, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок
Данные представлены в виде медианы и квартилей – Ме (LQ–UQ)

Статистический анализ результатов проводили с помощью программного комплекса EpiInfo 7.0 (Centers for Disease Control and Prevention, США). Для количественных переменных рассчитывали медианы и квартили: Ме (LQ–UQ). Соответствие форм распределения количественных переменных нормальному распределению проверяли с помощью построения гистограмм. При условии нормальности распределений и равенства дисперсий (F-критерий Фишера) сравнение количественных переменных проводили с помощью t-критерия Стьюдента, в противном случае применяли критерий Манна – Уитни и Крускала – Уоллиса. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Статистически значимым признавали уровень $p < 0,05$.

Результаты

При раннем РА наблюдается повышение уровней провоспалительных (IL-1b, IL-6, IL-15, TNF- α , MIP-1 α), противовоспалительных (IL-1ra, IL-10, IL-13), Th1 (IL-2, IL-12, IFN- γ), Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, эотаксин), Th17 (IL-17) цитокинов, колониестимулирующих факторов (IL-7, GM-CSF), стромальных и ангиогенных факторов (FGF-2, VEGF), хемокинов (IP-10); при развернутом РА – провоспалительных (IL-1b, IL-6, IL-12, IL-13, IL-15, TNF- α), противовоспалительных (IL-1ra, IL-13), Th1 (IL-2, IL-12), Th2 (IL-9), колониестимулирующих факторов (G-CSF, GM-CSF).

При раннем РА обнаружен более высокий уровень Th1 (IFN- γ), Th17 цитокинов (IL-17),

**Таблица 2.** Концентрация цитокинов (пг/мл) в сыворотках больных ревматоидным артритом и здоровых доноров

Цитокины	Ранний РА (n = 37)	Развернутый РА (n = 81)	Здоровые доноры (n = 33)
Провоспалительные			
IL-1 β	4,8 (3,7–13,4)*	5,59 (3,840–9,65)*	4,07 (2,61–5,0)
IL-6	47,0 (28,1–240,1)*	62,44 (21,68–186,49)*	7,78 (4,5–13,1)
IL-15	20,0 (5,1–63,1)*	27,9 (10,52–73,36)*	6,7 (3,92–17,4)
TNF- α	82,0 (50,4–162,4)*	67,68 (36,26–135,49)*	39,0 (17,2–65,0)
MIP-1 α	21,8 (14,0–32,7)* [†]	11,67 (8,94–20,36)	10,82 (8,84–18,1)
Антивоспалительные			
IL-1ra	430,2 (130,1–942,0)*	283,03 (163,14–1907,19)*	150,64 (111,19–253,8)
IL-10	43,6 (26,6–131,0)*	34,15 (7,54–106,25)	13,22 (5,83–34,5)
IL-13	24,8 (17,3–71,0)*	28,52 (8,85–76,08)*	16,69 (9,9–22,4)
Th1			
IFN- γ	2434,0 (479,4–3376,0)* [†]	235,45 (137,69–1463,41)	285,35 (112,2–1038,0)
IL-2	50,0 (12,0–296,6)*	24,96 (9,71–115,22)*	10,77 (5,53–13,8)
IL-12	16,0 (7,3–97,3)*	10,88 (5,29–143,82)*	5,78 (2,24–9,9)
Th2			
IL-4	6,0 (2,5–12,9)*	4,05 (0,43–7,93)	3,31 (0,21–6,0)
IL-5	5,1 (3,9–10,2)*	4,49 (0,37–16,38)	2,92 (0,2–5,2)
IL-9	116,3 (53,0–811,0)*	134,8 (58,66–833,35)*	34,17 (26,3–42,3)
Эотаксин	397,3 (99,0–1544,3)*	154,35 (42,30–606,02)	102,41 (19,39–585,7)
Th17			
IL-17	82,0 (45,0–121,0)* [†]	17,09 (7,65–102,35)	22,87 (5,23–90,3)
Колонистимулирующие факторы			
IL-7	22,6 (8,8–65,5)* [†]	7,97 (2,1–38,97)	8,15 (0,5–21,5)
G-CSF	164,53 (56,89–838,69)*	24,23 (9,90–82,20)*	10,86 (2,37–56,5)
GM-CSF	164,5 (57,0–838,9)*	71,06 (31,85–405,95)*	39,93 (21,6–61,3)
Стромальные и ангиогенные факторы			
FGF-2	36,2 (25,7–69,8)*	37,01 (17,14–53,06)	27,25 (19,32–44,3)
VEGF	509,3 (153,3–518,4)*	285,17 (83,72–656,31)	205,6 (64,0–313,0)
Хемокины			
IL-8	14,92 (10,14–17,62)*	7,20 (4,07–16,61)	12,47 (4,76–15,9)
IP-10	9454,0 (1609,2–18138,0)* [†]	606,05 (257,24–8313,56)	717,8 (188,68–17831,0)

РА – ревматоидный артрит

Данные представлены в виде медианы и квартилей – Me (LQ–UQ)

*p < 0,05 относительно здоровых доноров, [†]p < 0,05 при сравнении между ранней и развернутой стадиями РА

**Таблица 3.** Связь уровня цитокинов с клинико-лабораторными показателями воспалительной активности при развернутом ревматоидном артрите (n = 81)

Цитокины	СРБ	DAS28
Провоспалительные		
IL-1 β	0,40 (p=0,018)	-
IL-6	0,46 (p=0,005)	0,44 (p=0,006)
TNF- α	0,44 (p=0,008)	-
Th1		
IL-12	0,42 (p=0,013)	-
Th2		
IL-5	0,35 (p=0,045)	-
IL-9	0,63 (p=0,013)	-
Колонистимулирующие факторы		
G-CSF	-	0,47 (p=0,021)
GM-CSF	0,35 (p=0,043)	-
Стромальные и ангиогенные факторы		
FGF-2	0,37 (p=0,030)	-

СРБ – С-реактивный белок

колонистимулирующих факторов (IL-7, G-CSF) и хемокинов (IL-8, IP-10, MIP-1 α) по сравнению с развернутой стадией заболевания (табл. 2).

При развернутом РА отмечена корреляция сывороточных уровней IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-9, FGF-2, GM-CSF, TNF- α с СРБ; IL-1 β , IL-6, G-CSF с DAS28 (табл. 3), а также IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, TNF- α с IgM РФ; IL-1 β , IL-1ra, IL-9, IL-15, G-CSF, GM-CSF с АЦЦП и IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-9, IL-15, GM-CSF с АМЦВ (табл. 4). При раннем РА обнаружена корреляция IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, эотаксина, GM-CSF, IFN- γ , MIP-1 α с IgM РФ; IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, эотаксина, G-CSF, GM-CSF с АМЦВ (табл. 5).

Обсуждение

При РА в синовиальной мембране происходит резкое увеличение количества активированных В- и Т-лимфоцитов, тучных клеток, макрофагов, участвующих в неоваскуляризации и лимфоангиогенезе. Хронизация воспаления достигается за счет нарастания количества активированных в процессе хрящевой и костной деструкции тканевых фибробластов, хондроцитов и остеокластов.

Цитокины играют основную роль в рекрутинге, активации и осуществлении эффекторных функций клеток, участвующих в развитии аутоиммунного воспалительного процесса при РА [11]. В ходе прогрессирования РА в периферической крови происходит изменение уровней цитокинов, принадлежащих ко всем основным функциональным классам [12–15].

Признаки дисбаланса цитокинового профиля могут отмечаться за 3–6 лет до первой манифестации заболевания [16]. Отмечено повышение провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α), Th1 (IL-12), Th2 (эотаксин), Th17 (IL-17), Т-регуляторных (IL-10, IL-15) цитокинов и стромальных/ангиогенных факторов (FGF-2, GM-CSF) [16, 17]. После развития первых симптомов РА происходит повышение уровня и противовоспалительных

Таблица 4. Связь уровня цитокинов с аутоантителами при развернутом ревматоидном артрите (n = 81)

Цитокины	IgM РФ	АЦЦП	АМЦВ
Провоспалительные			
IL-1 β	0,64 (p=0,001)	0,44 (p=0,007)	0,36 (p=0,041)
IL-6	0,45 (p=0,006)	-	-
IL-15	0,63 (p=0,001)	0,42 (p=0,009)	0,35 (p=0,043)
TNF- α	0,56 (p=0,001)	-	-
Антивоспалительные			
IL-1ra	0,63 (p=0,001)	0,43 (p=0,008)	0,48 (p=0,005)
IL-10	0,33 (p=0,004)	-	-
IL-13	0,37 (p=0,003)	-	-
IL-5	0,41 (p=0,015)	-	-
Th1			
IL-2	0,57 (p=0,001)	0,39 (p=0,019)	0,39 (p=0,001)
IL-12	0,58 (p=0,001)	-	-
Th2			
IL-9	0,78 (p=0,001)	0,47 (p=0,005)	0,69 (p=0,001)
Колонистимулирующие факторы			
G-CSF	0,46 (p=0,005)	0,40 (p=0,018)	-
GM-CSF	0,66 (p=0,001)	0,44 (p=0,008)	0,52 (p=0,003)
Хемокины			
MCP-1	0,41 (p=0,015)	-	-

АМЦВ – антитела к модифицированному цитруллинированному виментину, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, РФ – ревматоидный фактор



Таблица 5. Связь уровней цитокинов с аутоантителами при раннем ревматоидном артрите (n = 37)

Цитокины	IgM РФ	АМЦВ
Провоспалительные		
IL-1 β	0,38 (p=0,019)	0,34 (p=0,042)
IL-6	0,48 (p=0,002)	0,42 (p=0,011)
IL-15	0,43 (p=0,008)	0,36 (p=0,033)
MIP-1 α	0,41 (p=0,012)	-
Антивоспалительные		
IL-1ra	0,59 (p=0,001)	-
IL-10	0,52 (p=0,001)	-
IL-13	0,39 (p=0,017)	-
IL-12	0,49 (p=0,002)	0,35 (p=0,040)
Th1		
IFN- γ	0,53 (p=0,001)	-
IL-2	0,56 (p=0,001)	0,38 (p=0,022)
Th2		
IL-4	0,47 (p=0,003)	-
IL-5	0,46 (p=0,004)	-
IL-9	0,78 (p=0,001)	-
Эотаксин	0,51 (p=0,001)	0,34 (p=0,042)
Th17		
IL-17	0,33 (p=0,050)	-
Колонистимулирующие факторы		
IL-7	0,46 (p=0,004)	-
G-CSF	-	0,45 (p=0,006)
GM-CSF	0,57 (p=0,001)	0,37 (p=0,031)

АМЦВ – антитела к модифицированному цитруллинированному виментину, РФ – ревматоидный фактор

цитокинов [16, 18]. W. Hueber и соавт. [19], проанализировавшие панель из 22 цитокинов в сыворотках 56 больных ранним РА, выявили увеличение концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-12, IL-13, TNF- α) и хемокинов (IP-10, MCP-1), эотаксина. Нами обнаружено повышение провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-15, антивоспалительного IL-1ra, Th1 – IL-2 и IFN- γ , Th2 – IL-4, IL-5, IL-9, колонистимулирующего IL-7, хемокинов MIP-1 α , IL-8, MCP-1 и GM-CSF. Следует отметить, что изменения концентраций цитокинов

в крови при раннем РА необязательно напрямую связаны с воспалительными процессами в синовиальной ткани, а в большей степени отражают комплексное взаимоотношение многочисленных медиаторов врожденного и приобретенного иммунитета [12]. При раннем РА мы наблюдали более высокий уровень Th1 (IFN- γ), Th17 цитокинов (IL-17), колонистимулирующих факторов (IL-7, G-CSF), хемокинов (IL-8, IP-10, MIP-1 α) по сравнению с развернутой стадией заболевания. Для более полного понимания роли различных классов цитокинов в патогенезе раннего РА необходимы исследования больших когорт пациентов с ранним РА, а также «преклинических» образцов соответствующего биоматериала [19, 20]. Существует предположение, что повышение не только Th1, но в большей степени Th2 цитокинов в доклинический период может провоцировать появление антител к циклическим цитруллинированным белкам у больных РА. В зарубежной литературе также описаны корреляционные зависимости между содержанием в периферической крови IgM РФ, АМЦВ и концентрациями различных цитокинов (IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, TNF- α , G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , VEGF, MCP-1 и MIP-1 β), что в целом совпадает с результатами настоящей работы [13, 21]. Кроме этого, нами обнаружена взаимосвязь уровней IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-15, эотаксина, GM-CSF, IFN- γ и IgA РФ при раннем РА.

В литературе приводятся противоречивые данные о взаимосвязи между активностью РА и уровнями отдельных цитокинов. Так, С.А. Hitchon и соавт. [15] выделили группу с «мягким» течением РА, характеризующуюся повышенными уровнями MIP-1 β , IL-8, IL-2, IL-12, IL-17, IL-5, IL-10 и пониженным содержанием IL-6, IL-4, IFN- γ , GM-CSF, и группу с «тяжелым» течением РА, где были повышены уровни IL-13, IL-12, TNF- α и IL-4. Однако непосредственной корреляции концентраций исследуемых биомаркеров со значениями DAS28 авторами обнаружено не было [15]. По нашим данным, при РА лишь уровень IL-6 коррелировал со значениями DAS28 и СРБ. Вместе с тем в работе S.J. Chung и соавт. сывороточная концентрация цитокинов семейства IL-6 (IL-6, IL-11, фактор, ингибирующий лейкозные клетки) коррелирует только с уровнем СРБ [22].

Заключение

Уровни цитокинов в сыворотке крови коррелируют с длительностью РА. Цитокиновый профиль при раннем РА, в отличие от РА длительностью более 6 месяцев, характеризуется более



высокой концентрацией провоспалительных, Th1, Th17 цитокинов, колониестимулирующих факторов и хемокинов. При РА уровни провоспалительных, противовоспалительных, Th1, Th2, Th17 цитокинов и колониестимулирующих факторов положительно коррелируют с концентрацией в сыворотке крови РФ и антител к циклическим цитруллинированным белкам. При развернутом РА имеется прямая взаимосвязь концентрации белков острой фазы воспаления (СРБ)

с провоспалительными, Th1, Th2 цитокинами; активности заболевания – с провоспалительными цитокинами, колониестимулирующими факторами; показателей костного и хрящевого метаболизма – с противовоспалительными цитокинами, Th2 цитокинами и хемокинами. Наряду с этим изменение концентраций цитокинов в крови способно отражать комплексное взаимоотношение многочисленных медиаторов врожденного и приобретенного иммунитета. ☺

Дополнительная информация

Финансирование

Исследование выполнено в рамках проведения диссертационной работы А.А. Новикова «Многopараметрический анализ лабораторных биомаркеров в диагностике ревматоидного артрита», финансирование осуществлялось ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой за счет средств на утвержденные НИР.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

А.А. Новиков – разработка дизайна проекта, формирование групп пациентов, набор клинического материала, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Е.Н. Александрова – разработка дизайна клинической части исследования, анализ и интерпретация результатов, написание и редактирование текста; Г.В. Лукина – концепция исследования, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, редактирование текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Литература / References

- Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N Engl J Med.* 1990;322(18):1277–89. doi: 10.1056/NEJM199005033221805.
- Ревматология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. 737 с. [Rheumatology. National guideline. Moscow: Geotar-Media; 2008. 737 p. Russian.]
- McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2205–19. doi: 10.1056/NEJMr1004965.
- Samuels J, Ng YS, Coupillaud C, Paget D, Meffre E. Impaired early B cell tolerance in patients with rheumatoid arthritis. *J Exp Med.* 2005;201(10):1659–67. doi: 10.1084/jem.20042321.
- Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2008;118(11):3537–45. doi: 10.1172/JCI36389.
- Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res.* 2002;4 Suppl 3:S233–42. doi: 10.1186/ar565.
- Paleolog EM. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002;4 Suppl 3:S81–90. doi: 10.1186/ar575.
- Lally F, Smith E, Filer A, Stone MA, Shaw JS, Nash GB, Buckley CD, Rainger GE. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3460–9. doi: 10.1002/art.21394.
- Firestein GS. Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol.* 2005;11(3 Suppl):S39–44.
- Burska A, Boissinot M, Ponchel F. Cytokines as biomarkers in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:545493. doi: 10.1155/2014/545493.
- McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(6):429–42. doi: 10.1038/nri2094.
- Alex P, Szodoray P, Knowlton N, Dozmorov IM, Turner M, Frank MB, Arthur RE, Willis L, Flinn D, Hynd RF, Carson C, Kumar A, El-Gabalawy HS, Centola M. Multiplex serum cytokine monitoring as a prognostic tool in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25(4):584–92.
- Meyer PW, Hodkinson B, Ally M, Musenge E, Wade AA, Fickl H, Tikly M, Anderson R. Circulating cytokine profiles and their relationships with autoantibodies, acute phase reactants, and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:158514. doi: 10.1155/2010/158514.
- Sivalingam SP, Thumboo J, Vasoo S, Thio ST, Tse C, Fong KY. In vivo pro- and anti-inflammatory cytokines in normal and patients with rheumatoid arthritis. *Ann Acad Med Singapore.* 2007;36(2):96–9.
- Hitchon CA, Alex P, Erdile LB, Frank MB, Dozmorov I, Tang Y, Wong K, Centola M, El-Gabalawy HS. A distinct multicytokine profile is associated with anti-cyclical citrullinated peptide antibodies in patients with early untreated inflammatory arthritis. *J Rheumatol.* 2004;31(12):2336–46.
- Kokkonen H, Söderström I, Rocklöv J, Hallmans G, Lejon K, Rantapää Dahlqvist S. Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(2):383–91. doi: 10.1002/art.27186.
- Deane KD, O'Donnell CI, Hueber W, Majka DS, Lazar AA, Derber LA, Gilliland WR, Edison JD, Norris JM, Robinson WH, Holers VM. The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthritis Rheum.* 2010;62(11):3161–72. doi: 10.1002/art.27638.
- Jørgensen KT, Wiik A, Pedersen M, Hegdegaard CJ, Vestergaard BF, Gislefoss RE, Kvien TK, Wohlfahrt J, Bendtzen K, Frisch M. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in pre-morbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(6):860–6. doi: 10.1136/ard.2007.073825.
- Hueber W, Tomooka BH, Zhao X, Kidd BA, Drijfhout JW, Fries JF, van Venrooij WJ, Metzger AL, Genovese MC, Robinson WH. Proteomic analysis of secreted proteins in early rheumatoid arthritis: anti-citrulline autoreactivity is associated with up regulation of proinflammatory cytokines. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(6):712–9. doi: 10.1136/ard.2006.054924.
- Ridgley LA, Anderson AE, Pratt AG. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol.* 2018;30(2):207–14. doi: 10.1097/BOR.0000000000000470.
- Hughes-Austin JM, Deane KD, Derber LA, Koffenbach JR, Zerbe GO, Sokolove J, Lahey LJ, Weisman MH, Buckner JH, Mikuls TR, O'Dell JR,



Keating RM, Gregersen PK, Robinson WH, Holers VM, Norris JM. Multiple cytokines and chemokines are associated with rheumatoid arthritis-related autoimmunity in first-degree relatives without rheumatoid arthritis: Stud-

ies of the Aetiology of Rheumatoid Arthritis (SERA). *Ann Rheum Dis.* 2013;72(6):901–7. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201505.
22.Chung SJ, Kwon YJ, Park MC, Park YB, Lee SK. The correlation between in-

creased serum concentrations of interleukin-6 family cytokines and disease activity in rheumatoid arthritis patients. *Yonsei Med J.* 2011;52(1):113–20. doi: 10.3349/yjm.2011.52.1.113.

Serum cytokine profile in early and established rheumatoid arthritis

A.A. Novikov¹ • E.N. Aleksandrova¹ • G.V. Lukina^{1,2}

Background: An important characteristic of immune pathology in rheumatoid arthritis (RA) is a B-cell tolerance defect, associated with autoantibodies production, and antigen-specific activation of Th-1 CD4⁺ T lymphocytes with an excess production of pro-inflammatory cytokines compared to anti-inflammatory ones. Pro-inflammatory cytokines contribute to the development of local inflammatory effects, induce bone destruction and pannus formation, and contribute to the development of autoimmune abnormalities and systemic manifestations. Anti-inflammatory cytokines are able to reduce the rate of joint destruction. There is evidence of the involvement of Th2 cytokines in the development of early RA. These facts suggest the need for a thorough investigation into the balance between the Th1 and Th2 types of immune response at different stages of the disease. **Aim:** To assess the importance of cytokine profiling in the evaluation of immune abnormalities in RA. **Materials and methods:** In this descriptive, controlled, retrospective study, we examined 118 patients with RA and 33 healthy donors as a control group. Serum IgM rheumatoid factor (RF) and C-reactive protein (CRP) levels were measured by immunonephelometry; anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) and anti-mutated citrullinated vimentin antibodies (anti-MCV) were determined by an enzyme immunoassay, cytokines levels with "xMAP" technique. **Results:** Serum cytokine levels vary depending on RA duration. The cytokine profile in early RA, unlike that in established RA with a duration of more

than 6 months, is characterized by higher levels of pro-inflammatory (MIP-1 α), Th1 (IFN- γ), and Th17 (IL-17) cytokines, colony-stimulating factors (IL-7, G-CSF), and chemokines (IL-8, IP-10) ($p < 0.05$ for all parameters). In established RA, the levels of pro-inflammatory (IL-1 β , -6, -15, TNF- α), anti-inflammatory (IL-1ra, IL-10, IL-13, IL-5), Th1 (IL-2, IL-12), Th2 (IL-9) cytokines and colony-stimulating factors (G-CSF, GM-CSF) correlate with the concentrations of IgM RF and antibodies to citrullinated proteins (anti-CCP, anti-MCV) (all $p < 0.05$). There was also a correlation between CRP and pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α), Th1 (IL-12), Th2 (IL-5, IL-9) cytokine levels and between DAS28 and pro-inflammatory cytokine (IL-6) and colony-stimulating factor (G-CSF) levels (all $p < 0.05$). **Conclusion:** In RA, cytokines, chemokines and colony-stimulating factors mirror the inflammatory activity of the disease. Changes in blood concentrations of cytokines enable to get an insight into the complex interplay of numerous mediators of innate and acquired immunity.

Key words: rheumatoid arthritis, pathogenesis, cytokine profile

For citation: Novikov AA, Aleksandrova EN, Lukina GV. Serum cytokine profile in early and established rheumatoid arthritis. *Almanac of Clinical Medicine.* 2019;47(5):393–9. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-058.

Received 22 September 2019; revised 16 October 2019; accepted 28 October 2019; published online 11 November 2019

Funding

The study was conducted as a thesis by A.A. Novikov "Multiple parametric analysis of laboratory biomarkers in the diagnosis of rheumatoid arthritis", financially supported by V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology from the approved research budget.

Conflict of interests

All the authors declare no potential conflict of interests that would necessitate any disclosure in this publication.

Authors' contribution

A.A. Novikov, the project design, recruitment of the patient groups, data collection, analysis and interpretation of the study results, text writing; E.N. Aleksandrova, the design of the clinical part of the study, analysis and interpretation of the results, text writing and editing; G.V. Lukina, the study concept, data collection and management, analysis of the results, text editing. All the authors have made their significant contributions into the study conduct and article writing, have read and approved the final version of the manuscript before the publication.

Aleksander A. Novikov – Doctor of Biol. Sci., PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Clinical Immunology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2738-2956>

✉ 86 Shosse Entuziastov, Moscow, 111123, Russian Federation. Tel.: +7 (909) 686 77 22.
E-mail: a.novikov@mknc.ru

Elena N. Aleksandrova – MD, PhD, Head of Laboratory of Clinical Immunology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4074-5907>.
E-mail: e.aleksandrova@mknc.ru

Galina V. Lukina – MD, PhD, Professor, Head of Rheumatology Department¹; Leading Research Fellow, Safety of Anti-rheumatic Therapy Monitoring Laboratory². E-mail: g.lukina@mknc.ru

¹Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; 86 Shosse Entuziastov, Moscow, 111123, Russian Federation

²V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences; 34A Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russian Federation