

Цитокины и неоптерин при антифосфолипидном синдроме

Е.Н. Александрова, А.А. Новиков, Т.М. Решетняк, Т.В. Попкова, Н.Г. Клюквина,
М.А. Диатроптова, М.В. Черкасова, Л.Н. Денисов, Е.Л. Насонов
НИИ ревматологии РАМН, Москва

Резюме

Цель. Изучить клиническое значение провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли альфа – ФНО α , интерлейкина – ИЛ-6, ИЛ-18), растворимых (р) рецепторов (Р) ФНО α (рФНО-PI), противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) и интегрального маркера цитокинзависимой активации клеточного иммунного ответа неоптерина при антифосфолипидном синдроме (АФС).

Материал и методы. Сывороточную концентрацию цитокинов и неоптерина определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов реагентов «BioSource International, Inc.» (США), «Bender MedSystems» (Австрия) и «IBL» (Германия) у 39 больных первичным АФС (ПАФС), 53 больных вторичным АФС (ВАФС), ассоциированным с системной красной волчанкой (СКВ), 164 больных СКВ и 54 здоровых доноров.

Результаты. Уровни Th1 цитокинов (ФНО α , ИЛ-18), рФНО-PI и неоптерина при ПАФС, ВАФС и СКВ, а также Th2 цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10) при ВАФС и СКВ были достоверно выше, чем у доноров ($p < 0,05$). При ПАФС повышение уровня ФНО α ассоциировалось с поражением клапанов сердца ($p < 0,05$) и ЦНС ($p < 0,01$), ИЛ-18 – с хроническими язвами ног ($p < 0,001$). При ВАФС наиболее выраженное увеличение концентрации рФНО-PI имело место у больных с тромбоцитопенией ($p < 0,05$). При АФС отмечена связь между гиперпродукцией неоптерина и поражением клапанов сердца ($p < 0,001$). Повышение уровня ИЛ-10 при АФС коррелировало с уменьшением числа случаев тромбозов в анамнезе ($r = -0,4$; $p < 0,02$), при СКВ с АФС – со снижением индекса повреждения SLICC ($r = -0,7$; $p < 0,001$), что свидетельствует о протективном значении ИЛ-10 в отношении развития тромбозов и прогрессирования заболевания. Увеличение концентрации ИЛ-18 ассоциировалось с атерогенными нарушениями в виде гипертриглицеридемии ($r = 0,6$; $p < 0,001$) и снижения уровня ХС-ЛПВП ($r = -0,4$; $p < 0,01$) в крови. Обнаружена положительная корреляция уровней ФНО α , ИЛ-6 и неоптерина с титрами IgM антител к кардиолипину и IgG/IgM антител к протромбину ($p < 0,05$). При СКВ с АФС повышение уровня цитокинов, рФНО-PI и неоптерина ассоциировалось с увеличением индексов активности SLEDAI и ECLAM ($p < 0,05$).

Заключение. Гиперпродукция цитокинов и неоптерина, отражающая активацию клеточного иммунитета и воспаление, является важным фактором патогенеза АФС.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, фактор некроза опухоли альфа (ФНО α), растворимые рецепторы ФНО α , интерлейкин (ИЛ)-6, ИЛ-10, ИЛ-18, неоптерин, антитела к фосфолипидам, активация клеточного иммунного ответа, воспаление

В последние годы интенсивно изучаются клеточные иммунные механизмы антифосфолипидного синдрома (АФС) [16, 30, 37, 50, 55]. Полагают, что важным фактором иммунопатогенеза АФС является дисрегуляция нормального цитокинового баланса с увеличением продукции провоспалительных цитокинов [14, 44]. Цитокины – семейство

белковых и гликопротеидных молекул, выполняющих функцию медиаторов межклеточных взаимодействий и принимающих участие в пролиферации, дифференцировке клеток, репарации и ремоделировании тканей, а также в регуляции иммунного ответа и воспаления [11]. По данным литературы, развитие АФС ассоциируется с Th1 типом иммунного ответа, характеризующегося β_2 – гликопротеин I (β_2 – ГП I) зависимой продукцией интерферона (ИФН) γ и интерлейкина (ИЛ)-2 аутореактивными CD4⁺ Т-лимфоцитами [29, 50], в то время как при СКВ преобладает Th2 тип иммун-

ного ответа [42]. Недавно было показано, что $\alpha\beta_2$ – ГП I, выделенные из сывороток больных первичным АФС (ПАФС), индуцируют экспрессию генов, кодирующих хемокины (MIP-3, CCL20, CXCL3, CX3CL1, CXCL5, CXCL2, CXCL1), провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ИЛ-1 β , ИЛ-8, рецепторы ИЛ-18, фактор некроза опухоли α – ФНО α) и факторы роста (колониестимулирующие факторы гранулоцитов/макрофагов, фактор роста фибробластов) в культуре эндотелиальных клеток (ЭК) человека [25]. Хемокины, продуцируемые в ответ на стимуляцию $\alpha\beta_2$ – ГП I, вызывают рекрутирование, хемотаксис и пролиферацию мононуклеарных клеток и гранулоцитов с усилением адгезии моноцитов к сосудиному эндотелию [39] и накоплением макрофагов и нейтрофилов в ткани плаценты [23], что способствует развитию тромботических осложнений и акушерской патологии у больных АФС. Провоспалительные Th1 цитокины, в первую очередь ФНО α , ИЛ-1 β , ИФН- γ и ИЛ-18, синтез которых опосредуется $\alpha\beta_2$ – ГП I, активируют ЭК и макрофаги, индуцируя экспрессию молекул адгезии (VCAM-1, ICAM-1, P-селектин, E-селектин), антигенов II класса главного комплекса гистосовместимости и костимуляторных молекул, а также регулируют продукцию оксида азота ЭК [40]. В исследованиях с использованием мышиной экспериментальной модели АФС продемонстрирована важная роль ФНО α в патогенезе индуцированных антифосфолипидными антителами потерь плода и возможность коррекции данной патологии биологическими агентами, блокирующими активность ФНО α [14]. Зависимое от $\alpha\beta_2$ – ГП I усиление синтеза проангиогенных цитокинов, в том числе ИЛ-8 и фактора роста фибробластов, может лежать в основе пролиферации ЭК и гиперплазии интимы сосудов кожи и почек, характерных для тромботической васкулопатии при ПАФС [36].

Одним из наиболее чувствительных и информативных серологических маркеров активации Th1 типа иммунного ответа при заболеваниях человека является неоптерин [7]. Неоптерин (D-эритро-1',2',3',-тригидроксипропилптерин) образуется в активированных моноцитах и макрофагах из гуанозинтрифосфата. Основным индуктором его синтеза является ИФН γ , при этом другие Th1 цитокины (ФНО α и ИЛ-2) резко усиливают стимулированную ИФН γ выработку неоптерина. Th2 цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10) и глюкокортикоиды, наоборот, подавляют его продукцию активированными макрофагами [10]. Кроме того, неоптерин может вырабатываться ЭК, стимулированными ФНО α [6]. Это дает основание рассматривать неоптерин в качестве интегрального показателя цитокинзависимой активации моноцитов/макрофагов и ЭК. Имеются данные о том, что неоптерин обладает способностью модулировать внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс, активируя транслокацию NF-kB внутрь клеточного ядра, где тот связывается с про-

моторными участками генов и индуцирует экспрессию большого числа провоспалительных, протромботических и проатерогенных медиаторов (ФНО α , ИФН γ , ИЛ-1, ИЛ-6, молекул адгезии) [22].

Увеличение концентрации ИЛ-6, ФНО α , рФНО-PI, ИЛ-10, ИЛ-18 и неоптерина в сыворотке крови наблюдается при многих аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваниях, включая системную красную волчанку (СКВ), ревматоидный артрит, системную склеродермию, полимиозит/дерматомиозит, гранулематоз Вегенера, острую ревматическую лихорадку, височный артериит, болезнь Крона, рассеянный склероз, псориаз, дилатационную кардиомиопатию, атеросклероз [1, 5, 9, 7, 8, 12, 18, 19, 22, 26, 28, 32, 35, 43, 54]. По данным литературы, повышение уровня цитокинов и неоптерина, как правило, коррелирует с активностью патологического процесса и поражением почек [5, 9, 7, 17, 21, 24, 28, 31, 32, 34, 38, 45, 53]. Показано, что гиперпродукция ИЛ-6, ФНО α , рФНО-Р и ИЛ-18 при СКВ и других аутоиммунных ревматических заболеваниях тесно связана с развитием сердечно-сосудистых нарушений [4, 9, 13, 46, 47, 49, 54].

В рамках АФС изучение клинко-патогенетического значения цитокинов ограничивается единичными сообщениями о повышении сывороточных уровней ФНО α [3, 15, 20] и ИЛ-6 [20] при данном заболевании. Измерение концентрации неоптерина в сыворотках больных АФС ранее не проводилось.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня и клинического значения провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-6, ИЛ-18), растворимых (р) рецепторов (Р) ФНО α типа I (рФНО-PI), противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) и неоптерина при АФС.

Материал и методы

Обследовано 256 больных, из них 39 – с ПАФС (14 муж. и 25 жен.; ср. возраст $36,2 \pm 10,5$ лет), 53 – с вторичным АФС (ВАФС), ассоциированным с СКВ (18 муж. и 35 жен.; ср. возраст $38,2 \pm 10,8$ лет) и 164 – с СКВ (55 муж. и 109 жен.; ср. возраст $33,8 \pm 11,0$ лет). Диагноз АФС основывался на критериях W.A. Wilson и соавт. [52], СКВ – на критериях Американской ревматологической ассоциации [27, 48]. Контрольную группу составили 54 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными. Определение сывороточной концентрации ИЛ-6 и ФНО α проводили иммуноферментным методом (ИФМ) с помощью коммерческих наборов реагентов «BioSource International, Inc.» (США); рФНО-PI, ИЛ-10 и ИЛ-18 – используя коммерческие тест-системы «Bender MedSystems» (Австрия). У здоровых доноров верхняя граница нормы (M+2SD) для ИЛ-6 составляла 1,58 пг/мл (n=27), ФНО- α – 2,35 пг/мл (n=20), рФНО-PI – 3,04 нг/мл (n=54), ИЛ-18 – 51,7 пг/мл (n=20); концентрация ИЛ-10 не превышала 0,01 пг/мл (n=20). Концентрацию неоптерина в

сыворотке крови измеряли ИФМ с использованием коммерческого набора реагентов («IBL», Германия). Верхняя граница нормы (M+2SD) для неоптерина при тестировании 30 сывороток здоровых доноров составляла 11,7 нмоль/л. Концентрацию IgG/IgM – антител к кардиолипину (аКЛ) в сыворотке крови определяли ИФМ, описанным нами ранее [2], IgG/IgM аβ₂ ГП I и IgG/IgM антител к протромбину (аПТ) – ИФМ с использованием коммерческих наборов («Orgentec», Германия). Исследуемые сыворотки хранили при температуре -70 °С.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы «Statistica 6,0» («StatSoft», США), включая методы параметрического и непараметрического анализа (коэффициент корреляции по Спирмену, тест Манн-Уитни). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты определения цитокинов, рФНО-РІ и неоптерина в сыворотках больных ПАФС, ВАФС, СКВ и доноров представлены в табл. 1, корреляционные связи между данными показателями и клинико-лабораторными проявлениями АФС – в табл. 2. Концентрация цитокинов, рФНО-РІ и неоптерина при АФС не зависела от пола, возраста больных, длительности заболевания, наличия или отсутствия в анамнезе тромбозов различной локализации и акушерской патологии.

Таблица 1
КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ, ИХ РАСТВОРИМЫХ РЕЦЕПТОРОВ И НЕОПТЕРИНА В СЫВОРОТКАХ БОЛЬНЫХ ПАФС, ВАФС, СКВ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, МЕ (ИР)

Показатель	Группы обследованных			
	ПАФС	ВАФС	СКВ	Доноры
ИЛ-6 (пг/мл)	0,42 (0,07-1,23) n=34	2,50 (0,80-5,70)* n=33	1,65 (0,79-3,53)* n=124	0,41 (0,22-0,72) n=27
ФНОα (пг/мл)	3,52 (1,97-4,42)* n=39	3,72 (2,48-7,26)* n=41	3,79 (1,94-6,42)* n=139	0,41 (0,28-0,89) n=20
рФНО-РІ (пг/мл)	2,23 (1,71-3,22)* n=31	3,80 (2,12-6,25)* n=53	2,76 (2,08-4,50)* n=164	1,74 (1,28-2,16) n=54
ИЛ-10 (пг/мл)	0,01 (0,01-0,01) n=22	0,01 (0,01-4,00)* n=22	0,01 (0,01-3,80)* n=103	0,01 (0,01-0,01) n=20
ИЛ-18 (пг/мл)	199 (78-318)* n=23	358 (185-636)* n=22	302 (160-558)* n=102	86 (78-163) n=20
Неоптерин (нмоль/л)	8,6 (4,5-14,1)* n=27	11,0 (8,6-21,2)* n=28	11,2 (6,9-18,8)* n=128	5,6 (4,0-7,4) n=30

Примечание. Ме – медиана, ИР – интерквартильный размах 25%-75%, * $p < 0,05$ относительно доноров

Средняя концентрация ИЛ-6 у больных ВАФС и СКВ была выше, чем у доноров ($p < 0,001$). При ПАФС обнаружен нормальный уровень ИЛ-6, что отличается от результатов R.R. Forastiero и соавт. [20], свидетельствовавших об увеличении синтеза

Таблица 2
КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ (R) УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ, ИХ РАСТВОРИМЫХ РЕЦЕПТОРОВ И НЕОПТЕРИНА С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ АФС ($P < 0,05$)

Признаки	ИЛ-6	ФНОα	рФНО-РІ	ИЛ-10	ИЛ-18	Неоптерин
Количество тромбозов в анамнезе	-	-	-	-0,4 (44)	-	-
SLEDAI	0,3*** (147)	0,4** (35)	0,3** (52)	0,4** (22)	0,3** (22)	0,6** (27)
ECLAM	0,4*** (143)	0,4** (31)	0,5** (39)	0,4** (22)	0,3** (22)	0,4** (27)
SLICC	-	-	-	-0,7** (22)	-	-
Тромбоциты	-0,5* (28)	-	-	-	-	-
анДНК	0,4*** (145)	0,4** (41)	0,4** (37)	0,4** (22)	0,5** (20)	0,5** (28)
Протеинурия	-	-	0,4** (49)	0,5** (22)	-	-
Триглицериды	-	-	-	-	0,6 (35)	-
Холестерин липопротеидов высокой плотности	-	-	-	-	-0,4 (22)	-

Примечание. * – коэффициент корреляции (r) у больных ПАФС, ** – у больных ВАФС, *** – у больных СКВ с и без АФС; в скобках указано число больных, у которых проведено измерение данного показателя

ИЛ-6 при данном заболевании. Повышение уровня ИЛ-6 отмечено у 18% больных ПАФС, 64% больных ВАФС и 52% больных СКВ. При АФС обнаружена положительная корреляция между уровнями ИЛ-6 и IgG аПТ в крови ($n=38$; $r=0,3$; $p < 0,05$). Выявлена отрицательная корреляция уровня ИЛ-6 с количеством тромбоцитов ($p < 0,01$) у больных ПАФС, указывающая на возможное участие этого цитокина в развитии тромбоцитопении при АФС. При СКВ с и без АФС увеличение концентрации ИЛ-6 было связано с повышением SLEDAI ($p < 0,001$), ECLAM ($p < 0,001$) и титров анДНК ($p < 0,001$) в крови, что соответствует результатам M. Linker-Israeli и соавт. [32] и Yu. Asanuma и соавт. [13].

Уровень ФНОα в сыворотках больных ПАФС, ВАФС и СКВ значительно превышал таковой у доноров ($p < 0,001$). Увеличение сывороточной концентрации ФНОα отмечено у 74% больных ПАФС, 76% больных ВАФС и 68% больных СКВ. Другими авторами получены сходные результаты о повышении уровня ФНОα при ПАФС [20] и ВАФС [3]. В отличие от данных А.Г. Бородин и соавт. [3] не выявлено достоверных различий по уровню ФНОα между группами больных СКВ с и без АФС. При ПАФС концентрация ФНОα у 19 больных с повреждением клапанов сердца (4,04; 2,56-5,20 пг/л) и у 16 больных с патологией ЦНС (3,97; 3,54-6,09 пг/мл) была выше, чем у 16 больных без поражения сердца (2,97; 1,87-3,69 пг/мл; $p < 0,05$) и у 21

больного без поражения ЦНС (2,72; 1,97-3,64 пг/мл, $p < 0,01$). При ВАФС обнаружена положительная корреляция ФНО α с уровнем IgM аКЛ ($n=41$; $r=0,4$; $p < 0,05$) и IgG аПТ ($n=23$; $r=0,4$; $p < 0,05$), при АФС – с уровнем IgM аКЛ ($n=80$; $r=0,2$; $p < 0,03$) и IgG/ IgM аПТ ($n=48$; $r=0,3$; $p < 0,02$). У больных ВАФС уровень ФНО α положительно коррелировал с увеличением SLEDAI ($p < 0,01$), ECLAM ($p < 0,05$) и уровня анДНК ($p < 0,01$).

Концентрация рФНО-PI у больных ПАФС, ВАФС и СКВ достоверно превышала таковую у доноров ($p < 0,001$), однако при ПАФС медиана рФНО-PI была ниже, чем при ВАФС и СКВ ($p < 0,05$). Увеличение сыровоточного уровня рФНО-PI отмечено у 29% больных ПАФС, 59% больных ВАФС и 48% больных СКВ. При ВАФС концентрация рФНО-PI у больных с тромбоцитопенией ($n=4$; 6,52; 5,57-12,40 нг/мл) была выше, чем у больных без тромбоцитопении ($n=49$; 3,66; 2,09-5,62 нг/мл; $p < 0,05$). Уровень рФНО-PI при ВАФС положительно коррелировал с SLEDAI ($p < 0,05$), ECLAM ($p < 0,001$) и суточной протеинурией ($p < 0,01$). Ранее наличие тесной взаимосвязи между увеличением концентрации ФНО α , рФНО-PI и повышением иммуновоспалительной активности заболевания было продемонстрировано у больных СКВ без АФС [17, 21, 31, 45].

Сывороточный уровень ИЛ-10 у больных ВАФС и СКВ был выше данного показателя у доноров ($p < 0,05$), а при ПАФС не отличался от нормы. Увеличение концентрации ИЛ-10 отмечено у 18% больных ПАФС, 36% больных ВАФС и 39% больных СКВ. При АФС повышение уровня ИЛ-10 коррелировало с уменьшением количества случаев тромбозов в анамнезе ($p < 0,02$), а при ВАФС – со снижением SLICC ($p < 0,001$). Учитывая имеющиеся данные о способности ИЛ-10 подавлять клеточные иммунные реакции Th1 типа [51], можно предположить, что этот цитокин является протективным фактором в отношении развития тромботических осложнений и тяжелых органических повреждений при АФС. С другой стороны, при СКВ с АФС гиперпродукция ИЛ-10 стимулирует гуморальный иммунный ответ Th2 типа в виде активации В-лимфоцитов и усиления синтеза анДНК, индуцируя повышение иммуновоспалительной активности заболевания [33]. Об этом свидетельствует положительная корреляция уровня ИЛ-10 с SLEDAI ($p < 0,05$), ECLAM ($p < 0,05$), титрами анДНК ($p < 0,01$) и суточной протеинурией ($p < 0,01$) у больных ВАФС. Сходные результаты, указывающие на связь повышенных значений ИЛ-10 с клинико-лабораторными параметрами активности СКВ, приводят другие авторы [24, 28].

Сывороточный уровень ИЛ-18 у больных ПАФС, ВАФС и СКВ был выше данного показателя у доноров ($p < 0,05$), однако при ПАФС выявлена более низкая концентрация ИЛ-18, чем при ВАФС и СКВ ($p < 0,02$). Увеличение концентрации ИЛ-18 отмечено у 39% больных ПАФС, 59% больных ВАФС и

63% больных СКВ. При ПАФС уровень ИЛ-18 у 5 больных с кожными язвами ног (477; 318-507 пг/мл) значительно превышал таковой у 16 больных без признаков поражения кожи (136; 78-257 пг/мл; $p < 0,001$). В группе больных ВАФС повышение уровня ИЛ-18 коррелировало с увеличением SLEDAI ($p < 0,02$), ECLAM ($p < 0,03$) и продукции анДНК ($p < 0,02$). Сходные данные о связи гиперпродукции ИЛ-18 с активностью патологического процесса при СКВ представлены другими исследователями [38, 53]. У больных АФС обнаружена положительная корреляция значений ИЛ-18 с концентрацией триглицеридов ($p < 0,001$) и отрицательная – с уровнем холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) ($p < 0,01$), что указывает на возможный атерогенный эффект ИЛ-18 при АФС.

Уровень неоптерина в сыворотках больных ПАФС и ВАФС был выше, чем у доноров ($p < 0,05$), и не отличался от такового у больных СКВ ($p > 0,05$). Увеличение концентрации неоптерина отмечено у 37% больных ПАФС, 43% больных ВАФС и 47% больных СКВ. У 21 больного ПАФС и ВАФС с поражением клапанного аппарата сердца концентрация неоптерина (18,1; 9,3-30,1 нмоль/л) была в 2 раза выше, чем у 30 больных АФС без признаков поражения сердца (9,1; 6,5-11,8 нмоль/л; $p < 0,001$). Гиперпродукция неоптерина при АФС коррелировала с увеличением концентрации IgG аПТ ($n=38$; $r=0,4$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($n=42$; $r=0,5$; $p < 0,001$), ФНО α ($n=45$; $r=0,7$; $p < 0,001$), ИЛ-10 ($n=40$; $r=0,3$; $p < 0,05$) и ИЛ-18 ($n=40$; $r=0,4$; $p < 0,05$). При ВАФС повышение уровня неоптерина ассоциировалось с увеличением SLEDAI ($p < 0,002$), ECLAM ($p < 0,02$) и титров анДНК ($p < 0,01$), что соответствует данным других авторов о положительной корреляции значений неоптерина с активностью СКВ [34, 41].

Заключение

Выявлено увеличение сыровоточной концентрации Th1 цитокинов (ФНО α , рФНО-PI, ИЛ-18) и неоптерина при ПАФС и ВАФС, Th2 цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10) при ВАФС, ассоциировавшееся с поражением клапанов сердца (ФНО α , неоптерин), ЦНС (ФНО α), тромбоцитопенией (ИЛ-6, рФНО-PI) и хроническими язвами ног (ИЛ-18). Показано, что гиперпродукция ИЛ-10 препятствует развитию тромботических осложнений и прогрессированию АФС, в то время как повышение уровня ИЛ-18 является одним из потенциальных факторов атерогенеза при данном заболевании. Обнаружена положительная корреляция уровней ФНО α , ИЛ-6 и неоптерина с титрами антифосфолипидных антител в крови. При СКВ с АФС увеличение сыровоточной концентрации цитокинов и неоптерина ассоциировалось с повышением иммуновоспалительной активности заболевания. Таким образом, гиперпродукция цитокинов и неоптерина, отражающая активацию клеточного иммунитета и воспаление, тесно связана с развитием клинических проявле-

ний АФС. Повышение уровней провоспалительных цитокинов и неоптерина в сыворотках больных АФС позволяет обсуждать возможность использо-

вания антицитокиновой терапии при данном заболевании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алекперов Р.Т., Тимченко А.В., Самсонов М.Ю. и соавт. Уровень растворимых рецепторов 1 типа фактора некроза опухоли у больных системной склеродермией. *Тер.архив*, 2004, 5, 11-5.
2. Александрова Е.Н., Насонов Е.Л., Ковалев В.Ю. Количественный иммуноферментный метод определения антител к кардиолипину в сыворотке крови. *Клинич. ревматол.*, 1995, 4, 35-9.
3. Бородин А.Г., Баранов А.А., Ключкина Н.Г. и соавт. Клинико-патогенетическое значение фактора некроза опухоли альфа при системной красной волчанке. *Тер.архив*, 2002, 5, 32-4.
4. Ильина А.Е., Ключкина Н.Г., Александрова Е.Н. и соавт. Растворимые рецепторы α -фактора некроза опухолей: связь с атеросклеротическим поражением сосудов при системной красной волчанке у мужчин. *Тер.архив*, 2006, 6, 20-4.
5. Кричевская О.А., Ключкина Н.Г., Александрова Е.Н. и соавт. Фактор некроза опухоли α и его растворимые рецепторы при ревматических заболеваниях: клиническое и патогенетическое значение. *Научно-практич. ревматол.*, 2005, 2, 43-6.
6. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Н.П. Васкулиты и васкулопатии. Ярославль, Верхняя Волга, 1999, 616 с.
7. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз Г., Фукс Д. Неоптерин: новый иммунологический маркер аутоиммунных ревматических заболеваний. *Клин. мед.*, 2000, 8, 43-6.
8. Насонов Е.Л. Современные направления иммунологических исследований при хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваниях человека. *Тер.архив*, 2001, 8, 43-6.
9. Панафидина Т.А., Попкова Т.В., Алекберова З.С. и соавт. Интерлейкин-18 при системной красной волчанке: связь с клиническими проявлениями заболевания и атеросклеротическим поражением сосудов. *Тер.архив*, 2008, 5, 41-6.
10. Свиридов Е.А., Телегина Т.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете. *Успехи биологич. химии*, 2005, 45, 355-90.
11. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии. *Иммунология*, 1997, 5, 7-14.
12. Aringer M., Smolen J.C. Complex cytokine effect in a complex autoimmune disease: tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthr. Res. Ther.*, 2003, 5, 172-7.
13. Asanuma Yu., Chung C.P., Oeser A. et al. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J. Rheumatol.*, 2006, 33, 539-45.
14. Berman J., Girardi G., Salmon J.E. TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J. Immunol.*, 2005, 174, 485-90.
15. Bertolaccini M.L., Atsumi T., Lanchbury J.C. et al. Plasma tumor necrosis factor alpha level and 238* promoter polymorphism in patients with antiphospholipid syndrome. *Thromb. Haemost.*, 2001, 85, 193-4.
16. Blank M., Krause I., Lanir N. et al. Transfer of experimental antiphospholipid syndrome by bone marrow cell transplantation: the importance of the T cell. *Arthritis. Rheum.*, 1995, Vol. 38, 115-22.
17. Davas E.M., Tsirogianni A., Kappou I. et al. Serum IL-6, TNF alpha, p55 srTNF alpha, p75 srTNF alpha, srIL-2 alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin. Rheum.*, 1999, 18, 17-22.
18. Dayer E., Dayer J.-M., Roux-Lombard P. Primer: the practical use of biological markers of rheumatic and systemic inflammatory diseases. *Nature Clin. Pract. Rheumatology*, 2007, 3, 512-20.
19. Espersen G.T., Vestergaard M., Erust E. et al. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-2 in plasma from rheumatoid arthritis patients in relation with disease activity. *Clin. Rheumatol.*, 1991, 10, 374-76.
20. Forastiero R.R., Martinuzzo M.E., de Larranga G.F. Circulating levels of tissue factor and proinflammatory cytokines in patients with primary antiphospholipid syndrome or leprosy related antiphospholipid antibodies. *Lupus*, 2005, 14, 129-36.
21. Gabay C., Cakir N., Moral F. et al. Circulating levels of tumor necrosis factor soluble receptor in systemic lupus erythematosus are significantly higher than in other rheumatic disease and correlate with disease activity. *J. Rheumatol.*, 1997, 24, 303-8.
22. Garcia-Moll X., Cole D., Zouridakis E., Kaski J.C. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activity in women. *Heart*, 2000, 83, 346-50.
23. Girardi G., Berman J., Redecha P. et al. Complement C5a receptors and neutrophil mediated fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1644-54.
24. Grondal G., Gunnarson I., Ronnelid J. et al. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2000, 18, 565-70.
25. Hamid C., Norgate K., D'Cruz D.P. Anti - β 2GPI - antibody - induced endothelial cell gene expression profiling reveals induction of novel pro-inflammatory genes potentially involved in primary antiphospholipid syndrome. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, 66, 1000-7.

26. Heilig B., Fiehn C., Brockhaus M. et al. Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematosus, progressive systemic sclerosis and mixed connective tissue diseases. *J. Clin. Immunol.*, 1993, 13, 321-8.
27. Hochberg M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1997, 40, 1725-34.
28. Hossiau F.A. Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. *Lupus*, 1995, 4, 393-5.
29. Karakantza M., Theodorou G.L., Meimaris N. et al. Type 1 and type 2 cytokine-producing CD4⁺ and CD8⁺ T cells in primary antiphospholipid syndrome. *Ann. Hematol.*, 2004, 83, 704-11.
30. Kuwana M., Matsuura E., Kobayashi K. et al. Binding of beta 2-glycoprotein I to anionic phospholipids facilitates processing and presentation of a cryptic epitope that activates pathogenic autoreactive T cells. *Blood*, 2005, 105, 1552-7.
31. Lacki J.K., Leszczynski P., Kelemen J. et al. Cytokine concentration in serum of lupus erythematosus patients: the effect on acute phase response. *J. Med.*, 1997, 28, 99-107.
32. Linker-Israeli M., Deans R.J., Wallace D.J. et al. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J. Immunol.*, 1991, 147, 117-23.
33. Llorente L., Richaud-Patin Y., Wijdenes J. et al. Spontaneous production of interleukin-10 by B lymphocytes and monocytes in systemic lupus erythematosus. *Eur. Cytokine Netw.*, 1993, 4, 421-7.
34. Mahmoud R.A., El-Gendi H.I., Ahmed H.H. Serum neopterin, tumor necrosis factor-alpha and soluble tumor necrosis factor receptor II (p75) levels and disease activity in Egyptian female patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Biochem.*, 2005, 38, 134-41.
35. Nasonov E.L., Samsonov M.Y., Tilz G.P. et al. Serum concentrations of neopterin, soluble interleukin 2 receptor, and soluble tumor necrosis factor receptor in Wegener's granulomatosis. *J. Rheumatol.*, 1997, 24, 666-70.
36. Nochy D., Daugas E., Droz D. et al. The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999, 10, 507.
37. Papo T., Piette J.-C., Legao E. et al. T lymphocytes subsets in primary antiphospholipid syndrome. *J. Rheumatol.*, 1994, 21, 2242-45.
38. Park M.C., Park Y.B., Lee S.K. Elevated interleukin-18 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin. Rheumatol.*, 2004, 23, 225-9.
39. Pierangeli S.S., Colden-Stanfield M., Liu X. et al. Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells in vitro and in vivo. *Circulation*, 1999, 99, 1997-2.
40. Raines E.W., Ferri N. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease. *Lipid Res.*, 2005, 46, 108-92.
41. Samsonov M.Y., Tilz G.P., Egorova O. et al. Serum soluble markers of immune activation and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 1995, 4, 29-32.
42. Segal R., Bermas B.L., Dayan M. et al. Kinetics of cytokine production in experimental systemic lupus erythematosus: involvement of T helper cell 1/T helper cell 2-type cytokines in disease. *J. Immunol.*, 1997, 158, 3009-16.
43. Shimizu T., Tomita Y., Son K. et al. Elevation of serum soluble tumour necrosis factor receptors in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clin. Rheumatol.*, 2000, 19, 352-9.
44. Shoenfeld Y., Meroni P.L., Cervera R. Antifosfolipid syndrome dilemmas still be to solved: 2008 status. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67, 438-42.
45. Studnicka-Benke A., Steiner G., Petera P., Smolen J.S. Tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors parallel clinical disease and autoimmune activity in systemic lupus erythematosus. *Br. J. Rheumatol.*, 1996, 35, 1067-74.
46. Svenungsson E., Fei G.Z., Jensen-Urstad K. et al. TNF-alpha: a link between hypertriglyceridaemia and inflammation in SLE patients with cardiovascular disease. *Lupus*, 2003, 12, 454-61.
47. Svenungsson E., Gunnarsson I., Fei G.Z. et al. Elevated triglycerides and low levels of high-density lipoprotein as markers of disease activity in association with up-regulation of the tumor necrosis factor alpha/tumor necrosis factor receptor system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2003, 48, 2533-40.
48. Tan E.M., Cohen A.S., Fries J.F. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1982, 25, 1271-7.
49. Tso T.K., Huang W.N., Huang H.Y., Chang C.K. Relationship of plasma interleukin-18 concentrations to traditional and non-traditional cardiovascular risk factors in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*, 2006, 45, 1148-53.
50. Visvanathan S., McNeil H.P. Cellular immunity to beta2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome. *J. Immunol.*, 1999, 162, 6919-25.
51. Westerweel P.E., Luyten R.K., Koomans H.A. et al. Premature atherosclerotic cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2007, 56, 1384-96.
52. Wilson W. A., Azzudin E., Gharavi A.E. et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.*, 1999, 42, 1309-11.
53. Wong C.K., Ho C.Y., Li E.K., et al. Elevated production of interleukin - 18 is associated with renal disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, 130, 345-51.
54. Woods A., Brull D.J., Humphries S.E., Montgomery

H.E. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. Eur. Heart J., 2000, 21, 1574-83.

55. Yoshida K., Arai T., Kaburaki J. et al. Restricted

T-cell receptor beta-chain usage by T cells autoreactive to beta(2)-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome. Blood, 2002, 99, 2499-04.

Поступила 08.12.08

Abstract

E.N. Alexandrova, A.A. Novikov, T.M. Reshetnyak, T.V. Popkova, N.G. Klyukvina, M.A. Diatroptova, M.V. Cherkasova, L.N. Denisov, E.L. Nasonov

Cytokines and neopterin in antiphospholipid syndrome

Objective. To study clinical significance of proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor α – TNF α , interleukine 6 – IL6, IL18), soluble receptors of TNF α (sTNF-R), anti-inflammatory cytokines (IL10) and integral marker of cytokine-dependent cell immune response activation neopterin in antiphospholipid syndrome (APS).

Material and methods. Serum concentration of cytokines and neopterin was evaluated by immunoenzyme assay with commercial kits “BioSource International, Inc.” (USA), “Bender MedSystems” (Austria) and “IBL” (Germany) in 39 pts with primary APS (PAPS), 53 pts with secondary APS (SAPS) associated with systemic lupus erythematosus (SLE), 164 pts with SLE and 54 healthy donors.

Results. Level of Th1 cytokines (TNF α , IL18), sTNF-R and neopterin in PAPS, SAPS and SLE as well as Th2 cytokines (IL6, IL10) in SAPS and SLE were significantly higher than in donors ($p < 0,05$). TNF α elevation in PAPS was associated with damage of cardiac valves ($p < 0,05$) and CNS ($p < 0,01$), IL18 elevation – with chronic leg ulcers ($p < 0,001$). Most prominent sTNF α -R elevation in SAPS was revealed in pts with thrombocytopenia ($p < 0,05$). Neopterin hyperproduction in APS was associated with cardiac valve damage ($p < 0,001$). IL10 level elevation in APS correlated with decreased thrombosis history ($r = -0,4$; $p < 0,02$), in SLE with APS – with decrease of damage score SLICC ($r = -0,7$; $p < 0,001$) what proves protective significance of IL10 in relation to thrombosis development and disease progression. Increased concentration of IL 18 was associated with atherogenic disturbances presented as hypertriglyceridemia ($r = 0,6$; $p < 0,01$) and decrease of HDLP cholesterol ($r = -0,4$; $p < 0,01$). Positive correlation between TNF α , IL6 and neopterin level, IgM anticardiolipine antibodies and IgG/IgM antiprothrombin antibodies ($p < 0,05$) was revealed. Cytokine, sTNF α -R and neopterin level elevation in SLE with APS was associated with increase of SLEDAI and ECLAM activity indices ($p < 0,05$).

Conclusion. Cytokine and neopterin hyperproduction reflecting cell immunity activation and inflammation is an important factor of APS pathogenesis.

Key words: *antiphospholipid syndrome, tumor necrosis factor α , soluble TNF α receptors, IL6, IL10, IL18, neopterin, antiphospholipid antibodies, cell immune response activation, inflammation*