

УДК 612.017.1

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

## УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

<sup>1</sup> Областная детская клиническая больница №1, г. Екатеринбург, Российская Федерация;<sup>2</sup> Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Российская Федерация*I.M. Krivolapova<sup>1,2</sup>, I.A. Pashnina<sup>1,2</sup>, V.A. Chereshev<sup>2</sup>*

## THE LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN CELLS CULTURES SUPERNATANTS IN CHILDREN WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

<sup>1</sup> Regional Children's Clinical Hospital №1, Yekaterinburg, Russian Federation;<sup>2</sup> Institute of Immunology and Physiology Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Резюме.** Ювенильный идиопатический артрит — хроническое воспалительное заболевание суставов у детей. В основе патогенеза ювенильного артрита, в том числе, лежит гиперпродукция провоспалительных цитокинов, что является причиной хронического воспаления суставов. **Цель исследования** — определение уровня спонтанной и стимулированной продукции провоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом. **Материалы и методы.** Обследованы дети 2–17 лет с различными вариантами ювенильного идиопатического артрита (n=100) и условно здоровые дети (контроль, n=31). Спонтанную и фитогемагглютинин-стимулированную концентрацию ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФНγ, ФНОα в супернатантах клеточных культур исследовали методом ИФА. **Результаты исследования.** Различий по спонтанной и стимулированной продукции исследованных цитокинов у пациентов с различными вариантами ювенильного артрита не выявлено. В объединенной группе больных с ювенильным идиопатическим артритом обнаружено увеличение спонтанной продукции клетками крови ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНОα и ИФНγ по сравнению со здоровыми детьми. При стимуляции клеток фитогемагглютинином продукция ИЛ-6 и ФНОα у больных с ювенильным идиопатическим артритом была повышена, а ИЛ-1β, ИЛ-8 и ИФНγ — снижена по сравнению с контрольной группой. **Выводы.** Увеличение спонтанной продукции цитокинов у больных с ювенильным идиопатическим артритом свидетельствует о наличии у пациентов предшествующей активации иммунокомпетентных клеток. Более высокая спонтанная и/или стимулированная продукция клетками крови ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНОα и ИФНγ у детей с ювенильным идиопатическим артритом по сравнению с контрольной группой отражает патогенетическую значимость данных цитокинов при этом заболевании. Снижение концентрации ИЛ-1β, ИЛ-8, и

**Abstract.** Juvenile idiopathic arthritis is a chronic inflammatory disease of joints in children. Hyperproduction of proinflammatory cytokines, in particular, plays the role in pathogenesis of juvenile idiopathic arthritis. **The aim** — to determine spontaneous and stimulated proinflammatory cytokines production by peripheral blood cells in children with juvenile idiopathic arthritis. **Materials and methods.** Patients of 2–17 years old with different subtypes of juvenile idiopathic arthritis (n = 100) and healthy children without signs of autoimmune diseases (control, n = 31) were examined. Spontaneous and PHA-stimulated concentrations of IL-1β, IL-6, IL-8, IFNγ, TNFα in the cells cultures supernatants were determined by ELISA. **The results.** Differences in the spontaneous and stimulated production of the investigated cytokines in patients with different subtypes of juvenile arthritis were not revealed. Increasing of spontaneous production by blood cells of IL-1β, IL-8, TNF-α and IFNγ was found in the combined group of patients with arthritis in comparison with healthy children. Stimulated IL-6 and TNF-α production was increased in patients with juvenile idiopathic arthritis, whereas stimulated IL-1β, IL-8, IFNγ production was decreased in comparison with the control. **Conclusion.** Increase spontaneous production of cytokines in children with juvenile idiopathic arthritis indicates a previous activation of immunocompetent cells in patients. High spontaneous and/or stimulated IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, IFNγ production by blood cells in patients reflects the pathogenic significance of these cytokines in disease. Decrease of stimulated IL-1β, IL-8, IFNγ production in patients with juvenile idiopathic arthritis in comparison with the control is an evidence of immunocompetent cells functional reserve decline.

**Keywords:** cytokines, juvenile idiopathic arthritis

ИФН $\gamma$  в супернатантах клеточных культур при стимуляции фитогемагглютинином у пациентов с ювенильным идиопатическим артритом по сравнению с контролем свидетельствует о снижении функциональных возможностей иммунокомпетентных клеток.

**Ключевые слова:** цитокины, ювенильный идиопатический артрит

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Криволапова Ирина Михайловна  
krivolapovaim@mis66.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:

Irina M. Krivolapova  
krivolapovaim@mis66.ru

Дата поступления 28.12.2017

Received 28.12.2017

Образец цитирования:

Криволапова И.М., Пашнина И.А., Черешнев В.А. Уровень провоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №3, с. 421–431, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-421-431

For citation:

Krivolapova I.M., Pashnina I.A., Chereshev V.A. The level of proinflammatory cytokines in cells cultures supernatants in children with juvenile idiopathic arthritis. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 3, pp. 421–431. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-421-431 (In Russ)

## Введение

Актуальной проблемой современной педиатрии является диагностика и лечение воспалительных заболеваний суставов, среди которых наиболее распространенным является ювенильный идиопатический артрит (ЮИА). Ювенильный идиопатический артрит — хроническое заболевание суставов аутоиммунной/аутовоспалительной природы, развивающееся у детей до 16 лет. Заболевание характеризуется деструкцией хрящевой и костной ткани, что оказывает значительное влияние на качество жизни пациента и обуславливает высокую вероятность ранней инвалидизации и социальной дезадаптации ребенка [1, 2].

Ювенильный идиопатический артрит является гетерогенной группой, объединяющей несколько вариантов заболеваний суставов, механизмы развития которых отличаются [2, 3]. В настоящее время нет четкого представления о патогенезе различных вариантов ЮИА, однако не вызывает сомнения участие иммунологических механизмов в формировании всех нозологических форм этого заболевания [3, 4]. По современным представлениям, в основе патогенеза ЮИА, в том числе, лежит дисбаланс между продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ЦК) с преобладанием синтеза первых над вторыми, что является причиной хронического воспаления суставов [1, 2].

Цитокины представляют собой низкомолекулярные

белки, обладающие выраженной биологической активностью, участвующие в регуляции процессов гемопозеза, воспаления, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, реализации их эффекторных функций. ЦК и соответствующие им рецепторы синтезируются клетками различных тканей, основными их продуцентами являются клетки иммунной системы, соединительной ткани, эпителия, эндотелия [5]. По механизму действия в условиях воспаления ЦК разделяют на провоспалительные (инициирующие воспалительную реакцию) и противовоспалительные (подавляющие воспаление). К основным провоспалительным цитокинам, играющим роль в патогенезе воспалительных заболеваний суставов относятся ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО $\alpha$ , ИЛ-17, ИФН $\gamma$  [1, 5]. В ответ на воздействие экзогенных или эндогенных факторов происходит активация синтеза провоспалительных цитокинов, усиливающих остеокластопосредованную резорбцию хрящевой и костной ткани, способствующих гибели остеобластов и ингибированию синтеза коллагена. Под воздействием ЦК происходит пролиферация синовиоцитов, остеокластов, усиливается синтез коллагеназы, стромелизина, активизируется хемотаксис лейкоцитов. [1].

Продукция ИЛ-1 $\beta$  осуществляется макрофагами, синовиоцитами, хондроцитами и остеокластами. Этот ЦК стимулирует выход нейтрофилов из костного мозга, рост и дифференцировку лимфоцитов, активиру-

ет макрофаги. ИЛ-1 $\beta$ , в свою очередь, способен индуцировать синтез многих цитокинов, хемокинов, матриксных металлопротеиназ и других ферментов, способствующих разрушению хряща и костной ткани [5]. Имеются работы, в которых показано, что у пациентов с ЮИА отмечается значительное увеличение концентрации ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови и синовиальной жидкости, что коррелирует с активностью заболевания [6, 7].

ФНО $\alpha$  вырабатывается преимущественно активированными Т-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и эпителиальными клетками [5]. Основными патогенетическими эффектами ФНО $\alpha$  при воспалительных заболеваниях суставов является увеличение продукции фактора дифференцировки остеокластов, отвечающего за резорбцию костной ткани, индукция синтеза коллагеназы и металлопротеиназ [5]. На моделях *in vitro* показано, что ФНО $\alpha$  является индуктором продукции других провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 [8]. Рядом авторов выявлено повышение концентрации ФНО $\alpha$  в синовиальной жидкости и в сыворотке крови у детей с ЮИА [9, 10].

ИЛ-6 является гликопротеином, который синтезируется лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами, эндотелиальными клетками, синовиальными фибробластами и макрофагами. ИЛ-6 активизирует продукцию острофазовых белков, хемокинов, выработку антител В-лимфоцитами, может вызывать пролиферацию синовиальных фибробластов и активировать остеокласты [5]. Этот цитокин принимает участие в развитии околосуставного остеопороза и суставной деструкции через влияние на дифференцировку остеокластов и увеличение активности различных ферментов [5]. В исследованиях ряда авторов было показано увеличение уровня ИЛ-6 в различных биологических средах (сыворотка крови, синовиальная жидкость, супернатанты клеточных культур) у пациентов с системным вариантом ЮИА, высокие уровни ИЛ-6 коррелировали с клинической активностью заболевания [6, 9].

Синтез ИЛ-8 осуществляется нейтрофилами, моноцитами и макрофагами, лимфоцитами, фибробластами, клетками эпителия и эпидермиса. [5]. Этот ЦК усиливает экспрессию молекул межклеточной адгезии и вызывает активацию и привлечение нейтрофилов к месту воспаления [8, 11]. Роль ИЛ-8 в развитии ЮИА у детей до конца не ясна. Повышенный уровень ИЛ-8 в сыворотке крови у детей с ЮИА был выявлен De Benedetti F. с соавт., высокое содержание этого хемокина коррелировало с активностью заболевания [12]. Этими же авторами показана корреляция концентрации ИЛ-8 в синовиальной жидкости с количеством лейкоцитов и уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в сыворотке крови. Однако M. Yilmaz с соавт. не выявили разницы по концентрации этого ЦК в сыворотке крови у пациен-

тов с ЮИА и контрольной группой [6].

ИФН $\gamma$  синтезируется Т-лимфоцитами, преимущественно Т-хелперами 1-го типа, является макрофаг-активирующим фактором, влияет на дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, активирует нейтрофилы и натуральные киллеры, усиливает цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами и натуральными киллерами [5]. Данные о роли ИФН $\gamma$  в развитии синовита противоречивы. Внесение этого цитокина в смешанную культуру Т-клеток и моноцитов пациентов с ревматоидным артритом приводило к стимуляции синтеза ФНО $\alpha$  [13]. С другой стороны, ИФН $\gamma$  способен снижать продукцию ИЛ-1, матриксных металлопротеиназ и пролиферацию синовиоцитов при ревматоидном артрите у взрослых [14].

В настоящее время имеется большое количество публикаций, посвященных исследованию широкого спектра ЦК при воспалительных заболеваниях суставов. Однако, литературные данные о содержании и значении провоспалительных цитокинов у детей с ЮИА весьма противоречивы. Сообщается как о повышении концентрации провоспалительных ЦК в сыворотке крови [9, 10, 13], так и об ее снижении [11], а также об отсутствии изменения уровня этих белков [6, 15].

Возможно, часть этих противоречий обусловлена методическими особенностями оценки уровня цитокинов. Наиболее часто в научной и клинической практике концентрацию цитокинов определяют в сыворотке или плазме крови. Однако уровни ЦК в крови могут быть низкими или даже неопределяемыми в связи с особенностями физиологии этих белков. Известно, что ЦК являются короткоживущими молекулами, некоторые из них содержатся в крови в крайне низких концентрациях, накапливаясь в основном в очаге воспаления [16]. В ряде работ были выявлены низкие уровни ЦК в сыворотке крови по сравнению с синовиальной жидкостью у детей с ЮИА [7, 17]. Кроме того, трудности определения ЦК в сыворотке крови могут быть обусловлены присутствием растворимых рецепторов цитокинов, антицитокиновых антител и антагонистов рецепторов [18, 19]. Все эти факты влияют на результаты определения ЦК в сыворотке крови и могут исказить истинную картину состояния цитокинового профиля при той или иной патологии. В качестве одного из способов, позволяющих нивелировать недостатки определения концентрации ЦК в сыворотке крови, может использоваться вычисление различного рода интегральных коэффициентов [20].

Поскольку цитокины являются локальными медиаторами и в большинстве случаев действуют на клетки-мишени, находящиеся в непосредственной близости (короткодистантное действие), целесообразно измерять их уровни в соответствующих тканях после экстракции тканевых протеинов [16]. Одна-

ко в клинической практике получить образцы ткани, в частности, синовиальной при различных артритах, возможно, в основном, на поздних стадиях заболевания. В связи с этим в диагностических и прогностических целях измерение уровня цитокинов чаще проводится в естественных жидкостях, например, в слезе, синовиальной жидкости, амниотической и спинномозговой жидкости, а также в периферической крови [5]. Однако получение большинства биологических жидкостей, в частности синовиальной, проводится высокоинвазивными методами, что ограничивает использование этого материала для исследования цитокинового профиля, особенно у пациентов детского возраста.

Альтернативой определения уровня ЦК в сыворотке крови и других жидкостях организма является измерение концентраций цитокинов в супернатантах клеток периферической крови, культивируемых как без стимуляторов, так и с различными стимуляторами. Несмотря на то, что цитокины продуцируются различными типами клеток организма, клетки периферической крови служат наиболее удобной моделью для оценки продукции цитокинов, в основном из-за их доступности [8, 18, 19,]. Уровни цитокинов в сыворотке или других биологических жидкостях отражают текущее состояние работы иммунной системы, т.е. синтез цитокинов клетками организма *in vivo*. Определение продукции цитокинов в культурах периферической крови служит для оценки функционального состояния иммунокомпетентных клеток [8]. Спонтанная продукция цитокинов в культуре свидетельствует, что клетки уже активированы *in vivo*. Индуцированный различными стимуляторами синтез этих белков отражает резервную способность клеток отвечать на стимул, что важно для оценки их функционального потенциала [8].

В лабораторной практике для оценки продукции цитокинов в качестве стимуляторов часто используют растительные митогенные лектины: фитогемагглютинин, конканавалин А, митоген лаконоса, которые в большей степени индуцируют пролиферацию Т- и В-лимфоцитов [5]. Стимуляторами секреторной активности моноцитов и нейтрофилов могут являться соединения микробного происхождения, к числу которых относятся структурные компоненты клеточных стенок грамотрицательных бактерий — липополисахариды [21].

Данные литературы о стимулированной продукции провоспалительных цитокинов клетками периферической крови пациентов с ЮИА фрагментарны и не согласуются друг с другом. Разными авторами выявлено увеличение продукции провоспалительных ЦК в стимулированными культурами клеток крови [22], снижение синтеза этих белков [15, 23], а также отсутствие изменения выработки ЦК после воздействия

стимулятора [15].

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

### Материалы и методы

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

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 100 детей в возрасте от 2 до 17 лет с различными вариантами ЮИА: олигоартикулярный вариант (оЮИА), n=53; полиартикулярный вариант (пЮИА), n=21; системный вариант (сЮИА), n=9; артрит, ассоциированный с энтезитом (ЮАаЭ), n=17. Всего обследовано 61 девочка и 39 мальчиков. Средний возраст составил 10,7 лет. Длительность болезни на момент обследования варьировала от 6 месяцев до 13 лет и в среднем составила 3,5 года. Средний возраст пациентов на момент дебюта заболевания составил 5,1 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 со стойкой ремиссией (20 детей) не получали лекарственную терапию.

Контрольную группу составили 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 контрольную 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 пробирки (Greiner, Австрия), содержащие литиевую соль гепарина в качестве антикоагулянта. 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 при 37°C, в условиях присутствия 5% CO<sub>2</sub> в течение 24 часов. После инкубации разведенную кровь центрифугировали 10 мин. при 1500 об/мин. Супернатанты отбирали с помощью автоматического дозатора и однократно замораживали для хранения и дальнейшего анализа уровня цитокинов. Определение концентрации ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФНγ, ФНОα в супернатантах клеточных культур проводилось методом ИФА с использованием диагностических наборов фирмы Вектор-Бест (Россия).

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 и обсуждение

В ходе исследования у пациентов с ЮИА не было выявлено взаимосвязи между концентрацией ЦК в супернатантах культур цельной крови, с одной стороны, и возрастом пациентов, возрастом начала заболевания, длительностью болезни, активностью воспалительного процесса, анатомической стадией и функциональным классом — с другой.

Оценка уровня спонтанной и стимулированной продукции провоспалительных цитокинов у детей с различными вариантами ЮИА показала отсутствие различий по концентрации ЦК между группами (таблица 1). Это послужило основанием для объединения всех больных с ювенильным идиопатическим артритом в одну группу.

В объединенной группе больных с ЮИА выявлено увеличение спонтанной продукции ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНОα и ИФНγ культурами клеток крови по сравнению со здоровыми детьми, (таблица 2). В одной из немногочисленных работ, опубликованных по данной тематике, авторы также отметили повышенную концентрацию ИЛ-8 при инкубировании клеток крови детей с ЮИА без стимулятора [17]. В исследованиях К. Muller с соавт. не обнаружено различий между пациентами с этим заболеванием и здоровыми детьми по спонтанному уровню продукции ИЛ-1β и ФНОα [15], группой других исследователей не выявлено различий по спонтанной концентрации ИФНγ [17].

В нашем исследовании спонтанный уровень ИЛ-6 в супернатантах культур клеток крови у детей с ЮИА не отличался от контрольного (таблица 2). Отсутствие разницы по концентрации ИЛ-6 между больными с ювенильным артритом и здоровыми детьми соотносится с данными К. Muller с соавт., которые также не обнаружили различий по спонтанному уровню продукции ИЛ-6 между пациентами с ЮИА и контрольной группой [15]. Однако, в исследовании Р. Pignatti с соавт. выявлено увеличение спонтанной продукции ИЛ-6 мононуклеарами периферической крови у детей с системным ЮИА по сравнению с контролем [24]. Многие авторы считают, что этот цитокин играет ключевую роль в патогенезе ювенильного артрита, особенно его системного варианта [3, 4, 6, 9, 10]. Предполагается, что такие внесуставные проявления, как сыпь, лихорадка, тромбоцитоз, а также синтез острофазовых белков при системном варианте ЮИА связаны с гиперпродукцией, в том числе, ИЛ-6 [3]. Существуют многочисленные публикации, свидетельствующие о повышении уровня ИЛ-6 в сыворотке крови при ЮИА [6, 7, 11]. М. Yilmaz с соавт. выявили корреляцию между уровнем ИЛ-6 с активностью ЮИА и снижением концентрации ИЛ-6 у пациентов в период ремиссии, данной группой авторов ИЛ-6 рассматривается как наиболее адекватный маркер активности заболевания [6]. Однако не во всех случаях

наблюдается взаимосвязь концентрации этого ЦК и клинической картины заболевания. Повышение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови у больных при полиартикулярном варианте ЮИА, как в активной стадии за-

болевания, так и в стадии ремиссии было выявлено в работе E. Pietrewicz с соавт., однако при олигоартрите авторами было отмечено снижение концентрации этого цитокина [10].

Таблица 1  
Концентрация цитокинов (пг/мл) в супернатантах клеточных культур у детей с различными вариантами ЮИА

Table 1

The concentration of cytokines (pg/ml) in supernatants of peripheral blood cells in children with different subtypes JIA

Цитокин	N	сЮИА/sJIA*	n	оЮИА/oJIA*	n	пЮИА/pJIA*	n	ЮАаЭ/JArE*
ИЛ-1β спонт / IL-1β spont	9	4,5 (2,5-12,0)	39	9,0 (0-17,0)	19	9,0 (0,4-31,0)	13	11,0 (0-37,0)
ИЛ-1β+ФГА / IL-1β+PHA	9	202,0 (139,0-345,0)	39	334,0 (166,0-479,0)	19	373,0 (185,0-461,0)	13	301,0 (138,0-610,0)
ИЛ-6 спонт / IL-6 spont	9	38,0 (16,0-70,0)	39	38,0 (20,0-264,0)	19	57 (0-152,0)	13	72 (14,0-208,0)
ИЛ-6+ФГА / IL-6+PHA	9	7840,0 (6910,0-8650,0)	39	8145,0 (5560,0-9800,0)	19	7140,0 (5700,0-9220,0)	13	8020,0 (5720,0-11660,0)
ИЛ-8 спонт / IL-8 spont	9	216,0 (33,0-554,0)	49	244,0 (109,0-445,0)	20	260,0 (41,0-919,0)	17	424,0 (120,0-768,0)
ИЛ-8+ФГА / IL-8+PHA	9	1048,0 (1000,0-1198,0)	49	1013,0 (885,0-1161,0)	20	1128,0 (1014,0-1274,0)	17	1126,0 (1012,0-1220,0)
ФНОα спонт / TNFα spont	9	4,0 (2,0-5,0)	40	3,0 (1,0-5,0)	19	2,0 (1,0-3,0)	13	3,0 (1,0-6,0)
ФНОα+ФГА / TNFα+PHA	9	266,0 (187,0-327,0)	40	326,0 (197,0-478,0)	19	258,0 (167,0-366,0)	13	373,0 (306,0-521,0)
ИФНγ спонт / IFNγ spont	9	1,0 (0,0-4,0)	53	1,0 (0,0-56,0)	21	0,0 (0,0-9,0)	17	3,0 (0,0-76,0)
ИФНγ+ФГА / IFNγ+PHA	9	768,0 (591,0-825,0)	53	629,0 (16,0-2193,0)	21	597,0 (276,0-952,0)	17	921,0 (310,0-1546,0)

\* — медиана (25–75%) / median (25–75%).

Таблица 2  
Концентрация цитокинов (пг/мл) в супернатантах клеточных культур у детей с ЮИА и в контрольной группе

Table 2

The concentration of cytokines (pg/ml) in the supernatants of peripheral blood cells in children with JIA and in control group

Цитокин / Cytokine	n	ЮИА / JIA		n	Контроль / Control	
		Спонтанная продукция1 / spontaneous production	ФГА-стимулированная продукция1 / PHA-stimulated production		Спонтанная продукция1 / spontaneous production	ФГА-стимулированная продукция1 / PHA-stimulated production
ИЛ-1β / IL-1β	77	8,0* (1,0-23)	333,0** (166,0-463,0)	31	2,0 (0,0-8,0)	555,0 (263,0-670,0)
ИЛ-6 / IL-6	77	42,0 (20,0-190,0)	7660,0*** (5720,0-9800,0)	31	40,0 (20,0-150,0)	5005,0 (4165,0-5550,0)
ИЛ-8 / IL-8	93	244,0** (90,0-662,0)	1054,0** (938,0-1194,0)	31	84,0 (35,0-170,0)	1206,0 (986,0-1400,0)
ФНОα / TNFα	78	3,0*** (1,0-5,0)	306,0** (199,0-460,0)	31	0,4 (0,0-2,0)	250,0 (186,0-290,0)
ИФНγ / IFNγ	100	1,0* (0,0-47,0)	669,0*** (219,0-1310,0)	31	0,0 (0,0-4,0)	1432,0 (949,0-1778,0)

Примечания: различия с контролем / notice: differences with control \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ ; 1 — данные представлены в виде медианы (25%–75%) / data are presented as: median (25–75%).

Обращает на себя внимание, что у больных с различными вариантами ЮИА и у детей из контрольной группы (таблица 1, таблица 2) спонтанная продукция ИЛ-8 характеризовалась более высокими уровнями значений, чем для других исследованных цитокинов. Это согласуется с результатами работы Злакомановой О.Н., в которой показано, что спонтанная и стимулированная продукция ИЛ-8 как в группе здоровых детей, так и у больных с травматической болезнью значительно превосходила уровень ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФНγ [25]. Вероятно, это связано с тем, что ИЛ-8 синтезируют многие типы клеток крови: моноциты, лимфоциты и нейтрофилы [5]. Суммарная продукция ИЛ-8 перечисленными популяциями клеток может обуславливать присутствие высоких уровней этого цитокина в супернатантах клеточных культур. Значение ИЛ-8 в патогенезе ЮИА до конца не определено.

В обзорной статье Федорова Е.С. с соавт. представлен анализ работ по определению уровня ИЛ-8 у пациентов с ЮИА, авторы пришли к заключению, что ИЛ-8 является основным фактором, определяющим привлечение нейтрофилов в воспалительный очаг и, следовательно, степень выраженности местного воспаления, в данном случае, в синовиальной оболочке [11].

При оценке ФГА-стимулированной продукции провоспалительных ЦК культурами клеток крови обследованных нами больных с ЮИА, выявлено увеличение концентрации ФНОα и ИЛ-6 и снижение концентрации ИЛ-1β, ИЛ-8 и ИФНγ по сравнению со здоровыми детьми (таблица 2). Данные немногочисленных публикаций, посвященных исследованию стимулированной продукции ЦК при ЮИА, довольно разноречивы. Так, при использовании в качестве стимуляторов форбол-миристилацетата, фитогемагглютина и

липополисахарида *Escherichia Coli* не было выявлено различий между пациентами с ЮИА и контрольной группой по концентрации ФНО $\alpha$  [15, 22]. В другой опубликованной работе сообщается, что стимулированная фитогемагглютинином либо липополисахаридом *Escherichia Coli* продукция ИЛ-1 $\beta$  клетками крови пациентов с ЮИА также не отличалась от контрольной [15]. Однако V. Pascual и соавт. выявили увеличение концентрации ИЛ-1 $\beta$  в супернатантах культур цельной крови у больных с ЮИА, после стимуляции клеток форбол-миристилацетатом и иономицином, повышенные уровни ИЛ-1 $\beta$  коррелировали с клинической активностью заболевания [22]. Как уже говорилось выше, мы также зафиксировали снижение индуцированной продукции ИЛ-1 $\beta$  при ЮИА, хоть и использовали другой стимулятор.

Увеличение стимулированной выработки ИЛ-6 у обследованных нами пациентов с ЮИА соотносится с данными P. Pignatti с соавт., которые выявили повышенную концентрацию ИЛ-6 в супернатантах клеточных культур после инкубации клеток крови с липополисахаридом у больных с ЮИА по сравнению с контролем [24]. Однако, имеются публикации, авторы которых не обнаружили различий по стимулированной продукции клетками крови ИЛ-6 у пациентов с ЮИА по сравнению со здоровыми детьми [15, 22]. S. Raziuddin и соавт. сообщают о снижении секреции ИФН $\gamma$  при стимуляции форбол-миристилацетатом клеток периферической крови у детей с ЮИА [23], что аналогично результатам нашей работы. Диссонанс между материалами разных литературных источников, а также полученными нами данными, свидетельствует о необходимости продолжения исследований спонтанного и стимулированного синтеза ЦК клетками крови при ЮИА.

Необходима унификация методов, используемых при исследовании спонтанной и стимулированной продукции ЦК *in vitro*, поскольку их синтез клетками крови зависит от условий и длительности инкубации, а также от используемого стимулятора и его концентрации. Так, R. Katial с соавт. в своей работе при исследовании продукции клетками крови ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10 использовали в качестве стимуляторов фитогемагглютинин, митоген лаконоса, конканавалин А и *Staphylococcus aureus* [26]. Авторами было показано, что клетки крови здоровых доноров интенсивнее всего продуцировали ИФН $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-10 в присутствии митогена лаконоса, тогда как для продукции ФНО $\alpha$  самым мощным стимулятором был *Staphylococcus aureus* [26]. Повещенко О.В. с соавт. получили несколько иные результаты. При культивировании мононуклеаров периферической крови с Т-клеточным митогеном конканавалином А ими было отмечено значительное увеличение продукции ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10, тог-

да как в присутствии липополисахарида *Escherichia Coli* клетки интенсивнее синтезировали ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-13 [27]. В другом исследовании выявлено существенное увеличение секреции ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО $\alpha$  культурами нейтрофилов и моноцитов здоровых доноров при воздействии липополисахарида бактерий рода *Shigella* [21]. При этом степень повышения секреции перечисленных цитокинов зависела как от вида клеток-мишеней, так и от действующей концентрации липополисахарида.

Как показано выше, клетки периферической крови обследованных нами здоровых детей обладали более высоким потенциалом синтеза ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ИФН $\gamma$  при стимуляции клеток митогеном по сравнению с больными детьми. Снижение продукции ИФН $\gamma$  может иметь негативные последствия для развития заболевания, т.к. существуют свидетельства способности этого ЦК подавлять гуморальные и клеточные механизмы деструкции суставов при ревматоидном артрите у взрослых [14]. Предпринимались даже попытки применения рекомбинантного ИФН $\gamma$  в терапевтических целях у пациентов с ревматоидным артритом, хотя клинические исследования не дали значимых результатов [28]. Не ясно, является ли снижение стимулированного синтеза ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 при ЮИА позитивным или негативным фактом для развития заболевания. Однако в целом, очевидно, что снижение выработки ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ИФН $\gamma$  при стимуляции митогеном у пациентов с ЮИА может указывать на истощение функциональных резервов клеток в условиях длительного воспалительного процесса. Нами ранее выявлено, что увеличение количества Т-лимфоцитов, экспрессировавших ранние активационные маркеры CD25, CD38 и CD69, в ответ на стимуляцию ФГА у больных с ЮИА было существенно слабее, чем у здоровых детей [29]. То есть, снижение резервных возможностей иммунокомпетентных клеток может проявляться в «дефиците активации» в ответ на внешний стимул, касается это синтеза цитокинов, или экспрессии активационных молекул.

Повышенные уровни ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  в супернатантах спонтанных и/или стимулированных клеточных культур у обследованных нами больных с ЮИА свидетельствуют о значимости этих цитокинов в патогенезе данного заболевания. ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  являются одними из основных медиаторов развития как местной воспалительной реакции, так и острофазового системного ответа [5]. Эти цитокины - основные мишени патогенетической иммунологической терапии при ревматоидном артрите у взрослых пациентов [16]. Есть примеры эффективного применения рекомбинантных антагонистов рецепторов к ИЛ-1 и моноклональных антител к ФНО $\alpha$  у больных с ЮИА [3, 4]. Одним из весомых аргументов в пользу значимой роли ИЛ-6 в развитии системного вари-

анта ЮИА послужили результаты успешного применения моноклональных антител к ИЛ-6 в качестве лекарственного средства у детей с этой формой ЮИА [3]. Однако не всегда использование антицитокиновой терапии приводит к желаемому результату [2, 3], что является основанием для продолжения исследований цитокинового профиля у пациентов с ЮИА.

### Заключение

Таким образом, выявление высокой спонтанной продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  при ЮИА свидетельствует о наличии у пациентов предшествующей активации иммунокомпетентных клеток. Более интенсивный по сравнению с контролем спонтанный и/или стимулированный синтез клетками крови ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  у больных ЮИА отражает патогенетическую значимость данных цитокинов при этом заболевании. Снижение концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, и ИФН $\gamma$  в супернатантах клеточных культур при стимуляции ФГА у пациентов с ЮИА по сравнению со здоровыми детьми указывает на истощение функци-

ональных возможностей иммунокомпетентных клеток. Причиной этого феномена, вероятно, является длительная активация клеток в условиях хронического воспалительного процесса. В наших предварительных исследованиях мы не обнаружили различий по концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ИФН $\gamma$  в сыворотке крови между больными с ЮИА и контрольной группой. То есть, исследование спонтанной и стимулированной продукции цитокинов клетками крови позволяет выявлять особенности физиологии этих белков при ЮИА, которые не проявляются при измерении их концентраций в сыворотке крови. Используемый в нашей работе подход может оказаться перспективным при персонализированном подборе антицитокиновой терапии для пациентов с ювенильным идиопатическим артритом и другими хроническими воспалительными заболеваниями суставов.

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Е.И., Бзарова Т.М. Ювенильный ревматоидный артрит. В кн.: А.А. Баранова Педиатрия. Национальное руководство. Краткое издание. Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2014: 768 с.
2. Huang J.L. New Advances in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Chang Gung Med J.* 2012; 35: 1-14.
3. Алексеева Е.И. Ювенильный идиопатический артрит: клиническая картина, диагностика, лечение. *Вопросы современной педиатрии.* 2015; 14 (1): 78-94.
4. Correll C.K., Binstadt B.A. Advances in the pathogenesis and treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Research.* 2014; 75: 176-183. DOI: 10.1038/pr2013.187.
5. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. Санкт-Петербург: Фолиант. 2008: 552 с.
6. Yılmaz M., Kendirli, S.G., Altintas D., Bing G., Antmen B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology.* 2001; 20 (1): 30-35.
7. Szymańska-Kałuża J., Cebula-Obrzut B., Smolewski P., Stanczyk J., Smolewska E. Imbalance of Th17 and T-regulatory cells in peripheral blood and synovial fluid in treatment naive children with juvenile idiopathic arthritis. *Central European Journal of Immunology.* 2014; 39 (1): 71-76. DOI: 10.5114/ceji.2014.42128.
8. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике. *Цитокины и воспаление.* 2003; 2 (3): 20-35.

### REFERENCES

1. Alekseeva Ye.I., Bzarova T.M. Juvenile idiopathic arthritis. In the book: *Pediatrics. National guidance. Short edition* [V kn.: A.A. Baranova *Pediatriciya. Nacional'noe rukovodstvo. Kratkoe izdanie.*]. Moskva: GEOTAR-Media. 2014: 768 p. (In Russ.).
2. Huang J.L. New Advances in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Chang Gung Med J.* 2012. Vol. 35, pp. 1-14.
3. Alekseeva Ye.I. Juvenile idiopathic arthritis: Clinical picture, Diagnosis, Treatment. *Current Pediatrics = Voprosy sovremennoj pediatrii.* 2015, no. 14 (1), pp. 78-94. (In Russ.).
4. Correll C.K., Binstadt B.A. Advances in the pathogenesis and treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Research.* 2014. Vol. 75, pp. 176-183. DOI: 10.1038/pr2013.187.
5. Ketlinsky S.A., Simbircev A.S. Cytokines. *Sankt-Peterburg: Foliant.* 2008. 552 p. (In Russ.).
6. Yılmaz M., Kendirli, S.G., Altintas D., Bing G., Antmen B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology.* 2001. Vol. 20 (1), pp. 30-35.
7. Szymańska-Kałuża J., Cebula-Obrzut B., Smolewski P., Stanczyk J., Smolewska E. Imbalance of Th17 and T-regulatory cells in peripheral blood and synovial fluid in treatment naive children with juvenile idiopathic arthritis. *Central European Journal of Immunology.* 2014. Vol. 39 (1), pp. 71-76. DOI: 10.5114/ceji.2014.42128.
8. Dem'yanov A.V., Kotov A.YU., Simbircev A.S. Diagnostic value of cytokine studies in clinical practice.



9. Gorska A., Kowal-Bielecka O., Urban M., Pietrewicz E. Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels in the serum and synovial fluid in relation to bone mineral density and turnover in children with juvenile idiopathic arthritis. *Clinical immunology Centr. Eur. J. Immunol.* 2008; 33 (4): 216-219.
10. Pietrewicz E., Urban M., Górska A. Cytokine levels in serum of patients with juvenile idiopathic arthritis depending on subtype and disease activity. *Pol. Merkur. Lekarski.* 2004; 17 (99): 232-234.
11. Федоров Е.С., Салугина С.О., Кузьмина Н.Н. Роль цитокиновой сети в регуляции воспаления при различных вариантах ювенильного артрита. *Научно-практическая ревматология.* 2009; 3: 74-89.
12. De Benedetti F., Pignatti P., Bernasconi S., Gerloni V., Matsushima K., Caporali R., et al. Interleukin 8 and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with juvenile rheumatoid arthritis. Relation to onset types, disease activity, and synovial fluid leukocytes. *J. Rheumatol.* 1999; 26 (2): 425-431.
13. Sebbag M., Parry S.L., Brennan F.M., Feldmann M. Cytokine stimulation of T lymphocytes regulates their capacity to induce monocyte production of tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-10: possible relevance to pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* 1997; 27 (3): 624-632. DOI: 10.1002/eji.1830270308.
14. Moller B., Paulukat J., Nold M., Behrens M., Kukoc-Zivojnov N., Kaltwasser J. P. et al. Interferon- $\gamma$  induces expression of interleukin-18 binding protein in fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology.* 2003; 42 (3): 442-445. DOI: 10.1093/rheumatology/keg146.
15. 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; 37 (5): 562-569.
16. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А., Насонов Е.Л. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология.* 2010; 2: 71-82.
17. Aggarwal A., Mishra R. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells patients with juvenile idiopathic arthritis. *Indian Pediatrics.* 2002; 39: 739-742.
18. Heney D., Whicher T.J. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications for their clinical measurement. *Ann. Clin. Biochem.* 1995; 32: 358-368.
19. 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: 33-37.
20. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Журавлева Ю.А., Соломатина Л.В., Зубова Т.Э. и др. Варианты развития хронического системного воспаления. *Медицинская иммунология.* 2009; 4 (2-3): 131-140.
- Cytokines and inflammation = Citokiny i vospalenie. 2003, no. 2 (3), pp. 20-35. (In Russ.).
9. Gorska A., Kowal-Bielecka O., Urban M., Pietrewicz E. Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels in the serum and synovial fluid in relation to bone mineral density and turnover in children with juvenile idiopathic arthritis. *Clinical immunology Centr. Eur. J. Immunol.* 2008. Vol. 33 (4), pp. 216-219.
10. Pietrewicz E., Urban M., Górska A. Cytokine levels in serum of patients with juvenile idiopathic arthritis depending on subtype and disease activity. *Pol. Merkur. Lekarski.* 2004. Vol. 17 (99), pp. 232-234.
11. Fedorov E.S., Salugina S.O., Kuz'mina N.N. The role of cytokine network in the regulation of inflammation in different subtype of juvenile arthritis. *Rheumatology Science and Practice = Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2009, no. 3, pp. 74-89. (In Russ.).
12. De Benedetti F., Pignatti P., Bernasconi S., Gerloni V., Matsushima K., Caporali R., et al. Interleukin 8 and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with juvenile rheumatoid arthritis. Relation to onset types, disease activity, and synovial fluid leukocytes. *J. Rheumatol.* 1999. Vol. 26 (2), pp. 425-431.
13. Sebbag M., Parry S.L., Brennan F.M., Feldmann M. Cytokine stimulation of T lymphocytes regulates their capacity to induce monocyte production of tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-10: possible relevance to pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* 1997. Vol. 27 (3), pp. 624-632. DOI: 10.1002/eji.1830270308.
14. Moller B., Paulukat J., Nold M., Behrens M., Kukoc-Zivojnov N., Kaltwasser J. P. et al. Interferon- $\gamma$  induces expression of interleukin-18 binding protein in fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology.* 2003. Vol. 42 (3), pp. 442-445. DOI: 10.1093/rheumatology/keg146.
15. 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 (5), pp. 562-569.
16. Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Diatroptova M.A., Nasonov E.L. The role of cytokines in pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology Science and Practice = Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2010, no. 2, pp. 71-82. (In Russ.).
17. Aggarwal A., Mishra R. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells patients with juvenile idiopathic arthritis. *Indian Pediatrics.* 2002. Vol. 3, pp. 739-742.
18. Heney D., Whicher T.J. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications for their clinical measurement. *Ann. Clin. Biochem.* 1995. Vol. 32, pp. 358-368.
19. Konenkov V.I., Rakova I.G., Avdoshina V.V., Gel'fgat E.L. Complex evaluation of spontaneous

21. Гайдаш Е.И., Гайдаш И.С., Дычко Е.А., Кохан С.Т. Показатели секреторной активности нейтрофилов и моноцитов крови человека под влиянием липополисахаридов бактерий рода *Shigella* in vitro. *Здоровье для всех*. 2013; 2: 3-6.
22. Pascual V., Allantaz F., Arce E., Purano M. Role of interleukin-1(IL-1) in the pathogenesis in systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J. Exp. Med.* 2005; 201: 1479-1486. DOI: 10.1084/jem.20050473.
23. 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; 86: 192-198.
24. 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; 28 (7): 1670-1676.
25. Злакоманова О.Н. Состояние системы цитокинов у детей с травматической болезнью. *Травматология и ортопедия России*. 2008; 2 (48): 65-71.
26. Katial R.K., Sachanandani D., Lieberman M.M. Cytokine Production in cell culture by peripheral blood mononuclear cells from immunocompetent hosts. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998; 5 (1): 78-81.
27. Повещенко О.В., Ким И.И., Шевченко А.В., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Бондаренко Н.А. и др. Оценка уровня цитокинов, продуцируемых мононуклеарами периферической крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью после мобилизации стволовых клеток костного мозга Г-КСФ. *Бюллетень СО РАМН*. 2014; 34 (4): 42-47.
28. Cannon G.W., Pincus S.H., Emkey R.D., Denes A., Cohen S.A., Wolfe F. et al Double-blind trial of recombinant  $\gamma$ -interferon versus placebo in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1989; 32 (8): 964-973.
29. Пашнина И. А. Спонтанная и стимулированная фитогемагглютинином экспрессия CD25, CD38 и CD69 Т-лимфоцитами при заболеваниях различной этиологии у детей. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11 (20) (3): 465-467.
- cytokines production in the culture of peripheral blood mononuclear cells of healthy person. *Cytokines and inflammation = Citokiny i vospalenie*. 2005, no. 2, pp. 33-37. (In Russ.).
20. Gusev E.Yu., Chereshev V.A., Zhuravleva Yu.A., Solomatina L.V., Zubova T.Eh. The variants of chronic systemic inflammation development. *Medical immunology = Meditsinskaya immunologiya*. 2009, no. 4 (2-3), pp. 131-140. (In Russ.).
21. Gajdash E.I., Gajdash I.S., Dychko E.A., Kohan S.T. Pokazateli sekretornoj aktivnosti nejtrofilov i monocitov krovi cheloveka pod vliyaniem lipopolisaharidov bakterij roda *Shigella* in vitro. *Zdorov'e dlya vseh*. 2013, no. 2, pp. 3-6. (In Russ.).
22. Pascual V., Allantaz F., Arce E., Purano M., Role of interleukin-1(IL-1) in the pathogenesis in systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J. Exp. Med.* 2005. Vol. 201, pp. 1479-1486. DOI: 10.1084/jem.20050473.
23. 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. Vol. 86, pp. 192-198.
24. 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 (7), pp. 1670-1676.
25. Zlakomanova O.N. System of cytokine in children with traumatic. *Traumatology and Orthopaedics of Russia = Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2008, no. 2 (48), pp. 65-71. (In Russ.).
26. Katial R.K., Sachanandani D., Lieberman M.M. Cytokine Production in cell culture by peripheral blood mononuclear cells from immunocompetent hosts. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998. Vol. 5 (1), pp. 78-81.
27. Poveshchenko O.V., Kim I.I., Shevchenko A.V., Pokushalov Ye.A., Romanov A.B., Bondarenko N.A. i dr. Evaluation of level of cytokines produced by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic heart failure after mobilization of bone marrow stem cells with G-CSF. *The Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Russian Academy of Medical = Byulleten' SO RAMN*. 2014, no. 34 (4), pp. 42-47. (In Russ.).
28. Cannon G.W., Pincus S.H., Emkey R.D., Denes A., Cohen S.A., Wolfe F. et al Double-blind trial of recombinant  $\gamma$ -interferon versus placebo in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1989. Vol. 32 (8), pp. 964-973.
29. Pashnina I. A. Spontaneous and phytohemagglutinin-stimulated expression of activation markers CD25, CD38, CD69 on T-lymphocytes in children with different pathology. *Russian journal of immunology = Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2017, no. 11 (20) (3), pp. 465-467. (In Russ.).

## Авторы

Криволапова Ирина Михайловна  
Областная детская клиническая больница №1,  
клинико-диагностическая лаборатория  
Биолог  
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. С.  
Дерябиной, 32  
krivolapovaim@mis66.ru

Пашнина Ирина Александровна

Областная детская клиническая больница №1,  
клинико-диагностическая лаборатория  
Доктор биологических наук, заведующая  
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. С.  
Дерябиной, 32  
irina\_pashnina@list.ru

Черешнев Валерий Александрович

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН  
Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,  
главный научный сотрудник  
Российская Федерация, 620049, г. Екатеринбург, ул.  
Первомайская, 106  
iip@iip.uran.ru

## Authors

Irina M. Krivolapova  
Regional Children's Clinical Hospital №1, Clinical  
Diagnostic Laboratory  
Biologist  
S. Deryabina str., 32, Yekaterinburg, Russian Federation,  
620149  
krivolapovaim@mis66.ru

Irina A. Pashnina

Regional Children's Clinical Hospital №1, Clinical and  
diagnostic laboratory  
Dr. Sci. (Bio.), Head of the laboratory  
S. Deryabina str., 32, Yekaterinburg, Russian Federation,  
620149  
irina\_pashnina@list.ru

Valeriy A. Chereshnev

Institute of Immunology and Physiology, Urals Branch  
of the Russian Academy of Sciences Academician of the  
Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor  
Pervomayskaya str., 106, Yekaterinburg, Russian  
Federation, 620049  
iip@iip.uran.ru