

# КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

Криволапова И.М.<sup>1,2</sup>, Пашнина И.А.<sup>1,2</sup>, Черешнев В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Резюме.** Ювенильный идиопатический артрит представляет собой гетерогенную группу заболеваний, преимущественно аутоиммунной или аутовоспалительной природы, основным проявлением которых является хроническое течение воспалительного процесса суставов у детей. В основе патогенеза разных форм ювенильного артрита, вероятно, лежат разные механизмы. Однако при всех вариантах ювенильного артрита развивается длительный дисбаланс между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов в сторону преобладания первых.

Цель исследования – определение уровня спонтанной и стимулированной продукции противовоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом.

Обследованы дети и подростки 2-17 лет с различными вариантами ювенильного идиопатического артрита (n = 99) и условно здоровые дети (контроль, n = 31). Спонтанную и фитогемагглютинин-стимулированную концентрацию IL-1ra, IL-4, IL-10, TGF-β в супернатантах клеточных культур исследовали методом ИФА.

Различий по спонтанной и митоген-стимулированной секреции исследованных цитокинов между пациентами с различными вариантами ювенильного артрита не выявлено. В объединенной группе больных с ювенильным идиопатическим артритом спонтанная выработка IL-1ra, IL-4 и IL-10 клетками крови оставалась на уровне контрольной. У пациентов медианное значение спонтанной концентрации TGF-β было нулевым, тогда как клетки крови здоровых детей обладали значимо более высоким потенциалом продукции TGF-β. После инкубации клеток периферической крови с фитогемагглютинином синтез IL-4 и IL-10 у больных не отличался от контрольного уровня, а интенсивность выработки IL-1ra и TGF-β была достоверно ниже, чем у здоровых детей.

Более низкая по сравнению с контролем спонтанная и/или стимулированная продукция клетками крови IL-1ra и TGF-β у детей с ювенильным идиопатическим артритом по сравнению с контрольной группой отражает патогенетическую значимость данных цитокинов при этом заболевании. Стимуляция клеток способна выявить скрытый дефицит синтеза цитокинов, не проявляющийся при определении его концентрации в сыворотке крови или супернатантах спонтанных клеточных культур.

*Ключевые слова:* стимуляция *in vitro*, ювенильные артриты, дети, культуры клеток, цитокины, воспаление

## Адрес для переписки:

Криволапова Ирина Михайловна  
ГБУЗ СО «Областная детская клиническая  
больница № 1»  
620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32.  
Тел.: 8 (343) 231-91-28.  
E-mail: krivolapovaim@mis66.ru

## Address for correspondence:

Krivolapova Irina M.  
Regional Children's Clinical Hospital No. 1  
620149, Russian Federation, Ekaterinburg,  
S. Deryabina str., 32.  
Phone: 7 (343) 231-91-28.  
E-mail: krivolapovaim@mis66.ru

## Образец цитирования:

И.М. Криволапова, И.А. Пашнина, В.А. Черешнев  
«Концентрация противовоспалительных цитокинов  
в супернатантах культур цельной крови у детей  
с ювенильным идиопатическим артритом»  
// Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 4.  
С. 725-736. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-725-736  
© Криволапова И.М. и соавт., 2019

## For citation:

I.M. Krivolapova, I.A. Pashnina, V.A. Chereshev  
“Concentration of anti-inflammatory cytokines in cell culture  
supernatants in children with juvenile idiopathic arthritis”,  
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,  
2019, Vol. 21, no. 4, pp. 725-736.  
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-725-736  
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-725-736

# CONCENTRATION OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN CELL CULTURE SUPERNATANTS IN CHILDREN WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Krivolapova I.M.<sup>a, b</sup>, Pashnina I.A.<sup>a, b</sup>, Chereshnev V.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** Juvenile idiopathic arthritis is a chronic inflammatory disease of the joints in children, mainly of autoimmune or auto-inflammatory nature. It is a heterogeneous group, which includes different subtypes of the disease. Different mechanisms may play role in the pathogenesis of distinct subtypes of juvenile arthritis. However, a long-term imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines is important for all subtypes of disease. The aim of the present study was to determine spontaneous and stimulated anti-inflammatory cytokines production by peripheral blood cells from the children with juvenile idiopathic arthritis. Patients of 2 to 17 years old with different subtypes of juvenile idiopathic arthritis (n = 99) and healthy children without signs of autoimmune diseases (control, n = 31) were examined. Spontaneous and phytohemagglutinin-stimulated concentrations of IL-1ra, IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  in supernatants of whole-blood cultures were determined by ELISA. Differences in the spontaneous and mitogen-stimulated secretion of the cytokines in patients with different subtypes of juvenile arthritis have not been revealed. The spontaneous IL-1ra, IL-4 and IL-10 production by blood cells in the common group of patients with juvenile idiopathic arthritis was similar to the controls. The median value of spontaneous TGF- $\beta$  concentration in the patients was below the detection level, whereas blood cells of healthy children had a higher potential of spontaneous TGF- $\beta$  production. IL-4 and IL-10 production after incubation of peripheral blood cells with phytohemagglutinin in patients and in the control group did not differ from the controls, while IL-1ra and TGF- $\beta$  synthesis was significantly lower than in healthy children.

The spontaneous and/or stimulated production of IL-1ra, TGF- $\beta$  by blood cells in children with juvenile idiopathic arthritis reflects the pathogenic significance of these cytokines in disease. Stimulation of cells can reveal a latent deficiency in the synthesis of cytokines, which is not evident when determining its concentration in serum or supernatants of spontaneous whole-blood cultures.

*Keywords:* *in vitro stimulation, juvenile arthritis, children, cells culture, cytokines, inflammation*

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (регистрационный номер НИОКТР № АААА-А18-118020590108-7).

Конфликт интересов отсутствует.

## Введение

Хронические воспалительные заболевания суставов у детей являются важной проблемой современной педиатрии в силу того, что эти заболевания существенно снижают качество жизни пациента и нередко приводят к инвалидизации ребенка. Наиболее распространенным заболеванием из этой группы является ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) [15, 17]. В основе заболевания лежит хроническое поражение суставов аутоиммунной либо аутовоспалительной природы: развивается воспаление синовиальной оболочки, деструкция хрящевой и костной ткани, при ЮИА также возможны внесуставные проявления [8, 17].

Ювенильный идиопатический артрит является гетерогенной группой, в состав которой входят различные варианты заболевания. По классификации Всемирной лиги ревматологических ассоциаций второго пересмотра (Эдмонтон, 2001) выделяют следующие варианты: системный ЮИА, полиартикулярный ЮИА, олигоартикулярный ЮИА, псориатический ювенильный артрит, артрит, ассоциированный с энтезитом, недифференцированный артрит [2, 17]. Следует отметить, что ни для одной из форм ЮИА нет достаточно четких лабораторных маркеров, такими являются антитела к цитруллинированным пептидам при ревматоидном артрите взрослых [12, 44]. В основе патогенеза различных форм ЮИА, вероятно, лежат разные механизмы. Однако при всех вариантах развивается дисбаланс между продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ЦК) в сторону преобладания первых [18]. При ювенильном артрите с систем-

ным началом усиление синтеза провоспалительных ЦК, на фоне недостаточности выработки противовоспалительных белков этой группы, может играть ведущую патогенетическую роль [2, 25]. О значимости состояния цитокиновой сети при других вариантах ЮИА свидетельствуют успешные попытки применения антицитокиновой терапии при олиго- и полиартрикулярном ЮИА у детей [6, 48].

Цитокины — семейство полипептидных молекул, которые синтезируются клетками различных тканей организма, наиболее активными продуцентами этих молекул являются иммунокомпетентные клетки. ЦК регулируют ряд нормальных физиологических функций, защитные реакции при внедрении различных патогенов, а также развитие большинства патологических процессов, включая канцерогенез, сердечно-сосудистые нарушения, аутоиммунную патологию, аллергические реакции и другие [4, 31, 40, 49]. В отношении регуляции воспалительного процесса ЦК разделяют на провоспалительные (инициирующие и усиливающие воспалительную реакцию) и противовоспалительные (подавляющие воспаление). К основным провоспалительным ЦК, принимающим участие в патогенезе воспалительных заболеваний суставов, относятся интерлейкины IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, а также фактор некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) и интерферон гамма (IFN $\gamma$ ) [3, 19, 53].

Наряду с синтезом провоспалительных ЦК, при любом воспалительном процессе происходит усиление продукции противовоспалительных ЦК [13, 45]. Недостаточная выработка этих молекул приводит к неконтролируемой прогрессии воспаления, однако, если противовоспалительные ЦК синтезируются слишком рано для завершения иммунного ответа или в слишком высоких концентрациях, это может вызвать состояние иммуносупрессии [14]. Наиболее значимыми противовоспалительными цитокинами при заболеваниях суставов являются: рецепторный антагонист IL-1 (IL-1ra), IL-4, IL-10, IL-13, трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ) [7, 22]. Противовоспалительные ЦК осуществляют контроль за эффектами провоспалительных ЦК, они способны подавлять транскрипцию генов последних в клетках-продуцентах, индуцировать синтез рецепторных антагонистов интерлейкинов, усиливать образование растворимых рецепторов и снижать плотность рецепторов провоспалительных ЦК на клетках [7].

IL-10 является одним из важнейших противовоспалительных цитокинов, продуцируется Т-лимфоцитами, преимущественно Т-хелперами

2-го типа, моноцитами. Противовоспалительный эффект IL-10 реализуется через подавление активности макрофагов и Т-лимфоцитов, прежде всего синтеза этими клетками IL-1, IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ . Этот ЦК способен угнетать секрецию матриксных металлопротеиназ, ингибирует костимуляторную активность макрофагов, подавляет деструкцию хряща и других соединительнотканых структур сустава [7, 39].

Продукция IL-4 осуществляется Т-хелперами 2-го типа, тучными клетками и базофилами, подобно IL-10, он способен ингибировать синтез IL-1, IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ , при этом IL-4 активирует В-лимфоциты, стимулирует выработку иммуноглобулина класса Е [7, 22]. Важно отметить, что этот ЦК обладает антиангиогенным эффектом и способен подавлять пролиферацию синовиоцитов [28]. Однако попытки применения IL-4 у взрослых больных с реактивным артритом с терапевтической целью, в том числе для снижения костной резорбции, не дали ожидаемых результатов [34].

IL-1ra является естественным антагонистом IL-1, он гомологичен IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , взаимодействует с теми же рецепторами, что и IL-1, но не вызывает дальнейшего проведения внутриклеточного сигнала [37]. Таким образом, IL-1ra выступает в качестве ингибитора и является важным физиологическим регулятором экспрессии IL-1. IL-1ra продуцируется моноцитами и макрофагами, Т- и В-лимфоцитами, нейтрофилами, фибробластами и эндотелиальными клетками. Значительное количество IL-1ra синтезируют гепатоциты, этот цитокин всегда присутствует в сыворотке крови для предотвращения негативных последствий системного действия IL-1, вырабатываемого в значительных количествах при остром воспалении [7]. В экспериментах на лабораторных мышах нокаутирование гена IL-1ra приводило к нарушению нормального баланса ЦК семейства IL-1 и, как следствие, способствовало развитию хронической воспалительной полиартропатии с суставными эрозиями [29].

Продуцентами TGF- $\beta$  являются моноциты и макрофаги, а также фибробласты, эндотелиоциты, нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки. Этот ЦК ограничивает воспаление за счет подавления продукции провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ), супрессирует ответ Т-лимфоцитов на ростовые факторы, дифференцировку цитотоксических Т-лимфоцитов, активность натуральных киллеров [52]. TGF- $\beta$  способствует развитию незрелых моноцитов, мобилизации нейтрофилов и моноцитов в очаг вос-

паления, усиливает синтез межклеточного матрикса, ускоряет заживление ран [37].

В литературных источниках представлен значительный объем информации, посвященный состоянию цитокиновой регуляции при воспалительных заболеваниях суставов у взрослых [1, 32, 51]. Однако публикации о продукции и патогенетической значимости противовоспалительных цитокинов у детей с ЮИА весьма мало численны и противоречивы. Разными авторами описано повышение концентрации IL-10 [21, 23, 47], IL-1ra [34] и IL-4 [21] в сыворотке крови при ЮИА. В других опубликованных работах сообщается о снижении сывороточной концентрации IL-10 у больных с ЮИА [35], а также об отсутствии изменения уровня IL-4 по сравнению со здоровыми детьми [33].

Следует отметить, что наиболее часто в научной и клинической практике, как и в вышеперечисленных работах, концентрацию цитокинов определяют в сыворотке или плазме крови. Однако ЦК являются короткоживущими молекулами и обычно содержатся в крови в крайне низких концентрациях, кроме того, присутствие растворимых рецепторов ЦК, антицитокиновых антител и рецепторных антагонистов влияет на результаты определения этих белков в сыворотке крови [9, 21, 27]. Все это может исказить истинную картину состояния цитокинового профиля при той или иной патологии. Более целесообразно измерять концентрацию ЦК непосредственно в очаге воспаления: в экстрактах соответствующих тканей, в слезе, синовиальной, амниотической и спинномозговой жидкости и т.д. Однако получение образцов ткани и большинства биологических жидкостей (включая синовиальную) проводится высокоинвазивными методами, что ограничивает использование этого материала для исследования цитокинового профиля, особенно у пациентов детского возраста.

Измерение концентраций цитокинов в супернатантах клеток периферической крови, культивируемых как без стимуляторов, так и с различными стимуляторами, является альтернативным методическим приемом определения уровня ЦК [5, 9, 27]. Такой подход позволяет оценить функциональное состояние иммунокомпетентных клеток, уровень их исходной активации и потенциальную способность отвечать на стимул [5]. В условиях *in vitro* для оценки продукции цитокинов в качестве стимуляторов чаще всего используют растительные митогенные лектины: фитогемагглютинин, конканавалин А, митоген лаконоса, что позволяет оценить общую реактивность клеток иммунной системы [7].

**Целью нашей работы** явилось определение уровня спонтанной и стимулированной продукции противовоспалительных цитокинов в супернатантах клеточных культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом.

## Материалы и методы

Исследование проведено в период с 2012 по 2016 год на базе ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1». В соответствии с этическими нормами и Правилами клинической практики РФ Протокол исследования был одобрен локальным Этическим комитетом ГБУЗ СО ОДКБ № 1.

Пациенты с ЮИА состояли на учете у детских ревматологов ОДКБ № 1 и проходили обследование и лечение в условиях амбулаторно-поликлинического звена. В исследование методом случайной выборки было включено 99 детей из 341, состоявших на учете на период исследования, в возрасте от 2 до 17 лет с различными вариантами ЮИА: олигоартикулярный вариант (оЮИА),  $n = 53$ ; полиартикулярный вариант (пЮИА),  $n = 20$ ; системный вариант (сЮИА),  $n = 9$ ; артрит, ассоциированный с энтезитом (ЮАаЭ),  $n = 17$ . Всего обследованы 61 девочка и 38 мальчиков. Средний возраст составил 10,0 лет. Длительность болезни на момент обследования варьировала от 6 месяцев до 13 лет и в среднем составила 4,4 года. Средний возраст пациентов на момент дебюта заболевания составил 5,8 лет.

Диагноз «ЮИА» устанавливался на основании критериев ILAR (Международной лиги ревматологических ассоциаций второго пересмотра в Edmonton, 2001). Критерии включения в исследование: возраст пациента не менее 2 и не более 17 лет, начало заболевания до 16-летнего возраста, подтвержденный диагноз ювенильного идиопатического артрита, исключение других ревматических заболеваний, отсутствие на момент обследования острого или хронического инфекционного процесса, отсутствие ревматоидного фактора в сыворотке крови, отсутствие антицитокиновой терапии.

Согласно данным амбулаторных карт, у 49% пациентов наблюдалась I степень активности заболевания, у 16% – II степень, у 9% – III степень, 26% больных находились в состоянии ремиссии. На основании рентгенологических данных у 36% детей с ЮИА установлена I стадия анатомических изменений суставов (эпифизарный остеопороз), у 36% пациентов наблюдалась II стадия (эпифизарный остеопороз, разволокнение хряща, сужение суставной щели, единичные эрозии), у 3% – III стадия (деструкция хряща и кости,

формирование костно-хрящевых эрозий, подвывихи в суставах). По критериям Штейнброккера у 33% больных установлен I функциональный класс (полная сохранность выполнения ежедневной нагрузки без ограничения), у 43% – II (адекватная сохранность выполнения нормальной ежедневной нагрузки, несмотря на определенные трудности), у 16% – III (ограниченная возможность выполнения нормальной ежедневной нагрузки).

Больные с ЮИА получали патогенетическую и симптоматическую терапию в соответствии с существующими стандартами лечения. Большинство пациентов в качестве базисной терапии получали метотрексат или сульфасалазин, в ряде случаев – в сочетании с сандиммуном и метипредом. Нестероидные противовоспалительные средства дети с ЮИА принимали по потребности. Пациенты с длительной стойкой ремиссией (13 из 26 детей с ремиссией) не получали лекарственную терапию.

Контрольную группу составил 31 условно здоровый ребенок: 17 девочек и 14 мальчиков, в возрасте от 2 до 17 лет. Средний возраст составил 10,5 лет. Критерии включения детей в контроль-

ную группу были следующие: возраст пациента не менее 2 и не более 17 лет, дети без наличия признаков аутоиммунных и аллергических заболеваний, отсутствие на момент обследования острого или хронического инфекционного процесса.

Для определения уровня цитокинов в супернатантах клеточных культур кровь забиралась в вакуумные гепаринизированные пробирки (Greiner, Австрия). Образцы крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), в соотношении 1:9, готовили серию из 2 образцов с конечным объемом 500 мкл: контрольный образец без стимулятора; образец, стимулированный фитогемагглютинином (Sigma), в конечной концентрации 20 мкг/мл. После добавления стимулятора образцы разведенной крови инкубировали в течение 24 часов (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>). После инкубации разведенную кровь центрифугировали 10 минут при 1500 об/мин. Супернатанты отбирали с помощью автоматического дозатора и однократно замораживали для хранения и дальнейшего исследования. Определение концентрации IL-1ra, IL-4, IL-10 в супернатантах клеточных культур проводилось

**ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ (пг/мл) В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ ЮИА, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. CONCENTRATION OF CYTOKINES (pg/ml) IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELLS IN CHILDREN WITH DIFFERENT SUBTYPES JIA, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокин Cytokine	n	сЮИА sJIA	n	оЮИА oJIA	n	пЮИА pJIA	n	ЮАаЭ JAaE
IL-1ra спонтанный IL-1ra spontaneous	9	404,0 (316,0-820,0)	49	476,0 (247,0-959,0)	20	462,0 (211,0-947,0)	17	673,0 (324,0-1009,0)
IL-1ra + ФГА IL-1ra + FGA	9	2703,0 (2481,0-3880,0)	49	2568,0 (1833,0-3444,0)	20	2768,0 (1712,0-3457,0)	17	3257,0 (2362,0-3891,0)
IL-4 спонтанный IL-4 spontaneous	9	4,0 (3,0-5,0)	42	4,0 (2,0-5,0)	20	4,0 (2,0-5,0)	17	1,0 (0,0-2,0)
IL-4 + ФГА IL-4 + FGA	9	7,0 (7,0-10,0)	42	12,0 (8,0-6,0)	20	11,0 (9,0-14,0)	17	11,0 (7,0-15,0)
IL-10 спонтанный IL-10 spontaneous	9	1,0 (0,0-2,0)	53	1,0 (0,0-3,0)	20	0,3 (0,0-4,0)	17	2,0 (0,0-3,0)
IL-10 + ФГА IL-10 + FGA	9	298,0 (242,0-514,0)	53	241,0 (149,0-357,0)	20	261,0 (162,0-344,0)	17	370,0 (197,0-488,0)
TGF-β спонтанный TGF-β spontaneous	–	–	13	0 (0-240)	10	0 (0-510)	–	–
TGF-β + ФГА TGF-β + FGA	–	–	13	840 (0-2040)	10	690 (240-1590)	–	–

**ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ (пг/мл) В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР У ДЕТЕЙ С ЮИА И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 2. CONCENTRATION OF CYTOKINES (pg/ml) IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELLS IN CHILDREN WITH JIA AND IN THE CONTROL GROUP, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокин Cytokine	n	ЮИА JIA		n	Контроль Control	
		Концентрация, спонтанная Concentration, spontaneous	Концентрация, стимуляция ФГА Concentration, stimulation PNA		Концентрация, спонтанная Concentration, spontaneous	Концентрация, стимуляция ФГА Concentration, stimulation PNA
IL-1ra	95	505 (242,0-970,0)	2637,0* (1829,0-3475,0)	31	508,0 (215,0-703,0)	3363,0 (2432,0-4280,0)
IL-4	88	3,0 (2,0-5,0)	11,0 (8,0-15,0)	31	4,0 (2,0-5,0)	13,0 (8,0-19,0)
IL-10	99	1,0 (0,0-3,0)	255,0 (158,0-378,0)	31	1,5 (0,0-4,0)	276,0 (174,0-341,0)
TGF-β	23	0* (0-420)	840* (30-1890)	9	510 (300-660)	2070 (1530-2220)

Примечание. Различия с контролем: \* – p < 0,05.

Note. Differences with control: \*, p < 0.05.

методом ИФА с использованием диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия), уровня TGF-β – наборов фирмы eBioscience (Австрия).

Для оценки значимости различий между группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, для оценки взаимосвязей между исследованными параметрами – корреляционный анализ Спирмена. Статистическая обработка выполнена с использованием программы Statistica 6.0.

## Результаты

В группе детей с ЮИА не выявлено взаимосвязи между спонтанной и индуцированной выработкой противовоспалительных ЦК клетками цельной крови с одной стороны и возрастом больных, возрастом дебюта заболевания, продолжительностью болезни, активностью воспалительного процесса, рентгенологической стадией и функциональной активностью с другой.

Учитывая, что ЮИА является гетерогенной группой заболеваний с различными патогенетическими механизмами, проведена оценка продукции IL-1ra, IL-4, IL-10, TGF-β клетками периферической крови у больных с различными вариантами ЮИА. Суточная инкубация клеток крови с фитогемагглютинином приводила к существенному усилению выработки ЦК в каждой группе, однако ни спонтанная, ни стимулиро-

ванная концентрация IL-1ra, IL-4, IL-10, TGF-β в супернатантах культур цельной крови у детей с различными формами ЮИА не различалась (табл. 1). Отсутствие различий по спонтанной и митоген-стимулированной секреции ЦК между пациентами с различными вариантами ювенильного артрита послужило основанием для объединения всех больных в одну группу.

При оценке спонтанной продукции противовоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови в объединенной группе пациентов с ЮИА установлено, что выработка IL-1ra, IL-4 и IL-10 клетками крови у больных с ювенильным артритом оставалась на уровне контрольной (табл. 2). У детей с ЮИА медианное значение концентрации TGF-β после инкубации клеток крови в отсутствие стимулятора было нулевым, у большинства больных (62%) уровень этого ЦК в культуральной жидкости не определялся. Клетки периферической крови здоровых детей обладали более высоким потенциалом спонтанной продукции TGF-β, чем у пациентов с ЮИА, что обусловило статистически значимые различия между исследованными группами (табл. 2). Следует также отметить, что у больных с различными вариантами ЮИА и у детей из контрольной группы (табл. 1, 2) спонтанная продукция IL-1ra характеризовалась более высокими уровнями значений, чем для других исследованных цитокинов.

Продукция противовоспалительных ЦК культурами клеток крови при стимуляции ФГА в несколько раз превосходила их спонтанную секрецию как у здоровых детей, так и у пациентов с ЮИА (табл. 2). В объединенной группе больных с артритом синтез ИЛ-4 и ИЛ-10 в ответ на стимуляцию митогеном не отличался от контрольного уровня, интенсивность выработки ИЛ-1га и TGF- $\beta$  клетками крови была достоверно ниже, чем у здоровых детей (табл. 2).

## Обсуждение

В объединенной группе больных с ЮИА как спонтанная, так и стимулированная секреция ИЛ-4 и ИЛ-10 культурами клеток крови не отличалась от контрольных значений (табл. 2). Отсутствие различий по продукции этих ЦК между пациентами с ЮИА и здоровыми детьми соотносится с данными ряда разных авторов [16, 36, 41]. Однако данные других исследователей противостоят этим наблюдениям. Так, Raziuddin и соавт. выявили увеличение спонтанной продукции ИЛ-4 и ИЛ-10 клетками цельной крови у больных с различными вариантами ЮИА по сравнению с контролем [43]. Снижение концентрации ИЛ-4 в супернатантах клеточных культур при инкубации клеток без стимулятора было выявлено у больных при системном, поли- и олигоартрикулярном вариантах ЮИА по сравнению со здоровыми донорами [30]. В свою очередь, K. Müller и соавт. выявили снижение концентрации ИЛ-10 в супернатантах культур цельной крови у пациентов с ЮИА при использовании в качестве митогена фитогемагглютинаина и липополисахарида [36]. Однако Raziuddin и соавт. в своей работе сообщают, что стимулированная форбол-миристилацетатом и иономицином продукция ИЛ-10 и ИЛ-4 клетками крови больных с ЮИА была выше, чем в контрольной группе [43].

Результаты исследований разных авторов, посвященные оценке содержания ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыворотке и плазме крови у детей с различными вариантами ювенильного артрита, также противоречивы. При исследовании плазмы крови N. Kutukculer и соавт. не выявили различий по уровню ИЛ-4 между пациентами с ЮИА и группой здоровых детей [33]. L. Guo и соавт. обнаружили снижение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови у пациентов с системным вариантом ЮИА по сравнению с контролем [24]. Значительное увеличение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови было обнаружено у пациентов с полиартрикулярным и системным ЮИА [47], в том числе при системном варианте с синдромом активации макрофагов [24]. Однако другими авторами [21]

у детей с системным началом ЮИА, как в стадии активности заболевания, так и в период ремиссии, обнаружена самая низкая концентрация ИЛ-10 по сравнению с группами больных с олиго- и полиартрикулярной формами.

Уровень спонтанной продукции ИЛ-1га клетками цельной крови у обследованных нами больных с ЮИА не отличался от контрольных значений, тогда как способность клеток крови синтезировать этот ЦК после их инкубации с митогеном у пациентов с ювенильным артритом была существенно снижена по сравнению с группой здоровых детей (табл. 2). В литературе имеются единичные публикации, посвященные стимулированной выработке ИЛ-1га у больных с ЮИА. K. Müller и соавт. не выявили различий между больными с ЮИА и здоровыми детьми по уровню ИЛ-1га при использовании в качестве стимуляторов липополисахарида *Escherichia coli* и фитогемагглютинаина [36]. Однако эти авторы обнаружили увеличение сывороточного содержания ИЛ-1га у пациентов с системным вариантом ЮИА по сравнению со здоровыми детьми, причем значения ИЛ-1га значимо коррелировали с концентрацией ИЛ-6 [36]. В другой работе установлено, что подъемы температуры тела у детей с ЮИА были ассоциированы с увеличением уровней ИЛ-6 и ИЛ-1га в сыворотке крови, авторами высказано предположение, что ИЛ-6 стимулирует синтез ИЛ-1га [42]. В нашем предварительном исследовании спонтанный уровень ИЛ-6 в супернатантах культур клеток крови у детей с ЮИА не отличался от контрольного. При оценке ФГА-стимулированной продукции ИЛ-6 выявлено увеличение концентрации этого белка у больных с ювенильным артритом по сравнению со здоровыми детьми. В настоящей работе у этих же больных не обнаружено различий по спонтанной продукции ИЛ-1га, но выявлено снижение стимулированной концентрации этого ЦК в супернатантах культур цельной крови. Установлена взаимосвязь между спонтанной ( $R = 0,39$ ;  $p < 0,001$ ) и митоген-стимулированной ( $R = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ) концентрацией этих белков в супернатантах клеток крови.

Снижение выработки ИЛ-1га при использовании митогена у пациентов с ювенильным артритом может указывать на истощение резервных возможностей клеток в условиях продолжительного течения воспалительного процесса. Недостаточная продукция ИЛ-1га может вносить существенный вклад в патогенез ЮИА, так как этот ЦК подавляет действие провоспалительного цитокина ИЛ-1 [14]. Более того, есть опыт успешного применения рекомбинантного ИЛ-1га в качестве

лекарственного препарата при лечении заболевания суставов как у детей, так и у взрослых [10, 11, 17, 50].

Наибольшие различия между исследованными группами обнаружены для продукции TGF- $\beta$ . Спонтанный и стимулированный уровень TGF- $\beta$  в супернатантах культур клеток крови у детей с ЮИА был ниже, чем в контрольной группе (табл. 2). Публикации о продукции TGF- $\beta$  клетками крови в условиях *in vitro* и *in vivo* у детей с этим заболеванием практически отсутствуют. S. Narsini и соавт. при исследовании полиморфизма гена TGF- $\beta$  у больных с ЮИА выявили различия со здоровыми детьми по частоте встречаемости некоторых аллельных вариантов, что может указывать на вовлеченность данного ЦК в патогенез ЮИА [26]. Литературные данные о сывороточной концентрации и продукции TGF- $\beta$  *in vitro* у взрослых пациентов и детей с суставной патологией также крайне скудны. В одной из единичных публикаций сообщается о снижении концентрации TGF- $\beta$  в сыворотке крови у взрослых пациентов с ревматоидным артритом по сравнению с контролем [38]. В другой работе выявлено, что уровень TGF- $\beta$  в синовиальной жидкости у взрослых с ревматоидным артритом был выше, чем у здоровых доноров, а также пациентов с реактивным артритом и недифференцированной спондилоартропатией [46]. Полное отсутствие спонтанного синтеза культурами клеток крови TGF- $\beta$  у большинства обследованных нами пациентов с ЮИА и существенное снижение ФГА-стимулированной продукции этого ЦК свидетельствуют о высокой важности нарушения выработки TGF- $\beta$  в патогенезе ЮИА.

В наших предварительных исследованиях у детей с ЮИА было выявлено увеличение спонтанной и/или стимулированной продукции клетками крови ЦК, обладающих провоспалительным действием — IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . В настоящей работе продемонстрировано снижение или отсутствие разницы по концентрации IL-1ra, IL-4, IL-10 и TGF- $\beta$  в супернатантах спонтанных и/или стимулированных культур цельной крови у тех же самых больных. Следовательно, у детей с ЮИА наблюдается диспропорция выработки про- и противовоспалитель-

ных ЦК со смещением в сторону первых. Баланс между синтезом про- и противовоспалительных цитокинов является значимым моментом в регуляции воспалительной реакции, от которого зависит характер течения патологического процесса и исход заболевания [5].

## Заключение

Таким образом, более низкая по сравнению с контролем спонтанная продукция клетками крови TGF- $\beta$  и стимулированная выработка IL-1ra и TGF- $\beta$  у пациентов с ЮИА отражает значимость данных противовоспалительных цитокинов в развитии хронического воспаления суставов у детей. Использованный в нашей работе подход одновременного исследования как спонтанного, так и индуцированного синтеза цитокинов клетками цельной крови может быть применен для характеристики функционирования иммунокомпетентных клеток и иммунной системы в целом у пациентов с ювенильным идиопатическим артритом и другими аутоиммунными и аутовоспалительными заболеваниями. Стимуляция клеток способна выявить скрытый дефицит синтеза ЦК, не проявляющийся при определении его концентрации в сыворотке крови или супернатантах спонтанных клеточных культур, как это показано на примере исследования продукции IL-1ra. Дальнейшее изучение продукции противовоспалительных ЦК клетками периферической крови может быть полезно для разработки новых эффективных способов терапии и персонализированного подхода к лечению различных заболеваний. Применение рекомбинантных молекул в качестве терапевтического средства может компенсировать недостаток или отсутствие ЦК *in vivo* и скорректировать цитокиновый дисбаланс, возникающий при различных функциональных дефектах иммунокомпетентных клеток.

## Благодарности

Авторы приносят искреннюю благодарность врачам ГБУЗ СО ОДКБ № 1 Козловой Е.С., Скоробогаевой О.В. за подбор пациентов для исследования.

## Список литературы / References

1. Авдеева А.С., Кусевич Д.А. Роль лабораторных биомаркеров в прогнозировании эффективности терапии ритуксимабом при ревматоидном артрите (новые данные) // Научно-практическая ревматология, 2017. Т. 55, № 3. С. 295-303. [Avdeeva A.S., Kusevich D.A. The role of laboratory biomarkers in predicting the efficiency of rituximab therapy for rheumatoid arthritis: new evidence. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2017, Vol. 55, no. 3, pp. 295-303. (In Russ.)]



2. Алексеева Е.И. Ювенильный идиопатический артрит: клиническая картина, диагностика, лечение // Вопросы современной педиатрии, 2015. Т. 14, № 1. С. 78-94. [Alekseeva E.I. Juvenile idiopathic arthritis: Clinical picture, Diagnosis, Treatment. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, Vol. 14, no. 1, pp. 78-94. (In Russ.)]
3. Алексеева Е.И., Бзарова Т.М. Ювенильный ревматоидный артрит. В кн.: Педиатрия. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. А.А. Баранова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 768 с. [Alekseeva E.I., Bzarova T.M. Juvenile idiopathic arthritis. In the book: *Pediatrics. National guidance. Short edition*. Ed. A.A. Baranov]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 768 p.
4. Герцев А.В., Закревский Ю.Н. Характеристика нейропептидно-цитокинового звена иммунитета у больных с полиморбидной сердечно-сосудистой патологией, протекающей на фоне тревожно-депрессивных расстройств // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 2. С. 277-284. [Gertsev A.V., Zakrevsky Yu.N. Characteristics of neuropeptide-cytokine immunity links in patients with combined cardiovascular pathology, proceeding with anxiety/depression disorder. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 2, pp. 277-284. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-277-284.
5. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление, 2003. Т. 2, № 3. С. 20-35. [Demyanov A.V., Kotov A.Yu., Simbirtsev A.S. Diagnostic value of cytokine studies in clinical practice. *Citokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2003, Vol. 2, no. 3, pp. 20-35. (In Russ.)]
6. Каледа М.И., Никишина И.П., Шаповаленко А.Н., Костарева О.М., Федоров Е.С. Феномен нейтропении на фоне терапии тоцилизумабом у пациентов с ювенильным идиопатическим артритом // Научно-практическая ревматология, 2017. Т. 55, № 6. С. 662-667. [Kaleda M.I., Nikishina I.P., Shapovalenko A.N., Kostareva O.M., Fedorov E.S. The phenomenon of neutropenia during tocilizumab therapy in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2017, Vol. 55, no. 6, pp. 662-667. (In Russ.)]
7. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. *Cytokines*]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 552 p.
8. Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Конев М.А., Селизов В.В., Прокопович Е.В., Никитин М.С., Москаленко А.В., Афоничев К.А. Ювенильный артрит: клинико-инструментальная картина и дифференциальная диагностика // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста, 2014. Т. 2, № 4. С. 66-73. [Kozhevnikov A.N., Pozdeeva N.A., Konev M.A., Selizov V.V., Prokopovich E.V., Nikitin M.S., Moskalenko A.V., Afonichev K.A. Juvenile arthritis: clinical manifestations and differential diagnosis. *Ortopediya, travmatologiya i vosstanovitelnaya khirurgiya detskogo vozrasta = Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*, 2014, Vol. 2, no. 4, pp. 66-73. (In Russ.)]
9. Коненков В.И., Ракова И.Г., Авдошина В.В., Гельфгат Е.Л. Комплексная оценка уровня спонтанной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здорового человека // Цитокины и воспаление, 2005. № 2. С. 33-37. [Konenkov V.I., Rakova I.G., Avdoshina V.V., Gelfgat E.L. Complex evaluation of spontaneous cytokines production in the culture of peripheral blood mononuclear cells of healthy person. *Citokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, no. 2, pp. 33-37. (In Russ.)]
10. Костик М.М. Применение анакинры у пациентов с криопиринассоциированными периодическими синдромами и другими аутовоспалительными заболеваниями // Вопросы современной педиатрии, 2016. Т. 15, № 6. С. 576-583. [Kostik M.M. Use of anakinra in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes and other autoinflammatory diseases. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2016, Vol. 15, no. 6, pp. 576-583. (In Russ.)]
11. Никишина И.П., Каледа М.И. Современная фармакотерапия системного ювенильного артрита // Научно-практическая ревматология, 2015. Т. 53, № 1. С. 84-93. [Nikishina I.P., Kaleda M.I. Current pharmacotherapy for systemic juvenile arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2015, Vol. 53, no. 1, pp. 84-93. (In Russ.)]
12. Пашнина И.А., Криволапова И.М., Козлова Е.С., Скоробогатова О.В., Тузанкина И.А., Черешнев В.А. Аутоантитела при ювенильных артритках у детей // Российский иммунологический журнал, 2013. Т. 7 (16), № 4. С. 437-444. [Pashnina I.A., Krivolapova I.M., Kozlova E.S., Skorobogatova O.V., Tuzankina I.A., Chereshevnev V.A. Autoantibodies in children with juvenile arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2013, Vol. 7 (16), no. 4, pp. 437-444. (In Russ.)]
13. Полушина Л.Г., Светлакова Е.Н., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В., Базарный В.В. Клинико-патогенетическое значение некоторых цитокинов при пародонтите // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 6.

С. 803-806. [Polushina L.G., Svetlakova E.N., Sementsova E.A., Mandra Yu.V., Bazarny V.V. Clinico-pathogenetic value of some cytokines in periodontitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 6, pp. 803-806. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806.

14. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал, 2013. Т. 13, № 3. С. 18-41. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal = Medical Academic Journal*, 2013, Vol. 13, no. 3, pp. 18-41. (In Russ.)]

15. Чернышева О.Е., Конюшевская А.А., Вайзер Н.В., Балычевцева И.В. Ювенильный артрит: терминология, классификация, диагностические критерии, этиология, патогенез, современные аспекты (обзор литературы) // Травма, 2017. Т. 18. № 4. С. 16-24. [Chernyshova O.E., Konyshevskaya A.A., Vaizer N.V., Balychevtseva I.V. Juvenile arthritis: terminology, classification, diagnostic criteria, etiology, pathogenesis, modern aspects (review of the literature). *Travma = Trauma*, 2017, Vol. 18, no. 4, pp. 16-24. (In Russ.)]

16. Aggarwal A., Mishra R. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells patients with juvenile idiopathic arthritis. *Indian Pediatrics.*, 2002, no. 39, pp. 739-742.

17. Barut K., Adrovic A., Şahin S., Kasapçopur O. Juvenile idiopathic arthritis. *Balkan Med. J.*, 2017, Vol. 34, no. 2, pp. 90-101.

18. Brescia A.C., Simonds M.M., Sullivan K.E., Rose C.D. Secretion of pro-inflammatory cytokines and chemokines and loss of regulatory signals by fibroblast-like synoviocytes in juvenile idiopathic arthritis. *Proteomics Clin. Appl.*, 2017, Vol. 11, no. 5-6.

19. Chyuan I.T., Chen J.Y. Role of interleukin- (IL-) 17 in the pathogenesis and targeted therapies in spondyloarthropathies. *Mediators Inflamm.*, 2018, 2403935, 8 p. doi: 10.1155/2018/2403935.

20. de Jager. Cytokines in juvenile idiopathic arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2017, Vol. 76, no. 2, pp. 16-17.

21. de Jager, Hoppenreijns E.P.A.H., Wulffraat N.M., Wedderburn L.R., Kuis W., Prakken B.J. Blood and synovial fluid cytokine signatures in patients with juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional study. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, no. 66, pp. 589-598.

22. Dong C., Fu T., Ji J., Li Z., Gu Z. The role of interleukin-4 in rheumatic diseases. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2018, Vol. 45, no. 8, pp. 747-754.

23. Guo L., Lu M.P., Dong G.J., Teng L.P., Xu Y.P., Zou L.X., Zheng Q. Clinical and laboratory features of macrophage activation syndrome. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 188-192.

24. Guo L., Lu M.P., Tang Y.M., Teng L.P., Xu Y.P., Zou L.X., Zheng R.J., Zheng Q. Serum cytokine levels in children with newly diagnosed active systemic juvenile idiopathic arthritis. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2014, Vol. 16, no. 12, pp. 1241-1244.

25. Gohar F., Kessel Ch., Lavric M., Holzinger D., Foell D. Review of biomarkers in systemic juvenile idiopathic arthritis: helpful tools or just playing tricks? *Arthritis Res. Ther.*, 2016, Vol. 18, p. 163.

26. Harsini S., Ziaee V., Maddah M., Rezaei A., Sadr M., Zoghi S., Moradinejad M.H., Tahghighi F., Aghighi Y., Rezaei N. Interleukin 10 and transforming growth factor beta 1 gene polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis. *Bratisl. Med. J.*, 2016, Vol. 117, no. 5, pp. 258-262.

27. Heney D., Whicher T.J. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications for their clinical measurement. *Ann. Clin. Biochem.*, 1995, no. 32, pp. 358-368.

28. Hong K.H., Cho M.L., Min S.Y., Shin Y.J., Yoo S.A., Choi J.J., Kim W.U., Song S.W., Cho C.S. Effect of interleukin-4 on vascular endothelial growth factor production in rheumatoid synovial fibroblasts. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007, Vol. 147, no. 3, pp. 573-579.

29. Horai R., Saijo S., Tanioka H., Nakae S., Sudo K., Okahara A., Ikuse T., Asano M., Iwakura Y. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 191, no. 2, pp. 313-320.

30. Huang J.L., Kuo M.L., Hung I.J., Wu C.J., Ou L.H., Cheng J.H. Lowered IL-4-producing T cells and decreased IL-4 secretion in peripheral blood from subjects with juvenile rheumatoid arthritis. *Chang Gung Med. J.*, 2001, Vol. 24, no. 2, pp. 77-83.

31. Johdi N.A., Mazlan L., Sagap I., Jamal R. Profiling of cytokines, chemokines and other soluble proteins as a potential biomarker in colorectal cancer and polyps. *Cytokine*, 2017, no. 99, pp. 35-42.

32. Kawasumi H., Gono T., Tanaka E., Kaneko H., Kawaguchi Y., Yamanaka H. Clinical characteristics and cytokine profiles of organizing pneumonia in patients with rheumatoid arthritis treated with or without biologics. *J. Rheumatol.*, 2014, Vol. 43, no. 4, pp. 738-744.

33. Kutukculer N., Caglayan S., Aydogdu F. Study of pro-inflammatory (TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6) and T-cell-derived (IL-2, IL-4) cytokines in plasma and synovial fluid of patients with juvenile chronic arthritis: correlations with clinical and laboratory parameters. *Clin. Rheumatol.*, 1998, Vol. 17, no. 4, pp. 288-292.
34. Lee C.K., Lee E.Y., Chung S.M., Mun S.H., Yoo B., Moon H.B. Effects of disease-modifying antirheumatic drugs and antiinflammatory cytokines on human osteoclastogenesis through interaction with receptor activator of nuclear factor kappa B, osteoprotegerin, and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand. *Arthritis Rheum.*, 2004, Vol. 50, no. 12, pp. 3831-3843.
35. Lijiao J., Meiping L.U., Li G., Jianqiang W.U., Lixia Z., Yiping X.U. Serum levels of Th1/Th2 cytokines in children with non-systemic juvenile idiopathic arthritis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2016, Vol. 45, no. 3, pp. 281-286.
36. Muller K., Herner E.B., Stagg A., Bendtzen K., Woo P. Inflammatory cytokines and cytokine antagonists in whole blood cultures of patients with systemic juvenile chronic arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1998, Vol. 37, no. 5, pp. 562-569.
37. Opal S.M., DePalo V.A. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, 2000, Vol. 117, no. 4, pp. 1162-1172.
38. Paramalingam S.S., Thumboo J., Vasoo S., Thio S.T., Connie Tse C., Fong K-Y. *In vivo* pro- and anti-inflammatory cytokines in normal and patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Acad. Med. Singapore*, 2007, Vol. 36, pp. 96-99.
39. Park M.J., Lee S.H., Kim E.K., Lee E.J., Baek J.A., Park S.H., Kwok S.K., Cho M.L. Interleukin-10 produced by myeloid-derived suppressor cells is critical for the induction of Tregs and attenuation of rheumatoid inflammation in mice. *Sci. Rep.*, 2018, Vol. 8, no. 1, p. 3753.
40. Petra A.I., Tsilioni I., Taracanova A., Katsarou-Katsari A., Theoharides T.C. Interleukin 33 and interleukin 4 regulate interleukin 31 gene expression and secretion from human laboratory of allergic diseases 2 mast cells stimulated by substance P and/or immunoglobulin E. *Allergy Asthma Proc.*, 2018, no. 39, pp. 153-160.
41. Pignatti P., Vivarelli M., Meazza C., Rizzolo M.G., Martini A., De Benedetti F. Abnormal regulation of interleukin 6 in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J. Rheumatol.*, 2001, Vol. 28, no. 7, pp. 1670-1676.
42. Prieur A.M., Roux-Lombard P., Dayer J.M. Dynamics of fever and the cytokine network in systemic juvenile arthritis. *Rev. Rhum. Engl. Ed.*, 1996, Vol. 63, no. 3, pp. 163-170.
43. Raziuddin S., Bahabri S., Al-Dalaan, Siraj A.K., Al-Sedairy S. A mixed Th1/Th2 cell cytokine response predominates in systemic onset juvenile rheumatoid arthritis: immunoregulatory IL-10 function. *Clin. Immunol. Immunopatol.*, 1998, no. 86, pp. 192-198.
44. Sadeghi A., Pezeshgi A., Karimimoghaddam A., Moghimi M., Kamali K., Naseri M., Esmailzadeh A. Evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin antibodies, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis in comparison with other rheumatic diseases; a nephrology point of view. *J. Nephropharmacol.*, 2017, Vol. 6, no. 2, pp. 98-105.
45. Sapan H.B., Paturusi I., Jusuf I., Patellongi I., Massi M.N., Pusponogoro A.D., Arief S.K., Labeda I., Islam A.A., Rendy L., Hatta M. Pattern of cytokine (IL-6 and IL-10) level as inflammation and anti-inflammation mediator of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in polytrauma. *Int. J. Burn Trauma*, 2016, Vol. 6, no. 2, pp. 37-43.
46. Singh A.K., Misra R., Aggarwal A. Th-17 associated cytokines in patients with reactive arthritis/undifferentiated spondyloarthropathy. *Clin. Rheumatol.*, 2011, Vol. 30, no. 6, pp. 771-776.
47. Shahin A.A., Shaker O.G., Kamal N., Hafez H.A., Gaber W., Shahin H.A. Circulating interleukin-6, soluble interleukin-2 receptors, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 levels in juvenile chronic arthritis: correlations with soft tissue vascularity assessed by power Doppler sonography. *Rheumatol Int.*, 2002, Vol. 22, no. 2, pp. 84-88.
48. Swart J.F, van Dijkhuizen E.H.P., Wulffraat N.M., Sytze de Roock. Clinical juvenile arthritis disease activity score proves to be a useful tool in treat-to-target therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2018, Vol. 77, pp. 336-342.
49. Tong Y., Yang T., Wang J., Zhao T., Wang L., Kang Y., Cheng C., Fan Y. Elevated plasma chemokines for eosinophils in neuromyelitis optica spectrum disorders during remission. *Front. Neurol.*, 2018, Vol. 9, no. 44, pp. 1-7.
50. Vastert S.J., de Jager W., Noordman B.J., Holzinger D., Kuis W., Prakken B.J., Wulffraat N.M. Effectiveness of first-line treatment with recombinant interleukin-1 receptor antagonist in steroid-naive patients with new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol.*, 2014, Vol. 66, no. 4, pp. 1034-1043.
51. Yamamoto A., Sato K., Miyoshi F., Shindo Y., Yoshida Y., Yokota K., Nakajima K., Akiba H., Asanuma Y., Akiyama Y., Mimura T. Analysis of cytokine production patterns of peripheral blood mononuclear cells from a rheumatoid arthritis patient successfully treated with rituximab. *Mod. Rheumatol.*, 2010, no. 2, pp. 183-187.

52. Yoshimura A., Wakabayashi Y., Mori T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF-beta. *J. Biochem.*, 2010, Vol. 147, no. 6, pp. 781-792.

53. Yu F.Y., Xie C.Q., Jiang C.L., Sun J.T., Huang X.W. TNF $\alpha$  increases inflammatory factor expression in synovial fibroblasts through the toll like receptor 3 mediated ERK/AKT signaling pathway in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Mol. Med. Rep.*, 2018, Vol. 17, no. 6, pp. 8475-8483.

---

**Авторы:**

**Криволапова И.М.** — биолог клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Пашина И.А.** — д.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Черешнев В.А.** — д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Authors:**

**Krivolapova I.M.**, Research Biologist, Laboratory of Clinical Diagnostics, Regional Children's Clinical Hospital No. 1; Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Science, Ekaterinburg, Russian Federation

**Pashnina I.A.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Clinical Diagnostics, Regional Children's Clinical Hospital No. 1; Senior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Science, Ekaterinburg, Russian Federation

**Chereshnev V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Main Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

---

Поступила 07.06.2018

Отправлена на доработку 13.06.2018

Принята к печати 22.06.2018

---

Received 07.06.2018

Revision received 13.06.2018

Accepted 22.06.2018