

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гусейнова А.С.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И Кальцийрегулирующих Гормонов при Ревматоидном Артрит

Азербайджанский медицинский университет, 1022, Баку, Азербайджан

Целью исследования явилось изучение уровня некоторых цитокинов (IL-2, IL-6, IL-8 TNF α) и кальцийрегулирующих гормонов (кальцитонина, паратгормона, 25(OH)D) в крови больных ревматоидным артритом (РА) в зависимости от серопозитивности по ревматоидному фактору (РФ) и оценка роли выявленных нарушений в патогенезе костных потерь при этой патологии. С этой целью обследовано 74 пациента с РА (59 женщин, 15 мужчин) в возрасте от 27 до 71 лет. По признаку наличия или отсутствия РФ в сыворотке крови больные были подразделены на 2 группы: серонегативный и серопозитивный РА. В контрольную группу вошли 16 практически здоровых лиц (13 женщин, 3 мужчин). Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о влиянии серологического варианта РА на сывороточные уровни провоспалительных цитокинов и кальцийрегулирующих гормонов: более выраженные изменения обнаружены при серопозитивном РА. Выявленная в обеих группах больных высокая продукция IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α и паратгормона, несомненно, вносит определенный вклад в механизмы костных потерь при РА. Одним из факторов, усугубляющих течение болезни, является наличие у больных независимо от наличия РФ гиповитаминоза D, что указывает на необходимость использования препаратов этого витамина в комплексном лечении заболевания.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; провоспалительные цитокины; кальцитонин; паратгормон; витамин D.

Для цитирования: Гусейнова А.С. Особенности изменения цитокинового профиля и кальцийрегулирующих гормонов при ревматоидном артрите. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (11): 673-676. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-11-673-676>

Huseynova A.S.

CHANGES THE CYTOKINE PROFILE AND CALCIUM-REGULATING HORMONES IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Azerbaijan Medical University, 1022, Baku, Azerbaijan

The aim was to study the level of some cytokines (IL-2, IL-6, IL-8 TNF α) and calcium regulating hormones (calcitonin, parathyroid hormone, 25 (OH) D) in the blood of patients with rheumatoid arthritis (RA) depending on rheumatoid factor (RF) and the assessment of the role of the revealed violations in the pathogenesis of bone loss in this pathology. For this purpose, 74 patients with RA (59 women, 15 men) aged from 27 to 71 were examined. On the basis of RF in the blood serum, the patients were divided into 2 groups: seronegative and seropositive RA. The control group included 16 healthy individuals (13 women, 3 men). The results obtained that the serological variant of RA affects the serum levels of proinflammatory cytokines and calcium-regulating hormones: more pronounced changes were found in seropositive RA. The high production of IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α and parathyroid hormone detected in both groups of patients undoubtedly contributes to the mechanisms of bone loss in RA. In both groups we detected hypovitaminosis D. This results recommended to use this vitamin in the complex treatment of RA.

Key words: rheumatoid arthritis, inflammatory cytokines, calcitonin, parathormon, vitamin D.

For citation: Huseynova A.S. Changes the cytokine profile and calcium-regulating hormones in rheumatoid arthritis. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64(11) 673-676. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-673-676>

For correspondence: Huseynova Asmaya Saftar, PhD student of Department of Biochemistry; e-mail: ilhama.kerimova@bk.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 23.07.2019

Accepted 16.09.2019

Введение. Ревматоидный артрит (РА) является одним из наиболее распространённых и тяжелых хронических заболеваний суставов. Его частота в общей популяции составляет 1%, а у людей старше 65 лет достигает 3%. Через 10 лет после дебюта РА более 50% больных становятся инвалидами по причине заболевания, полностью утрачивая трудоспособность [1,7].

Несмотря на значительный прогресс в лечении РА, продолжительность жизни больных существенно ниже, чем в популяции, что объясняется как тяжестью течения

самого заболевания, так и его сочетанием с сердечно-сосудистой патологией, развитием серьезных инфекций, амилоидоза и вторичного остеопороза.

Проблеме остеопороза при РА в последнее время уделяется значительное внимание, так как от 28 до 77% больных имеют остеопенический синдром и остеопороз. Остеопороз при ревматоидном артрите относится к вторичным метаболическим остеопатиям, обусловленным нарушением процессов костного ремоделирования, которое ведет к прогрессирующему снижению минераль-

Для корреспонденции: Гусейнова Асмая Сафтар кызы, докторант каф. биохимии; e-mail: ilhama.kerimova@bk.ru

ной плотности костной ткани как около пораженного сустава, так и во всем организме в целом. Факторами риска развития остеопороза, ассоциированными с РА, считаются хроническое воспаление, активность и длительность заболевания, деструктивные изменения в суставах, снижение функциональной активности, прием ряда лекарственных препаратов, негативно влияющих на метаболизм костной ткани [4,5,14].

Предполагается, что развитие ревматоидного воспаления и остеопороза при РА имеет общие патогенетические пути, где основная роль отводится нарушению соотношения про- и противовоспалительных цитокинов. Цитокины на тканевом уровне ответственны за развитие воспалительной реакции, а затем за регенерацию тканей. При системном воспалении цитокины оказывают влияние практически на все органы и системы организма, включая и процессы ремоделирования кости [11,12].

Наряду с цитокиновым дисбалансом в прогрессировании остеопенического синдрома немаловажную роль играют изменения в гормональном статусе больных. Как известно, костное ремоделирование находится под контролем основных кальцийрегулирующих гормонов – паратормона (ПТГ), кальцитонина и активных метаболитов витамина D [1, 3].

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня некоторых цитокинов и кальцийрегулирующих гормонов в крови больных РА в зависимости от серопозитивности по ревматоидному фактору (РФ) и оценка роли выявленных нарушений в патогенезе костных потерь при этой патологии.

Материал и методы. Обследовано 74 пациента РА (59 женщин, 15 мужчин) в возрасте от 27 до 71 лет, которые по признаку наличия или отсутствия РФ в сыворотке крови были подразделены на 2 группы: серонегативный и серопозитивный РА. В контрольную группу вошли 16 практически здоровых лиц (13 женщин, 3 мужчин).

Для оценки цитокинового статуса в крови всех лиц, вошедших в контингент исследования, были определены уровни цитокинов IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α . В качестве кальцийрегулирующих гормонов определяли концентрацию кальцитонина, паратормона, а также активный метаболит витамина D – 25(OH)D.

Концентрацию цитокинов, гормонов и витамина D устанавливали иммуноферментным методом анализа на микрострипповом фотометре для иммуноферментного анализа STAT FAX 303 Plus (США). При этом использовались наборы реактивов фирмы «Vector-Best» (Российская Федерация) для определения цитокинов, фирмы «IBL» (Япония) для определения содержания кальцито-

нина и паратормона. Уровень витамина D оценивали по содержанию 25(OH)D посредством набора реактивов фирмы «Bioactiva Diagnostica» (Германия). Отметим, что 25(OH)D обладает длительным периодом полураспада, поэтому является наилучшим серологическим маркером для оценки статуса витамина D в организме.

Содержание РФ устанавливали турбидиметрическим методом посредством коммерческого набора фирмы «Linear» (Испания).

Результаты и обсуждения. Из 74 больных РА положительные титры РФ были обнаружены в сыворотке крови 53 пациентов (71,6%), средняя концентрация РФ у них составила $55,2 \pm 1,08$ Ед/мл. У 21 пациента (28,4%) диагностировался серонегативный вариант РА, средняя концентрация РФ в этой группе составила $9,36 \pm 0,28$ Ед/мл.

При исследовании цитокинового профиля у больных с серонегативным вариантом РА выявлено достоверное повышение концентрации провоспалительных цитокинов IL-2, IL-6 и IL-8 по отношению к контролю соответственно в 2,5 раз ($p < 0,05$), в 1,32 раз ($p < 0,05$) и в 1,57 раз ($p < 0,001$) (табл. 1).

Уровни изученных интерлейкинов при серопозитивном РА более значимо превышали контрольные значения: IL-2 в 3,4 раз ($p < 0,01$), IL-6 в 1,77 раз ($p < 0,001$) и IL-8 в 1,68 раз ($p < 0,001$). При этом достоверных различий между двумя группами больных РА в уровне IL-2 и IL-8 не установлено, однако концентрация IL-6 при серопозитивном РА в 1,34 раз ($p < 0,01$) превысила значения этого показателя в серонегативной группе.

Определение концентрации TNF- α у больных РА показало статистически достоверное повышение его уровня по сравнению с контролем: в 2,52 раз ($p < 0,01$) в серопозитивной и в 2,16 раз ($p < 0,05$) в серонегативной по РФ группе. При этом не выявлено статистически значимых различий между группами в содержании этого показателя.

Таким образом, у больных РА вне зависимости от серопринадлежности по РФ отмечаются изменения в цитокиновой системе, проявляющиеся повышением уровня провоспалительных цитокинов. Активация системы цитокинов, вероятно, играет критическую роль в периртикулярной и системной костной потере при РА. Провоспалительные цитокины, инициирующие воспалительный процесс, и в первую очередь, TNF- α и IL-8 признаны мощными стимуляторами костной резорбции, оказывающими влияние на остеокластогенез через остеобластную линию клеток [11, 12].

При РА TNF- α продуцируется макрофагами синовиальной жидкости, и его биологическая активность опо-

Таблица 1

Цитокиновый статус у больных РА в зависимости от серопринадлежности по РФ

Показатели	Контроль, <i>n</i> =16	Серонегативный РА, <i>n</i> =21	Серопозитивный РА, <i>n</i> =53
IL-2, пг/мл	0,58 \pm 0,35 (0-5,80)	1,46 \pm 0,25* (0,84-6,1)	1,97 \pm 0,18** (0,93-7,65)
IL-6, пг/мл	2,73 \pm 0,19 (1,60-4,5)	3,6 \pm 0,27* (1,25-6,18)	4,83 \pm 0,34***# (2,00-12,2)
IL-8, пг/мл	2,48 \pm 0,15 (1,30-3,64)	3,88 \pm 0,24*** (2,62-7,24)	4,15 \pm 0,30*** (1,8-10,6)
TNF- α , пг/мл	0,75 \pm 0,28 (0,10-4,84)	1,62 \pm 0,32* (0,63-7,2)	1,89 \pm 0,2** (0,72-9,4)

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ - по сравнению с контролем; # - $p < 0,01$ - при сравнении групп больных РА.

Кальцийрегулирующие гормоны у больных РА в зависимости от серопринадлежности по РФ

Показатели	Контроль, n=16	Серонегативный РА, n=21	Серопозитивный РА, n=53
Кальцитонин, пг/мл	3,31±0,24 (0,78-5,0)	5,08±0,31* (2,8-7,8)	5,36±0,28* (3,0-8,4)
Паратгормон, пг/мл	40,5±1,94 (26,0-63,0)	58,9±1,89* (33,7-75,4)	65,3±1,52*# (35,0-82,0)
25(ОН)D	37,5±1,67 (30,3-48,7)	23,8±1,27* (12,3-34,8)	20,4±0,95*# (10,8-32,0)

Примечание: * - $p < 0,001$ - по сравнению с контролем; # - $p < 0,05$ - при сравнении групп больных РА.

средуется связыванием со специфическими рецепторами, экспрессированными на нейтрофилах, эндотелиоцитах, фибробластах, кератиноцитах и т.д. TNF- α запускает механизм активации факторов транскрипции, которые, в свою очередь, индуцируют апоптоз и регулируют активность генов, кодирующих синтез провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8) и других медиаторов воспаления [10,11].

IL-6 является важным медиатором регуляции хронического воспаления и остеокластопосредованной костной резорбции. Выявлена связь IL-6 и его растворимых рецепторов со способностью моноцитов и макрофагов дифференцироваться в остеокласты при РА. Гиперпродукция TNF- α , IL-6 и других цитокинов приводит к дисбалансу в системе трансмембранных рецепторов и их лигандов RANKL/RANK/OPG, что сопровождается гиперэкспрессией RANKL – мощного индуктора костной резорбции. OPG (остеопротегерин) – “ложный” растворимый рецептор для RANKL, который ингибирует остеокластогенез, блокируя связывание RANKL с RANK. Соотношение RANKL/OPG составляет главную детерминанту развития и прогрессирования костно-деструктивных изменений в суставах [2,6,9].

Результаты нашего исследования по изучению уровня кальцийрегулирующих гормонов в крови у больных РА отражены в табл. 2. Как видно из таблицы, установлено повышение концентрации кальцитонина в 1,53 раз ($p < 0,001$) в серонегативной группе и в 1,62 раз ($p < 0,001$) в серопозитивной группе по отношению к контролю. При этом достоверных различий в содержании этого показателя между группами больных РА не выявлено.

Исследование уровня ПТГ в сыворотке крови больных серонегативным РА показало его увеличение в 1,46 раз ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми лицами. Концентрация этого гормона при серопозитивном РА превысила контрольные значения в 1,61 ($p < 0,001$) раз и оказалась в 1,11 раз ($p < 0,05$) выше соответствующего показателя в серонегативной группе.

В ходе наших исследований для оценки статуса витамина D в крови всех пациентов с РА и лиц контрольной группы мы определяли концентрацию 25(ОН)D. Отметим, что 25(ОН)D обладает длительным периодом полураспада, поэтому является наилучшим серологическим маркером для оценки статуса витамина D в организме. Уровень витамина D ниже 20 нг/мл расценивали как его дефицит, уровень в пределах от 20 до 30 нг/мл – как его недостаточность, а уровень в диапазоне 30-50 нг/мл – как нормативные значения.

Исследование 25(ОН)D в сыворотке крови лиц контрольной группы выявило колебание его уровня в

пределах от 30,3 до 48,7 нг/мл, что в среднем составило 37,5±1,67 нг/мл. Значения этого показателя у больных РА оказались достоверно ниже значений здоровых лиц и среднее содержание 25(ОН)D в группе больных с серонегативным РА составило 23,8±1,27 нг/мл, что в 1,57 раз ($p < 0,001$) ниже контроля. В данной группе из 21 больного недостаточность витамина обнаружена у 12-ти, а дефицит – у 4 человек.

Серопозитивный РА сопровождался более выраженным гиповитаминозом D. Средний уровень 25(ОН)D в этой группе составил 20,4±0,95 пг/мл, что оказалось в 1,84 раз ($p < 0,001$) ниже контрольных значений и в 1,17 раз ($p < 0,05$) ниже значений в серонегативной группе. В данной группе из 53 пациентов недостаточность 25(ОН)D выявлена в 17 случаях, а дефицит – в 28 случаях.

Роль кальцитонина в процессах костного ремоделирования полностью не установлена. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* установлено, что этот гормон препятствует остеолитическому действию ПТГ, кальцитриола и других веществ, повышающих костную резорбцию. Под действием кальцитонина нарушается внутренняя структура остеокластов, что оказывает ингибирующее влияние на их цитоплазматические функции [3]. Полагаем, что повышение кальцитонина у больных РА может быть компенсаторной защитной реакцией организма в ответ на увеличение резорбции кости.

Как известно, из кальцийрегулирующих гормонов наибольший вклад в регуляцию процессов костного метаболизма вносит ПТГ. Действие этого гормона на остеокласты осуществляется не напрямую, а через остеобласты. ПТГ стимулирует секрецию коллагеназы остеобластами, который растворяет протективный слой матрикса и подготавливает поверхность кости для остеокластической резорбции. Установлено, что активирующее действие ПТГ на зрелые остеокласты опосредовано также цитокинами. Предполагается, что стимулированные ПТГ остеобласты выделяют цитокины, активизирующие остеокласты и их предшественники. Этот процесс сопровождается рассасыванием костного матрикса и поступлением его компонентов в кровь [1,3,5].

Влияние витамина D на костную ткань также тесно связано с активностью ПТГ, поскольку кальцитриол в физиологических дозах без ПТГ не может влиять на транспорт кальция и фосфора. Витамин D усиливает как минерализацию кости (за счет стимуляции всасывания этих микроэлементов в кишечнике), так и остеокластическую резорбцию кости. Под действием действием его основного активного метаболита - кальцитриола ингибируется секреция ПТГ: напрямую (через синтез в остеоцитах фактора роста фибробластов-23 (FGF23))

и опосредованно (за счет возрастания уровня кальция в крови). Этот механизм объясняет, почему гиповитаминоз D вызывает вторичный гиперпаратиреоз [1,13].

Установлено, что кроме участия в кальций-фосфорном обмене, витамин D оказывает плеiotропное действие на многие физиологические процессы в организме, так как 1 α -гидроксирование 25(OH)D до кальцитриола происходит не только в почках, но и во многих тканях. Местно продуцируемый в клетках иммунной системы витамин D необходим для оптимального противовоспалительного ответа моноцитов и подавления экспрессии провоспалительных цитокинов, включая ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ и т.д. В ряде работ выявлена отрицательная корреляция витамина D с активностью РА. Предполагается, что активная форма витамина подавляет процессы разрушения хряща через ИЛ-1 β -опосредованную продукцию металлопротеиназ матрикса. [8,13].

Учитывая все вышеуказанное можно предположить, что низкий уровень этого витамина в организме может стать индуктором воспаления и предиктором разрушения хрящевой ткани при РА.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о влиянии серологического варианта РА на сывороточные уровни провоспалительных цитокинов и кальцийрегулирующих гормонов: более выраженные изменения обнаружены при серопозитивном РА. Выявленная в обеих группах больных высокая продукция ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α и ПТГ, несомненно, вносит определенный вклад в механизмы костных потерь при РА. Одним из факторов, усугубляющих течение болезни, является наличие у больных независимо от наличия РФ гиповитаминоза D, что указывает на необходимость использования препаратов этого витамина в комплексном лечении заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 5-14 см. REFERENCES)

1. Ермолаева М.В., Сокрут О.П., Гейко И.А., Синяченко О.В., Перепаля А.В., Такташов Г.С. и др. Остеотропные гормоны при ревматоидном артрите и остеоартрозе. *Проблемы остеологии*. 2016; 19(1): 8-14.
2. Корой П.В., Саритхала В.Д., Ягода А.В. Взаимосвязь молекул адгезии с дисбалансом медиаторов костного метаболизма при ревматоидном артрите. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2018; 20(1): 77-81.

3. Маклецкая И.В., Бобров А.И. Физиологические аспекты регуляции костного метаболизма. *Бюллетень Северного Государственного Медицинского Университета*, выпуск XXV, 2010; 2: 67-8.
4. Островский А.Б., Оттева Э.Н., Тарнавская Т.С. Остеопороз при ревматоидном артрите. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012; 4: 142-4.

REFERENCES

1. Ermolaeva M.V., Sokrut O.P., Geiko I.A., Sinyachenko O.V., Perepala A.V., Taktashov G.S. et al. Osteotrophic hormones in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Problemy osteologii*. 2016; 19(1): 8-14. (in Russian)
2. Koroy P.V., Sarithala V.D., Yagoda A.V. Relationship of adhesion molecules with imbalance of mediators of bone tissue metabolism in rheumatoid arthritis. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*. 2018; 20(1): 77-81. (in Russian)
3. Makletskaia I.V., Bobrov A.I. Physiological aspects of the regulation of bone metabolism. *Byulleten' Severnogo Gosudarstvennogo Universiteta*. Vypusk XXV, 2010; 2 (25): 67-8. (in Russian)
4. Ostrovskiy A.B., Otteva E.N., Tarnavskaya T.S. Osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 4: 142-4. (in Russian)
5. Bellan M., Pirisi M., Sainaghi P.P. Osteoporosis in rheumatoid arthritis: role of the vitamin D/parathyroid hormone system. *Rev Bras Reumatol*, 2015; 55(3):256-63.
6. Fonseca J.E., Santos M.J., Canhao H., Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev*. 2009; 8: 538-42.
7. Ghazi M., Kolta S., Briot K., Fechtenbaum J., Paternotte S., Roux C. Prevalence of vertebral fractures in patients with rheumatoid arthritis: revisiting the role of glucocorticoids. *Osteoporosis Int*. 2012; 23(2): 581-7.
8. Gil A., Plaza-Diaz J., Mesa M.D. Vitamin D: Classic and novel actions. *Ann Nutr Metab*. 2018; 72(2): 87-95.
9. Gonzales-Alvaro I., Ortiz A.M., Tomero E.G., Balsa A., Orte J., Laffon A., Garcia-Vicuna R. Baseline serum RANKL levels may serve to predict remission in rheumatoid arthritis patients treated with TNF antagonists. *Ann. Rheum. Dis*. 2007; 66(12): 1675-1678.
10. Marotte H., Miossec P. Biomarkers to prediction of TNF- α response in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2010; 77(4): 297-305.
11. Mateen S., Zafar A., Moin S., Khan A.Q., Zubair S. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinica Chimica Acta*. 2016; 455: 161-171.
12. Rahman A. Regulators of cytokine signaling in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2007; 46: 1745-6.
13. Sainaghi P.P., Gibbin A. Vitamin D, inflammation and osteoporosis in rheumatoid arthritis. *The Open Rheumatol J*. 2018; 12: 261-78.
14. Sarkis K.S., Salvador M.B., Pinheiro M.M. Association between osteoporosis and rheumatoid arthritis in women: a cross-sectional study. *Sao Paulo Med J*. 2009; 127(4): 216-222.

Поступила
Принята к печати