

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ  
ЭКСПРЕССИИ PD-1 И TIM-3 НА МОНОЦИТАХ ПРИ АКСИАЛЬНОМ  
СПОНДИЛОАРТРИТЕ** **ОСОБЕННОСТИ**

Шевела Е. Я. <sup>1</sup>,

Сахно Л. В. <sup>1</sup>,

Тихонова М. А. <sup>1</sup>,

Тыринова Т. В. <sup>1</sup>,

Моренкова А. Ю. <sup>1</sup>,

Чумасова О. А. <sup>1</sup>,

Ильина Н. А. <sup>1</sup>,

Шкаруба Н. С. <sup>1</sup>,

Курочкина Ю. Д. <sup>2</sup>,

Федорова А. В. <sup>2</sup>,

Омельченко В. О. <sup>2</sup>,

Летягина Е. А. <sup>2</sup>,

Королев М. А. <sup>2</sup>,

Сизиков А. Э. <sup>1</sup>,

Черных Е. Р. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), Новосибирск, Россия.

<sup>2</sup> «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация.

**CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL FEATURES OF PD-1 AND TIM-3  
EXPRESSION ON MONOCYTES IN AXIAL SPONDYLOARTHRITIS**

Shevela E. Ya. <sup>a</sup>,

Sakhno L. V. <sup>a</sup>,

Tikhonova M. A. <sup>a</sup>,

Tyrinova T. V. <sup>a</sup>,

Morenkova A. Yu. <sup>a</sup>,

Chumasova O. A. <sup>a</sup>,

Ilina N. A. <sup>a</sup>,

Shkaruba N. S. <sup>a</sup>,

Kurochkina Yu. D. <sup>b</sup>,

Fedorova A. V. <sup>b</sup>,

Omelchenko V. O. <sup>b</sup>,

Letyagina E. A. <sup>b</sup>,

Korolev M. A. <sup>b</sup>,

Sizikov A. E. <sup>a</sup>,

Chernykh E. R. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI).

<sup>b</sup> Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

## Резюме

Регулирование воспаления при воспалительных/аутоиммунных ревматических заболеваниях, в частности, аксиальном спондилоартрите, критически важно для купирования симптомов заболевания. Недавними исследованиями продемонстрирована важная роль ингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3 в регуляции функционального фенотипа моноцитов при воспалительных/аутоиммунных заболеваниях. Целью данной работы явилось исследование экспрессии ингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3 в субпопуляциях моноцитов пациентов с аксиальным спондилоартритом (аксСпА) и оценка их связи с клиническими параметрами заболевания и толерогенным маркером тирозинкиназой Mer (MerTK). Экспрессию PD-1 и Tim-3 в классических, промежуточных и неклассических моноцитах оценивали методом многоцветной проточной цитофлуориметрии в мононуклеарных клетках периферической крови 60 пациентов с аксиальным спондилоартритом и 40 условно здоровых доноров. Анализ субпопуляционного состава циркулирующих моноцитов выявил повышенное содержание классических моноцитов, что положительно коррелировало с параметрами системного воспаления СОЭ и СРБ. Как и у доноров, у больных аксСпА наиболее высокая экспрессия PD-1 и Tim-3 регистрировалась в промежуточных и неклассических моноцитах. В то же время относительное содержание PD-1<sup>+</sup> и PD-1<sup>+</sup>Tim-3<sup>+</sup> клеток в популяциях pMo и nMo больных аксСпА было значимо снижено, в то время как уровень экспрессии Tim-3 у больных не отличался от показателей доноров. Примечательно, что содержание PD-1<sup>+</sup>клеток прямо коррелировало с экспрессией MerTK (молекулой, опосредующей противовоспалительную активность моноцитов/макрофагов) во всех субпопуляциях моноцитов. Статистически значимое снижение экспрессии PD-1 и коэкспрессии PD-1 и Tim-3 выявлялось у пациентов-носителей HLA-B27 антигена, у пациентов с развернутой и поздней стадиями заболевания, периферической формой аксСпА, в том числе с поражением тазобедренных суставов. Напротив, при отсутствии носительства HLA-B27 и у пациентов на ранней/нерентгенологической стадии экспрессия PD-1 была сопоставима с донорскими показателями, в то время как содержание Tim-3<sup>+</sup> было повышено в популяции классических моноцитов. Следует отметить, что у больных, получавших первую линию терапии, снижение экспрессии PD-1 и коэкспрессии PD-1 и Tim-3 прямо коррелировало с активностью заболевания. Полученные данные о снижении экспрессии PD-1 и коэкспрессии PD-1 и Tim-3 в субпопуляциях промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с наличием генетической предрасположенности, продвинутыми стадиями заболевания и вовлечением периферических суставов, а также данные о сопряженности количества PD-1<sup>+</sup> клеток во всех субпопуляциях моноцитов с экспрессией MerTK указывают на нарушение регуляции экспрессии ингибиторных чекпойнт рецепторов в условиях воспаления и могут

свидетельствовать о сниженном противовоспалительном потенциале моноцитов.

**Ключевые слова:** аксиальный спондилоартрит, субпопуляции моноцитов, иммунные чекпойнт рецепторы, PD-1, Tim-3, MerTK.

### **Abstract**

Regulation of inflammation in inflammatory/autoimmune rheumatic diseases, particularly axial spondyloarthritis, is critically important for alleviating disease symptoms. Recent studies have demonstrated the key role of inhibitory receptors PD-1 and Tim-3 in regulating the functional phenotype of monocytes in inflammatory/autoimmune diseases. The aim of this study was to investigate the expression of inhibitory receptors PD-1 and Tim-3 in monocyte subsets in patients with axial spondyloarthritis (axSpA) and to assess their association with clinical parameters and the tolerogenic marker Mer tyrosine kinase (MerTK). The expression of PD-1 and Tim-3 in classical, intermediate, and non-classical monocytes was evaluated using multicolor flow cytometry in peripheral blood mononuclear cells of 60 patients with axial spondyloarthritis and 40 healthy donors. Analysis of circulating monocyte subpopulations revealed an increased proportion of classical monocytes, which positively correlated with systemic inflammation markers ESR and CRP. As in donors, the highest expression of PD-1 and Tim-3 in axSpA patients was observed in intermediate and non-classical monocytes. However, the relative proportions of PD-1+ and PD-1+Tim-3+ cells in intermediate and non-classical monocytes were significantly decreased in axSpA patients, while Tim-3 expression levels did not differ from donor values. Notably, the proportion of PD-1+ cells directly correlated with MerTK expression (a molecule mediating the anti-inflammatory activity of monocytes/macrophages) in all monocyte subsets. A statistically significant decrease in PD-1 expression and co-expression of PD-1 and Tim-3 was detected in HLA-B27 antigen carriers, patients with advanced and late-stage disease, and those with peripheral axSpA, including hip joint involvement. In contrast, in HLA-B27-negative patients and those with early/non-radiographic stage disease, PD-1 expression was comparable to donor levels, while Tim-3+ cell content was increased in the classical monocytes. It should be noted that in patients receiving first-line therapy, decreased PD-1 expression and PD-1+Tim-3+ co-expression directly correlated with disease activity. The obtained data on reduced PD-1 expression and PD-1+Tim-3+ co-expression in intermediate and non-classical monocytes in patients with genetic predisposition, advanced disease stages, and peripheral joint involvement, as well as the association between PD-1+ cell number and MerTK expression in all monocyte subsets, indicate dysregulation of inhibitory checkpoint receptor expression under inflammatory conditions. These findings could suggest diminished anti-inflammatory capacity of monocytes.

**Keywords:** axial spondyloarthritis, monocyte subsets, immune checkpoint receptors, PD-1, Tim-3, MerTK .

## 1 Введение

Циркулирующие моноциты представляют собой гетерогенную популяцию клеток врожденного иммунного ответа с разнообразным функциональным репертуаром – от способности уничтожать различные патогены (эффektorная функция), до способности регулировать клетки врожденной и адаптивной иммунной системы (регуляторная функция). Клетки миелоидного ряда также активно участвуют в развитии аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний. Так, изменения фенотипа, активации и функции моноцитов и макрофагов продемонстрированы в экспериментальных моделях и у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [1, 2], что подчеркивает важность моноцитов/макрофагов в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний. И хотя регуляторная функция моноцитов/макрофагов в развитии аутоиммунных заболеваний до конца не изучена, предполагается, что ключевую роль играет аномальная активация этих клеток [1]. В частности, McGarry T. с соавт. показали, что CD14<sup>+</sup> моноциты при ревматоидном артрите характеризуются гипervоспалительным фенотипом с высокой цитокин-продуцирующей и миграционной активностью, что в целом способствует поддержанию воспаления при этом заболевании [3].

Аберрантный иммунологический ответ с измененным поведением клеток врожденного и адаптивного иммунитета лежит в основе сложного патогенеза другого аутоиммунного/воспалительного заболевания – аксиального спондилоартрита (аксСпА) [4]. Это заболевание в основном затрагивает позвоночник и крестцово-подвздошные суставы и характеризуется длительным воспалением, воспалительной деструкцией и новообразованием костной ткани позвонков [5]. Известно, что экологические и генетические факторы, включая носительство HLA-B27 антигена, способствуют повышению риска заболевания [6, 7]. Считается, что центральную роль в развитии воспаления и патогенезе аксСпА играет фактор некроза опухоли (TNF)- $\alpha$  и ось IL-23/IL17 [8]. Показано, что клетки врожденного иммунитета, в частности, макрофаги, участвуют в патогенезе аксСпА, продуцируя большое количество провоспалительных цитокинов, и являясь одними из наиболее инфильтрирующих ткани суставов клеток [9]. Также показано, что неправильное сворачивание HLA-B27 вызывает стресс эндоплазматического ретикулума, приводя к увеличению продукции IL-23 макрофагами и иммунной дисрегуляции [10]. Наряду с этим, имеются единичные сообщения, демонстрирующие повышенную транскрипцию и экспрессию белков генов, ассоциированных с воспалением, в моноцитах крови пациентов с аксСпА, что свидетельствует об аберрантной активации или нарушенной реактивности моноцитов при этом заболевании [11-13]. Патогенетическая роль моноцитов при спондилоартритах обусловлена еще и тем фактом, что они являются предшественниками двух ключевых типов клеток – макрофагов и остеокластов [14].

44 Подобно макрофагам, моноциты могут нести признаки M1 и M2  
45 поляризации, обладая как про-, так и противовоспалительной активностью.  
46 Провоспалительную активность связывают с повышенной продукцией  
47 свободных метаболитов кислорода и провоспалительных цитокинов,  
48 противовоспалительную - с продукцией противовоспалительных цитокинов,  
49 экспрессией аргиназы, экзоферментов, метаболизирующих АТФ, IDO, а также  
50 MerTK, супрессорную активность которой связывают с участием в  
51 эффероцитозе, запуске синтеза резолвинов и подавлении транскрипционного  
52 фактора NFκB [15, 16].

53 Среди различных молекул, регулирующих функции миелоидных клеток,  
54 большое внимание в последние годы привлекают ингибиторные «чекпойнт»  
55 рецепторы и их лиганды. Внедрение в клиническую практику технологий  
56 активации противоопухолевого иммунного ответа путем блокирования  
57 «чекпойнт» молекул показало, что противоопухолевый эффект, а также  
58 развитие сопутствующих аутоиммунных осложнений обусловлены  
59 активацией миелоидных клеток, которые, как выяснилось, также  
60 экспрессируют «чекпойнт» молекулы [17]. Позднее изменения в экспрессии  
61 «чекпойнт» молекул, в частности, ингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3  
62 (наиболее хорошо исследованных на Т-клетках), были выявлены не только при  
63 различных видах злокачественных новообразований, но и при аутоиммунной  
64 патологии [18]. Так, в модели коллаген-индуцированного артрита отсутствие  
65 или ингибирование PD-1/PD-L1 было связано с повышенной частотой и  
66 тяжестью артрита [19, 20].

67 Регулирование воспаления при аутоиммунных заболеваниях с  
68 выраженным воспалительным компонентом, представителем которых  
69 является аксСпА, очень важно для купирования симптомов заболевания.  
70 Однако исследований, посвященных изучению иммуносупрессорных  
71 механизмов, особенно касающихся иммуносупрессорного /  
72 противовоспалительного потенциала клеток моноцитарно-макрофагального  
73 ряда, и причин их неадекватного функционирования при аксСпА, крайне  
74 недостаточно.

75 Соответственно, изучение экспрессии ингибиторных рецепторов в  
76 субпопуляциях Мо при различных клинико-лабораторных вариантах аксСпА  
77 в иммуномодуляции может иметь большое значение для раскрытия новых  
78 аспектов патогенеза аксСпА, выявления новых мишеней для таргетной  
79 терапии и разработки новых прогностических

80 **Целью** настоящего исследования явилась изучение особенностей  
81 экспрессии Tim-3 и PD-1 субпопуляциями моноцитов у пациентов с аксСпА и  
82 анализ клинической/прогностической значимости указанных молекул.

## 83 2 Материалы и методы

84 В исследование были включены 60 больных аксиальным  
85 спондилоартритом (аксСПА) в возрасте от 22 до 61 года, включая 20 женщин  
86 и 40 мужчин. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 1.  
87 Включенные пациенты соответствовали Нью-Йоркским критериям,  
88 модифицированным в 1984 г. Из них 35 пациентов (58%) получали генно-  
89 инженерные биологические препараты (ГИБП, ингибиторы TNF- $\alpha$  или  
90 ингибиторы IL-17), 25 пациентов (42%) находились на терапии первой линии  
91 (нестероидные противовоспалительные препараты, НПВС  $\pm$  базисные  
92 противовоспалительные препараты, БПВП). В исследование также были  
93 рекрутированы 40 здоровых доноров в возрасте от 21 до 58 лет (Me 36 лет, IQR  
94 27-40). Забор крови у доноров и пациентов, а также все иммунологические  
95 исследования проводили после получения письменного информированного  
96 согласия.

97 Мононуклеарные клетки, выделенные в градиенте плотности фиколла-  
98 верографина ( $p=1,077$ ), инкубировали с анти-CD14 (PacificBlue, BD  
99 Biosciences, США), анти-CD16 (FITC, BDBiosciences, США) и анти-HLA-DR  
100 (APC-Cy7, BDBiosciences, США) моноклональными антителами согласно  
101 стандартной методике для определения поверхностных антигенов. В  
102 подготовленных пробах оценивали относительное содержание классических  
103 (кМо, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>), промежуточных (пМо, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>) и  
104 неклассических (нМо, CD14<sup>low</sup>CD16<sup>++</sup>) моноцитов, а также моноцитарных М-  
105 МС (CD14+HLA-DR<sup>low</sup>/-). Для анализа экспрессии Tim-3 и PD-1  
106 использовали анти-Tim-3 (APC, BioLegend, США) и анти-PD-1 (Pe, BD  
107 Biosciences, США) моноклональные антитела.

108 **Статистическую обработку** данных проводили с помощью программ  
109 Statistica 6.0 и GraphPadPrism 8.0 software. Данные представлены в виде  
110 медианы (Me) и значений интерквартильного диапазона (IQR; LQ – UQ). Для  
111 выявления значимых различий в независимых выборках использовали  
112 непараметрический U-критерий Манна-Уитни, для парных выборок –  
113 непараметрический W-критерий. Корреляционный анализ проводили с  
114 помощью ранговой корреляции Спирмена ( $R_s$ ). Различия считали  
115 статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ . Критерии  
116 достоверности \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

### 117 3 Результаты

118 Анализ субпопуляционного состава циркулирующих моноцитов  
119 показал, что в сравнении с донорами у пациентов с аксиальным  
120 спондилоартритом (аксСПА) относительное содержание кМо (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>)  
121 было повышено (94,9% vs 92% [88-95] у доноров,  $p=0,004$ ), в то время как доля  
122 нМо (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>++</sup>) снижена (1,3 vs 2 [1-3,6],  $p=0,012$ ). При этом  
123 относительное количество кМо положительно коррелировало с СОЭ ( $R_s=0,32$ ;  
124  $p=0,02$ ;  $n=58$ ) и СРБ ( $R_s=0,38$ ;  $p=0,006$ ;  $n=58$ ), что свидетельствовало о  
125 провоспалительной активности кМо.

126 Как и у доноров, у больных аксСпА наиболее высокая экспрессия (%)  
127 PD-1, а также количество клеток, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3 (PD-  
128 1+Tim-3+), регистрировалась в пМо и нМо (рис. 1). В то же время  
129 относительное содержание PD-1+ и PD-1+Tim-3+ клеток в популяциях пМо и  
130 нМо больных анкСпА было значимо снижено. Что касается Tim-3, наиболее  
131 высокая экспрессия этого ингибиторного рецептора у больных аксСпА также  
132 выявлялась в популяциях пМо и нМо с наибольшими значениями в пМо  
133 (пМо>нМо>кМо,  $p<0,05$ ), однако, в отличие от PD-1, уровень экспрессии Tim-  
134 3 у больных не отличался от показателей доноров ( $p>0,05$ ).

135 Учитывая мультифакториальность аксСпА, представлялось  
136 закономерным проанализировать влияние отдельных клинических факторов  
137 на уровень экспрессии ингибиторных рецепторов в различных субпопуляциях  
138 моноцитов.

139 Большинство пациентов в нашем исследовании (87%) являлись  
140 носителями HLA-B27 антигена, поэтому изменения экспрессии PD-1,  
141 выявленные при анализе всей когорты обследованных (снижение экспрессии  
142 доли PD-1 и PD-1+Tim-3+ клеток в пМо и нМо), ожидаемо воспроизводились  
143 в группе HLA-B27-позитивных пациентов (табл. 2). При этом в оппозитной  
144 группе HLA-B27-негативных пациентов экспрессия PD-1 не была изменена,  
145 но регистрировалось увеличение доли Tim-3+ ( $p<0,05$ ) и PD-1+Tim-3+ клеток  
146 (в виде выраженного тренда) в популяции классических моноцитов.

147 Анализ изменения экспрессии ингибиторных рецепторов на разных  
148 стадиях патологического процесса показал (табл. 2), что ранняя  
149 (нерентенологическая) стадия характеризуется повышенной экспрессией Tim-  
150 3 в кМо при отсутствии изменений экспрессии PD-1. У пациентов с  
151 развернутой стадией ( $n=26$ ) на фоне сохраняющейся повышенной экспрессии  
152 Tim-3 в кМо регистрируется снижение содержания PD-1+ и PD-1+Tim-3+  
153 клеток в популяциях пМо и нМо. При этом по сравнению с ранней стадией  
154 изменения экспрессии PD-1 в нМо являются статистически значимыми, а в  
155 пМо имеют вид выраженной тенденции ( $p=0,06$ ). Дальнейшее  
156 прогрессирование заболевания (поздняя стадия) приводит к снижению  
157 экспрессии Tim-3 до уровня донорских значений, а также к дальнейшему  
158 снижению количества PD-1+ и PD-1+Tim-3+ клеток в популяции пМо ( $p<0,05$   
159 по сравнению не только с донорами, но и с пациентами в развернутой стадии).  
160 Уровень экспрессии PD-1 в нМо остается стабильно сниженным. Наряду с  
161 указанными изменениями, наблюдается тенденция к снижению доли Tim-3+  
162 клеток в популяции пМо (93% vs 98%,  $p=0,08$ ) и PD-1+Tim-3+ клеток в  
163 популяции кМо (11,6% vs 23%,  $p=0,08$  по сравнению с ранней стадией  
164 аксСпА).

165 У большинства обследованных пациентов, наряду с поражением осевого  
166 скелета, в процесс были вовлечены и периферические суставы  
167 (периферическая форма аксСпА, 52/60) (табл. 3). В немногочисленной группе

168 пациентов с аксиальным анкСпА (8/60) регистрировалось снижение  
169 экспрессии PD-1 в пМо и нМо ( $p < 0,05$ ), а также в кМо (на уровне тенденции).  
170 У пациентов с периферическим аксСпА эти изменения дополнялись  
171 снижением содержания PD-1+Tim-3+ клеток в популяциях пМо и нМо.  
172 Пациенты этих групп значимо не различались между собой по экспрессии  
173 ингибиторных рецепторов.

174 Среди внеаксиальных проявлений аксСпА особую группу составляли  
175 пациенты с поражением тазобедренных суставов, поскольку коксит является  
176 фактором неблагоприятного прогноза при аксСпА. Анализ экспрессии PD-1 и  
177 Tim-3 в зависимости от наличия/отсутствия коксита показал, что у пациентов  
178 без коксита экспрессия ингибиторных рецепторов была сопоставима с  
179 донорскими показателями, за исключением повышенного содержания Tim-3+  
180 клеток в популяции классических моноцитов. Напротив, у пациентов,  
181 страдающих кокситом, дополнительно к снижению доли PD-1+ и PD-1+Tim-  
182 3+ клеток в популяциях пМо и нМо регистрировалось снижение содержания  
183 Tim-3+ в нМо (табл. 3). Следует отметить, что количество Tim-3+ клеток в  
184 популяциях пМо и нМо у пациентов с наличием коксита было достоверно  
185 ниже, чем у пациентов оппозитной группы. При этом выявленные изменения  
186 не были связаны с особенностями терапии, поскольку регистрировались у  
187 пациентов, получающих как НПВС/БПВП, так и ГИБП (данные не  
188 представлены).

189 Анализ рекрутированных в исследование пациентов показал, что 43% из  
190 них получали первую линию терапии (НПВС/БПВП), а 57% - генно-  
191 инженерные биологические препараты (ГИБП; ингибиторы TNF- $\alpha$  или  
192 ингибиторы IL-17). Пациенты этих групп были сопоставимы по полу и  
193 возрасту, наличию внеаксиальных (коксит) и внесуставных проявлений  
194 заболевания (увеиты, псориаз, воспалительные заболевания кишечника), а  
195 также стадии аксСпА и HLA-B27 статусу, однако, существенно различались  
196 по ряду клинико-лабораторных параметров. Так, пациенты группы  
197 «НПВС/БПВП» характеризовались, во-первых, значимо более высокой  
198 активностью заболевания: эта группа включала больных преимущественно с  
199 высокой/очень высокой активностью (23/25) с медианным значением индекса  
200 активности ASDAS<sub>CO3</sub> 3,2 (IQR 2,8-4) (против 1,7 (1,3-2,0) в группе ГИБП). Во-  
201 вторых, практически у всех пациентов этой группы (у 24 из 25) в  
202 патологический процесс были вовлечены периферические суставы  
203 (периферическая форма аксСпА), и только у одного пациента была  
204 диагностирована аксиальная форма аксСпА. Иными словами, группу  
205 «НПВС/БПВП» составили HLA-B27-позитивные пациенты с высокой  
206 активностью заболевания, вовлечением периферических суставов,  
207 наличием/отсутствием коксита. Вторая группа, пациенты которой получали  
208 ГИБП, была более гетерогенной как по активности заболевания (27 пациентов  
209 с низкой активностью и 8 – с высокой), так и по форме аксСпА (7 пациентов с  
210 аксиальной формой и 28 – с периферической).

211 Как и в целом по исследуемой когорте, у пациентов в группе  
212 «НПВС/БПВП» снижение относительного содержания PD-1+ и PD-1+Tim-3+  
213 клеток регистрировалось в популяциях пМо и нМо (табл. 3), в то время как у  
214 больных в группе «ГИБП» статистически значимое снижение количества PD-  
215 1+ и PD-1+Tim-3+ клеток выявлялось только в популяции нМо (в пМо – в виде  
216 выраженной тенденции,  $p=0,08$ ). Поскольку снижение доли PD-1+ и PD-  
217 1+Tim-3+ клеток в популяции неклассических моноцитов наблюдается в обеих  
218 группах, можно предположить, что изменение экспрессии PD-1 в этой  
219 популяции моноцитов не зависит от проводимой терапии/активности  
220 заболевания. Напротив, снижение экспрессии PD-1 в промежуточных  
221 моноцитах наиболее выражено у пациентов в группе «НПВС/БПВП», что  
222 указывает на сопряженность выявленных изменений с высокой активностью  
223 заболевания.

224 Анализ корреляционных связей показал, что в группе «НПВС/БПВП»  
225 относительное содержание PD-1 в пМо и нМо прямо коррелировало с  
226 показателями активности заболевания – ASDAS<sub>СРБ</sub> ( $R_s= 0,41$ ,  $p=0,042$  и  $R_s=$   
227  $0,42$ ,  $p=0,037$ , соответственно) и параметрами системного воспаления – СРБ  
228 ( $R_s= 0,47$ ,  $p=0,02$  и  $R_s= 0,41$ ,  $p=0,04$ , соответственно). В группе «ГИБП»  
229 значимых взаимосвязей экспрессии PD-1 и показателями  
230 активности/воспаления выявлено не было.

231 Обращает на себя внимание тот факт, что вне зависимости от  
232 проводимой терапии, относительное количество PD-1+ клеток прямо  
233 коррелировало с экспрессией MerTK (молекулой, опосредующей  
234 противовоспалительную активность моноцитов/макрофагов) в субпопуляциях  
235 классических ( $R_s=0,45$ ;  $p=0,02$ ;  $n=45$ ), промежуточных ( $R_s=0,64$ ;  
236  $p=0,00004$ ;  $n=45$ ) и неклассических ( $R_s=0,59$ ;  $p=0,00002$ ;  $n=44$ ;) моноцитов.

#### 237 4 Обсуждение

238 Согласно современным представлениям, клетки моноцитарно-  
239 макрофагального ряда играют важную роль в координировании  
240 воспалительного процесса при аутоиммунных и аутовоспалительных  
241 заболеваниях, в том числе аксСпА [21, 22]. Как и при других заболеваниях, в  
242 частности, при ревматоидном артрите, у больных аксСпА наблюдается  
243 дисбаланс трех субпопуляций моноцитов [24]. Однако если у больных РА  
244 отмечается увеличение содержания пМо [22], при аксСпА регистрируется  
245 увеличение содержания кМо [25]. Показано, что моноциты пациентов с  
246 аксСпА секретируют большее количество провоспалительных цитокинов, а  
247 протеомный анализ выявил более высокую активацию путей JAK/STAT и TLR  
248 [11, 13], что подтверждается более высоким уровнем экспрессии TLR4 в  
249 моноцитах пациентов с аксСпА по сравнению со здоровыми донорами [26].  
250 Полученные нами данные согласуются с процитированными исследованиями.  
251 Действительно, увеличение доли кМо у больных аксСпА и положительная  
252 корреляция содержания кМо с СОЭ и СРБ может указывать на

253 провоспалительную активность этой популяции, а снижение содержания нМо  
254 может ассоциироваться со снижением супрессорной активности моноцитов  
255 при аксСпА.

256 Регулирование воспаления при аутоиммунных заболеваниях, таких как  
257 аксСпА, критически важно для купирования симптомов заболевания. Однако  
258 исследований, посвященных изучению иммуносупрессорных механизмов,  
259 особенно касающихся иммуносупрессорного / противовоспалительного  
260 потенциала клеток моноцитарно-макрофагального ряда, и причин их  
261 неадекватного функционирования при аксСпА, крайне недостаточно. Так,  
262 несколько исследований посвящено изучению роли аденозинэргического  
263 пути, роль которого особенно важна в регулировании противовоспалительных  
264 эффектов иммунной системы, а нарушение которого вносит заметный вклад в  
265 развитие некоторых аутоиммунных заболеваний, в том числе аксСпА. Однако  
266 оказалось, что наряду со способностью аденозина ингибировать секрецию  
267 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и матриксных металлопротеиназ, аденозинэргический путь  
268 значительно стимулирует Th17 ответ, который является доминирующим  
269 механизмом патогенеза аксСпА [27].

270 В недавнем исследовании по изучению профилей микроРНК было  
271 показано, что различные субпопуляции моноцитов при аксСпА несут  
272 специфичные для заболевания сигнатуры микроРНК, которые могут иметь  
273 значение для диагностики заболевания [28]. В частности, экспрессия miR-  
274 487b, ингибитора воспалительных процессов, повышена в нМо пациентов с  
275 внесуставными проявлениями аксСпА, что может объяснить отрицательную  
276 корреляцию уровней miR-487b и параметров заболевания, связанных с  
277 воспалением. Однако обнаружение и количественная оценка микроРНК  
278 остаются сложной задачей, поскольку не существует общепринятых  
279 методических стандартов и эталонных референсных значений.

280 В этом аспекте наши данные о снижении экспрессии PD-1, а также доли  
281 PD-1+Tim-3+ клеток в субпопуляциях промежуточных и неклассических  
282 моноцитов, наиболее характерное для пациентов-носителей HLA-B27  
283 антигена, пациентов с продвинутыми стадиями заболевания, периферической  
284 формой аксСпА, в том числе с поражением тазобедренных суставов, а также  
285 данные о сопряженности количества PD-1+ клеток во всех субпопуляциях  
286 моноцитов с экспрессией MerTK, являются, несомненно, новыми, указывают  
287 на нарушение регуляции экспрессии ингибиторных чекпойнт рецепторов в  
288 условиях воспаления и могут свидетельствовать о сниженном  
289 противовоспалительном потенциале моноцитов.

290 Особого внимания заслуживают, на наш взгляд, прямые  
291 корреляционные взаимосвязи экспрессии PD-1 в пМо и нМо с ASDAS<sub>СРБИ</sub> СРБ  
292 в группе «НПВС/БПВП», что свидетельствует о сопряженности количества  
293 PD-1-экспрессирующих промежуточных и неклассических моноцитов с  
294 показателями активности заболевания и системного воспаления у пациентов

295 на первой линии терапии и позволяет рассматривать PD-1 в качестве  
296 биомаркера течения патологического процесса и ответа на терапию при  
297 аксСпА.

298 В то же время обнаруженные нами у пациентов группы «ГИБП»  
299 обратные корреляционные связи между экспрессией MerTK в промежуточных  
300 и неклассических моноцитах и СРБ позволяют предположить участие MerTK-  
301 опосредованных иммуносупрессивных механизмов в снижении активности  
302 аксСпА и подавлении воспаления у пациентов, получающих генно-  
303 инженерные биологические препараты.

304 Неясно значение повышенной экспрессии Tim-3 в классических  
305 моноцитах у HLA-B27-негативных пациентов; пациентов на ранней стадии  
306 заболевания (с последующим снижением этого показателя до донорских  
307 значений при прогрессировании заболевания); пациентов без поражения  
308 тазобедренных суставов. Учитывая повышенную IL-10-продуцирующую  
309 активность Tim3<sup>+</sup> моноцитов (например, у пациентов с остеосаркомой),  
310 можно предположить участие этой субпопуляции в подавлении воспаления на  
311 ранних стадиях аксСпА [29]. Позитивная роль Tim-3 продемонстрирована  
312 также в работе Tang L. с соавт. в модели экспериментального  
313 энцефаломиелита. Авторы показали способность Tim-3 ингибировать  
314 экспрессию МНСII с последующим снижением антиген-презентирующей  
315 функции макрофагов и способности стимулировать CD4<sup>+</sup> Т-клетки, что  
316 приводило к увеличению противовоспалительных Treg, снижению  
317 провоспалительных Th1 и Th17 CD4<sup>+</sup> Т-клеток и улучшению клинического  
318 исхода [30]. Нельзя исключить, что повышение экспрессии Tim-3 на  
319 миелоидных клетках при аксСпА является общей закономерностью,  
320 отражающей системное воспаление. В пользу этого предположения  
321 свидетельствуют данные о повышенной экспрессии Tim-3 на еще одном типе  
322 клеток миелоидного ряда – нейтрофилах - у пациентов с аксСпА, и корреляции  
323 уровня экспрессии Tim-3 с СОЭ и СРБ [31]. Возможно, повышенная  
324 экспрессия Tim-3 на миелоидных клетках представляет механизм  
325 отрицательной обратной связи, предотвращающий потенциальное  
326 повреждение тканей, вызванное чрезмерным иммунным ответом.

327 Таким образом, полученные нами данные в совокупности указывают на  
328 нарушение регуляции экспрессии ингибиторных рецепторов в  
329 условиях воспаления и могут свидетельствовать о сниженном  
330 противовоспалительном потенциале моноцитов при аксСпА.

331 **Благодарности:** Авторы выражают признательность всем пациентам,  
332 принявшим участие в данном исследовании.

**ТАБЛИЦЫ**

**Таблица 1.** Характеристика пациентов с аксСпА.  
**Table 1.** Characteristics of the patients with AxSpA.

Параметр Parameter		Значение Value
Количество, n Number, n		60
Пол, n (%) Sex, n (%)	- Мужчины - Male  - Женщины - Female	20 (33 %)  40 (67 %)
Возраст (годы), Me (IQR) Age (years), Me (IQR)		42 (37-47)
Длительность заболевания (годы), Me (IQR) Duration of disease (years), Me (IQR)		13 (10-22)
HLA-B27, n (%)	- Есть - Yes  - Нет - No  - Нет данных - No data	48 (80 %)  7 (12 %)  5 (8%)
Индексы активности, Me (IQR) Activity indices, Me (IQR)	- ASDAS <sub>CO3</sub> - ASDAS <sub>ESR</sub> - ASDAS <sub>CRP</sub> - ASDAS <sub>CRP</sub> - BASDAI - BASFI	2,34 (1,64-3,3)  2,39 (1,55-3,69)  2,8 (1,6-5,3) 3,6 (1,8-5,7)

<p>Активность, n (%) Activity of disease, n (%)</p>	<p>- Высокая/очень высокая (ASDAS<sub>СОЭ</sub> &gt; 2,1) - High/very high (ASDAS<sub>ESR</sub> &gt; 2,1) - Низкая/умеренная (ASDAS<sub>СОЭ</sub> &lt; 2,1) - Low/moderate (ASDAS<sub>ESR</sub> &lt; 2,1)</p>	<p>31 (52%)   29 (48%)</p>
<p>Вовлеченность периферических суставов, n (%) Peripheral joint involvement, (%)</p>	<p>- Есть - Yes - Нет - No - Нет данных - No data</p>	<p>49 (82 %)  8 (13 %)  3 (5%)</p>
<p>Стадия аксSpA, n (%) Stage of axSpA, n (%)</p>	<p>- Ранняя (не-Rg) - Early (non-Rg) - Развернутая - Progressive - Поздняя - Advanced</p>	<p>5 (8,3%)  26 (43,3%)  29 (48,3%)</p>
<p>Терапия, n (%) Therapy, n (%)</p>	<p>- 1-ая линия (НПВС +/- БПВП) - 1-st line (NSAIDs/sDMARDs) - 2-ая линия (ГИБП) - 2-nd line (biologics)</p>	<p>25 (42%)  35 (58%)</p>

*Примечание.* n – количество пациентов, Me – медианные значения показателей, IQR - интерквартильный диапазон (25–75% квантили). НПВС – нестероидные противовоспалительные препараты, БПВП – синтетические базисные противовоспалительные препараты, ГИБП – генно-инженерные

биологические препараты, ASDAS – Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, BASDAI – Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASFI – Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок.

*Note.* n – the number of patients, Me – median, IQR – interquartile range (25-75%). NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs, sDMARDs – synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs, biologics – biological disease-modifying anti-rheumatic drugs/ genetically engineered biological drugs. ASDAS – Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, BASDAI – Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASFI – Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, ESR – erythrocyte sedimentation rate, CRP – C-reactive protein.

**Таблица 2.** Экспрессия PD-1 и Tim-3 моноцитами больных аксСПА в зависимости от HLA-B27 статуса и стадии заболевания.

**Table 2.** Expression of PD-1 and Tim-3 by monocytes of axSpA patients depending on HLA-B27 status and stage of the disease.

Показатель Parameter		Группы Groups		HLA-B27 статус HLA-B27 status		Стадия аксСПА Stage of axSpA		
		Доноры Donors n=19	Б-ные Patients n=60	HLA- B27- n=7	HLA- B27+ n=49	Ранняя Early n=5	Разверну тая Progressive n=26	Поздняя Advance d n=25
PD-1, %	кМо	24	24,5	38,6	24#	32	23,4	25
	сМо	20-36	14-34	26-41	14-33	26-42	16-38	13-30
	пМо	56	34,1*	63	33*#	63	39	25,4*&
	iМо	31-71	18-60	45-70	18-57	49-73	16-60	19-46
	нМо	53	35,9* 20-	49	35*#	53	32,7*#	32,1*&
	пМо	33-62	50	45-59	20-49	49-60	21-47	20-46
Tim-3, %	кМо	79	86	90*	84	96*	89*	79,3#&
	сМо	72-87	73-92	83-93	73-92	90-97	79-92	64-88
	пМо	96	95	97	92	98	96	93

	iMo	91-98	88-98	88-99	90-97	96-98	88-98	74-97
	nMo	89	87	77	90	76	89	87
	nMo	84-96	75-95	74-99	79-95	70-90	77-95	54-94
PD-1+Tim-3+, %	кMo	17	18,2 7,4- 25	24,7	13,7	23	20,2	11,6
	сMo	10-25		21-27	7-23	23-32	9-25	6-23
	пMo	52	27,5* 12- 47	49	26*#	54	34,8*#	18,4*&
	iMo	27-62		41-51	12-45	45-61	14-48	9-32
	нMo	36	22,3* 15- 34	33	23*	46	22,4*#	20,3*&
	nMo	23-48		25-37	15-33	41-57	15-32	10-30

Примечание. \* - достоверность различий между пациентами и донорами, # - между HLA-B27+ и HLA-B27- пациентами, а также между пациентами с ранней и развернутой/поздней стадиями, & - между пациентами с развернутой и поздней стадиями аксСпА (Mann-Whitney U тест).

Note. \* - significance of differences between patients and donors, # - between HLA-B27+ and HLA-B27- patients, as well as between patients with early and progressive/advanced stages, & - between patients with progressive and advanced stages of axSpA (Mann-Whitney U test).

**Таблица 3.** Экспрессия PD-1 и Tim-3 моноцитами больных аксСпА в зависимости от клинических проявлений заболевания и типа терапии.

**Table 3.** Expression of PD-1 and Tim-3 by monocytes of axSpA patients depending on the clinical manifestation and the type of therapy.

Показатель Parameter		Клинические проявления аксСпА Clinical manifestation of axSpA		Периферический аксСпА Peripheral involvement		Терапия Therapy	
		Аксиальный Axial involvement n=8	Периферический Peripheral involvement n=52	Коксит– Coxitis– n=28	Коксит+ Coxitis+ n=24	НПВС/БПВП NSAIDs/sDMARDs n=25	ГИБП Biologics n=35
PD-1, %	кМо	19 17-26	26 14-39	26 16-38	25 11-37	26,3 13-38,9	23,4 14-32
	пМо	21 * 17-47	36 * 18-61	40 24-64	34 * 19-60	34 * 19-56	42 19-61
	нМо	31 *	38 *	44	36 *	33,7 *	39 *

	nM o	13-44	21-50	24-53	20-50	25-48	16-49
Tim-3, %	κM o cM o	81 75-94	86 73-93	89* 80-93	79 65-90	82 69-91	89 74-94
	πM o iMo	94 89-96	96 88-98	97 93-98	91 # 81-97	95 88-98	95 87-98
	нM o nM o	89 86-95	86 74-95	90 76-96	82*# 68-90	89 72-96	88 74-95
PD-1+Tim-3+, %	κM o cM o	18,4 11-27	18,1 7-25	21 9-25	12 8-27	19,9 7-27	18,6 9-24
	πM o iMo	40,4 14-44	23,6 * 12-50	35 13-50	19 * 12-39	20,2 * 13-48	37,6 16-46

	нМ	28,9	22,2 *	28	22 *		
	о	12-40	15-34	15-37	10-28	25,3 *	23,5 *
	нМ					15-39	12-33
	о						

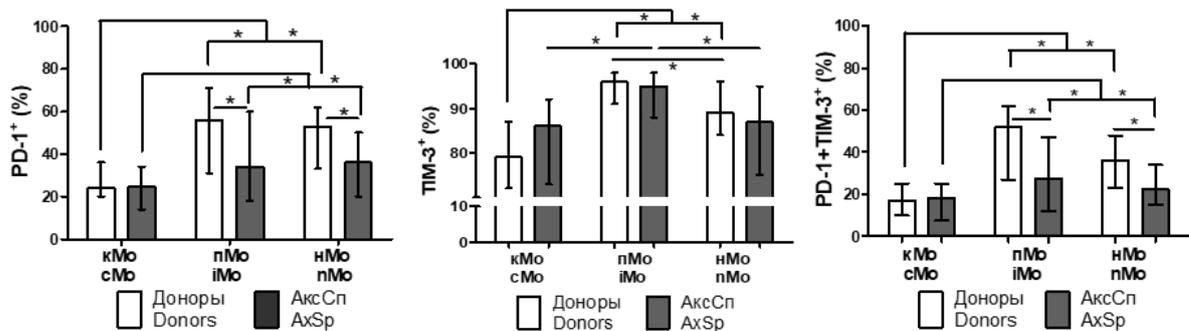
Примечание. \* - достоверность различий с донорами, # - с пациентами оппозитной группы (Mann-Whitney U тест).\

Note. \* - significance of differences with donors, # - with patients of the opposite group (Mann-Whitney U test).

РИСУНКИ

**Рисунок 1.** Экспрессия PD-1 и Tim-3 в субпопуляциях моноцитов у здоровых доноров и больных аксСпА. Данные представлены в виде Me (IQR).  $p_U$  - достоверность различий по сравнению с донорами по критерию U Манна-Уитни для несвязанных выборок. \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий показателей с кМо; # -  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с пМо (критерий Вилкоксона).

**Figure 1.** Expression of PD-1 and Tim-3 in monocyte subsets in healthy donors and patients with axSpA. The data are presented as Me (IQR).  $p_U$  - significance of differences compared to donors according to the Mann-Whitney U test for unrelated samples. \* -  $p < 0.05$  - significance of differences compared to kMo; # -  $p < 0.05$  - significance of differences compared to pMo (Wilcoxon test).



**ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ**

**Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку**

**Шевела Екатерина Яковлевна**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), Новосибирск, Россия; адрес: 630091 Россия, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14; факс: +7(383)222-70-28; телефон: +7(383) 236-03-29; e-mail: shevelak@mail.ru

**Shevela E.Ya.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (RIFCI), Novosibirsk, Russian Federation; address: 630091 Russian Federation, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14; fax: +7(383)222-70-28; telephone: +7(383)236-03-29; e-mail: shevelak@mail.ru

**Блок 2. Информация об авторах**

**Сахно Л.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник;

**Sakhno Lyudmila Vasilievna**, PhD in Biology, senior researcher, laboratory of cellular immunotherapy, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Тихонова М.А.**, к.б.н., старший научный сотрудник;

**Tikhonova Marina Aleksandrovna**, PhD in Biology, senior researcher, laboratory of cellular immunotherapy, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Тыринова Т.В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник;

**Tyrinova Tamara Viktorovna**, Doctor of Biol. Sciences, leading researcher, laboratory of cellular immunotherapy, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Моренкова А.Ю.**, аспирант НИИФКИ;

**Morenkova Anastasiia Yurievna**, laboratory research assistant, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Чумасова О.А.**, к.м.н., врач ревматолог, высшей категории;

**Chumasova Oksana Aleksandrovna**, PhD in Medicine, Rheumatologist, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Ильина Н.А.**, врач-ревматолог;

**Irina Nadezhda Aleksandrovna**, Rheumatologist, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Шкаруба Н.С.**, к.м.н., врач-ревматолог;

**Shkaruba Nadezhda Sergeevna**, PhD in Medicine, Rheumatologist, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Курочкина Ю.Д.**, к.м.н., врач-ревматолог;

**Kurochkina Yulia Dmitrievna**, PhD in Medicine, Rheumatologist, RICEL-Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;

**Федорова А.В.**, врач-ревматолог;

**Fedorova Anastasia Valerievna**, Rheumatologist, RICEL- Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;

**Омельченко В.О.**, к.м.н., врач-ревматолог;

**Omelchenko Vitaly Olegovich**, PhD in Medicine, Rheumatologist, RICEL- Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;

**Летягина Е.А.**, к.м.н., зав. ревматологическим отделением, врач-ревматолог;

**Letyagina Elena Alekseevna**, PhD in Medicine, Head of Rheumatology department, Rheumatologist, RICEL- Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;

**Королев М.А.**, д.м.н., руководитель НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН;

**Korolev Maxim Aleksandrovich**, Doctor of Med. Sciences, Head of RICEL-Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;

**Сизиков А.Э.**, к.м.н., зав. отделением ревматологии, врач-ревматолог высшей категории;

**Sizikov Aleksey Eduardovich**, PhD in Medicine, Head of Rheumatology department, Rheumatologist, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation;

**Черных Е.Р.**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией клеточной иммунотерапии НИИФКИ;

**Chernykh Elena Removna**, Doctor of Med. Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of cellular immunotherapy, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation.

### **Блок 3. Метаданные статьи**

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ PD-1 И TIM-3 НА МОНОЦИТАХ ПРИ АКСИАЛЬНОМ СПОНДИЛОАРТРИТЕ  
CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL FEATURES OF PD-1 AND TIM-3 EXPRESSION ON MONOCYTES IN AXIAL SPONDYLOARTHRITIS

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

PD-1 И TIM-3 ПРИ СПОНДИЛОАРТРИТЕ

PD-1 AND TIM-3 IN SPONDYLOARTHRITIS

**Ключевые слова:** аксиальный спондилоартрит, субпопуляции моноцитов, иммунные чекпойнт рецепторы, PD-1, Tim-3, MerTK.

**Keywords:** axial spondyloarthritis, monocyte subsets, immune checkpoint receptors, PD-1, Tim-3, MerTK.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 8,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 1.

04.07.2025

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Номер	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.		Ma W.T., Gao F., Gu K., Chen D.K. The Role of Monocytes and Macrophages in Autoimmune Diseases: A Comprehensive Review. <i>Front. Immunol.</i> , 2019, Vol. 10, p.1140	doi:10.3389/fimmu.2019.01140
2.		Hirose S., Lin Q., Ohtsuji M., Nishimura H., Verbeek J.S. Monocyte subsets involved in the development of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. <i>Int. Immunol.</i> , 2019, Vol. 31, no. 11, pp. 687-696.	doi:10.1093/intimm/dxz036
3.		McGarry T., Hanlon M.M., Marzaioli V., Cunningham C.C., Krishna V., Murray K., Hurson C., Gallagher P., Nagpal S., Veale D.J., Fearon U. Rheumatoid arthritis CD14+ monocytes display metabolic and inflammatory dysfunction, a phenotype that precedes clinical manifestation of disease. <i>Clin. Transl. Immunology</i> , 2021, Vol. 10, no. 1, e1237.	doi:10.1002/cti2.1237
4.		Ranganathan V., Gracey E., Brown M.A., Inman R.D., Haroon N. Pathogenesis of ankylosing spondylitis - recent advances and future directions. <i>Nat. Rev. Rheumatol.</i> , 2017, Vol. 13, no. 6, pp. 359-367	doi:10.1038/nrrheum.2017.56
5.		Tam L.S., Gu J., Yu D. Pathogenesis of ankylosing spondylitis. <i>Nat. Rev. Rheumatol.</i> , 2010, Vol. 6, no. 7, pp. 399-405	doi:10.1038/nrrheum.2010.79
6.		Mathieu A., Paladini F., Vacca A., Cauli A., Fiorillo M.T., Sorrentino R. The interplay between the geographic distribution of	doi:10.1016/j.autrev.2009.01.003

		HLA-B27 alleles and their role in infectious and autoimmune diseases: a unifying hypothesis. <i>Autoimmun. Rev.</i> , 2009, Vol. 8, no. 5, pp. 420-425	
7.		Benjamin M., McGonagle D. Basic concepts of enthesitis biology and immunology. <i>J. Rheumatol. Suppl.</i> , 2009, Vol. 83, pp. 12-13	doi:10.3899/jrheum.090211
8.		Coates L.C., Marzo-Ortega H., Bennett A.N., Emery P. Anti-TNF Therapy in Ankylosing Spondylitis: Insights for the Clinician. <i>Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.</i> , 2010, Vol. 2, no. 1, pp. 37-43	doi:10.1177/1759720X09359728
9.		Bollow M., Fischer T., Reissauer H., Backhaus M., Sieper J., Hamm B., Braun J. Quantitative analyses of sacroiliac biopsies in spondyloarthropathies: T cells and macrophages predominate in early and active sacroiliitis- cellularity correlates with the degree of enhancement detected by magnetic resonance imaging. <i>Ann. Rheum. Dis.</i> , 2000, Vol. 59, no. 2, pp. 135-140	doi:10.1136/ard.59.2.135
10.		Colbert R.A., Tran T.M., Layh-Schmitt G. HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. <i>Mol. Immunol.</i> , 2014, Vol. 57, no. 1, pp. 44-51	doi:10.1016/j.molimm.2013.07.013
11.		Wright C., Edelmann M., di Gleria K., Kollnberger S., Kramer H., McGowan S., McHugh K., Taylor S., Kessler B., Bowness P. Ankylosing spondylitis monocytes show upregulation of proteins involved in inflammation and the ubiquitin proteasome pathway. <i>Ann. Rheum. Dis.</i> , 2009, Vol. 68, pp.1626–1632	doi: 10.1136/ard.2008.097204
12.		Gu J., Märker-Hermann E., Baeten D., Tsai W.C., Gladman D., Xiong M., Deister H., Kuipers J.G., Huang F., Song Y.W., Maksymowych W., Kalsi J., Bannai M., Seta N., Rihl M., Crofford L.J., Veys E., De Keyser F., Yu D.T. A 588-gene microarray analysis of the peripheral blood mononuclear cells of	doi: 10.1093/rheumatology/41.7.759

		spondyloarthropathy patients. <i>Rheumatology (Oxford)</i> , 2002, Vol. 41, no. 7, pp. 759-66	
13.		Conrad K., Wu P., Sieper J., Syrbe U. In vivo pre-activation of monocytes in patients with axial spondyloarthritis. <i>Arthritis Res. Ther.</i> , 2015, Vol. 17, no. 1, p. 179	doi: 10.1186/s13075-015-0694-2
14.		Gulino G.R., Van Mechelen M., Lories R. Cellular and molecular diversity in spondyloarthritis. <i>Semin. Immunol.</i> , 2021, Vol. 58, p. 101521	doi:10.1016/j.smim.2021.101521
15.		Fadini G.P., Cappellari R., Mazzucato M., Agostini C., Vigili de Kreutzenberg S., Avogaro A. Monocyte-macrophage polarization balance in pre-diabetic individuals. <i>Acta Diabetol.</i> , 2013, Vol. 50, no. 6, pp. 977-982	doi:10.1007/s00592-013-0517-3
16.		Fukui S., Iwamoto N., Takatani A., Igawa T., Shimizu T., Umeda M., Nishino A., Horai Y., Hirai Y., Koga T., Kawashiri S.Y., Tamai M., Ichinose K., Nakamura H., Origuchi T., Masuyama R., Kosai K., Yanagihara K., Kawakami A. M1 and M2 monocytes in rheumatoid arthritis: a contribution of imbalance of M1/M2 monocytes to osteoclastogenesis. <i>Front. Immunol.</i> , 2018, Vol. 8, pp.1958.	doi:10.3389/fimmu.2017.01958.
17.		Strauss L., Mahmoud M.A.A., Weaver J.D., Tijaro-Ovalle N.M., Christofides A., Wang Q., Pal R., Yuan M., Asara J., Patsoukis N., Boussiotis V.A. Targeted deletion of PD-1 in myeloid cells induces antitumor immunity. <i>Sci. Immunol.</i> , 2020, Vol. 5, no. 43, eaay1863	doi: 10.1126/sciimmunol.aay1863
18.		Brom V.C., Burger C., Wirtz D.C., Schildberg F.A. The Role of immune checkpoint molecules on macrophages in cancer, infection, and autoimmune pathologies. <i>Front. Immunol.</i> , 2022, Vol. 13, p. 837645	doi: 10.3389/fimmu.2022.837645

19.	Raptopoulou A.P., Bertias G., Makrygiannakis D., Verginis P., Kritikos I., Tzardi M., Klareskog L., Catrina A.I., Sidiropoulos P., Boumpas D.T. The programmed death 1/programmed death ligand 1 inhibitory pathway is up-regulated in rheumatoid synovium and regulates peripheral T cell responses in human and murine arthritis. <i>Arthritis Rheum.</i> , 2010, Vol. 62, no. 7, pp. 1870-80	doi: 10.1002/art.27500
20.	Wood M.K., Daoud A., Talor M.V., Kalinoski H.M., Hughes D.M., Jaime C.M., Hooper J.E., Won T., Čiháková D. Programmed Death Ligand 1-Expressing Macrophages and Their Protective Role in the Joint During Arthritis. <i>Arthritis Rheumatol.</i> , 2024, Vol. 76, no. 4, pp. 553-565	doi: 10.1002/art.42749
21.	Funes S.C., Rios M., Escolar-Vera J., Kalergis A.M. Implications of macrophage polarization in autoimmunity. <i>Immunology</i> , 2018, Vol. 154, pp. 186-195	doi: 10.1111/imm.12910
22.	Yang J., Zhang L., Yu C., Yang X.-F., Wang H. Monocyte and Macrophage Differentiation: Circulation Inflammatory Monocyte as Biomarker for Inflammatory Diseases. <i>Biomark. Res.</i> , 2014, Vol. 2, p. 1	doi: 10.1186/2050-7771-2-1
23.	Chavanisakun C., Keawvichit R., Benjakul N. M1 and M2 Macrophage Polarization Correlates with Activity and Chronicity Indices in Lupus Nephritis. <i>Life (Basel)</i> , 2025, Vol. 15, no. 1, p. 55	doi: 10.3390/life15010055
24.	Martinez-Ramos S., Rafael-Vidal C., Pego-Reigosa J.M., Garcia S. Monocytes and macrophages in spondyloarthritis: functional roles and effect of current therapies. <i>Cells</i> , 2022, Vol. 11, p. 515	doi: 10.3390/cells 11030515
25.	Surdacki A., Sulicka J., Korkosz M., Mikolajczyk T., Telesinska-Jasiówka D., Klimek E., Kierzkowska I., Guzik T., Grodzicki T.K. Blood monocyte heterogeneity and markers of endothelial	doi: 10.3899/jrheum.130803

		activation in ankylosing spondylitis. <i>J. Rheumatol.</i> , 2014, Vol. 41, pp. 481-489	
26.		De Rycke L., Vandooren B., Kruithof E., de Keyser F., Veys E.M., Baeten D. Tumor Necrosis Factor $\alpha$ Blockade Treatment Down-Modulates the Increased Systemic and Local Expression of Toll-like Receptor 2 and Toll-like Receptor 4 in Spondylarthropathy. <i>Arthritis Rheum.</i> , 2005, Vol. 52, pp. 2146–2158	doi: 10.1002/art.21155
27.		Akhtari M., Vojdanian M., Javinani A., Ashraf-Ganjouei A., Jamshidi A., Mahmoudi M. Activation of adenosine A2A receptor induced interleukin-23 mRNA expression in macrophages of ankylosing spondylitis patients. <i>Cytokine</i> , 2020, Vol. 128, p. 154997	doi: 10.1016/j.cyto.2020.154997
28.		Stec M., Czepiel M., Lenart M., et al. Monocyte subpopulations display disease-specific miRNA signatures depending on the subform of Spondyloarthropathy. <i>Front. Immunol.</i> , 2023, Vol. 14, p. 1124894	doi: 10.3389/fimmu.2023.1124894
29.		Li X., Chen Y., Liu X., Zhang J, He X, Teng G, Yu D. Tim3/Gal9 interactions between T cells and monocytes result in an immunosuppressive feedback loop that inhibits Th1 responses in osteosarcoma patients. <i>Int. Immunopharmacol.</i> , 2017, Vol. 44, pp. 153-159	doi:10.1016/j.intimp.2017.01.006
30.		Tang L., Li G., Zheng Y., Hou C., Gao Y., Hao Y., Gao Z., Mo R., Li Y., Shen B., Wang R., Wang Z., Han G. Tim-3 Relieves Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Suppressing MHC-II. <i>Front. Immunol.</i> , 2022, Vol. 12, p. 770402	doi: 10.3389/fimmu.2021.770402

31.		Huang X., He Y., Yi G., Zheng S., Deng W., Chen S., Zhu R., Wang Y., Chen J., Zheng C., Huang Z., Li T. Expression of Tim-3 on neutrophils as a novel indicator to assess disease activity and severity in ankylosing spondylitis. <i>Front. Med. (Lausanne)</i> . 2025, Vol. 12, p. 1530077	doi: 10.3389/fmed.2025.1530077
-----	--	--	--------------------------------