

Иммуногенетические и иммунологические маркеры раннего ревматоидного артрита (результаты первого этапа исследований по программе РАДИКАЛ)

И.А.Гусева, Н.В. Демидова, Е.Л.Лучихина, А.А.Новиков, Е.Н.Александрова, М.Н. Болдырева¹,
И.А. Гуськова¹, Д.Е.Каратеев, Е.Л. Насонов
ГУ Институт ревматологии РАМН
¹ГНГ Институт иммунологии ФМБА России, Москва

Резюме

Цель. Изучить частоты встречаемости иммуногенетических (аллели HLA-DRB1) и иммунологических (АЦЦП, IgM РФ) параметров и их значимость как маркеров раннего ревматоидного артрита (РА).

Материал и методы. Распределение аллелей HLA-DRB1, АЦЦП и IgM РФ исследовано у 95 больных ранним РА (критерии ACR, 1987) с длительностью болезни не более двух лет на момент включения в исследование (у 85,3% ≤ 12 мес.). Контрольная группа — 135 произвольно набранных доноров крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним. Базовое низкоразрешающее олиготипирование генов HLA-DRB1 и высокоразрешающее олиготипирование аллелей HLA-DRB1*04 проводилось методом мультиплексной полимеразной цепной реакции. Концентрацию АЦЦП2 и IgM РФ определяли иммуноферментным методом и методом иммунонефелометрии с помощью коммерческих наборов.

Результаты. Группа раннего РА характеризовалась высокой частотой аллеля DRB1*04 по сравнению с контрольной группой (45,3% и 15,6% соответственно, OR=4,5, 95% ДИ 2,3-8,7). Аллели *05, *06 и *07 выявлялись статистически значимо реже в группе РА, чем в контроле. Среди HLA-DRB1*04 с наибольшей частотой встречался аллель *0401 (25,3%). Двойная доза SE+/SE+ (двойной набор любых из аллелей *01, *0401, *0404, *0405, *0408, *10) выявлялась в группе РА в 33,7% случаев, в контрольной группе — в 5,2% случаев (OR=9,3, 95% ДИ=3,7-24,6, p=1x10⁻⁷). Отсутствие аллелей SE (SE-/SE-) в группе РА было отрицательно ассоциировано с развитием РА (OR=0,28, 95% ДИ=0,2-0,5). У больных РА среди генотипов SE+/SE+ значительно чаще выявлялся гомозиготный генотип *0401/*0401 по сравнению с контрольной группой (17,8% и 1,5% соответственно, OR=14,5, 95% ДИ 3,1-93,4, p<0,0001). В группе больных РА диагностические титры АЦЦП были выявлены в 60,0%, IgM РФ — в 71,6% случаев. Наиболее тесная взаимосвязь существовала между показателями АЦЦП и РФ (r_s=0,66, p<0,05), менее выраженная — между SE и АЦЦП (r_s=0,34, p<0,05). Корреляционная взаимосвязь SE и РФ не была выявлена (r_s=0,1, p>0,05). При наличии хотя бы одного аллеля SE количественное содержание РФ составило 280,4 (СО 414,3) МЕ/мл [среднее (стандартное отклонение)], при отсутствии — 83,1 (176,1) МЕ/мл (p<0,01). Содержание АЦЦП при наличии или отсутствии SE составило соответственно 56,2 (44,6) ЕД/мл и 27,5 (41,2) ЕД/мл (p<0,01).

Выводы. Аллели HLA-DRB1(SE+), АЦЦП, РФ являются значимыми маркерами риска развития раннего РА, однако диагностическую ценность имеют АЦЦП и РФ.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, аллели HLA-DRB1, shared epitope (SE), антитела к циклическим цитруллинированным пептидам (АЦЦП), ревматоидный фактор (РФ)

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое аутоиммунное заболевание, которое характеризуется воспалительно-деструктивным поражением суставов и внесуставными поражениями, проявляющимися вовлечением в патологический процесс различных органов и систем. Взаимодействие факторов внешней и внутренней среды, генетически детерминированных и приобретенных дефектов иммунорегуляции обуславливает сложность механизмов развития РА, а также его выраженный клинический полиморфизм.

Течение и формы РА варьируют от относительно легких с развитием длительных ремиссий до тяжелых, характеризующихся быстро прогрессирующим течением болезни с эрозированием суставов, что уже на ранних стадиях приводит к значительной потере функциональной способности и инвалидизации больного [1, 2, 3]. Патологически измененные при РА клеточный и гуморальный звенья иммунитета и персистирующее воспаление, играющие важнейшую роль в патогенезе болезни, приводят к поражению жизненно важных органов и нередко — смертельному исходу.

Имеющийся в настоящее время широкий спектр эффективных лекарственных препаратов, позволяющих на ранних стадиях болезни затормозить патологические процессы, обуславливает необходимость максимально ранней диагностики РА [4].

Начавшиеся в 90-е годы XX века исследования раннего РА выявили несостоятельность классификационных критериев ACR 1987г. [5], которые были разработаны для РА с развернутой клинической картиной и наличием рентгенологических признаков поражения суставов: они обладали низкими чувствительностью и специфичностью при диагностике РА на стадии появления первых симптомов [6, 7, 8, 9].

Разработка и внедрение в клиническую практику дополнительных к уже имеющимся стандартным методам исследования чувствительных и специфичных лабораторных маркеров является в настоящее время приоритетным направлением прикладной молекулярной генетики и иммунологии в ревматологии.

Ревматоидный фактор (РФ) в 1987 г. был включен в классификационные критерии РА и служит маркером серопозитивной и серонегативной форм болезни. Результаты нескольких проспективных исследований показали, что РФ может являться прогностическим фактором прогрессирования эрозивного процесса [10, 11], хотя это наблюдение нуждается в дальнейшем подтверждении на значительном клиническом материале больных РА различных популяционных групп, прослеженных проспективно.

Внедренный недавно в клиническую практику тест на наличие антител к циклическому цитруллин-ированному пептиду (АЦЦП) практически при той же чувствительности (75-90%) имеет более высокую

специфичность (96-100%), чем РФ (85-90%), поэтому может служить не только диагностическим маркером РА, но и с большой долей вероятности позволяет дифференцировать РА от других заболеваний со схожими симптомами [12, 13, 14]. Сказанное с полным основанием относится к РА с развернутой клинической картиной, однако для диагностики раннего РА со скудной симптоматикой, которая потенциально может эволюционировать в различные по тяжести формы, диагностическую информативность определения АЦЦП по сравнению с РФ еще предстоит изучить. К настоящему времени существует точка зрения, что при раннем РА определение АЦЦП чрезвычайно важно для дифференциальной диагностики, а также для диагностики в случае серонегативных форм (РФ-) болезни [15].

Обнаружение РФ и АЦЦП в сыворотке людей за несколько лет (до 9-10 лет) до появления первых симптомов РА [16, 17, 18] свидетельствует об измененном иммунологическом статусе таких индивидов: по-видимому, генетическая предрасположенность (например, аллели системы HLA) и триггеры (например, длительное курение) могут вызвать иммунопатологические сдвиги в организме человека, тем самым детерминируя развитие РА [19, 20, 21].

Аллели HLA-DRB1*01, *0401, *0404, *0405, *0408, *10 и *1402 кодируют сходную по строению аминокислотную последовательность молекулы DRB1 в позиции 67-74, получившую название SE (shared epitope — общий, схожий эпитоп), и ассоциированы с РА практически во всех популяциях и этнических группах [22,23]. Выявление данной взаимосвязи не случайно: развитие аутоиммунных болезней, к которым относят РА, детерминируется системой HLA, которая играет центральную роль в процессах инициации, развития и контроля иммунного ответа [24].

В 2004 г. шведскими и голландскими исследователями была обнаружена выраженная взаимосвязь между носительством SE и выявлением АЦЦП [25, 26]. В первом исследовании совместная комбинация SE и АЦЦП обладала наиболее выраженной прогностической ценностью для предсказания развития РА (OR=66,8) по сравнению с ценностью одного из признаков при отсутствии другого (для АЦЦП OR=25,1, для SE OR=1,9). Во втором исследовании, по мнению авторов, обнаруживаемая ассоциация SE+/SE+ с РА вторична (OR=26,7) по отношению к более выраженной ассоциативной связи SE+/SE+ и АЦЦП.

Современные представления о роли системы HLA, в частности, аллелей, кодирующих SE, иммунологических маркерах РФ и АЦЦП, а также внешнесредовых факторах при РА обобщены в отечественном обзоре [27].

В России первые результаты по изучению АЦЦП при РА, опубликованные в 2004 г., показали, что наличие этих антител ассоциировано как с ранним,

так и длительно текущим (>5 лет) РА [28]. Изучение аллелей HLA как маркеров раннего РА и их взаимосвязи с АЦЦП и РФ в русской популяции не проводилось.

Целью настоящей работы явилось изучение частот встречаемости иммуногенетических (аллели HLA-DRB1-SE) и иммунологических (АЦЦП, IgM РФ) параметров и их значимости как маркеров раннего РА.

Материал и методы

В соответствии с поставленной целью в исследование с мая 2005 по октябрь 2007 гг. было включено 138 пациентов с ранним артритом длительностью не более 2 лет (у 85,3% пациентов длительность симптомов не превышала 12 мес.). Больные включались в исследование на основании общих для всей программы РАДИКАЛ критериев [1]: 1) артрит одного и более суставов; 2) положительный симптом сжатия кистей и/или стоп; 3) утренняя скованность продолжительностью 30 минут и более. Контрольную группу составили 135 произвольно набранных доноров крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных и отгестированных по аллелям HLA-DRB1 в ГНГ Институте иммунологии ФМБА России.

Пациентам проводилось стандартное клиническое исследование с определением числа припухших и болезненных суставов, полным физикальным осмотром. Изучение анамнеза болезни проводилось путем анкетирования и опроса пациентов, использовалась медицинская документация из поликлиник по месту жительства и других учреждений, направивших больных на обследование. Результаты заносились в специально разработанную исследовательскую карту.

Всем пациентам при поступлении выполнялись клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы, числа тромбоцитов, СОЭ и стандартное биохимическое исследование крови. Определяли также концентрацию С-реактивного белка (СРБ) с использованием иммунонефелометрического метода (BN-100, Dade Behring), IgM ревматоидного фактора (РФ) в латекс-тесте и ИФМ (Orgentec, Германия).

Лабораторное исследование повторялось регулярно не реже чем 1 раз в 6 месяцев. Всем больным проводилась стандартная рентгенография кистей и стоп в прямой проекции, рентгенография органов грудной клетки и таза. При необходимости дифференциальной диагностики с другими ревматическими заболеваниями определяли антинуклеарный фактор (АНФ) и HLA-B27.

Диагноз РА устанавливался на основе классификационных критериев ACR 1987 г. Если на момент обследования не было достаточного числа критериев ACR, и в то же время не было определенных заболеваний, пациент относился к группе «недифферен-

цированного артрита» (НА). Длительность проспективного исследования, в течение которого ставился и уточнялся диагноз, составила не менее 1 года (3 повторных обследования через каждые 6 мес.).

Клиническая, инструментальная и лабораторная характеристика больных ранним РА представлена в табл. 1.

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

Параметры	Ранний РА n=110	
	абс.число	%
Пол, % женщин	84	76,4 %
Возраст (лет)#	47,9 (13,3)	
Длительность заболевания (мес.)	7,6 (6,1)	
Утренняя скованность ≥60 мин.	73	66,4%
Утренняя скованность ≥30 мин	94	85,5%
Утренняя скованность (мин.)	132,6 (125,8)	
Количество воспаленных суставов	9,1 (6,0)	
Артрит ≥3 суставов	95	86,4%
Количество болезненных суставов	11,5 (7,8)	
Тест «поперечного сжатия» МСР	91	82,7%
Симметричность суставного поражения		
НАQ (баллы)	92	83,6%
DAS28 (баллы)	1,21 (0,70)	
Внесуставные проявления, в том числе узелки	5,2 (1,3)	
14		12,7%
Рентгенологические изменения	3	2,7%
IgM RF+ (% позитивных лиц)	33	30,0%
количественное содержание (МЕ/мл)	70	64,8%*
АЦЦП+ (% позитивных лиц)	190,4 (330,3)	
количественное содержание (ЕД/мл)	58	59,8%**
Уровень СРБ выше нормы (% позитивных лиц)	43,7 (44,7)	
количественное содержание (мг/л)	25	60,9%
Уровень СОЭ выше нормы (% позитивных лиц)	15,8 (21,7)	
уровень(мм/ч)	81	73,6%
Один или два SE+, из них:	27,1 (15,9)	
HNA-DRB1*04	62	65,3%***
*01	38	40,0%
*10	19	20,0%
	1	1,1%

Примечания: # — здесь и далее — среднее (стандартное отклонение); *- n=108 чел., ** - n=97 чел., *** - n=95 чел.

Мы провели анализ данных по исследованию иммуногенетических и иммунологических маркеров у 117 из 138 пациентов, которым на момент обработки результатов было проведено тестирование всех трех лабораторных параметров (HLA, АЦЦП и РФ). Клиническая и лабораторная характеристика 117 больных РА была сопоставима с представленной в табл. 1 для всей группы больных РА, включенных в исследование. Для объективизации процесса анализа полученных данных иммуногенетический (SE) и иммунологический (АЦЦП) параметры были тестированы *post factum*, после постановки клиницистами диагноза согласно критериям ACR 1987, при этом только лечащие врачи знали диагноз.

Концентрацию АЦЦП2 определяли ИФМ с помощью коммерческих наборов "Axis Shield Diagnostics" (Великобритания) согласно инструкции фирмы-изготовителя, верхняя граница нормы ("cut-off") – 5,0 ЕД/мл. IgM ревматоидный фактор (РФ) определяли методом иммунонефелометрии на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring; Германия), "cut-off"-15 МЕ/л. Геномная ДНК была выделена методом солевой экстракции с использованием хлорида натрия [29]. Базовое низкоразрешающее олиготипирование генов HLA-DRB1 и высокоразрешающее олиготипирование аллелей HLA-DRB1*04 проводилось методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с использованием набора реагентов «HLA-DR-TEX» (производитель-НПО «ДНК-Технология», Москва) [30]. К SE относили аллели *01, *0401, *0404, *0405, *0408, *10. В зависимости от наличия в генотипе одного, двух аллелей SE или их отсутствия генотипы представляли как SE+/SE-, SE+/SE+, SE-/SE-.

Контрольная группа, оттипированная по аллелям HLA-DRB1, не была оттестирована на наличие АЦЦП и РФ. Однако многочисленные данные по изучению АЦЦП у здоровых лиц, обобщенные в обзорах Т. Mimori [12] и W. van Venrooij [31], свидетельствовали в большинстве своем об отсутствии или весьма малой частоте встречаемости этих антител (0-4%) у здоровых лиц. В зарубежных исследованиях, например, на голландской когорте пациентов с ранним артритом (EAC – Early Arthritis Cohort) в такой же ситуации при статистическом анализе результатов исходили из положения, что в популяции здоровых тест-доноров АЦЦП отсутствуют, т.к. частота выявления данного маркера составила менее 1 % [32]. Относительно РФ-позитивности в контрольной группе, исходя из данных отечественных и зарубежных исследований, известно, что частота положительных, диагностических титров РФ у здоровых лиц составляет 5-15%. При статистической обработке результатов мы использовали значения 4% – для АЦЦП и 15% – для РФ в контрольной группе, намеренно оперируя максимальными частотами.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0, программ Epi Info 5 и CIA (Confidence Interval Analysis) ["Statistics with confidence", 2000] с включением метода непараметрического анализа (коэффициент ранговой корреляции Спирмена – r_s) и вычислением риска заболевания, выраженного через показатель OR (Odds Ratio-отношение шансов) с подсчетом 95% доверительных интервалов (ДИ). Средние значения количественных непрерывных представлены в виде M(CO), т.е. среднее (стандартное отклонение). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

При первичном обследовании (1-й визит) диагноз РА согласно критериям ACR 1987 г. был пос-

тавлен 85 пациентам, у остальных 32 пациентов имелось 2-3 критерия и не представлялась возможность поставить какой-либо определенный диагноз. Такие больные были отнесены в группу НА, эти пациенты наблюдались с клиническим диагнозом «ревматоидный артрит неуточненный» (M06.9 по МКБ10).

Через 6 мес. (2-ой визит) в группе НА 17 пациентам был поставлен определенный диагноз, но не РА (группа неРА), 15 остались в группе НА.

К концу первого года наблюдения (3-й визит) 10 пациентов с НА развили симптоматику РА и удовлетворяли критериям ACR 1987, 5 пациентов остались в группе НА.

Таким образом, к концу первого года проспективного наблюдения 117 пациентов были распределены по следующим трем группам: РА – 95 чел., не РА – 17 чел., НА – 5 чел.

При анализе распределения частот аллелей гена HLA-DRB1 были выявлены значительные статистически значимые различия между группами РА и контрольной группой.

Группа РА характеризовалась высокой частотой аллеля DRB1*04 по сравнению с контрольной группой (45,3% и 15,6% соответственно, OR=4,5, 95% ДИ 2,3-8,7). Аллели *05, *06 и *07 выявлялись значительно реже в группе РА, чем в контроле: частота аллеля *05 в группе больных и в контрольной группе составила 14,5% и 31,1% (OR=0,38, 95% ДИ 0,21-0,66, $p < 0,001$), *06 – 6,8% и 31,1% (OR=0,16, 95% ДИ 0,08-0,32, $p < 0,0001$), *07 – 8,6% и 23,7% (OR=0,31, 95% ДИ 0,16-0,66, $p < 0,001$). Частоты других аллелей (*01, *02, *03, *08, *09, *10) статистически значимо не различались в двух группах.

Среди HLA-DRB1*04 с наибольшей частотой встречался аллель *0401, далее по убывающей: *0408 (5,2%), *0404 (3,1%) и у одной больной – *0405. Аллель *0401 встречался у 25,3% больных РА, в то время как его частота в контроле составляла 2,8% (OR=11,7, 95% ДИ 3,7-41,4, $p < 0,0001$).

Далее были проанализированы частотные иммуногенетические (SE) и частотные и количественные иммунологические (АЦЦП, РФ) характеристики как отдельно, так и во взаимосвязи друг с другом.

В табл. 2 представлены данные по распределению частот аллелей SE, АЦЦП и РФ в группе больных РА при сравнении с контрольной группой. В группах ранним РА и контрольной группе хотя бы один SE выявлялся в 64,2% и 33,6% случаев соответственно ($p < 0,001$). Двойная доза SE+/SE+ выявлялась в группе РА в 33,7% случаев, в контрольной группе – в 5,2% случаев ($p = 1 \times 10^{-7}$). Выявление хотя бы одного или двойного набора SE повышало риск развития РА в 8 раз. Напротив, отсутствие аллелей SE (SE-/SE-) в группе РА наблюдалось почти в 2 раза реже, чем в контрольной группе ($p < 0,001$), т.е. было отрицательно ассоциировано с развитием РА.

У больных РА среди генотипов SE+/SE+ значительно чаще выявлялся гомозиготный генотип

Таблица 2
ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ РАННЕГО РА
В СРАВНЕНИИ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ
ЗДОРОВЫХ ТЕСТ-ДОНОРОВ.

Лабораторные показатели	РА n=95	Контроль n=135	OR [95% ДИ]
Наличие 1 или 2 SE, из них:			
SE+/SE+	61 (64,2%)	45 (33,6%)	3,6 [2,0-6,5]
SE+/SE-	32 (33,7%)	7 (5,2%)	9,3 [3,7-24,6]
SE-/SE-	29 (30,5%)	38 (28,1%)	
Отсутствие SE	34 (35,8%)	90 (66,7%)	0,28 [0,2-0,5]
АЦЦП+	57 (60,0%)	*4 (4,0%)	36,0 [11,5-125,9]
РФ+	68 (71,6%)	*15 (15,0%)	14,3 [6,7-30,9]

Примечание: * — максимальные частоты АЦЦП и РФ на основании данных литературы в гипотетической группе здорового контроля из 100 человек.

*0401/*0401 по сравнению с контрольной группой (17,8% и 1,5% соответственно, OR=14,5, 95% ДИ 3,1-93,4, $p<0,0001$). Остальные генотипы у больных РА выявлялись с частотой от 1,5% до 4,0%, что статистически значимо не отличалось от частот генотипов в контрольной группе.

В группе больных РА диагностические титры АЦЦП были выявлены в 60,0%, IgM РФ — в 71,6% случаев (незначительное расхождение этих частот с данными табл. 2 связано с количеством включенных в анализ больных).

Анализ корреляционной связи трех лабораторных параметров попарно (каждый показатель рассматривался как бинарный) выявил, что наиболее тесная взаимосвязь существовала между показателями АЦЦП и РФ ($r_s=0,66$, $p<0,05$). Так, среди больных РА позитивными по обоим тестам (РФ+/АЦЦП+) были 61,2%, отрицательными — 22,4%.

Менее выраженная, но статистически значимая корреляция наблюдалась между SE и АЦЦП ($r_s=0,34$, $p<0,05$). В группе больных ранним РА у 49,4% выявлены положительные значения АЦЦП+/SE+ и у 20,1% — отрицательные значения АЦЦП-/SE-. Среди SE-позитивных пациентов наличие АЦЦП наиболее часто было ассоциировано с гомозиготным генотипом *0401/*0401 (OR=12,5 95% ДИ 2,6-81,1, $p<0,001$).

Совместная комбинация SE и РФ встречалась в группе больных с ранним РА в 54,1% случаев, отрицательные значения — в 10,6% случаев. Корреляционная взаимосвязь этих показателей не была выявлена ($r_s=0,1$, $p>0,05$).

Практически у половины больных РА (49,4%) было обнаружено сочетание положительных значений SE, АЦЦП и РФ. Поскольку мы не имели возможности проанализировать сочетания SE, АЦЦП и РФ в нашей контрольной группе, мы опирались

на немногочисленные данные зарубежных исследователей. Согласно данным E. Berglin с соавт., у здоровых доноров сочетание только двух каких-либо из указанных параметров либо вообще не встречалось, либо выявлялось с частотой 1 % [25]. Присоединение третьего параметра сводило вероятность совместного сочетания трех параметров к нулю. Таким образом, сочетание позитивных значений трех параметров обладало специфичностью 100% для раннего РА относительно контрольной группы.

Выявлены статистически значимые различия в количественном содержании РФ и АЦЦП в зависимости от наличия или отсутствия в генотипе больного аллеля SE (табл.3). При наличии хотя бы одного аллеля SE количественное содержание РФ составило 280,4(414,3) МЕ/мл, при отсутствии — 83,1(176,1) МЕ/мл ($p<0,01$). Содержание АЦЦП при наличии или отсутствии SE составило соответственно 56,2(44,6) ЕД/мл и 27,5(41,2) ЕД/мл ($p<0,01$). Количественное содержание АЦЦП у SE-позитивных больных не зависело от наличия одного или двух SE.

Таблица 3
КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ АЦЦП (ЕД/МЛ) И
РФ (МЕ/МЛ) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЗИТИВНОСТИ
ИЛИ НЕГАТИВНОСТИ ПО SE, АЦЦП И РФ.

Лабораторные параметры (количественное содержание)	АЦЦП	РФ
Лабораторные параметры (бинарные)		
SE+	56,2 (44,6)*	280,4 (414,3)
SE-	27,5 (41,2)	83,1 (176,1)
АЦЦП+		328,3 (418,4)
АЦЦП-		39,4 (65,3)
РФ+	58,3 (42,7)	
РФ-	13,6 (34,2)	

Примечание: *- здесь и далее — среднее (стандартное отклонение)

Более выраженные, статистически значимые различия были выявлены при анализе количественных показателей, если мы рассматривали группу больных как РФ+ и РФ- и АЦЦП+ и АЦЦП- (табл.3). Количественное содержание АЦЦП у РФ+ и РФ- больных составило 58,3(42,7) и 13,6(34,2) ЕД/мл соответственно ($p<0,001$). Содержание РФ у АЦЦП+ и АЦЦП- лиц составило 328,3(418,4) и 39,4(65,3) МЕ/мл соответственно ($p<0,001$).

Обращает на себя внимание тот факт, что статус по РФ или АЦЦП имеет более выраженное влияние на количественное содержание антител по сравнению с SE, причем у РФ- и АЦЦП- негативных лиц уровень антител был статистически значимо ниже,

чем у SE-негативных пациентов (для АЦЦП — 13,6 (43,2) и 27,5(41,2) соответственно, $p=0,02$; для РФ — 39,4(65,3) и 83,1(176,1)соответственно, $p=0,03$).

Обсуждение

Данные настоящего исследования представляют собой базовую иммуногенетическую и иммунологическую характеристику, впервые полученную на материале больных ранним артритом, представленных выборкой пациентов преимущественно русской этнической группы и проживающих в Москве и Московской области.

Согласно данным отечественных и зарубежных исследователей, РА с выраженной клинической картиной, характеризующейся эрозивным поражением суставов, внесуставными проявлениями и нарушением функциональной способности пациентов, ассоциирован с высокой частотой HLA-DRB1*04 (до 60%), хотя бы одного SE (до 70-85%), двойной дозой SE (40-45%), АЦЦП (до 75-90%) и IgM РФ (до 85%).

Настоящий этап исследования был основан на наблюдении группы пациентов с ранним артритом, длительность болезни которых не превышала 24 мес., причем у 85 % включенных в исследование больных время от начала первых симптомов болезни не превышало 12 мес. В процессе динамического наблюдения ставился и уточнялся диагноз РА в соответствии с критериями ACR 1987. В анализ были включены больные с достоверным диагнозом РА.

Мы установили, что риск развития РА в нашей группе пациентов с недавним началом болезни также, как и в случае РА с развернутой клинической картиной, связан с позитивностью по АЦЦП ($OR=36,0$) и далее, в порядке убывания, — гомозиготным генотипом *0401/*0401 ($OR=14,5$), позитивностью по IgM РФ ($OR=14,3$), аллелем *0401 ($OR=11,7$), двойным набором SE ($OR=9,3$) и аллелем *04 ($OR=4,5$). При сопоставимых частотах выявления АЦЦП и РФ более высокие цифры риска развития РА у АЦЦП-позитивных индивидов по сравнению с РФ-позитивными обусловлены очень низкой частотой выявления АЦЦП у здоровых лиц (0-4%) по сравнению с РФ (до 15%). Высокие значения OR для аллеля *0401 и генотипа *0401/*0401, которые относительно редко выявляются при РА (25,3% и 17,8% соответственно), обусловлены тем, что в контрольной группе эти генетические маркеры выявляются гораздо реже (2,7% и 1,5% соответственно).

Наши результаты согласуются с данными зарубежных авторов, изучавших значимость аллелей HLA-DRB1 и иммунологических маркеров АЦЦП и РФ в качестве факторов риска развития заболевания на материале больных ранним РА. В этих исследованиях была выявлена сильная связь АЦЦП и РФ как раздельно, так и совместно с развитием РА, а также статистически значимая взаимосвязь

аллелей SE, АЦЦП и предрасположенности к заболеванию [13, 25, 32, 33, 34, 35, 40].

Согласно данным литературы, предрасположенность к РА практически во всех этнических и популяционных группах ассоциирована с SE, который кодируется аллелями *0101, *0102, *0401, **0404, *0405, *0408, *10, *1402. Существует межэтническая и межпопуляционная вариабельность частот распределения аллелей HLA, которая обуславливает, в числе ряда других факторов, различие в силе ассоциативной связи РА с аллелями HLA-DRB1(SE+). У кавказоидов предрасположенность к РА связана в первую очередь с аллелем *0401, а также *0404. В нашем исследовании у больных в подавляющем большинстве случаев был выявлен аллель *0401 и гомозиготный генотип *0401/*0401. Аллель *0404 был определен всего у трех человек (3,1%), хотя в нашем исследовании на материале длительно текущего РА (5-10 лет и более), при котором *04 выявлялся в 56,8% случаев [30], аллель *0404 детектировался у 18,1% больных (данные не опубликованы). По-видимому, такое расхождение результатов могло быть связано с тем, что длительно текущий РА включал выборку больных с тяжелым эрозивным поражением суставов, с внесуставными проявлениями, а, по данным литературы, тяжелое течение болезни ассоциировано с генотипами *0401/*0401 и *0401/*0404 [36, 37]. Совсем недавно появились сообщения, что сердечно-сосудистая патология (ишемическая болезнь сердца), являющаяся основной причиной смерти (31% от общей летальности при РА), коррелирует не только с выраженным персистирующим воспалительным процессом (высокие показатели СОЭ и СРБ), но и с наличием гомозиготных или составленных гетерозиготных SE-генотипов (HLA-DRB1*0404/*0404 и/или *0101/*0404) [38,39]. Такие данные, на первый взгляд, не объясняют и даже противоречат тому факту, что в нашей группе больных с длительно текущим РА аллель *0404 представлен с высокой частотой. Однако, принимая во внимание этнические и популяционные особенности ассоциативной связи аллелей с РА с его отдельными клиническими фенотипами, для изучения вопроса о роли отдельных аллелей HLA-DRB1 в клиническом полиморфизме РА необходимо продолжить динамическое наблюдение за нашей выборкой больных с недавним началом РА.

Помимо аллелей, предрасполагающих к развитию РА, нами были выявлены аллели, отрицательно ассоциированные с РА. Данный факт известен еще с 80-х годов XX века, однако лишь относительно недавно, после накопления достаточной информации, рядом авторов была высказана гипотеза, что развитие РА может быть связано не с наличием предрасполагающих, а, напротив, с отсутствием протективных аллелей, что приводит к потере толерантности к аутоантигенам и развитию аутоиммунных реакций [42, 45, 46, 47].

В нашем исследовании мы обнаружили более низкую частоту выявления АЦЦП (60,0%) и IgM РФ (71,6%), по сравнению с длительно текущим РА. В обзорной статье T.Niewold с соавт. приведены частоты выявления АЦЦП и РФ у пациентов различных этнических групп с развернутым (44-89% и 59-79% соответственно) и ранним РА (39-50% и 31-54% соответственно) [14]. Значительная вариабельность частот встречаемости иммунологических показателей может быть связана с межэтническими различиями, обусловленными генетическими и внешнесредовыми факторами, различной длительностью заболевания внутри групп с развернутым и ранним РА, а также с использованием различных методик определения АЦЦП и РФ.

Выявленные в настоящем исследовании высокие по сравнению со здоровым контролем, но все-таки более низкие, чем при развернутом РА, частоты DRB1*04 (45,3%), SE+/SE+ (33,7%), АЦЦП (60%) и РФ (71,6%) позволяют предположить, что наша группа больных РА клинически гетерогенна и впоследствии может развернуть неоднородные по течению формы болезни.

Также мы установили, что продукция АЦЦП имеет сильную корреляционную связь с продукцией IgM РФ и менее выражено, но статистически значимо коррелирует с носительством хотя бы одного SE. В то же время корреляционная связь SE и РФ не была выявлена. Также в нашем исследовании было обнаружено, что у носителей хотя бы одного SE количественное содержание АЦЦП и РФ было выше, чем при отсутствии SE. Мы не выявили дозозависимого эффекта гиперпродукции аутоантител, связанного с носительством одного или двух наборов SE, а также зависимости количественного содержания АЦЦП и РФ от каких-либо конкретных аллелей HLA, хотя в ряде зарубежных исследований такой факт был установлен [26, 41, 42, 43, 44]. Также в этих исследованиях было показано, что высокий уровень АЦЦП является неблагоприятным прогностическим признаком прогрессирования суставного процесса. Последующий более глубокий анализ с учетом всех выявляемых аллелей HLA-DRB1 (не только SE+) на большей по количеству выборке пациентов позволит более определенно ответить на вопрос, зависит ли продукция АЦЦП и РФ от конкретных аллелей HLA-DRB1, в том числе и протективных.

Несмотря на подтвержденную во всех исследованиях в различных популяционных и этнических группах важность исследования АЦЦП, IgM РФ и SE в качестве маркеров раннего РА, до сих пор дискутируется вопрос о сравнительной значимости этих маркеров. Несомненно, при решении данного вопроса необходимо не смешивать такие понятия, как «статистически значимый» и «клинически значимый» результаты. Так, наличие гомозиготного генотипа *0401/*0401 почти в 15 раз повышает вероятность развития РА, что сопоставимо с риском

развития болезни при положительных значениях IgM РФ. Однако, если мы вычислим такие характеристики, как чувствительность и специфичность, окажется, что для диагностики болезни полезным будет тестирование РФ, который обладает чувствительностью 72%. В то же время генотип *0401/*0401 при низкой чувствительности (17,8%) обладает чрезвычайно высокой специфичностью (99,0%), которая выше, чем для РФ (85,0%), что позволяет с высокой долей вероятности устранить возможность ложноположительного диагноза, однако не обладает высокой ценностью для диагностики РА.

Несомненный как научный, так и практический интерес представляет факт взаимодействия АЦЦП и SE, первоначально обнаруженный шведскими и голландскими учеными [25, 26], а затем подтвержденный в ряде других зарубежных [32, 34, 35, 48, 49] и настоящем исследованиях. Необходимо отметить тот факт, что в ряде исследований установлена взаимосвязь между носительством SE, продукцией АЦЦП и табакокурением [19, 50, 51, 52, 53, 54]. В исследовании L.Podyukov с соавт. показано, что риск развития серопозитивного РА у курящих больных, носителей двойной дозы SE, повышен в 34 раза по сравнению с некурящими [20]. Данные наблюдения являются чрезвычайно важными для практического здравоохранения, т.к. устранение такого предрасполагающего к РА фактора внешней среды, как табакокурение (в нашей стране, по последним данным, почти половина населения имеет эту вредную привычку), позволит снизить заболеваемость. В то же время данные о взаимосвязи иммуногенетических, иммунологических параметров, а также табакокурения представляют научный интерес, т.к. данная цепочка взаимосвязанных экзогенных и эндогенных факторов позволит приблизиться к пониманию особенностей патогенеза РА.

Таким образом, в нашем исследовании получены базовые иммуногенетические и иммунологические характеристики выборки больных с недавним началом РА, которые будут служить основой для сопоставления с клинической картиной болезни при дальнейшем динамическом наблюдении.

Анализ полученных данных на первом этапе проспективного исследования позволяет сделать заключение, что АЦЦП, РФ и аллели HLA-DRB1(SE+) являются значимыми маркерами риска развития РА, однако диагностическую ценность имеют только АЦЦП и РФ. Необходимо тестировать оба параметра, т.к. при приблизительно одинаковой достаточно высокой чувствительности выявление АЦЦП обладает более высокой специфичностью, чем РФ, как при сравнении со здоровым контролем, так и больными, имеющими другие, не РА, заболевания, что позволяет избегать ложноположительных диагнозов РА. Кроме того, хорошо известен факт, что позитивность по РФ может меняться на негативность в зависимости от состояния больного, в то время как частота выявления

АЦЦП имеет тенденцию к некоторому увеличению при возрастании длительности болезни [55] и практически не меняется в результате проводимого лечения [56].

При дальнейшем проспективном исследовании будет проанализирована значимость аллелей HLA-DRB1, АЦЦП и РФ и клинических признаков в качестве прогностических маркеров тяжести эрозивного процесса, функциональной недоста-

точности больных. Также будет изучено, влияют ли какие-либо клинические и/или лабораторные характеристики на персистенцию артрита или, наоборот, развитие ремиссии.

Работа выполнена при частичной поддержке грантом Федерального агентства по науке и инновациям № 02.512.11.2092

ЛИТЕРАТУРА

1. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Тюрина Л.Н. и др. Возможности ранней диагностики ревматоидного артрита в клинической практике на современном этапе (результаты наблюдений за московской когортой больных ранним артритом в рамках программы РАДИКАЛ). *Тер. архив*, 2008, 5, 8–13.
2. Ревматология. Клинические рекомендации. Под ред. Е.Л. Насонова. М, ГЭОТАР-Медиа, 2006, 25–71.
3. Насонов Е. Л. Ревматоидный артрит как общемедицинская проблема. *Тер. архив*, 2004, 5, 5–7.
4. Насонов Е. Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита – взгляд в 21 век. *Клин. мед.*, 2005, 6, 8–12.
5. Arnett F.C., Edworthy S.M., Bloch D.A. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 1988, 31, 315–324.
6. Harrison B.J., Symmons D.P., Barrett E.M. et al. The performance of the 1987 ARA classification criteria for the rheumatoid arthritis in a population based cohort of patients with early inflammatory polyarthritis. *J.Rheumatol.*, 1998, 26, 2324–2330.
7. Huizinga T.W., Mashhold K., Breedveld F. et al. Criteria for early rheumatoid arthritis. From Bayes' low revised to new thoughts. *Arthr. Rheum.*, 2002, 5, 1155–1159.
8. Emery P., Breedveld F.C., Dougados M. et al. Early referral recommendation for newly diagnosed rheumatoid arthritis: evidence based development of a clinical guide. *Ann. Rheum. Dis.*, 2002, 61, 290–297.
9. Aletaha D., Breedveld F.C., Smolen J.S. The need for new classification criteria for rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 3333–3336.
10. Lindqvist E., Eberhardt K., Bendtzen K. et al. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, 64, 196–201.
11. Bukhari M., Lunt M., Harrison B.J. et al. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register Study, a large inception cohort. *Arthr. Rheum.*, 2002, 46, 906–912.
12. Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Inter. Med.*, 2005, 11, 1122–1126.
13. Avouac J., Gossec L., Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006, 65, 845–851.
14. Niewold T.B., Harrison M.J., Paget S.A. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis. *O.J.M.*, 2007, 100, 193–201.
15. Quinn M.A., Gough A.K., Green M.J. et al. Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology*, 2006, 45, 478–480.
16. Aho K., Heliövaara M., Maatela J. et al. Rheumatoid factor attending clinical rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1991, 18, 1282–1284.
17. Rantapää-Dahlqvist S., de Jong B.A., Berglin E. et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2003, 48, 2741–2749.
18. Nielen M.M., van Schaardenburg D., Reesink H.W. et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50, 380–386.
19. Van der Helm-van Mil A.H. M., Verpoort K.N., le Cessie S. et al. The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthr. Rheum.*, 2007, 56, 425–432.
20. Padyukov L., Silva C., Stolt P. et al. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50, 3085–3092.
21. Kallberg H., Padyukov L., Plenge R.M. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am. J. Hum. Genet.*, 2007, 80, 867–875.
22. Gregersen P.K., Silver J., Winchester R.J. The shared epitope hypothesis: an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 1987, 30, 1205–1213.
23. Ronningen K.A., Spurkland A., Egeland T. et al. Rheumatoid arthritis may be primarily associated with HLA-DR4 molecules sharing a particular sequence at residues 67–74. *Tissue Antigens*, 1990, 36, 235–240.
24. HLA in health and disease. Ed. R. Lechler, A. Warrens, Academic Press, 2000.
25. Berglin E., Padyukov L., Sundin U. et al. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide

- (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthr. Res. Ther.*, 2004, 6, 303–308.
26. van Gaalen F.A., van Aken J., Huizinga T.W. et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50, 2113–2121.
 27. Гусева И.А., Насонов Е.Л. Современные иммуногенетические и иммунологические аспекты ревматоидного артрита. *Вестн. РАМН*, 2008, 6, 7–13.
 28. Александрова Е.Н., Чемерис Н.А., Каратеев Д.Е. и др. Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду при ревматоидном артрите. *Тер. архив* 2004, 12, 64–68.
 29. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 12–30.
 30. Таукумова Л.А., Гусева И.А. Аллели HLA-DRB1 у пациентов с ревматоидным артритом. *Научно-практич. ревматол.*, 2004, 4, 29–34.
 31. van Venrooij W.J., Zedman A.J.W. Anti-CCP2 antibodies: an overview and perspective of the diagnostic abilities of the serological marker for rheumatoid arthritis. *Clin. Rev. Allerg. Immunol.*, 2008, 34, 36–39.
 32. Huizinga T.W.J., Amos C.I., van der Helm-van Mil A.H.M. et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 3433–3438.
 33. Nishimura K., Sugiyama D., Kogata Y. et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.*, 2007, 146, 797–808.
 34. Vander Cruyssen B., Hoffman I.E., Peene I. et al. Prediction models for rheumatoid arthritis during diagnostic investigation: evaluation of combinations of rheumatoid factor, anti-citrullinated protein/peptide antibodies and the human leucocyte antigen-shared epitope. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, 66, 364–369.
 35. Ligeiro D., Fonseca J.E., Abade O. et al. Influence of human leucocyte antigen-DRB1 on the susceptibility to rheumatoid arthritis and on the production of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in a Portuguese population. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, 66, 246–248.
 36. Weyand C. M., Goronzy J. J. Association of MHC and rheumatoid arthritis: HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis. *Arthr. Res.*, 2000, 2, 212–216.
 37. Gorman J.D., Lum R.F., Chen J.J. et al. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3 240 rheumatoid arthritis patients. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50, 400–412.
 38. Matvey D.L., Thomson W., Ollier W.E. et al. Association of DRB1 shared epitope genotypes with early mortality in rheumatoid arthritis: results of eighteen years of followup from the early rheumatoid arthritis study. *Arthr. Rheum.*, 2007, 56, 1408–1416.
 39. Gonzalez-Gay M.A., Gonzalez-Juanatey C., Lopez-Diaz M.J. et al. HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2007, 57, 125–133.
 40. van der Helm-van Mil A.H., Verpoort K.N., Breedveld F.C. et al. The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2006, 54, 1117–1121.
 41. Irigoyen P., Lee A.T., Wener M.H. et al. Regulation of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis (Contrasting effects of HLA-DR3 and the shared epitope alleles). *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 3813–3818.
 42. van der Helm-van Mil A.H.M., Huizinga T.W., Schreuder G.M.Th. An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 2637–2644.
 43. Verpoort K.N., van Gaalen F.A., van der Helm-van Mil A.H.M. et al. Association of HLA-DR3 with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 3058–3062.
 44. Syversen S.W., Gaarder P.I., Goll G.L. et al. High anti-cyclic citrullinated peptide levels and an algorithm of four variables predict radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis: results from a 10-year longitudinal study. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67, 212–217.
 45. de Vries N., Tijssen H., van Riel P.L., van de Putte L.B. Reshaping the shared epitope hypothesis: HLA-associated risk for rheumatoid arthritis is encoded by amino acid substitutions at positions 67–74 of the HLA-DRB1 molecule. *Arthr. Rheum.*, 2002, 46, 921–928.
 46. du Montcel S. T., Michou L., Petit-Teixeira E. et al. New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthr. Rheum.*, 2005, 52, 1063–1068.
 47. Michou L., Croiseau P., Petit-Teixeira E. et al. Validation of the reshaped shared epitope HLA-DRB1 classification in rheumatoid arthritis. *Arthr. Res. Ther.*, 2006, 8, 109–115.
 48. Gourraud P.-A., Dieudé P., Boyer J.F. et al. A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for autoantibody production in rheumatoid arthritis. *Arthr. Res. Ther.*, 2007, 9, R27.
 49. Karlson E.W., Chibnik L.B., Cui J. et al. Associations between human leukocyte antigen, PTPN22, CTLA4 genotypes and rheumatoid arthritis phenotypes of autoantibody status, age at diagnosis and erosions in a large cohort study. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67, 358–363.
 50. Linn-Rasker S.P., Van der Helm-van Mil A.H., van Gaalen F.A. et al. Smoking is a risk factors for anti-CCP antibodies only in RA patients that carry HLA-

- DRB1 shared epitope alleles. Ann. Rheum. Dis., 2006, 65, 366-371.*
51. Lee H.S., Irigoyen P., Kern M. et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthr. Rheum.*, 2007, 56, 1745-1753.
 52. Pedersen M., Jacobsen S., Garred P. et al. Strong combined gene-environment effects in anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis: a nationwide case-control study in Denmark. *Arthr. Rheum.*, 2007, 56, 1446-1453.
 53. Kallberg H., Padyukov L., Plenge R.M. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22 and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Amer. J. Hum. Genet.*, 2007, 80, 867-875.
 54. Michou L., Teixeira V.H., Pierlot C. et al. Association between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67, 466-470.
 55. Kastbom A., Strandberg G., Lindroos A., Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, 63, 1085-1089.
 55. Meyer O., Nicaise-Roland P., Santos M.D. et al. Serial determination of cyclic citrullinated peptide autoantibodies predicted five-year radiological outcomes in a prospective cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthr. Res. Ther.*, 2006, 8, 40-48.
 56. Alessandri C., Bombardieri M., Papa N. et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNF-alpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, 63, 1218-1221.

Поступила 11.09.08

Abstract

I.A. Guseva, N.V. Demidova, E.L. Luchihina, A.A. Novikov, E.N. Alexandrova, M.N. Boldyreva, I.A. Guskova, D.E. Karateev, E.L. Nasonov

Immunogenetic and immunologic markers of early rheumatoid arthritis. RADIKAL program first stage results

Objective. To assess frequency of immunogenetic (HLA-DRB 1 alleles) and immunologic - anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (ACCP), IgM rheumatoid factor (RF) - parameters and their significance as markers of early rheumatoid arthritis (RA).

Material and methods. HLA-DRB1 alleles, ACCP and IgM RF were evaluated in 95 pts with early RA who fulfilled ACR criteria 1987 with disease duration 2 years or less. In 85,3% of them disease duration was ≤ 12 months. 135 blood donors without autoimmune diseases and relevant compromised inheritance. Basic low-resolving oligo-typing of HLA-DRB 1 gene and high-resolving oligo-typing of HLA-DRB 1*04 alleles was performed with multiplex polymerase chain reaction. ACCP2 and IgM RF levels were evaluated by immunoenzyme assay and nephelometric immunoassay with commercial kits.

Results. Early RA group showed higher frequency of HLA-DRB 1 allele than control group (45,3% and 15,6% respectively, $OR=4,5$, 95% CI 2,3-8,7). *05, *06 and *07 alleles in RA group were significantly less frequent than in control. *0401 allele was most frequent (25,3%) among HLA-DRB 1*04. Double dose SE+/SE+ (double set of any from *01, *0401, *0404, *0405, *0408, *10) was revealed in 33,7% of RA group pts and in 5,2% of cases in control group ($OR=9,3$, 95% CI 3,7-24,6, $p=1 \times 10^{-7}$). Absence of SE alleles (SE-/SE-) in RA group was negatively associated with RA development ($OR=0,28$, 95% CI 0,2-0,5). In RA pts homozygote *0401/*0401 genotype was significantly more frequent among SE+/SE+ genotypes than in control group (17,8% and 1,5% respectively, $OR=14,5$, 95% CI 3,1-93,4, $p<0,0001$). In RA group ACCP diagnostic level was revealed in 60,0% of cases, IgM RF - in 71,6% of cases. Most close relationship existed between ACCP and RF ($r_s=0,66$, $p<0,05$), less prominent - between SE and ACCP ($r_s=0,34$, $p<0,05$). Correlation relationship between SE and RF was not revealed. In presence of at least one SE allele RF concentration was $280,4 \pm 414,3$ IU/ml, in absence - $83,1 \pm 176,1$ IU/ml ($p<0,01$). ACCP level in SE presence and absence was $56,2 \pm 44,6$ IU/ml and $27,5 \pm 41,2$ IU/ml respectively ($p<0,01$).

Conclusion. HLA-DRB 1 (SE+) allele, ACCP and RF are significant markers of early RA development risk but ACCP and RF have diagnostic significance.

Key words: rheumatoid arthritis, HLA-DRB 1 allele, shared epitope (SE), anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (ACCP), rheumatoid factor (RF)