

# Провоспалительная активация моноцитов у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями (предварительные результаты)

А.И. Богатырева<sup>1,2</sup>, Е.В. Герасимова<sup>2</sup>, Т.В. Кириченко<sup>1</sup>, Ю.В. Маркина<sup>1</sup>, Т.В. Попкова<sup>2</sup>, М.В. Шалыгина<sup>2</sup>, Т.В. Толстик<sup>1</sup>, А.М. Маркин<sup>1</sup>, А.Н. Орехов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» 117418, Российская Федерация, Москва, ул. Цюрупы, 3.  
<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» 115522, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, 34а

<sup>1</sup>Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery 117418, Russian Federation, Moscow, Tsyurupy str. 3  
<sup>2</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology 115522, Russian Federation, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A

**Контакты:** Герасимова Елена Владимировна, [gerasimovaev@list.ru](mailto:gerasimovaev@list.ru)  
**Contacts:** Elena Gerasimova, [gerasimovaev@list.ru](mailto:gerasimovaev@list.ru)

**Поступила** 12.09.2023  
**Принята** 10.11.2023

В основе патогенеза иммуновоспалительных ревматических заболеваний (ИВРЗ) лежит хроническое воспаление, одним из ключевых механизмов которого может быть аномальная активация макрофагов, приводящая к дальнейшему нарушению работы иммунной системы.

**Цель исследования** — оценка провоспалительной активации циркулирующих моноцитов у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями.

**Материал и методы.** В исследование включено 149 человек: 53 пациента с ревматоидным артритом (РА), 45 — с системной красной волчанкой (СКВ), 34 — с системной склеродермией (ССД), 17 участников без ИВРЗ, — в возрасте от 30 до 65 лет. Базальная и стимулированная добавлением липополисахаридов (ЛПС) секреция моноцитов была изучена в первичной культуре моноцитов, полученных путем иммуномагнитной сепарации из крови. Количественная оценка цитокинов интерлейкина 1β (ИЛ-1β) и фактора некроза опухоли α (ФНО-α), а также хемокина моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1) производилась в культуральной жидкости методом иммуноферментного анализа. Провоспалительную активацию моноцитов рассчитывали как отношение секреции, стимулированной ЛПС, и базальной секреции.

**Результаты.** Базальная секреция всех изученных цитокинов была статистически значимо повышена по сравнению с контролем во всех группах пациентов с ИВРЗ, кроме секреции ИЛ-1β в группе СКВ. У больных ИВРЗ ЛПС-стимулированная секреция ФНО-α была повышена, а секреция MCP-1 — понижена по сравнению с группой контроля; ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1β статистически значимо отличалась от контроля только в группе ССД. При РА активация моноцитов была снижена по всем цитокинам по сравнению с контролем, в группе СКВ — по ФНО-α и MCP-1, в группе ССД — по MCP-1.

**Заключение.** Снижение провоспалительной активации моноцитов у пациентов с ИВРЗ обусловлено высоким уровнем базальной секреции цитокинов, что может приводить к нарушениям адекватного иммунного ответа при данных заболеваниях и являться важным звеном патогенеза хронического воспаления.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, системная красная волчанка, системная склеродермия, активация моноцитов, провоспалительные цитокины, ФНО-α, ИЛ-1β, MCP-1

**Для цитирования:** Богатырева АИ, Герасимова ЕВ, Кириченко ТВ, Маркина ЮВ, Попкова ТВ, Шалыгина МВ, Толстик ТВ, Маркин АМ, Орехов АН. Провоспалительная активация моноцитов у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями (предварительные результаты). *Научно-практическая ревматология*. 2023;61(6):744–750.

## PRO-INFLAMMATORY ACTIVATION OF MONOCYTES IN PATIENTS WITH IMMUNOINFLAMMATORY RHEUMATIC DISEASES

Anastasia I. Bogatyreva<sup>1,2</sup>, Elena V. Gerasimova<sup>2</sup>, Tatiana V. Kirichenko<sup>1</sup>, Yuliya V. Markina<sup>1</sup>, Tatiana V. Popkova<sup>2</sup>, Maria V. Shalygina<sup>2</sup>, Taisiya V. Tolstik<sup>1</sup>, Alexander M. Markin<sup>1</sup>, Alexander N. Orekhov<sup>1</sup>

The pathogenesis of immunoinflammatory rheumatic diseases (IRDs) is based on chronic inflammation, one of the mechanisms of which may be abnormal activation of macrophages, leading to further disruption of the immune system.

**The aim** — to evaluate the pro-inflammatory activation of circulating monocytes in patients with IRDs.

**Material and methods.** The study included 149 participants: 53 patients with rheumatoid arthritis (RA), 45 — with systemic lupus erythematosus (SLE), 34 — with systemic scleroderma (SSc) and 17 participants without IRD, aged 30 to 65 years. Basal and lipopolysaccharide (LPS)-stimulated secretion of monocytes was studied in a primary culture of monocytes obtained by immunomagnetic separation from blood. Quantitative assessment of the cytokines tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin 1β (IL-1β) and the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) was carried out in the culture fluid by ELISA. Pro-inflammatory activation of monocytes was calculated as the ratio of LPS-stimulated and basal secretions.

**Results.** It was shown that the basal secretion of all studied cytokines was significantly increased in all groups of patients with IRDs, except for the secretion of IL-1β in the SLE group, compared with the control. LPS-stimulated secretion of TNF-α was increased and MCP-1 was decreased in patients with IRDs compared to the control group; LPS-stimulated IL-1β secretion only in the SSc group was significantly different from the control group. In the RA group, monocyte activation was reduced for all cytokines compared to the control, in the SLE group — for TNF-α and MCP-1, in the SSc group — for MCP-1.

**Conclusion.** The decrease in pro-inflammatory activation of monocytes in patients with IRDs is due to a high level of basal secretion of cytokines, which can lead to disruption of the adequate immune response in these diseases and is an important link in the pathogenesis of chronic inflammation.

**Key words:** rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, systemic scleroderma, monocyte activation, proinflammatory cytokines, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MCP-1

**For citation:** Bogatyreva AI, Gerasimova EV, Kirichenko TV, Markina YuV, Popkova TV, Shalygina MV, Tolstik TV, Markin AM, Orekhov AN. Pro-inflammatory activation of monocytes in patients with immunoinflammatory rheumatic diseases. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologia = Rheumatology Science and Practice*. 2023;61(6):744–750 (In Russ.).

doi: 10.47360/1995-4484-2023-744-750

Иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ) представляют собой большую гетерогенную группу системных хронических болезней, которые ведут к необратимым органным повреждениям, инвалидности и преждевременной смертности [1, 2]. Наиболее частыми ИВРЗ являются ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ) и системная склеродермия (ССД). Ключевыми патогенетическими механизмами ИВРЗ считаются продукция аутоантител, гиперсекреция медиаторов воспаления и образование иммунных комплексов, а также нарушение толерантности иммунной системы [3–5]. Наличие аутореактивных В- и Т-клеток и продукция аутоантител указывают на то, что адаптивная иммунная система имеет решающее значение в патогенезе ИВРЗ, но его нельзя объяснить только этими механизмами, и врожденный иммунный ответ может играть важную роль в развитии хронического воспаления при ИВРЗ [6]. Характерная для него аномальная активация моноцитов и макрофагов приводит к дальнейшему нарушению работы иммунной системы [7]. Периферические моноциты рекрутируются в область поражения под действием ряда факторов, в том числе провоспалительных цитокинов, и дифференцируются в макрофаги, которые в дальнейшем участвуют в иммунных реакциях [8].

Одной из причин развития РА является дисбаланс между классически активированными (M1) и альтернативно активированными (M2) макрофагами, которые экспрессируют различные рецепторы, цитокины, хемокины, факторы роста и эффекторные молекулы [9]. Также известно, что увеличение промежуточной субпопуляции моноцитов, которые в дальнейшем мигрируют в зоны поражения и дифференцируются в провоспалительные макрофаги, положительно коррелирует с активностью РА [10]. Поляризованные макрофаги секретируют избыточное количество провоспалительных цитокинов, что приводит к развитию хронического воспаления, сопровождающегося формированием деструктивных изменений суставов [11]. В последние годы широко изучается роль врожденного иммунитета в патогенезе СКВ, в частности, было показано, что моноциты и макрофаги у пациентов с СКВ также продуцируют медиаторы воспаления и, кроме того, принимают непосредственное участие в презентации антигена аутореактивным Т-клеткам [12]. Макрофаги, поляризованные по провоспалительному фенотипу, обнаруживаются в почках при волчаночном нефрите и могут способствовать развитию осложнений при СКВ [13]. В периферической крови и пораженной коже пациентов с ССД также происходит увеличение числа моноцитов и активированных макрофагов, которые являются основным источником цитокинов, индуцирующих фиброз тканей [14].

**Цель работы** — провести оценку провоспалительной активации циркулирующих моноцитов у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями.

## Материалы и методы

В исследование были включены 149 человек: 53 пациента с РА, 45 пациентов с СКВ, 34 пациента с ССД и 17 участников без ИВРЗ, сопоставимых по полу и возрасту.

Критериями включения были: достоверный диагноз РА, соответствующий критериям Американской коллегии ревматологов/Европейского альянса ревматических ассоциаций (ACR/EULAR, American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology) 2010 г. [15], достоверный диагноз СКВ, соответствующий критериям SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics)/ACR 2012 г. [16], или достоверный диагноз ССД, соответствующий критериям ACR/EULAR 2013 г. [17]. Критерии исключения: возраст моложе 18 или старше 75 лет; наличие сахарного диабета, онкологических заболеваний, декомпенсированной почечной или печеночной недостаточности, хронической сердечно-сосудистой недостаточности III–IV класса по NYHA (New York Heart Association). Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотренной версией 2013 г. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИР им. В.А. Нащоковой 10 февраля 2022 г. Все участники подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

**Таблица 1.** Общая характеристика пациентов с ревматоидным артритом ( $n=53$ )

Показатели	Значения
Возраст (лет), Ме [25-й; 75-й перцентили]	55 [42; 67]
Пол: женский / мужской, $n$ (%)	39 (74) / 14 (26)
Длительность заболевания (годы), Ме [25-й; 75-й перцентили]	6,7 [0,8; 13,1]
Стадия, $n$ (%)	
– ранняя	16 (30)
– развернутая	30 (57)
– поздняя	7 (13)
Внесуставные проявления, $n$ (%)	22 (42)
Индекс активности DAS28, Ме [25-й; 75-й перцентили]	6,2 [5,5; 6,7]
Степень активности, $n$ (%)	
– низкая	–
– умеренная	15 (28)
– высокая	38 (72)
Рентгенологическая стадия: I / II / III / IV, %	14 / 61 / 20 / 5
РФ+, $n$ (%)	42 (80)
АЦЦП+, $n$ (%)	38 (72)
Прием НПВП, $n$ (%)	19 (35)

**Примечание:** Ме – медиана; DAS28 – Disease Activity Score 28; РФ – ревматоидный фактор; АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

Характеристика больных РА, СКВ и ССД при включении в исследование представлена в таблицах 1, 2 и 3 соответственно.

Большинство пациентов с РА (74%) были женского пола, медиана возраста составила 55 [42; 67] лет, медиана длительности РА — 6,7 [0,8; 13,1] года. Чаще были зафиксированы ранняя (30%) и развернутая (57%) стадии заболевания. Активность РА была высокой (3-й степени) у большинства больных (72%), медиана оценки по DAS28 (Disease Activity Score 28) составила 6,2 [5,5; 6,7]. Внесуставные проявления имели около половины больных. Большинство пациентов с РА были серопозитивны по IgM-ревматоидному фактору и антителам к циклическому цитруллинированному пептиду.

Как видно из таблицы 2, среди пациентов с СКВ преобладали женщины (87%) со средней (42%) или высокой (47%) активностью болезни по SLEDAI-2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000). Поражение почек выявлено в 22% случаев, суставов — в 60%, гематологические нарушения — в 47%, позитивность по антинукле-

арному фактору — в 100%, по антителам к двуспиральной ДНК — в 53%. Индекс повреждения SLICC был минимальным (медиана — 0,4 [0,1; 0,5]).

Подавляющее большинство больных ССД (85%) были женского пола, среднего возраста, с умеренной длительностью заболевания (табл. 3). Преобладали пациенты с лимитированной формой (85%), у большинства обнаружены синдром Рейно, утолщение кожи пальцев и дигитальная ишемия. Интерстициальное поражение легких (ИПЛ) было диагностировано у 21%, легочная артериальная гипертензия — у 12% больных. Наиболее часто из ССД-ассоциированных антител выявлялись антицентромерные антитела (АЦА), реже — антитела к топоизомеразе 1.

Пациенты с ИВРЗ не получали глюкокортикоиды, базисные противовоспалительные препараты (БПВП) и генно-инженерные биологические препараты (ГИБП). Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) принимали 35% больных РА.

В группу контроля вошли 13 женщин и 4 мужчин без ИВРЗ и других аутоиммунных заболеваний; медиана

**Таблица 2.** Общая характеристика пациентов с системной красной волчанкой (n=45)

Показатели	Значения
Возраст (лет), Ме [25-й; 75-й перцентили]	41 [38; 57]
Пол: женский / мужской, n (%)	39 (87) / 6 (13)
Длительность заболевания (годы), Ме [25-й; 75-й перцентили]	9,0 [1,8; 14,8]
Проявления СКВ, n (%)	
Острое поражение кожи	21 (47)
Хроническая кожная волчанка	7 (16)
Язвы слизистых оболочек	8 (18)
Нерубцовая алопеция	20 (44)
Артрит	27 (60)
Серозит	14 (31)
Нефрит	10 (22)
Нейропсихические нарушения	4 (9)
Гемолитическая анемия	8 (18)
Лейкопения/лимфопения	21 (47)
Тромбоцитопения	4 (9)
Иммунологические нарушения, n (%)	
АНФ+	45 (100)
Анти-дс-ДНК+	24 (53)
Анти-Sm+	13 (29)
аФЛ+	12 (27)
Гипокомплементемия	29 (64)
Положительная реакция Кумбса	10 (22)
SLEDAI-2K, Ме [25-й; 75-й перцентили]	9,7 [4; 14]
Активность СКВ, n (%)	
— низкая (SLEDAI-2K=1–5)	5 (11)
— средняя (SLEDAI-2K=6–10)	19 (42)
— высокая (SLEDAI-2K≥11)	21 (47)
ИП SLICC, Ме [25-й; 75-й перцентили]	0,4 [0,1; 0,5]

**Примечание:** Ме — медиана; СКВ — системная красная волчанка; АНФ — антинуклеарный фактор; анти-дс-ДНК — антитела к двуспиральной ДНК; анти-Sm — антитела к Smith-антигену, аФЛ — антитела к фосфолипидам, SLEDAI-2K — Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000; ИП — индекс повреждения; SLICC — Systemic Lupus International Collaborating Clinics

**Таблица 3.** Общая характеристика пациентов с системной склеродермией (n=34)

Показатели	Значения
Возраст (лет), Ме [25-й; 75-й перцентили]	50 [38; 62]
Пол: женский / мужской, n (%)	29 (85) / 5 (15)
Длительность заболевания (годы), Ме [25-й; 75-й перцентили]	6,9 [0,9; 12,4]
Форма ССД, n (%)	
— лимитированная	29 (85)
— диффузная	5 (15)
Индекс активности, Ме [25-й; 75-й перцентили]	1,9 [0,8; 2,8]
Проявления ССД, n (%)	
Утолщение кожи пальцев:	
— склередема	17 (50)
— склеродактилия	12 (35)
Дигитальная ишемия:	
— дигитальные язвочки	13 (38)
— дигитальные рубчики	5 (15)
Телеангиэктазии	16 (47)
Синдром Рейно	30 (88)
Капилляроскопические изменения	28 (82)
Поражение легких:	
— легочная артериальная гипертензия	4 (12)
— ИПЛ	7 (21)
Поражение сердца	5 (15)
ССД-специфические аутоантитела, n (%)	
Антитела к топоизомеразе 1+	11 (32)
АЦА+	17 (50)
Антитела к РНП+	3 (9)

**Примечание:** Ме — медиана; ССД — системная склеродермия; ИПЛ — интерстициальное поражение легких; АЦА — антицентромерные антитела; РНП — рибонуклеопротеин

возраста составила 48 [32; 58] лет. Больные РА, СКВ, ССД и лица контрольной группы были сопоставимы по возрасту ( $p=0,3$ ), пациенты с ИВРЗ — по длительности болезни ( $p=0,4$ ).

Для получения первичной культуры моноцитов из образцов цельной крови (объем 30 мл) была использована стандартная методика выделения лейкоцитарной фракции в градиенте фикола с последующим селективным выделением CD14<sup>+</sup>-клеток методом магнитной сепарации на колонках (Miltenyi Biotec Inc., США) с использованием парамагнитных наночастиц (Miltenyi Biotec Inc., США). Полученные CD14<sup>+</sup>-моноциты высевали в две лунки 48-луночного планшета из расчета 500 000 клеток на лунку и культивировали в 0,5 мл бессывороточной среды X-VIVO (Lonza, Германия), содержащей L-глутамин, гентамицин и феноловый красный, при 37 °С. В первой лунке воспалительный ответ моноцитов стимулировали добавлением липополисахарида (ЛПС). В другой лунке стимуляция ЛПС не проводилась для оценки базальной секреции цитокинов. Клетки культивировали в течение 24 часов, после чего культуральную жидкость отбирали для последующего анализа секреции провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкина 1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) и моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1). Образцы культуральной жидкости хранили в морозильной камере при температуре -70 °С. Концентрации ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и MCP-1 в образцах культуральной жидкости определя-

ли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов Human TNF-alpha/TNFSF1A DuoSet ELISA, Human IL-1 beta/IL-1F2 DuoSet ELISA, Human CCL2/MCP-1 DuoSet ELISA (R&D Systems Inc., США).

Статистический анализ полученных данных был проведен с использованием языка программирования R для статистических вычислений. Для определения статистически значимых различий между группами был использован тест Краскела — Уоллиса. При наличии статистически значимых различий проводили тест Данна с корректировкой  $p$ -значений по методу Холма, чтобы определить, какие группы различаются между собой. Для оценки статистической значимости различий между двумя выборками был использован U-критерий Манна — Уитни. Клинико-лабораторные данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (Me [25-й; 75-й перцентили]).

### Результаты

Для оценки провоспалительного статуса моноцитов была измерена базальная и ЛПС-стимулированная секреция ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и MCP-1. В таблице 4 представлены результаты ее измерения в первичной культуре моноцитов в группах РА, СКВ, ССД и в контроле.

Как следует из таблицы 4, базальная секреция ФНО- $\alpha$  была статистически значимо выше во всех группах

**Таблица 4.** Секреция провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов (пг/мл), Me [25-й; 75-й перцентили]

Секреция цитокинов	РА 1	СКВ 2	ССД 3	Контроль 4	$p$
ФНО- $\alpha$					
Базальная	313 [188–652]	140 [103–310]	134 [95–241]	62 [51–78]	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}=0,001$ $p_{3-4}=0,012$ $p_{1-2}=0,013$ $p_{1-3}=0,001$
ЛПС-стимулированная	3365 [2030–6018]	2527 [1714–4740]	4852 [3166–5531]	2911 [2481–4554]	$p_{2-3}=0,018$
ИЛ-1 $\beta$					
Базальная	181 [126–254]	36 [29–87]	238 [120–261]	52 [45–87]	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}=0,24$ $p_{3-4}=0,001$ $p_{1-2}=0,003$ $p_{2-3}=0,009$
ЛПС-стимулированная	1064 [608–1712]	891 [521–1443]	1392 [1092–1932]	760 [640–1176]	$p_{1-4}=0,14$ $p_{2-4}=0,58$ $p_{3-4}=0,03$ $p_{2-3}=0,01$
MCP-1					
Базальная	7082 [2537–19527]	7402 [4665–16802]	5200 [2739–12940]	1681 [1366–2382]	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{3-4}<0,001$ $p_{1-2}=0,013$ $p_{1-3}=0,001$
ЛПС-стимулированная	19580 [13127–40590]	39581 [25211–60835]	28107 [13199–64262]	43304 [33477–55945]	$p_{1-4}=0,025$ $p_{1-2}=0,031$

**Примечание:** РА — ревматоидный артрит; СКВ — системная красная волчанка; ССД — системная склеродермия; ЛПС — липополисахариды; ИЛ-1 $\beta$  — интерлейкин 1 $\beta$ ; MCP-1 — моноцитарный хемотаксический протеин-1 (monocyte chemoattractant protein-1)



пациентов с ИВРЗ по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ), при этом базальная секреция ФНО- $\alpha$  в группе пациентов с РА была значительно выше, чем у пациентов с СКВ и ССД ( $p < 0,001$ ). ЛПС-стимулированная секреция ФНО- $\alpha$  моноцитами не различалась у пациентов с ИВРЗ и лиц контрольной группы. Хотя в группе пациентов с ССД ЛПС-стимулированная секреция ФНО- $\alpha$  была наиболее высока, она статистически значимо отличалась только от соответствующего показателя в группе СКВ ( $p = 0,018$ ).

Полученные результаты демонстрируют более высокую базальную секрецию ИЛ-1 $\beta$  макрофагами пациентов с РА и ССД по сравнению с контролем и с группой СКВ ( $p < 0,01$ ). При ССД отмечалась более высокая ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1 $\beta$ , чем в контрольной группе и у пациентов с СКВ ( $p < 0,05$  в обоих случаях). ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1 $\beta$  в группах РА и СКВ была несколько выше, чем в контроле, но эти различия не достигали статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

Во всех группах пациентов с ИВРЗ наблюдались повышенные уровни базальной секреции МСР-1 по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). При этом у лиц контрольной группы наблюдалась наиболее высокая ЛПС-стимулированная секреция МСР-1, которая была статистически значимо выше, чем у пациентов с РА ( $p < 0,05$ ). ЛПС-стимулированная секреция МСР-1 у пациентов с РА оказалась статистически значимо ниже, чем в группе СКВ ( $p < 0,05$ ).

Провоспалительную активацию моноцитов оценивали как соотношение ЛПС-стимулированной и базальной секреции цитокинов (рис. 1).

Провоспалительная активация моноцитов по ФНО- $\alpha$  статистически значимо различалась в группах РА и СКВ и была статистически значимо ниже, чем в контроле и при ССД ( $p < 0,001$  во всех случаях). Провоспалительная активация моноцитов по ИЛ-1 $\beta$  была снижена у пациентов с РА по сравнению с контролем и с группой ССД ( $p < 0,001$  в обоих случаях); активация моноцитов по ИЛ-1 $\beta$  в группах СКВ

и ССД статистически значимо не отличалась от соответствующего показателя контрольной группы. Активация моноцитов по МСР-1 была значительно снижена во всех группах пациентов с ИВРЗ по сравнению с контролем.

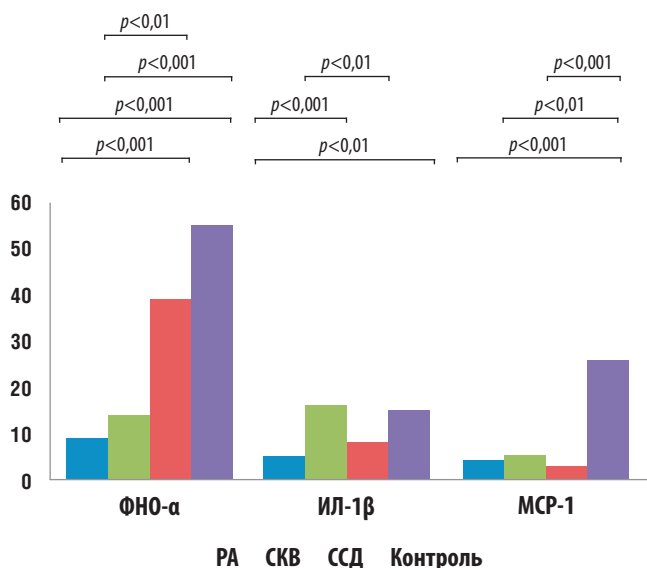
## Обсуждение

В данном исследовании был изучен воспалительный ответ моноцитов, полученных от пациентов с РА, СКВ, ССД, в сравнении с условно здоровыми участниками исследования. Оценивался уровень базальной и стимулированной секреции медиаторов воспаления, которые играют важную роль в развитии и прогрессировании ИВРЗ, в частности, цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , и хемокина МСР-1.

Результаты исследования демонстрируют высокий уровень базальной секреции ФНО- $\alpha$  во всех группах пациентов. Повышенная базальная секреция ФНО- $\alpha$  может быть связана с его активным участием в патогенезе всех изученных ИВРЗ. Известно, что ФНО- $\alpha$  входит в число ключевых цитокинов, участвующих в развитии синдрома активации макрофагов, который является одним из самых тяжелых осложнений ИВРЗ и наиболее часто встречается у пациентов с СКВ [18]. При РА высокий уровень ФНО- $\alpha$  приводит к активации фибробластов, которые рекрутируют воспалительные клетки в очаг поражения и секретируют цитокины, катепсины, матриксные металлопротеиназы и другие медиаторы воспаления, что приводит к деструктивным изменениям суставов [19]. При большинстве ИВРЗ отмечается взаимосвязь уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациентов, в том числе ФНО- $\alpha$ , с активностью заболевания и эффективностью терапии [20–22].

Базальная и ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-1 $\beta$  при РА и ССД была выше, чем в контроле. Высокий уровень ИЛ-1 $\beta$  при ИВРЗ способствует активации Т-лимфоцитов, пролиферации В-клеток, росту фибробластов, индукции адгезивных молекул, стимуляции продукции других цитокинов и медиаторов воспаления, что приводит к хронизации воспалительного процесса [23]. При этом группа СКВ характеризуется низким уровнем базальной и стимулированной секреции ИЛ-1 $\beta$ . Тем не менее, результаты ранее проведенных исследований подтверждают активное участие ИЛ-1 $\beta$  в патогенезе СКВ. Так, на модели СКВ показано, что мыши с дефицитом ИЛ-1 $\beta$  имели более низкий уровень антител к ДНК и менее выраженные проявления болезни [24]. В клинических исследованиях у пациентов с СКВ отмечается повышенная концентрация ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови [25], а в пораженных участках кожи – более высокий уровень экспрессии ИЛ-1 $\beta$  [26].

Результаты исследования демонстрируют высокий уровень базальной секреции МСР-1 во всех группах пациентов с ИВРЗ. Это может свидетельствовать об активном участии МСР-1 в развитии хронического воспаления при РА, СКВ и ССД, что подтверждается в других исследованиях [27]. МСР-1, или CCL2 (C-C motif ligand 2) – цитокин, относящийся к группе CC-хемокинов ( $\beta$ -хемокинов), является наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов в организме млекопитающих, а также Т-клеток памяти и дендритных клеток, к фокусам воспаления и продуцируется при повреждении тканей или внедрении инфекции. МСР-1 играет важную роль в активации и миграции дополнительных моноцитов к очагу воспаления, что ведет к поддержанию воспаления [27]. При этом ЛПС-стимулированная секреция МСР-1 была ниже во всех группах пациентов



**Рис. 1.** Сравнение провоспалительной активации моноцитов в анализируемых группах: РА – ревматоидный артрит; СКВ – системная красная волчанка; ССД – системная склеродермия; ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$ ; ИЛ-1 $\beta$  – интерлейкин 1 $\beta$ ; МСР-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1 (monocyte chemoattractant protein-1)

с ИВРЗ по сравнению с контролем, а при РА статистически значимо отличалась от соответствующего показателя при СКВ и в контроле. Можно предположить, что сниженный уровень секреции МСР-1 после стимуляции ЛПС связан с истощением возможности клеток секретировать адекватное количество МСР-1 в ответ на воспалительный стимул вследствие высокой базальной секреции.

Активация моноцитов по ФНО- $\alpha$  у пациентов с РА и СКВ была статистически значимо снижена по сравнению с контролем. Провоспалительная активация по ИЛ-1 $\beta$  при РА также была ниже, чем в контроле. Провоспалительная активация моноцитов по МСР-1 во всех группах пациентов с ИВРЗ была статистически значимо ниже, чем в контроле. В целом наблюдавшаяся в настоящем исследовании сниженная провоспалительная активация моноцитов у пациентов с ИВРЗ обусловлена высокими уровнями базальной секреции цитокинов. При этом ЛПС-стимулированная секреция у пациентов с ИВРЗ и в контроле в большинстве случаев статистически значимо не различалась. Согласно ранее опубликованным данным, циркулирующие моноциты пациентов с РА характеризуются снижением активации по сравнению со здоровыми лицами, поскольку демонстрируют сниженный ответ на ЛПС-стимуляцию [28].

## Заключение

Таким образом, высокая базальная секреция цитокинов обуславливает снижение способности секретировать повышенное количество цитокинов в ответ на воспалительную стимуляцию, что, вероятно, приводит к нарушению иммунного ответа и может являться важным звеном в патогенезе хронического воспаления при ИВРЗ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-15-00199 «Механизмы хронизации воспаления при аутоиммунных ревматических заболеваниях: роль митохондриальных мутаций и нарушения воспалительного ответа моноцитов».*

## Прозрачность исследования

*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.*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kouchit Y, Morand L, Martis N. Mortality and its risk factors in critically ill patients with connective tissue diseases: A meta-analysis. *Eur J Intern Med.* 2022;98:83-92. doi: 10.1016/j.ejim.2022.02.006
- Насонов ЕЛ, Лиля АМ, Дубинина ТВ, Никитинская ОА, Амирджанова ВН. К 60-летию журнала «Научно-практическая ревматология» Достижения ревматологии в начале XXI века. *Научно-практическая ревматология.* 2022;60(1): 5-20. [Nasonov EL, Lila AM, Dubinina TV, Nikininskaya OA, Amirdjanova VN. Advances in rheumatology at the beginning of the 21st century. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologia = Rheumatology Science and Practice.* 2022;60(1):5-20 (In Russ.)]. doi: 10.47360/1995-4484-2022-5-20
- Ahsan H. Selfie: Autoimmunity, boon or bane. *J Immunoassay Immunochem.* 2017;38(3):235-246. doi: 10.1080/15321819.2017.1319861
- Yang S, Zhao M, Jia S. Macrophage: Key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Front Immunol.* 2023;14:14:1080310. doi: 10.3389/fimmu.2023.1080310
- Насонов ЕЛ, Авдеева АС. Интерлейкин 18 при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях и COVID-19. *Научно-практическая ревматология.* 2022;60(2):195-204. [Nasonov EL, Avdeeva AS. Interleukin 18 in Immune-mediated rheumatic diseases and COVID-19. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologia = Rheumatology Science and Practice.* 2022;60(2):195-204 (In Russ.)]. doi: 10.47360/1995-4484-2022-195-204
- Ma WT, Gao F, Gu K, Chen DK. The role of monocytes and macrophages in autoimmune diseases: A comprehensive review. *Front Immunol.* 2019;10:1140. doi: 10.3389/fimmu.2019.01140
- Navegantes KC, de Souza Gomes R, Pereira PAT, Czaikoski PG, Azevedo CHM, Monteiro MC. Immune modulation of some autoimmune diseases: The critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity. *J Transl Med.* 2017;15(1):36. doi: 10.1186/s12967-017-1141-8
- Pang J, Koh TJ. Proliferation of monocytes and macrophages in homeostasis, infection, injury and disease. *J Leukoc Biol.* 2023;9:qiad093. doi: 10.1093/jleuko/qiad093
- Герасимова ЕВ, Попкова ТВ. Функциональные нарушения макрофагов при ревматоидном артрите и атеросклерозе. *Научно-практическая ревматология.* 2018;56(4):486-493. [Gerasimova EV, Popkova TV. Macrophage functional disorders in rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologia = Rheumatology Science and Practice.* 2018;56(4):486-493 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2018-486-493
- Prajzlerová K, Kryštůfková O, Komarc M, Mann H, Hulejová H, Petrová N, et al. The dysregulation of monocyte subpopulations in individuals at risk of developing rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2021;60(4):1823-1831. doi: 10.1093/rheumatology/keaa518
- Wang Y, Han CC, Cui D, Li Y, Ma Y, Wei W. Is macrophage polarization important in rheumatoid arthritis? *Int Immunopharmacol.* 2017;50:345-352. doi: 10.1016/j.intimp.2017.07.019
- Byrne JC, Ni Gabhann J, Lazzari E, Mahony R, Smith S, Stacey K, et al. Genetics of SLE: Functional relevance for monocytes/macrophages in disease. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:582352. doi: 10.1155/2012/582352
- Kwant LE, Vegting Y, Tsang-A-Sjoe MWP, Kwakernaak AJ, Vogt L, Voskuyl AE, et al. Macrophages in lupus nephritis: Exploring a potential new therapeutic avenue. *Autoimmun Rev.* 2022;21(12):103211. doi: 10.1016/j.autrev.2022.103211
- Higashi-Kuwata N, Jinnin M, Makino T, Fukushima S, Inoue Y, Muchemwa FC, et al. Characterization of monocyte/macrophage subsets in the skin and peripheral blood derived from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(4):R128. doi: 10.1186/ar3066
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Birmingham CO 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-2581. doi: 10.1002/art.27584
- Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-2686. doi: 10.1002/art.34473
- van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(11):1747-1755. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204424
- Crayne CB, Albeituni S, Nichols KE, Cron RQ. The immunology of macrophage activation syndrome. *Front Immunol.* 2019;10:119. doi: 10.3389/fimmu.2019.00119

19. Goldring SR. Pathogenesis of bone erosions in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2002;14(4):406-410. doi: 10.1097/00002281-200207000-00013
20. Lama M, Sarkar R, Ghosh B. Serum cytokine profiles in patients with rheumatoid arthritis before and after treatment with methotrexate. *J Interferon Cytokine Res*. 2023;43(8):344-350. doi: 10.1089/jir.2023.0078
21. Лапкина НА, Баранов АА, Абайтова НЕ, Левшин НЮ, Авдеева АС, Леонтьева ЕА, и др. Динамика клинических проявлений и концентрации цитокинов у больных ревматоидным артритом на фоне терапии тофацитинибом. *Научно-практическая ревматология*. 2021;59(6):693-699. [Lapkina NA, Baranov AA, Abaytova NE, Levshin NYu, Avdeyeva AS, Leontyeva EA, et al. Dynamics of clinical manifestations and cytokine concentrations in rheumatoid arthritis patients on tofacitinib therapy. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologia = Rheumatology Science and Practice*. 2021;59(6):693-699 (In Russ.)]. doi: 10.47360/1995-4484-2021-693-699
22. Pehlivan Y, Onat AM, Ceylan N, Turkbeyler IH, Buyukhatipoglu H, Comez G, et al. Serum leptin, resistin and TNF- $\alpha$  levels in patients with systemic sclerosis: The role of adipokines in scleroderma. *Int J Rheum Dis*. 2012;15(4):374-379. doi: 10.1111/j.1756-185X.2012.01755.x
23. Zhao R, Zhou H, Su SB. A critical role for interleukin-1 $\beta$  in the progression of autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(3):658-669. doi: 10.1016/j.intimp.2013.08.012
24. Voronov E, Dayan M, Zinger H, Gayvoronsky L, Lin JP, Iwakura Y, et al. IL-1 beta-deficient mice are resistant to induction of experimental SLE. *Eur Cytokine Netw*. 2006;17(2):109-116.
25. Italiani P, Manca ML, Angelotti F, Melillo D, Pratesi F, Puxeddu I, et al. IL-1 family cytokines and soluble receptors in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2018;20(1):27. doi: 10.1186/s13075-018-1525-z
26. Mähönen K, Hau A, Bondet V, Duffy D, Eklund KK, Panelius J, et al. Activation of NLRP3 inflammasome in the skin of patients with systemic and cutaneous lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol*. 2022;102:adv00708. doi: 10.2340/actadv.v102.2293
27. Moadab F, Khorramdelazad H, Abbasifard M. Role of CCL2/CCR2 axis in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis: Latest evidence and therapeutic approaches. *Life Sci*. 2021;269:119034. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119034
28. Kuuliala K, Kuuliala A, Hämäläinen M, Koivuniemi R, Kautiainen H, Moilanen E, et al. Impaired Akt phosphorylation in monocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol*. 2017;85(2):155-161. doi: 10.1111/sji.12521

**Богатырева А.И.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1188-1945>

**Герасимова Е.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5815-561X>

**Кириченко Т.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2899-9202>

**Маркина Ю.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3781-6340>

**Попкова Т.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5793-4689>

**Шалыгина М.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2947-7334>

**Толстик Т.В.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2897-4777>

**Маркин А.М.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6649-7924>

**Орехов А.Н.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6495-1628>