

Impact Factor:

| | | |
|--------------------------|------------------------|----------------------|
| ISRA (India) = 3.117 | SIS (USA) = 0.912 | ICV (Poland) = 6.630 |
| ISI (Dubai, UAE) = 0.829 | PIHII (Russia) = 0.156 | PIF (India) = 1.940 |
| GIF (Australia) = 0.564 | ESJI (KZ) = 5.015 | IBI (India) = 4.260 |
| JIF = 1.500 | SJIF (Morocco) = 5.667 | |

SOI: [1.1/TAS](#) DOI: [10.15863/TAS](#)

International Scientific Journal Theoretical & Applied Science

p-ISSN: 2308-4944 (print) e-ISSN: 2409-0085 (online)

Year: 2018 Issue: 11 Volume: 67

Published: 30.11.2018 <http://T-Science.org>

QR – Issue



QR – Article



Asmaya Saftar Huseynova

PhD student, Department of Biochemistry
Azerbaijan Medical University

Akif Haji Hajiyev

PhD, Associate Professor of Department of Biochemistry
Azerbaijan Medical University,

Arif Mustafa Efendiyev

Doctor of biological sciences,
Head of the Department of Biochemistry
Azerbaijan Medical University

Ilhama Alay Kerimova

PhD, Assistant of the Department of Biochemistry,
Azerbaijan Medical University
ilhama.kerimova@bk.ru

SECTION 11. Biology. Ecology. Veterinary.

PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN RHEUMATOID ARTHRITIS: RELATIONSHIP WITH VITAMIN D DEFICIENCY

Abstract: The article presents the results of the study the relationship between the level of inflammatory cytokines (TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8) and vitamin D in patients with rheumatoid arthritis (RA). 74 patients with RA at the age from 27 to 71 years were examined. The control group consisted of 16 healthy individuals. The results of our research have shown high levels of proinflammatory cytokines in both seropositive and seronegative RF groups of patients with RA compared to control. High production of cytokines in both groups was combined with a low level of vitamin D. The significant negative correlation of vitamin D was detected with the level of the main proinflammatory cytokines, TNF- α and IL-6. Vitamin D deficiency may be one of the factors complicating the progress of rheumatoid arthritis, which confirms the use of this vitamin in the complex therapy of this disease.

Key words: rheumatoid arthritis, cytokines, interleukins, tumor necrosis factor, vitamin D.

Language: Russian

Citation: Huseynova, A. S., Hajiyev, A. H., Efendiyev, A. M., & Kerimova, I. A. (2018). Proinflammatory cytokines in Rheumatoid arthritis: relationship with vitamin D deficiency. *ISJ Theoretical & Applied Science*, 11 (67), 348-352.

Soi: <http://s-o-i.org/1.1/TAS-11-67-62> **Doi:**  <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2018.11.67.62>

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ: ВЗАИМОСВЯЗЬ С ДЕФИЦИТОМ ВИТАМИНА D

Аннотация: В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения взаимосвязи между уровнем некоторых про воспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8) и содержанием витамина D у больных ревматоидным артритом (РА). В соответствии с поставленными задачами было обследовано 74 больных РА в возрасте от 27 до 71 лет. Контрольную группу составили 16 практически здоровых лиц. Результаты наших исследований показали высокие уровни провоспалительных цитокинов как в серопозитивной, так и в серонегативной по РФ группам больных РА по сравнению с контролем. Высокая продукция цитокинов в обеих группах сочеталась с низким содержанием витамина D. Выявлена достоверная отрицательная корреляция витамина D с уровнем основных провоспалительных цитокинов – ФНО- α и ИЛ-6. Полученные результаты демонстрируют, что дефицит витамина D может

Impact Factor:

| | | |
|--------------------------|------------------------|----------------------|
| ISRA (India) = 3.117 | SIS (USA) = 0.912 | ICV (Poland) = 6.630 |
| ISI (Dubai, UAE) = 0.829 | РИИЦ (Russia) = 0.156 | PIF (India) = 1.940 |
| GIF (Australia) = 0.564 | ESJI (KZ) = 5.015 | IBI (India) = 4.260 |
| JIF = 1.500 | SJIF (Morocco) = 5.667 | |

являться одним из факторов, осложняющих течение РА, и обосновывают необходимость применения препаратов этого витамина в комплексной терапии заболевания.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, цитокины, интерлейкины, фактор некроза опухоли, витамин D.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) – системное аутоиммунное ревматическое заболевание, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки суставов и широким спектром внесуставных (системных) проявлений. Распространенность РА составляет 0,6-1,4% населения, при этом женщины страдают в 2,5 раза чаще, чем мужчины. Заболевание характеризуется упорным прогрессирующим течением, которое в отсутствие адекватного лечения приводит к нарушению функций опорно-двигательного аппарата и к инвалидизации больного. Так, в первые 3 года болезни трудоспособность теряют примерно 35% больных, а через 5 лет – более половины [4,7].

Выживаемость неадекватно леченных пациентов с РА сопоставима с таковой при сахарном диабете, инсульте, ИБС с трехсосудистым поражением коронарных артерий. Повышение смертности вызвано сопутствующими заболеваниями (поражение сердечно-сосудистой системы, почек, инфекционные осложнения, остеопоротические переломы и др.), которые развиваются вследствие иммунологических нарушений [7].

Как известно, в основе патогенеза РА лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы на различные стимулы. Основное значение в развитии заболевания имеет дефект В-клеточной толерантности, сопровождающийся продукцией аутоантител, и антигенспецифическая активация CD4⁺ Т-лимфоцитов по Th1-типу с преобладанием синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ15, ИЛ-17, ИЛ-18, ФНО- α , ИФН- γ) над противовоспалительными (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, ТФР- β) [1,5,12].

Причины “неправильной” активации иммунной системы на сегодняшний день точно не установлены, однако доказано значение некоторых факторов риска, влияющих на развитие РА. В последние годы значительное внимание уделяется определению роли витамина D в патогенезе РА. Ранее считалось, что основной функцией активной формы этого витамина (1,25(OH)₂D) является его влияние на кальций-фосфорный обмен, однако последние исследования доказали его плеiotропное действие на многие физиологические процессы в организме [6].

Обнаружено, что 1 α -гидроксилирование 25(OH)D происходит не только в почках, но и во многих других тканях. Внепочечно продуцированный 1,25(OH)₂D действует как аутокринный агент с клеточно-специфическими функциями, такими как ингибирование клеточной пролиферации, стимуляция клеточной дифференциации и регуляции иммунитета. Внепочечная 1 α -гидроксилазная активность зависит от сывороточного уровня 25(OH)D и определяется локальными факторами (цитокинами и факторами роста) [6,11].

Целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи между содержанием витамина D и уровнем некоторых провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных РА.

Материалы и методы.

В соответствии с поставленными задачами было обследовано 74 пациента РА (59 женщин, 15 мужчин) в возрасте от 27 до 71 лет, которые проходили обследование в Терапевтической Клинике и Лаборатории Клинической Биохимии Азербайджанского Медицинского Университета. Контрольную группу составили 16 практически здоровых лиц (13 женщин, 3 мужчин).

В сыворотке крови всех обследованных определяли уровень ревматоидного фактора (РФ) турбидиметрическим методом посредством коммерческого набора фирмы “Linear” (Испания).

Иммуноферментным методом анализа устанавливали сывороточную концентрацию интерлейкинов ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8 и фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α) с помощью набора фитмы “Vektor-Best” (Российская Федерация). Уровень витамина D оценивали по содержанию 25(OH)D посредством набора реактивов фирмы “Bioactiva Diagnostica” (Германия). Отметим, что 25(OH)D обладает длительным периодом полураспада, поэтому является наилучшим серологическим маркером для оценки статуса витамина D в организме.

Полученные данные подвергались статистической обработке и были представлены в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения (M \pm SD). Для оценки связи между уровнем цитокинов и витамина D проводили корреляционный анализ с использованием рангового корреляционного теста Спирмена. При этом значения p<0,05 считались статистически значимыми.

Impact Factor:

| | | |
|--------------------------|------------------------|----------------------|
| ISRA (India) = 3.117 | SIS (USA) = 0.912 | ICV (Poland) = 6.630 |
| ISI (Dubai, UAE) = 0.829 | РИИЦ (Russia) = 0.156 | PIF (India) = 1.940 |
| GIF (Australia) = 0.564 | ESJI (KZ) = 5.015 | IBI (India) = 4.260 |
| JIF = 1.500 | SJIF (Morocco) = 5.667 | |

Результаты и обсуждение.

В ходе исследований в зависимости от содержания РФ пациенты были подразделены на 2 группы: с серопозитивным и серонегативным РА. Положительные титры РФ были обнаружены в сыворотке крови 53 больных (71,6%) и средняя концентрация этого показателя у них составила

55,2±1,08 Ед/мл. У 21 пациента (28,4%) диагностировался серонегативный вариант РА, средняя концентрация РФ в этой группе составила 9,36±0,28 ЕД/мл.

Результаты исследования цитокинового профиля в контрольной группе и у больных РА представлены в таблице.

Таблица 1. Уровни провоспалительных цитокинов у больных РА.

| Группы | Контроль n=16 | Серонегативный РА n=21 | Серопозитивный РА n=53 |
|--------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| ФНО-α, пг/мл | 0,75±0,28 (0,10-4,84) | 1,62±0,32* (0,63-7,20) | 1,89±0,20** (0,72-9,40) |
| ИЛ-2, пг/мл | 0,58±0,35 (0-5,80) | 1,46±0,25* (0,84-6,10) | 1,97±0,18** (0,93-7,65) |
| ИЛ-6, пг/мл | 2,73±0,19 (1,60-4,50) | 3,6±0,27* (1,25-6,18) | 4,83±0,34***.# (2,00-12,20) |
| ИЛ-8, пг/мл | 2,48±0,15 (1,30-3,64) | 3,88±0,24*** (2,62-7,24) | 4,15±0,30*** (1,80-10,60) |

Примечание: * -p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 – по сравнению с контролем; # - p<0.01 – по сравнению со значениями серонегативных по РФ больных РФ.

Как видно из таблицы, в обеих группах больных РА отмечается статистически достоверное повышение уровня ФНО-α по сравнению с контролем: в 2,16 раз (p<0,05) в серонегативной и в 2,5 раз (p<0,01) в серопозитивной по РФ группе. При этом достоверных различий между группами больных РА в уровне этого показателя не обнаружено.

Исследование провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-8 у больных с серонегативным вариантом РА выявило достоверное повышение их концентрации в сравнении с показателями здоровых лиц в 2,5 раз (p<0,05), на 32% (p<0,05) и на 57% (p<0,001) соответственно. Уровень этих цитокинов в серопозитивной группе более значимо превышал контрольные значения: ИЛ-2 в 3,4 раз (p<0,01), ИЛ-6 на 77% (p<0,001) и ИЛ-8 на 68% (p<0,001). Сравнительная оценка не выявила достоверных различий между группами больных РА в уровне ИЛ-2 и ИЛ-8, в то время, как концентрация ИЛ-6 при серопозитивном варианте РА на 34% (p<0,01) превышала значения этого показателя в серонегативной группе.

Как известно, дисбаланс цитокиновой системы является важным фактором иммунопатогенеза РА. Среди основных провоспалительных цитокинов, отвечающих за прогрессирование тканевого повреждения и развитие системных проявлений, выделяют ФНО-α. При РА ФНО-α продуцируется макрофагами синовиальной жидкости, и его биологическая активность опосредуется связыванием со специфическими рецепторами, экспрессированными на нейтрофилах,

эндотелиоцитах, фибробластах, кератиноцитах и т.д. ФНО-α запускает механизм активации факторов транскрипции, которые, в свою очередь, индуцируют апоптоз и регулируют активность генов, кодирующих синтез провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и других медиаторов воспаления [8,12].

ИЛ-2 секретируется в основном Т(СD4+)-хелперами и является одним из важных цитокинов, участвующих в процессе развития иммунного ответа. Связывание этого цитокина со специфическими рецепторами вызывает пролиферацию В-лимфоцитов, активирует цитотоксические Т-лимфоциты, стимулирует естественные киллеры и генерацию лимфокин-активированных киллеров. Установлено, что ИЛ-2 стимулирует синтез и секрецию таких цитокинов, как ИЛ-4, ИЛ-6, ИФН-γ, ФНО-α [2,12].

ИЛ-6 является одним из основных провоспалительных цитокинов и индуктором системного воспаления. Он продуцируется лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами, В-клетками, фибробластами, тучными клетками, синовиальными фибробластами и макрофагами. Этот цитокин способен активировать продукцию острофазовых белков, антител В-клетками, хемокинов эндотелиальными клетками, экспрессию молекул адгезии, вызывать пролиферацию синовиальных фибробластов и активировать остеокласты [12,13].

ИЛ-8 является хемокином, ответственным за хемотаксис нейтрофилов в зону воспаления. Он синтезируется макрофагами, лимфоцитами, фибробластами, клетками эпителия и

Impact Factor:

| | | |
|--------------------------|------------------------|----------------------|
| ISRA (India) = 3.117 | SIS (USA) = 0.912 | ICV (Poland) = 6.630 |
| ISI (Dubai, UAE) = 0.829 | ПИИЦ (Russia) = 0.156 | PIF (India) = 1.940 |
| GIF (Australia) = 0.564 | ESJI (KZ) = 5.015 | IBI (India) = 4.260 |
| JIF = 1.500 | SJIF (Morocco) = 5.667 | |

эпидермиса. ИЛ-8 обладает выраженными провоспалительными свойствами, вызывая экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам. При РА концентрация ИЛ-8 возрастает за счет его гиперпродукции нейтрофилами [1,5].

В ходе наших исследований статус витамина D определялся по классификации Международного Института Медицины и Комитета Эндокринологов, согласно которой уровень этого витамина ниже 20 нг/мл расценивается как его дефицит, уровень в пределах от 20 до 30 нг/мл – как его недостаточность, а уровень в диапазоне 30-50 нг/мл – как нормативные значения.

Исследование витамина D в сыворотке крови лиц контрольной группы выявило колебание его уровня в пределах от 30,3 до 48,7 нг/мл, что в среднем составило 37,5±1,67 нг/мл.

Значения этого показателя у больных РА оказались достоверно ниже значений здоровых лиц, что согласуется с данными исследований Kostoglou-Athanassiou с соавторами [8] и Hong с соавторами [6]. Так, среднее содержание витамина D в группе больных с серонегативным РА составило 23,8±1,27 нг/мл, что на 57% ($p<0,001$) ниже контроля. В данной группе из 21 больного недостаточность витамина обнаружена у 12-ти, а дефицит – у 4 человек.

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

Нами был проведен корреляционный анализ между уровнем цитокинов и витамина D в крови больных РА. Как показали его результаты, у больных РА существует достоверная отрицательная корреляционная связь между содержанием витамина и уровнем основных провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО- α . При этом коэффициенты корреляции составили соответственно $r=-0,596$ ($p<0,01$) и $r=-0,694$ ($p<0,01$) при серонегативном РА, $r=-0,524$ ($p<0,01$) и $r=-0,644$ ($p<0,01$) при серопозитивном РА.

Влияние витамина D на состояние иммунной системы было установлено в многочисленных исследованиях. Выявлено, что витамин D, взаимодействуя с цитоплазматическими рецепторами иммунных клеток, действует как иммуномодулятор. Рецепторы к витамину D (VDR) обнаружены в

местах дифференцировки клеток иммунной системы – тимусе и костном мозге, а также в мононуклеарах, дендритных, антигеннесущих и активированных В-клетках, в CD4+ Т-лимфоцитах и нейтрофилах. Активация VDR в клетках иммунной защиты ведет к транскрипции генов и инициирует антипролиферативные и иммунорегулирующие процессы [6,11].

У больных РА VDR были найдены на макрофагах, хондроцитах и синовиоцитах в синовиальном пространстве и областях хрящевых эрозий только в пораженных участках, а в здоровой синовиальной оболочке экспрессия генов отсутствует. Местнопроизводимый витамин D может действовать как паракринный фактор, снижая активность Т-клеток за счет ингибирования клеточной пролиферации и снижении продукции медиаторов клеточного воспаления. Предполагается, что активная форма витамина подавляет процессы разрушения хряща через ИЛ-1 β -опосредованную продукцию металлопротеиназ матрикса. Данные литературы свидетельствуют о том, что витамин D необходим для оптимального противовоспалительного ответа моноцитов и подавления экспрессии провоспалительных цитокинов, включая ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ и т.д. Витамин D отвечает также за поддержание низкого уровня активных форм кислорода в организме. В ряде работ выявлена отрицательная корреляция витамина D с активностью РА. Учитывая все вышеуказанное можно предположить, что низкий уровень этого витамина в организме может стать индуктором воспаления и предиктором разрушения хрящевой ткани при РА [3,9,13].

Эксперименты показали, что дополнительное введение в диету животных витамина D предупреждает прогрессирование артрита до тяжелых форм. В большом проспективном когортном исследовании, длившемся 11 лет, авторами было показано, что большее потребление витамина D (>468 МЕ/сут по сравнению с 221 МЕ/сут) обратно коррелировало с риском развития РА [10,13].

Заключение

Таким образом, наши исследования показали высокие уровни провоспалительных цитокинов как в серопозитивной, так и в серонегативной по РФ группах больных РА по сравнению с контролем. Высокая продукция цитокинов в обеих группах сочеталась с низким содержанием витамина D. Выявлена достоверная отрицательная корреляция витамина D с уровнем основных провоспалительных цитокинов – ФНО- α и ИЛ-6. Полученные результаты демонстрируют, что дефицит витамина D может являться одним из факторов, осложняющих

Impact Factor:

| | | |
|--------------------------|------------------------|----------------------|
| ISRA (India) = 3.117 | SIS (USA) = 0.912 | ICV (Poland) = 6.630 |
| ISI (Dubai, UAE) = 0.829 | ПИИЦ (Russia) = 0.156 | PIF (India) = 1.940 |
| GIF (Australia) = 0.564 | ESJI (KZ) = 5.015 | IBI (India) = 4.260 |
| JIF = 1.500 | SJIF (Morocco) = 5.667 | |

течение РА, и обосновывают необходимость применения препаратов этого витамина в комплексной терапии заболевания.

References:

1. Zonova, E. V., Golovanova, O. V., Leonova, J. B., Letjagina, E. A., Korolev, M. A., & Konenkov, V. I. (2008). Zavisimost' jeffektivnosti terapii ot urovnja syvorotochnyh citokinov u bol'nyh revmatoidnym artritom. *Bulleten' SO RAMN, № 5(133)*, 72-77.
2. Ketlinskij, S. A., & Simbircev, A. S. (2008). *Citokiny*. (p.552). S-Pb.: Izd. «Foliant».
3. Markelova, E. V., Zdor, V. V., Romanchuk, A. L., & Birko, O. N. (2017). matriksnye metalloproteinazy i ih vzaimosvjaz' s sistemoj citokinov, diagnosticheskij i prognosticheskij potencial. *Immunologija, allergologija, infektologija, № 2*, 11-22.
4. Nikulina, S. J., Chernova, A. A., Bol'shakova, T. J., Fok, J. V., & Orlova, N. M. (2014). Geny predraspolozhennosti k revmatoidnomu artritu. *Sibirskoe medicinskoe obrazovanie, № 3*, 11-18.
5. Novikov, A. A., Aleksandrova, E. N., Diatroptova, M. A., & Nasonov, E. L. (2010). Rol' citokinov v patogeneze revmatoidnogo artrita. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija, № 2*, 71-82.
6. Toropcova, N. V., & Anikin, S. G. (2011). Vitamin D i revmatoidnyj artrit: chto my znaem segodnja? *Nauchno-prakticheskaja revmatologija, № 3*, 46-51.
7. Shkol'nik, V. V. (2008). Revmatoidnyj artrit: diagnosticheskie kriterii, principy terapii. *Liki Ukraini, №4 (120)*, 146-150.
8. Cabal-Hierro, L., & Lazo, P. S. (2012). Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal, v. 24(6)*, 1297-1305.
9. Hong, Q., Xu, J., Lian, L., Zhang, M., & Ding, C. (2014). Associations between serum 25-hydroxyvitamin D and disease activity, inflammatory cytokines and bone loss in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford), v. 53*, 1994-2001.
10. Kerr, G., et al. (2011). Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *J. Rheumatol., v. 38*, 53-59.
11. Kostoglou-Athenassiou, I., Athenassiou, P., Lyraki, A., Raftakis, I., & Antoniadis, C. (2012). Vitamin D and rheumatoid arthritis. *Ther Adv Endocrinol Metab., v.3*, 181-187.
12. Mateen, S., Zafar, A., Moin, S., Khan, A.Q., & Zubair, S. (2016). Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinica Chimica Acta, v.455*, 161-171.
13. Polasik, K., Piotrowska, E., Lipinska, B., Witkowski, J. M., Bryl, E., & Tukaj, S. (2011). Vitamin D status in patients with rheumatoid arthritis: a correlation analysis with disease activity and progression, as well as serum IL-6 levels. *Acta Biochimica Polonica, v.64*, 1-4.