

Уровень цитокинов у больных ревматоидным артритом: связь с поражением легких

Бестаев Д.В., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Божьева Л.А., Глухова С.И., Насонов Е.Л.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия; 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia 34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522

Контакты: Давид Владимирович Бестаев; davidbestaev@rambler.ru

Contact: David Bestaev; davidbestaev@rambler.ru

Поступила 16.05.14

В основе патогенеза ревматоидного артрита (РА) лежит дисбаланс между продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, который может способствовать развитию системных проявлений, в частности, интерстициального поражения легких (ИПЛ).

Целью исследования явилось изучение концентрации цитокинов у больных РА с ИПЛ и без него.

Материал и методы. В исследование было включено три группы. В 1-ю вошли 20 больных РА с ИПЛ, во 2-ю — 30 пациентов с РА без ИПЛ и в 3-ю — 28 здоровых доноров. Все пациенты с РА находились на стационарном лечении в НИИР им. В.А. Насоновой. Диагноз РА ставился на основании критериев Американской коллегии ревматологов (ACR) 1987 г. Концентрацию 27 цитокинов сыворотки крови определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP на анализаторе Bio-Plex200 (Bio-Rad, США). Для выявления ИПЛ проводилась компьютерная томография легких на спиральном компьютерном томографе GE Light Speed VCT (с толщиной среза 0,65 мм).

Результаты. Отмечалось достоверное повышение концентрации интерлейкина 5 (ИЛ5), ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ15, эотаксина, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, интерферона γ (ИФН γ), макрофагального белка воспаления 1β , тромбоцитарного фактора роста BB, RANTES, фактора некроза опухоли α у больных РА с ИПЛ и без ИПЛ по сравнению со здоровыми донорами. Концентрации ИЛ4 и ИФН γ -индуцибельного белка при РА с ИПЛ оказались выше, чем в других группах, однако эти различия достигали статистической достоверности только по сравнению со здоровыми донорами ($p=0,04$ и $p=0,001$ соответственно). У больных РА с ИПЛ выявлено значительное повышение уровней ИЛ10, ИФН γ по сравнению с РА без поражения легких и здоровыми донорами ($p=0,008$ и $p=0,0003$; $p=0,0001$ и $p=0,0001$ соответственно). При РА с ИПЛ отмечались более низкие концентрации васкулоэндотелиального фактора роста, чем у здоровых доноров ($p=0,05$).

Выводы. У больных РА с ИПЛ отмечается преобладание Th2 иммунного ответа. Выявленная активация регуляторов «гуморального» антигенспецифического иммунного ответа: ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ10, ИФН γ , обосновывает применение анти-B-клеточной терапии при данном варианте заболевания.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; интерстициальное поражение легких; цитокины; мультиплексный анализ.

Для ссылки: Бестаев ДВ, Новиков АА, Александрова ЕН и др. Уровень цитокинов у больных ревматоидным артритом: связь с поражением легких. Научно-практическая ревматология. 2014;52(4):398–404.

CYTOKINE LEVELS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS: AN ASSOCIATION WITH LUNG INJURY

Bestaev D.V., Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Bozhyeva L.A., Glukhova S.I., Nasonov E.L.

The basis for the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) is an imbalance in the production of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, which may favor the development of systemic manifestations, interstitial lung injury (ILI) in particular.

Objective: to study cytokine concentrations in RA patients with and without ILI.

Subjects and methods. The investigation enrolled three groups. Group 1 included 20 RA patients with ILI; Group 2 comprised 30 RA patients without ILI and Group 3 consisted of 28 healthy donors. All the RA inpatients were treated at the V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology. The diagnosis of RA was made on the basis of the 1987 American College of Rheumatology (ACR) criteria. The serum concentrations of 27 cytokines were determined utilizing multiplex xMAP technology with a Bio-Plex200 analyzer (Bio-Rad, USA). Lung computed tomography (CT) with a GE Light Speed VCT spiral CT scanner (with a section thickness of 0.65 mm) was carried out to detect ILI.

Results. As compared with the healthy donors, the RA patients with and without ILI were observed to have significantly elevated concentrations of interleukin 5 (IL-5), IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-15, eotaxin, granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, interferon- γ (IFN- γ), macrophage inflammatory protein- 1β , platelet-derived growth factor BB, RANTES, and tumor necrosis factor- α . In the RA patients with ILI, the concentrations of IL-4 and IFN- γ -inducible protein proved to be higher than in the other groups; however, these differences reached statistical significance compared to only the healthy donors ($p = 0.04$ and $p = 0.001$, respectively). The RA patients with ILI were found to have a significant increase in IL-10 and IFN- γ levels as compared to those without ILI and the healthy donors ($p = 0.008$ and $p = 0.0003$; $p = 0.0001$ and $p = 0.0001$, respectively). Vascular endothelial growth factor concentrations were found to be lower in the RA patients with ILI than in the healthy donors ($p = 0.05$).

Conclusion. The RA patients with ILI show a predominance of a Th2 immune response. The found activation of humoral antigen-specific immune response regulators, such as IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, and IFN- γ , substantiates the use of anti-B-cell therapy for this type of the disease.

Key words: rheumatoid arthritis; interstitial lung injury; cytokines; multiplex analysis.

Reference: Bestaev DV, Novikov AA, Aleksandrova EN, et al. Cytokine levels in patients with rheumatoid arthritis: an association with lung injury. Rheumatology Science and Practice. 2014;52(4):398–404.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2014-398-404>

Ревматоидный артрит (РА) — распространенное воспалительное ревматическое заболевание, для которого характерны прогрессирующее течение, формирование деформаций и нарушение функции опорно-двигательного аппарата, а также поражение внутренних органов [1]. В основе патогенеза РА лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные и, нередко, физиологические стимулы. При РА возникает дисбаланс между гиперпродукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с преобладанием синтеза первых над вторыми [2, 3].

Изучение роли цитокинов в развитии внесуставных проявлений (ВП) при РА является актуальной задачей в связи с разработкой и применением в терапевтических целях антагонистов их провоспалительного действия — генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) [4, 5].

Применение передовых технологий, таких как мультиплексный анализ, дает возможность изучения цитокинового профиля, механизмов патогенеза РА и его ВП [6]. Среди мультиплексных методик наибольшее распространение получила суспензионная технология xMAP, основанная на использовании принципов проточной цитометрии с применением микросфер из полистирола, маркированных красными и инфракрасными флуорофорами [7].

Одним из ВП при РА является интерстициальное поражение легких (ИПЛ). Частота ИПЛ по данным компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР) у больных РА достигает 65% [8, 9].

При этом легочный фиброз (ЛФ) можно считать основной проблемой патологии легких, связанной с РА [10].

Хотя значимость воспаления для прогрессирования ЛФ четко не определена, существует мнение, что в большинстве случаев ЛФ индуцируется воспалительным процессом, по крайней мере на начальном этапе [11]. При РА развитие ЛФ во многом обусловлено воспалительными изменениями на протяжении всего периода болезни, тогда как при идиопатическом ЛФ (ИЛФ), на первый план обычно выходят прогрессирующие процессы фиброобразования при отсутствии ярких признаков воспаления [12].

Воспалительные медиаторы играют важную роль в инициации и прогрессировании ЛФ [13].

В биоптатах и сыворотке больных с ЛФ обнаружены повышенные уровни фактора некроза опухоли α (ФНО α). У мышей с гиперэкспрессией данного цитокина в легких развивается прогрессирующий ЛФ. При этом макрофаги и некоторые другие клетки вырабатывают ФНО α в присутствии оксида кремния, асбеста и блеомицина. В клинических исследованиях по изучению возможности применения ингибиторов ФНО α в лечении ИЛФ были выявлены как эффективность на некоторых моделях ЛФ (поскольку ФНО α может ингибировать синтез коллагена в миофибробластах), так и крайне неблагоприятное воздействие на течение заболевания [14].

Подобно ФНО α , интерлейкин 1 β (ИЛ1 β) может способствовать прогрессированию ЛФ, а также вызывать острое легочное повреждение. Интересно, что ЛФ, индуцированный ИЛ1 β , ассоциируется с повышенной экс-

прессией ФНО α . Это позволяет предположить патогенетическую связь между ИЛ1 β - и ФНО α -индуцированными формами фиброза. Под влиянием ИЛ1 β повышается уровень хемокинов нейтрофилов CXCL1 (KC) и CXCL2 (MIP-2), профиброгенных цитокинов — тромбоцитарного фактора роста (ТФР), трансформирующего фактора роста β 1 (ТрФР β 1) [15]. При этом антагонисты рецепторов ИЛ1 ослабляют профибротическое действие ИЛ1 β [16].

CD4+ Th1- и Th2- клетки играют важную роль в развитии воспалительной/поддерживающей фазы ЛФ. Цитокины, ассоциированные с CD4+ Th1- и Th2-клетками, могут по-разному влиять на процессы фиброгенеза [17].

Сведения о состоянии цитокинового профиля больных РА с ИПЛ в литературе представлены скудно. Исследования по изучению уровня цитокинов чаще проводятся у пациентов с ИФЛ. Результаты этих работ нередко экстраполируются на другие легочные заболевания, для которых также характерно развитие ЛФ. Такая же ситуация наблюдается и с ИПЛ при РА, однако подобная экстраполяция данных не всегда обоснована.

Изучение цитокинового профиля больных РА с ИПЛ может прояснить роль цитокинов в процессах фиброгенеза легких, что дает возможность оптимизировать терапию, направленную непосредственно на причины заболевания. Кроме того, могут быть обнаружены предикторы развития ИПЛ при РА.

Целью исследования явилось изучение концентрации цитокинов у больных РА с ИПЛ и без него.

Материал и методы

Для решения поставленной задачи были сформированы три группы. В 1-ю вошли 20 больных РА с ИПЛ, во 2-ю — 30 пациентов с РА без поражения легких и в 3-ю — 28 здоровых доноров. Все пациенты с РА находились на стационарном лечении в НИИР им. В.А. Нащоковой. Диагноз РА ставился на основании критериев Американской коллегии ревматологов (ACR) 1987 г. Все три группы были сопоставимы по полу и возрасту. Большинство больных были женского пола, среднего возраста, с длительным течением РА, серопозитивные по ревматоидному фактору (РФ), антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), имели высокую воспалительную активность, II–III рентгенологическую стадию, преимущественно II функциональный класс (табл. 1). Активность РА определялась по индексу DAS28.

Концентрацию 27 цитокинов сыворотки крови: ИЛ1 β , ИЛ1 α , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13, ИЛ15, ИЛ17, эотаксина, фактора роста фибробластов 2 (ФРФ2), гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (ГКСФ), гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (ГМКСФ), интерферона γ (ИФН γ), ИФН γ -индуцибельного белка (ИБ10), моноцитарно-хемоаттрактантного белка 1 (МХБ1), макрофагального белка воспаления 1 α (МБВ1 α), макрофагального белка воспаления 1 β (МБВ1 β), ТФР-ВВ, RANTES, ФНО α , васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) — определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP на анализаторе Bio-Plex200 (Bio-Rad, США).

Для верификации ИПЛ у больных РА применялась компьютерная томография легких на спиральном компь-

Таблица 1 Клиническая характеристика больных

Параметр	Больные РА с ИПЛ – 1-я группа (n=20)	Больные РА без ИПЛ – 2-я группа (n=30)
Пол: мужчины/женщины, n	6/14	10/20
Возраст, годы, М±σ	51,2±10,1	49,4±11,2
Длительность РА, годы, М±σ	11,8±7,4	10,7±6,3
Серопозитивные по РФ, n (%)	16 (80)	23 (77)
Серопозитивные по АЦЦП, n (%)*	17 (85)	17 (81)
DAS28, М±σ	5,76±1,46	5,12±1,67
Стадия РА, n (%):		
I	3 (15)	4 (13)
II	9 (45)	13 (43)
III	6 (30)	11 (37)
IV	2 (10)	2 (7)
Функциональный класс, n:		
I	12	16
II	6	11
III	2	3

ютерном томографе GE Light Speed VCT (с толщиной среза 0,65 мм).

Параметры функции внешнего дыхания ФВД: диффузионную способность легких (ДСЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), общую емкость легких (ОЕЛ), ОФВ1/ФЖЕЛ (модифицированный индекс Тиффно) – определяли при помощи бодиплетизмографа MasterScreen Body (ERICH JAEGER, Германия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. При сравнении параметров с нормальным распределением применялся парный t-тест для независимых выборок. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уоллеса, результаты представлены в виде медианы (Ме) с интерквартильным размахом (ИР) [25-й; 75-й перцентили]. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Отмечалось статистически достоверное повышение концентрации ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ15, зотаксина, ГКСФ, ГМ-КСФ, ИФН γ , МБВ1 β , ТФР-ВВ, RANTES, ФНО α у больных РА с ИПЛ и без ИПЛ по сравнению со здоровыми донорами (табл. 2). Концентрация ИЛ4 и ИБ10 при РА с ИПЛ оказалась выше, чем в других группах, однако различия были статистически достоверными только по сравнению со здоровыми донорами ($p=0,04$ и $p=0,001$ соответственно). У больных РА с ИПЛ выявлено значительное повышение уровней ИЛ10, ИФН γ , по сравнению с РА без поражения легких и здоровыми донорами ($p=0,008$ и $p=0,0003$; $p=0,0001$ и $p=0,0001$ соответственно). При РА с ИПЛ отмечались более низкие концентрации ВЭФР, чем у здоровых доноров ($p=0,05$). Уровень RANTES у больных РА с ИПЛ был выше, чем у пациентов без поражения легких ($p=0,03$) и здоровых лиц ($p=0,0001$). Концентрация

ИЛ1 β , ИЛ2, антагониста рецептора ИЛ1 у больных РА с ИПЛ была несколько выше, чем в других группах, однако эти различия статистически недостоверны. У больных РА с ИПЛ и без него концентрация ИЛ13 и ИЛ17 оказалась несколько ниже, чем у здоровых доноров, но эти различия также недостоверны (см. табл. 2).

Для определения чувствительности и специфичности данных цитокинов у больных с ИПЛ при РА проведен ROC-анализ. Построение ROC-кривой дало возможность оценить диагностическую значимость показателей и сравнить их информативность. Наиболее значимую чувствительность и специфичность у больных с ИПЛ при РА демонстрировали ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ИБ10, МБВ1 β , ИФН γ , RANTES (табл. 3).

Площадь под ROC-кривой: у ИЛ5 – 0,79 (95% ДИ 0,70–0,88), ИЛ6 – 0,89 (95% ДИ 0,82–0,95), ИЛ7 – 0,87 (95% ДИ 0,78–0,96), ИЛ8 – 0,92 (95% ДИ 0,86–0,98), ИЛ10 – 0,77 (95% ДИ 0,68–0,85), ИЛ12 – 0,92 (95% ДИ 0,87–0,98), ИБ10 – 0,72 (95% ДИ 0,59–0,85), МБВ1 β – 0,80 (95% ДИ 0,72–0,89), ИФН γ – 0,98 (95% ДИ 0,96–1,0), RANTES – 1,0 (95% ДИ 1,0–1,0); $p=0,001$ – у всех цитокинов.

Наиболее высокую специфичность и чувствительность в группе больных с ИПЛ при РА показали RANTES (соответственно 95 и 100%) ИФН γ (соответственно 95 и 96%) и ИЛ8 (соответственно 91 и 82%). Самую низкую чувствительность имел ИЛ5 – 54%, при довольно высокой специфичности – 85% (см. табл. 3).

Проведен корреляционный анализ базальных концентраций цитокинов с клинико-лабораторными проявлениями у пациентов с ИПЛ при РА до проведения анти-В-клеточной терапии ритуксимабом (РТМ; табл. 4).

Обнаружена положительная корреляция содержания ИЛ1 α и обратная корреляция уровней ИЛ1 β , ИЛ2, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ15, ГМ-КСФ, ИФН γ , ФНО α с наличием системных проявлений РА.

Выявлены статистически достоверные прямые корреляции уровней ИЛ1 β , ИЛ1 α , ИЛ5, ИЛ12, ГКСФ, зотаксина с РФ. Кроме того, показана обратная корреляция концентраций ИЛ4 и АЦЦП, ОЕЛ и уровня МБВ1 β . Индекс Тиффно коррелировал с уровнями ИЛ1 β , ИЛ6, ГМ-КСФ. Отмечалась отрицательная корреляция выраженности изменений легких по данным КТВР и уровней

Таблица 2 Концентрация цитокинов в сыворотке крови, Ме [25-й; 75-й перцентили], пг/мл

Цитокин	Здоровые (группа 3)	Больные РА без ИПЛ (группа 2)	Больные РА с ИПЛ (группа 1)	p		
				гр. 1/гр. 2	гр. 1/гр. 3	гр. 2/гр. 3
ИЛ1β	4,1 [2,6; 4,9]	3,2 [2,2; 11,2]	4,4 [2,04; 11,5]	1,0	1,0	1,0
ИЛ1Pα	145,2 [109,1; 234,4]	291,7 [110,3; 929,5]	372,4 [165,6; 1260,6]	0,2	0,09	0,9
ИЛ2	10,8 [4,9; 14,4]	14,1 [4,4; 33,7]	16,7 [5,5; 47,7]	0,2	0,55	1,0
ИЛ4	2,5 [0,2; 5,8]	3,6 [2,5; 5,3]	4,7 [3,1; 6,6]	0,2	0,04	0,5
ИЛ5	1,5 [0,2; 5,2]	7,3 [3,7; 18,4]	7,5 [2,2; 19,9]	0,002	0,0001	1,0
ИЛ6	6,8 [4,3; 13,1]	44,4 [20,9; 88]	46,7 [25,9; 83,5]	0,001	0,002	1,0
ИЛ7	6,3 [0,5; 19,9]	45,3 [29,7; 83,4]	43,1 [25,8; 75,9]	0,001	0,001	1,0
ИЛ8	12,5 [4,7; 15,9]	34,4 [24,7; 49,6]	70,7 [29,9; 183,8]	0,00001	0,00001	0,20
ИЛ9	34,2 [27,2; 41,7]	25 [14,7; 46,5]	27,7 [12,2; 39,5]	0,0007	0,005	1,0
ИЛ10	13,2 [5,7; 44,5]	366 [19,9; 1112,9]	1071,6 [786,7; 1610,2]	0,0007	0,0001	0,008
ИЛ12	5,6 [2,2; 9,6]	42,3 [21,8; 90,3]	38,8 [18,9; 68,1]	0,00001	0,0001	1,0
ИЛ13	16,7 [9,1; 22,7]	6,9 [4,8; 14,9]	6,7 [5,5; 14,7]	0,1	0,4	1,0
ИЛ15	7,8 [3,9; 19,1]	1,2 [0,3; 5,7]	0,3 [0,3; 5,2]	0,0003	0,002	1,0
ИЛ17	22,9 [4,9; 88,4]	11,2 [3; 21,1]	9,7 [1,7; 27,6]	0,1	0,3	1,0
Эотаксин	88,6 [18,1; 589,9]	308,2 [180,6; 452,1]	393,5 [240; 650,5]	0,04	0,01	0,7
ФРФ2	27,2 [19,8; 42,3]	22,2 [16,5; 31,6]	22,8 [17,6; 39,7]	0,3	1,0	1,0
ГКСФ	12 [2,4; 21,4]	1,3 [1,3; 10,4]	1,3 [1,3; 1,3]	0,006	0,006	1,0
ГМ-КСФ	39,9 [15,4; 56,5]	1,4 [1,4; 1,4]	1,4 [1,4; 1,4]	0,002	0,009	1,0
ИФНγ	175,9 [112,3; 966]	1973,6 [145,8; 5048,5]	5839,9 [3856; 7008,5]	0,01	0,0001	0,0003
ИБ10	349,3 [188,1; 3452]	2234,2 [1671,3; 3638,7]	2924,5 [1757,2; 5708,2]	0,3	0,001	0,7
МХБ1	51,5 [22; 123,6]	28,3 [16,8; 78]	27,5 [17,7; 91,7]	0,3	0,8	1,0
МБВ1α	10,8 [8,9; 16,6]	10,8 [9,4; 14,7]	13,8 [10; 27]	1,0	0,4	0,2
МБВ1β	70,2 [52,2; 99,5]	140,7 [96,4; 187,2]	170,9 [96,3; 292,8]	0,009	0,0003	0,8
ТФР-ВВ	16 338,8 [5320,5; 56 472,8]	4086,5 [2871,8; 6142,4]	4019,6 [2633,9; 4410,6]	0,0001	0,0002	0,9
RANTES	1809,3 [1802,3; 6169,5]	24 324,3 [15 443,5; 25 759,3]	33 706,1 [22 849,9; 45 875,3]	0,0001	0,0001	0,03
ФНОα	38,9 [21,8; 65,9]	60,9 [35,8; 167,9]	64,2 [39,6; 215,1]	0,004	0,02	1,0
ВЭФР	205,6 [91,1; 313,8]	128,2 [37; 211,9]	105,1 [53,5; 196,1]	0,3	0,05	1,0

ИЛ6, ИЛ9, ФРФ2, ИБ10, МБВ1α. Курение ассоциировалось с повышением уровней ИЛ1β, ИЛ9.

Необходимо отметить, что статистически достоверной корреляции исходных концентраций цитокинов и индекса активности РА DAS28 не обнаружено.

На фоне проводимой терапии РТМ статистически значимых изменений концентраций цитокинов не наблюдалось. Отмечалась тенденция к снижению уровня ряда цитокинов, активно участвующих в иммунопатогенезе РА: ИЛ6, ИЛ8, ИЛ9, ИЛ17, эотаксина, ИФНγ, ИБ10, МБВ1β, ТФР-ВВ, ВЭФР, а также ИЛ4, ИЛ5, обладающих профиб-

розным действием. Зафиксировано также незначительное повышение концентраций ФНОα, ИЛ7, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13 (табл. 5).

Обсуждение

Одним из важнейших медиаторов воспаления при РА является ИЛ1. У пациентов с РА отмечается значительное увеличение его содержания в сыворотке крови [18, 19]. Существуют две формы ИЛ1 – ИЛ1α и ИЛ1β. Переход ИЛ1β в активную форму возможен посредством взаимодействия с ИЛ1-конвертирующим фермен-

Таблица 3 Данные ROC-анализа цитокинов у больных с ИПЛ при РА

Цитокин	Чувствительность, %	Специфичность, %	Точка разделения	Площадь под ROC-кривой	p
ИЛ5	85	54	2,34	0,79 (95% ДИ 0,70–0,88)	0,001
ИЛ6	82	82	15,02	0,89 (95% ДИ 0,82–0,95)	0,001
ИЛ7	82	82	23,87	0,87 (95% ДИ 0,78–0,96)	0,001
ИЛ8	91	82	18,5	0,92 (95% ДИ 0,86–0,98)	0,001
ИЛ10	69	61	23,90	0,77 (95% ДИ 0,68–0,85)	0,001
ИЛ12	83	85	17,43	0,92 (95% ДИ 0,87–0,98)	0,001
ИБ10	71	61	1866,78	0,72 (95% ДИ 0,59–0,85)	0,001
МБВ1β	77	71	93,27	0,80 (95% ДИ 0,72–0,89)	0,001
ИФНγ	95	96	2566,27	0,98 (95% ДИ 0,96–1,0)	0,001
RANTES	95	100	10616	1,0 (95% ДИ 1,0–1,0)	0,001

Таблица 4 Корреляционный анализ базальных уровней цитокинов и клинико-лабораторных проявлений ИПЛ при РА ($p < 0,05$)

Показатель	Отрицательная корреляция (коэффициент корреляции)	Положительная корреляция (коэффициент корреляции)
DAS28	Нет	Нет
Длительность	Нет	Нет
Наличие системных проявлений	ИЛ1 β (-0,7), ИЛ2 (-0,6), ИЛ6 (-0,8), ИЛ10 (-0,5), ИЛ15 (-0,6), ГМ-КСФ (-0,6), ИФН γ (-0,5), ФНО α (-0,5)	ИЛ-1Р α (0,5)
СРБ, мг/л	Нет	Нет
R-СТАД	Нет	Нет
РФ, МЕ/мл	Нет	ИЛ1 β (0,5), ИЛ1Р α (0,5), ИЛ5 (0,5), ИЛ12 (0,5), ГКФ (0,5), зотаксин (0,5)
АЦЦП, ед/мл	ИЛ4 (-0,6)	Нет
ФЖЕЛ, %	Нет	Нет
ОФВ1, %	Нет	Нет
ОЕЛ, %	МБВ1 β (-0,5)	Нет
Индекс Тиффно	Нет	ИЛ1 β (0,5), ИЛ6 (0,5), ГМ-КСФ (0,5)
ДСЛ	Нет	Нет
КТВР	ИЛ6 (-0,6), ИЛ9 (-0,7), ФРФ2 (-0,6), ИБ10 (-0,6) МБВ1 α (-0,5)	Нет
Курение	Нет	ИЛ1 β (0,5), ИЛ9 (0,5)

том ICE (каспаза 1). Активный ИЛ1 β связывается с рецептором ИЛ1. Естественный антагонист рецептора ИЛ1, ИЛ1Р α может препятствовать его связыванию с цитокином.

В нашем исследовании у больных РА не отмечалось существенного повышения концентрации ИЛ1 β по сравнению с контролем. В то же время уровень ИЛ1Р α при РА был выше, чем у здоровых лиц, что, видимо, оказывало влияние на содержание ИЛ1 β . Кроме того, отсутствие существенного повышения провоспалительного ИЛ1 β у больных РА в нашем исследовании, возможно, связано с дефицитом каспазы 1, которая, как известно, кроме активации ИЛ1 β , также участвует в процессах апоптоза. Этот факт может свидетельствовать о нарушении апоптоза у больных РА.

Th2-цитокины ИЛ4, ИЛ5 и ИЛ13 вовлечены в процесс фиброобразования при различных системных воспалительных заболеваниях, в том числе при РА [17]. ИЛ5 может способствовать фиброобразованию в легких посредством рекрутирования эозинофилов, вырабатывающих ТрФР β 1, ТФР и ИЛ13 [20, 21]. ИЛ13 обнаруживается в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) больных ИЛФ, при этом фибробласты демонстрируют повышенную чувствительность к ИЛ13. Экспрессия как ИЛ13, так и его рецептора первого типа ИЛ13Р α 1 коррелирует с тяжестью заболевания. В дополнение к экспрессии рецептора ИЛ13 (гетеродимера, состоящего из ИЛ4Р α и ИЛ13Р α субъединиц), фибробласты экспрессируют рецептор ИЛ13Р α 2, который подавляет ИЛ13/ИЛ13Р α 1-индуцируемый ответ, включая ЛФ [21–23].

У больных РА с ИПЛ в нашем исследовании выявлена активация Th2-иммунного ответа. Уровни ИЛ4 и ИЛ5 у больных с ИПЛ оказались выше, чем в других группах, и в то же время концентрация ИЛ13 у больных РА с ИПЛ и без него была ниже, чем у здоровых лиц. Низкие уровни ИЛ13, вероятно, связаны с гиперэк-

прессией рецептора ИЛ13Р α 2. Экспрессию ИЛ13Р α 2 может индуцировать ИФН γ . Наша работа выявила значительное увеличение концентрации ИФН γ у больных РА с ИПЛ. ИФН γ ингибирует фиброз, подавляя синтез коллагена фибробластами [17]. Кроме того, ИФН γ индуцирует экспрессию ангиостатических ELR-СХС хемокинов (ИБ10), тем самым блокируя потенциальные ангиогенные сигналы [24]. У больных РА с ИПЛ мы выявили статистически значимое повышение концентрации ИБ10, по сравнению со здоровыми людьми. Вместе с тем уровень ВЭФР при РА с ИПЛ оказался ниже, чем в других группах.

В ряде работ показана роль ИЛ17А в патогенезе ЛФ. Повышение уровня данного цитокина обнаружено при исследовании ЖБАЛ у больных с ИЛФ [25, 26]. Экспрессия ИЛ17А ассоциируется со стойкой нейтрофилией [27]. ИЛ17А и ИЛ17РА-зависимый сигналинг играют важную роль в развитии ЛФ под влиянием блеомицина или *Saccharopolyspora rectivirgula* [24, 25]. ИЛ12, наряду с ИЛ23, является важным индуктором ИЛ17А-зависимого фиброза [28]. Развитие фиброза, индуцированного ИЛ17А, зависит от профибротической активности ТрФР β 1, что предполагает совместное участие ИЛ17А и ТрФР β 1 в патогенезе ЛФ. В настоящем исследовании у больных РА с ИПЛ мы обнаружили более низкие уровни ИЛ17, чем в других группах. Вероятно, ИЛ17 не играет существенной роли в развитии ИПЛ при РА.

При РА ФНО α продуцируется макрофагами синовиальной ткани, его концентрация достигает максимума в активной стадии заболевания. Одним из основных патогенетических эффектов ФНО α при РА является увеличение продукции фактора дифференцировки остеокластов — лиганда остеопротегерина (RANKL), отвечающего за резорбцию костной ткани, а также индукцию гиперэкспрессии молекул адгезии, металлопротеиназ, коллагеназ, хемокинов и простагландинов [29, 30]. ФНО α обладает профибротическим эффектом [14].

Таблица 5 Изменение концентраций цитокинов у больных РА с ИПЛ за время наблюдения, Ме [25-й; 75-й перцентили], пг/мл

Цитокин	Исходно	Динамика через год
ИЛ1β	4,4 [2,04; 11,5]	2,5 [1,3; 8,9]
ИЛ1Pα	372,4 [165,6; 1260,6]	282,5 [84,3; 753,2]
ИЛ2	16,7 [5,5; 47,7]	12,7 [1,1; 28,4]
ИЛ4	4,7 [3,1; 6,6]	3,7 [2,6; 5,7]
ИЛ5	7,5 [2,2; 19,9]	6,9 [0,7; 24,5]
ИЛ6	46,7 [25,9; 83,5]	27,9 [8,7; 55,5]
ИЛ7	43,1 [25,8; 75,9]	47,7 [18,9; 90,6]
ИЛ8	70,7 [29,9; 183,8]	31,5 [25,6; 48,3]
ИЛ9	27,7 [12,2; 39,5]	13,8 [6,4; 49,9]
ИЛ10	1071,6 [786,7; 1610,2]	1126 [799,7; 1550,1]
ИЛ12	38,8 [18,9; 68,1]	41,5 [16,3; 102,7]
ИЛ13	6,7 [5,5; 14,7]	6,9 [4,4; 12,4]
ИЛ15	0,3 [0,3; 5,2]	0,3 [0,3; 3,2]
ИЛ17	9,7 [1,7; 27,6]	0,8 [0,6; 11,1]
Эотаксин	393,5 [240; 650,5]	319,6 [230,5; 615,8]
ФРФ2	22,8 [17,6; 39,7]	21,9 [11,6; 33,2]
ГКСФ	1,3 [1,3; 1,3]	1,3 [1,3; 1,3]
ГМ-КСФ	1,4 [1,4; 1,4]	1,4 [1,4; 1,4]
ИФНγ	5839,9 [3856; 7008,5]	4693,4 [3711,4; 7942,1]
ИБ10	2234,2 [1671,3; 3638,7]	1598,9 [876,9; 2479]
МХБ1	27,5 [17,7; 91,7]	20,7 [12,5; 37]
МБВ1α	13,8 [10; 27]	11,7 [9,3; 16,2]
МБВ1β	170,9 [96,3; 292,8]	119,7 [80,2; 168,9]
ТФР-ВВ	4019,6 [2633,9; 4410,6]	2982,4 [2205,5; 3727,3]
RANTES	24 324,3 [15 443,5; 25 759,3]	22 169,7 [19 902; 24 753,4]
ФНОα	64,2 [39,6; 215,1]	75,8 [35,8; 160,9]
ВЭФР	128,2 [37; 211,9]	75,7 [36,2; 155,7]

Больные РА с ИПЛ имели достоверно более высокую концентрацию ФНОα, чем пациенты с РА без ИПЛ, а также здоровые лица.

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов ЕЛ. Ревматоидный артрит как общемедицинская проблема. *Терапевт.* 2004;(5):5–7. [Nasonov EL. Rheumatoid arthritis as all-medical problem. *Terapevt.* 2004;(5):5–7. (In Russ.)]
- Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Балабанова РМ. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология: Национальное руководство. Под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008. С. 290–331. [Nasonov EL, Karateev DE, Balabanova RM. Rheumatoid arthritis. In: *Revmatologiya. Natsional'noe rukovodstvo* [Rheumatology. National Guide]. Nasonov EL, Nasonova VA, editors. Moscow: GEOTAR-media; 2008. P. 290–331.]
- Насонов ЕЛ, редактор. Ревматология: Клинические рекомендации. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010. 752 с. [Nasonov EL, editor. *Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii* [Rheumatology: Clinical recommendations]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 752 p.]
- Ройт А, Бростофф Дж, Мейл Д. Иммунология. Москва: Мир; 2000. 230 с. [Royt A, Brostoff Dzh, Meyl D. *Immunologiya* [Immunology]. Moscow: Mir; 2000. 230 p.]
- Brennan F, McInnes I. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2008;118(11):3537–45. DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI36389>.
- Kingsmore S. Multiplexed protein measurement: technologies and applications of protein and antibody arrays. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5(4):310–20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd2006>.
- Новиков АА, Александрова ЕН, Попкова ТВ и др. Роль мультиплексного анализа цитокинов в оценке эффективности ритуксимаба при лечении ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2011;(5):51–7. [Novikov AA, Aleksandrova EN, Popkova TV, et al. Role of multiplex cytokine analysis in the evaluation of the efficacy of rituximab during treatment for rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2011;(5):51–7. (In Russ.)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2011-1461>.
- Carmona L, Gonzalez-Alvaro I, Balsa A, et al. Rheumatoid arthritis in Spain: occurrence of extra-articular manifestations and estimates of disease severity. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(9):897–900. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.62.9.897>.
- Bilgili A, Ulusoy H, Kuru O, et al. Pulmonary involvement in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2005;25(6):429–35. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-004-0472-y>.
- Lee HK, Kim DS, Yoo B, et al. Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Chest.* 2005;127(6):2019–27. DOI:

Участие эотаксина, ГКСФ, ГМ-КСФ, ФРФ2, МБВ1β, ТФР-ВВ, RANTES в патогенезе ИПЛ при РА требует дальнейшего изучения.

Проведение ROC-анализа позволило выделить наиболее значимые для развития ИПЛ при РА цитокины. Особенно высокой чувствительностью и специфичностью обладали ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ИБ10, МБВ1β, ИФНγ, RANTES. Из этой группы цитокинов были выделены три продемонстрировавших максимальную степень специфичности и чувствительности у больных с ИПЛ при РА – RANTES (соответственно 95 и 100%), ИФНγ (соответственно 95 и 96%) и ИЛ8 (соответственно 91 и 82%).

Выявленная в нашем исследовании активация регуляторов «гуморального» антигенспецифического иммунного ответа: ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ10, ИФНγ – обосновывает применение анти-В-клеточной терапии у больных ИПЛ при РА.

Таким образом, у больных РА с ИПЛ мы выявили преобладание Th2-иммунного ответа, однако обнаружена и активация Th1-цитокинов. Эти факты свидетельствуют о необходимости более тщательного изучения баланса между Th-типами иммунного ответа при РА с ИПЛ. Прогресс в изучении роли все большего количества цитокинов, включая ИЛ17, ИЛ18, хемокинов, факторов роста, вовлеченных в развитие аутоиммунного воспалительного процесса, создает предпосылки для лучшего понимания патогенетических механизмов и совершенствования терапии ВП РА.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

- <http://dx.doi.org/10.1378/chest.127.6.2019>.
11. Nannini C, Ryu JH, Matteson EL. Lung disease in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20(3):340–46. DOI: 10.1097/BOR.0b013e3282f798ed.
 12. Thannickal VJ, Toews GB, White ES, et al. Mechanisms of pulmonary fibrosis. *Annu Rev Med*. 2004;(55):395–417. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.med.55.091902.103810>.
 13. Bringardner BD, Baran CP, Eubank TD, Marsh CB. The role of inflammation in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(2):287–301. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2007.1897>.
 14. Thavarajah K, Wu P, Rhew EJ, et al. Pulmonary complications of tumor necrosis factor-targeted therapy. *Respir Med*. 2009;103(5):661–9. DOI: 10.1016/j.rmed.2009.01.002. Epub 2009 Feb 7.
 15. Lappalainen U, Whitsett JA, Wert SE, et al. Interleukin-1 β causes pulmonary inflammation, emphysema, and airway remodeling in the adult murine lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005;32(4):311–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2004-0309OC>.
 16. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:11002–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0704421104>.
 17. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(8):583–94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nri1412>.
 18. Dinarello CA. Interleukin-1 β , interleukin-18, and the interleukin-1 β converting enzyme. *Ann NY Acad Sci*. 1998;29(856):1–11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb08307.x>.
 19. Hom JT, Bendele AM, Carlson DG. In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol*. 1998;141(3):834–4.
 20. Fulkerson PC, Fischetti CA, Rothenberg ME. Eosinophils and CCR3 regulate interleukin-13 transgene-induced pulmonary remodeling. *Am J Pathol*. 2006;169(6):2117–26. DOI: <http://dx.doi.org/10.2353/ajpath.2006.060617>.
 21. Ramalingam TR, Pesce JT, Sheikh F, et al. Unique functions of the type II interleukin 4 receptor identified in mice lacking the interleukin 13 receptor α 1 chain. *Nat. Immunol*. 2008;9:25–33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ni1544>.
 22. Lupardus PJ, Birnbaum ME, Garcia KC. Molecular basis for shared cytokine recognition revealed in the structure of an unusually high affinity complex between IL-13 and IL-13R α 2. *Structure*. 2010;18(3):332–42. DOI: 10.1016/j.str.2010.01.003.
 23. Wilson MS, Elnekave E, Mentink-Kane M, et al. IL-13R α 2 and IL-10 coordinately suppress airway inflammation, airway hyperreactivity, and fibrosis in mice. *J Clin Invest*. 2007;117(10):2941–51. DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI31546>.
 24. Strieter RM, Belperio JA, Keane MP. CXC chemokines in vascular remodeling related to pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003;29(3 Suppl):S67–9.
 25. Simonian PL, Roark CL, Wehrmann F, et al. Th17-polarized immune response in a murine model of hypersensitivity pneumonitis and lung fibrosis. *J Immunol*. 2009;182(1):657–65. DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.182.1.657>.
 26. Wilson MS, Madala SK, Ramalingam TR, et al. Bleomycin and IL-1 β -mediated pulmonary fibrosis is IL-17A dependent. *J Exp Med*. 2010;207(3):535–52. DOI: 10.1084/jem.20092121. Epub 2010 Feb 22.
 27. Brodlie M, McKean MC, Johnson GE, et al. Raised interleukin-17 is immunolocalised to neutrophils in cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J*. 2011;37(6):1378–85. DOI: 10.1183/09031936.00067110. Epub 2010 Nov 25.
 28. Hariyawasam HH, Nicholson GC, Tan AJ, et al. Effects of Anti-IL-13 (Novartis QAX576) on Inflammatory Responses Following Nasal Allergen Challenge (NAC). *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179:A3642.
 29. Dayer J, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med*. 1985;162(6):2163–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.162.6.2163>.
 30. Bazzoni E, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med*. 1996;334(2):1717–25.