

АЛЛЕЛИ HLA-DRB1 У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Л.А. Таукумова, И.А. Гусева
ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

Резюме

Цель. Изучить распределение частот аллелей HLA-DRB1 и его возможных ассоциаций у пациентов русской популяции с длительно текущим РА.

Материал и методы. В исследование включено 44 пациента с достоверным РА, средний возраст 53,7 г. (30–72), средняя длительность болезни 13,6 л. (5–31). Базисную терапию одним или комбинацией двух препаратов получали 95% больных. Рентгенологическая оценка изменений в кистях и стопах проводилась по методу A. Larsen. HLA-DRB1 типирование выполнено методом ПЦР. Группу контроля составили 135 здоровых доноров крови.

Результаты. Изучение распределения аллелей HLA-DRB1 показало, что больные с РА в 45,5% случаев имели в своем генотипе хотя бы один аллель HLA-DR*04 ($n=27$), в контрольной группе – в 12,6% ($p<0,0005$, $OR=6,3$). В зависимости от серопозитивности по РФ среди пациентов-носителей DRB1*04 аллеля 20 чел. (74%) были РФ+, среди 12 РФ- больных DRB1*04 определялись у 7 (58%). Рентгенологическая деструкция суставов была достаточно выраженной как у пациентов с DR4+, так и с DR4-, 92% и 71%, соответственно. Ретроспективный анализ возможного влияния HLA-статуса на выбор базисного препарата в начале болезни и на момент включения в исследование показал, что в начале болезни применялись аминохинолиновые препараты (АХП) одинаково часто у всех пациентов вне зависимости от DR4-принадлежности. На момент включения в исследование метотрексат несколько чаще назначали как в целом по группе ($p<0,0012$), так и у 12 DR4+ больных (44%), в сравнении с 3 DR4- пациентами (18%), но без значимого отличия ($p>0,05$). У DR4(-) пациентов с меньшей костной деструкцией достоверно чаще применялся сульфасалазин ($p<0,05$). Комбинация базисных препаратов с ГК у DR4+ больных использовалась более активно, но без существенного преимущества. Наличие в генотипе больного HLA-DRB1*04 аллеля определяло его взаимосвязь с фактором времени начала терапии ($r=0,32$, $p<0,04$) и функциональной способностью суставов ($r=0,35$, $p<0,05$).

Заключение. РА у пациентов российской популяции характеризовался высокой частотой носительства DRB1*04 аллеля и низкой частотой DRB1*07 аллеля, выполняющего протективную роль в отношении развития заболевания. Носительство DRB1*04 аллеля, вероятно, можно включить в перечень прогностических факторов течения РА. Необходимо проведение больших проспективных долгосрочных исследований для определения роли специфических генетических маркеров, ассоциированных с тяжестью заболевания, в вопросе стратегии базисной терапии.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, костная деструкция, HLA-DRB1, базисная терапия, факторы прогноза

Ревматоидный артрит (РА) является хроническим аутоиммунным заболеванием с прогрессирующим течением и меняющейся активностью. Клиническая картина болезни варьирует от легкого, недеформирующего поражения суставов с сохранной в течение длительного времени функцией до тяжелого инвалидизирующего эрозивного артрита, который может быть рефрактерным к традиционной базисной терапии [14,35,42].

Предсказать течение болезни довольно сложно, для этого необходимо тщательно анализировать клинические, лабораторные и демографические данные больных [20,26,52,54]. Факторы прогноза РА, ассоциирующиеся с его тяжелыми формами, включают пол, возраст в начале заболевания, высокую воспалительную активность в дебюте болезни, системные проявления, раннее появление костных эрозий, высокий уровень СОЭ и СРБ, наличие ревматоидного фактора (РФ), а также низкие социально-экономический статус и уровень образования пациента.

В последние два десятилетия к факторам неблагоприятного прогноза относят и HLA-DRB1, который, согласно результатам семейных, популяционных и эпидемиологических исследований, участвует в патогенезе РА как важный

болезнь-модифицирующий генетический компонент, определяющий в числе других эндогенных и экзогенных факторов тяжесть заболевания [7,28,32,46,56,57].

Встречаемость некоторых аллелей HLA-DRB1 варьирует среди популяций, и их частота может различаться в зависимости от этнической принадлежности. Исследования показали, что некоторые субтипы HLA-DRB1*01 (*0101,*0102) и HLA-DRB1*04 (*0401, *0404, *0405, *0408) преимущественно выявляются у больных РА европеоидной популяции. В противоположность этому у арабов с РА преобладает HLA-DRB1*03, HLA-DRB1*10 – у индусов-тамиллов, мигрантов, проживающих в Южной Африке, HLA-DRB1*1402 – у индейцев Тлингит – жителей Аляски [24,27,41]. Среди больных РА японцев наблюдается ассоциация с DRB1*0405 [30], у китайцев – с DRB1 *0405 и *0404 [43], у греков и евреев РА ассоциируется с DR1 или DR10 соответственно [11]. Однако не все HLA-DRB1 аллели могут определять подверженность и тяжесть заболевания. Так, HLA-DR2 и генотипы DRB1*03,*07 и DR*05,*07 отвечают за низкую частоту этого заболевания в популяции [17,32,40,47,57].

В России было проведено достаточное количество исследований, изучавших связь РА с HLA-DR4 [2,3]. Так, в работе Д.Б. Яковлевой в 1985 г., выполненной с использованием серологических методов, было показано, что частота HLA-DR4 составила 45,26% против 28,9% в контроле, а

частота DR1 - 16,84% против 29,29% соответственно [3]. Гаплотип, содержащий DR4, встретился у 40% обследованных больных.

Гипотеза "общего эпитопа" (shared epitope - SE) постулирует наличие ассоциативной связи РА с некоторыми аллелями *01 и *04 (*0401, *0404, *0408) HLA-DRB1-локуса, кодирующих общую последовательность аминокислот QKRAA, QRRRA или RRRRA в позициях 70-74 в третьем гипервариабельном регионе (HVR3) в DR β -цепи [13,31]. Этот эпитоп высокого риска выполняет роль интегрального компонента пептид-связывающего паза, представляющего антигена для рецепторов Т-клеток [5,33]. Недавно было показано, что аллели, экспрессирующие DERAА последовательность в позициях 70-74 в HVR3 (HLA-DRB1*0103, *0402, *1102, *1103, *1301, *1302), редко встречались у пациентов с тяжелым РА, что предполагает существование эпитопа низкого риска, оказывающего протективное действие в отношении прогрессирования заболевания [15,22,39,45,60]. Эти находки определяют спектр факторов генетического риска, который не может быть объясним только одним эпитопом высокого риска, но предполагает наличие других HLA-DRB1 аллелей, что в совокупности оказывает двунаправленное влияние на исход РА. Представляется, что генотипирование этих последовательностей в самом начале заболевания может стать ценным предиктором течения болезни и выбора оптимальной базисной терапии.

Немаловажное значение в формировании характера течения и исходов РА придается и такому понятию, как "доза генов" или наличие у больного двух генов чувствительности к РА. Такие пациенты отличались более тяжелыми эрозивными изменениями суставов, высоким риском развития внесуставных проявлений и большей потребностью в хирургическом лечении (эндопротезирование суставов). В недавних исследованиях было показано, что пациенты-носители общего эпитопа (SE), особенно в его "двойной дозе", нуждались в назначении более агрессивной или комбинированной терапии [10,12,29]. Проспективные долгосрочные исследования потребуются для того, чтобы выяснить роль HLA-маркеров в определении как исхода заболевания, так и подбора и эффективности терапии.

Настоящее исследование предпринято с целью изучения распределения частот аллелей HLA-DRB1 и его возможных ассоциаций у пациентов с длительно текущим РА, представителей русской этнической группы.

Материал и методы

В исследование было включено 44 пациента с достоверным РА (2 муж., 42 жен., средний возраст 53,7 г (30-72), средняя длительность болезни 13,6 л (5-31), которые наблюдались в Институте ревматологии РАМН с 1998 по 2002 гг. Все больные соответствовали критериям АКР (1987 г). Терапию базисными препаратами (БП) [аминохинолиновые препараты (АХП), препараты золота, метотрексат, Д-пеницилламин, сульфасалазин] и глюкокортикоидами (ГК) - одним или комбинацией двух препаратов - получали 95% больных (n=42), двое пациентов на момент включения находились в клинико-лабораторной ремиссии без лечения.

Рентгенологическая оценка изменений в кистях и стопах проводилась одним специалистом по методу A. Larsen с использованием стандартных рентгенограмм [18]. Рентгенологическая стадия РА определялась по классификации Steinbrocker.

РФ в сыворотке крови определялся методом латекс-теста.

HLA-DRB1 типирование. Исследование было выполнено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории генетики ревматических заболеваний (зав.лабораторией д.м.н. В.А. Мякоткин). Группу контроля составили 135 здоровых доноров, протестированных в отделе иммуногенетики Института иммунологии МЗ РФ (зав.отделом проф. Л.П. Алексеев) [1].

Основным материалом для исследования служила ДНК, выделенная из мононуклеарных клеток (МК) периферической крови пациентов и тест-доноров.

Выделение ДНК проводили из 10 мл гепаринизированной или обработанной ЭДТА периферической крови обследуемых лиц на градиенте плотности верографин-фикола ($\rho=1,078$) по Воум [4]. ДНК выделяли из МК методом выщелачивания согласно рекомендациям 12 Рабочего совещания по гистосовместимости [36].

Олиготипирование гена HLA-DRB1 проводилось методом ПЦР с использованием набора реагентов "HLA DR - TEX" (производитель - НПО "ДНК-Технология", Москва) согласно инструкции, приложенной к набору.

Олиготипирование аллелей DRB1 проводилось в два этапа. На первом этапе использовались две пары олигонуклеотидных праймеров. Одна пара фланкировала участок ДНК длиной 247 пар оснований, ответственный за полиморфизм всех серологически выявляемых антигенов DR, а вторая пара праймеров ограничивала синтез участка ДНК длиной 243 пары нуклеотидов, который детерминировал полиморфизм только некоторых серологически выявляемых антигенов и их субтипов: DR3 (17,18), DR5 (11,12), DR6 (13,14), DR8. Условия проведения ПЦР на первом этапе: денатурация - 94°C - 1 мин; 7 циклов - 94°C - 20 сек., 67°C - 2 сек.; 28 циклов - 92°C - 1 сек, 65°C - 1 сек., 10°C - хранение.

Наличие амплификационных продуктов проверяли в 1,5% агарозном геле. Амплификация проходила всегда с первой парой праймеров. Реакция со второй парой праймеров зависела от того, имел или не имел индивид в своем генотипе какой-либо аллель из выше перечисленных (DR3, 5, 6, 8).

Образовавшиеся амплификаты служили матрицей для второго этапа ПЦР, в котором использовались наборы из 4 пар группоспецифических праймеров для каждого амплификата. Эти праймеры фланкировали последовательности нуклеотидов, кодирующих аллели DRB1*01, *03, *04, *07, *08, *09, *10, *11(5), *12(5), *13(6), *14(6), *15(2), *16(2), *17(3), *18(3).

ПЦР с 4-мя или 8-ю парами праймеров проводили по следующей программе: 15 циклов - 93°C - 1 сек, 64°C - 2 сек.

Наличие амплификационных продуктов определяли в 3% агарозном геле.

Специфичность образовавшихся продуктов амплификации определяли по их отношению к расположению в агарозном геле относительно полос маркера длин амплифицированных фрагментов.

Статистический анализ выполнен с использованием непараметрических методов Фишера и Манна-Уитни. Корреляционный анализ выполнен с использованием Spearman Rank Order. Различия считались достоверными при $p<0,05$.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1, из которой видно, что пациенты-носители HLA-DRB1*04 не отличались от всей группы по возрасту начала РА, средней длительности болезни, серопозитивности по РФ и выраженности рентгенологической деструкции. Хотя пациентов с более выраженными деструктивными изменениями в суставах (III - IV рентгенологическая стадия по Штейнбрökerу) встретилось несколько больше среди носителей DR4+. Большинство пациентов как в общей, так и в группах с DRB1*04 + и DRB1*04 -, получали в качестве базисной терапии метотрексат изолированно и в комбинации с ГК. Остальные носители HLA-DRB1*04 аллеля (n=9) принимали такие БП, как сульфасалазин, препараты золота, а также ГК.

HLA-DRB1 генотипирование. Представленный в табл. 2 анализ распределения аллелей гена HLA-DRB1 показал, что больные с РА в 45,5% случаев имели в своем генотипе хотя бы один HLA-DR*04 (n=27), в то время как в кон-

Таблица 1

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И ГЕНОТИП АЛЛЕЛЯ DRB1*04

Признак	Все пациенты n=44	DRB1*04+ n=27	DRB1*04 - n=17
Мужчины/женщины	2:42	2:25	0:17
Средний возраст начала болезни, годы (SD)	40,1±11,2	41,3±11,5	38,2±11,3
Средняя длительность заболевания, годы (SD)	13,6±7,7	12,3±7,2	15,6±8,2
РФ +, n (%)	32 (73)	20 (74)	12 (71)
Рентгенологическая стадия (III-IV), n (%)	37 (84)	25 (92)	12 (71)
Индекс Ларсена	61,02±28,9	56,7±26,9	67,8±31,5
Базисная терапия метотрексатом, n (%)	23 (52)	18 (66)	7 (41)

Таблица 2

 РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА HLA-DRB1
У ПАЦИЕНТОВ РА И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ (%)

DRB1	Пациенты n=44	Контроль n=135	p	OR
DRB1*01	13,64	8,15		
DRB1*02 (15)	17,04	14,07		
DRB1*02 (16)	-	6,3		
DRB1*03	4,54	7,78		
DRB1*04	45,45	12,59	0,00001	6.3
DRB1*05 (11)	6,81	13,7		
DRB1*05 (12)	1,13	3,7		
DRB1*06 (13)	6,82	12,96		
DRB1*06 (14)	-	2,59		
DRB1*07	2,27	13,33	0,006	0.15
DRB1*08	2,27	2,59		
DRB1*09	-	0,74		
DRB1*10	-	1,48		

трольной группе DR4 встречался в 12,6% случаев ($p < 0,0005$, $OR = 6,3$). Среди больных 14 (52%) человек являлись гетерозиготами и 13 - гомозиготами по DR4.

Пациенты с аллелем *07 находились в значительном меньшинстве в сравнении с контролем. Таким образом, аллель *07 мог выполнять протективную роль в отношении развития заболевания. Частота аллелей *05, *06 среди больных также имела тенденцию к снижению.

Серопозитивными по РФ были 32 пациента (73%), 12 (27%) - серонегативными. Среди пациентов-носителей аллеля DRB1*04 РФ + были 20 человек (74%), из них гомозиготными оказались 10 пациентов. Среди РФ - больных ($n = 12$) DRB1*04 определялся у 7 (58%). Таким образом, ген DR4 обнаруживался практически с одинаковой частотой вне зависимости от серологического варианта РА.

Рентгенологическая деструкция суставов была достаточно выраженной (III - IV стадия) как у пациентов с DR4+, так и с DR4 -, хотя у последних наблюдалась несколько реже (92% и 71% соответственно). Гомозиготными среди DR4 + пациентов были 11 человек (44%). Однако не было обнаружено ассоциации РФ+ статуса с наличием значительных эрозивных изменений в костях и суставах у больных - носителей DRB1*04.

Нами был проведен ретроспективный анализ возможного влияния HLA-статуса на тяжесть заболевания и связанного с ней выбора БП в начале заболевания и на момент

включения пациентов в настоящее исследование (табл. 3).

Из всех БП в начале болезни чаще назначались АХП и препараты золота. Метотрексат и сульфасалазин, а также комбинации БП с ГК применялись лишь в единичных случаях. Эти данные отражают общепринятую в 70-80 гг. прошлого столетия стратегию базисной терапии: начинать лечение с АХП, а при активном РА использовать парентеральные препараты золота.

Ситуация значительно изменилась в настоящее время. АХП вообще не используются в качестве базисного средства; только у 2 пациентов они применялись в комбинации с ГК. Так же редко назначались препараты золота. На момент исследования метотрексату было отдано явное предпочтение в базисной терапии как по всей группе исследуемых пациентов ($p < 0,0012$), так и у пациентов-носителей DRB1*04, но без значимых отличий. Пациентам, не имевшим в генотипе DRB1*04, с менее выраженными деструктивными изменениями в суставах, достоверно чаще назначался сульфасалазин - препарат, заметно уступающий по эффективности метотрексату. Несколько активнее использовалась комбинация базисных препаратов с ГК у DR4(+) больных, хотя значимых различий между группами не получено. Таким образом, нами не было обнаружено четкой взаимосвязи носительства DRB1*04 с преимущественным назначением более активного базисного препарата для лечения пациентов с РА.

Корреляционный анализ выявил связь между DRB1*04 и фактором раннего начала базисной терапии ($r = 0,32$, $p < 0,04$) и функциональным состоянием суставов ($r = 0,35$, $p < 0,05$). Обнаружение взаимосвязи между фактором времени начала базисной терапии с прогрессированием эрозивных изменений в суставах ($r = -0,31$, $p < 0,025$) указывало на несомненное значение факта раннего назначения БП в отношении темпа развития и степени выраженности костной деструкции. То же относится к выявлению ассоциативной связи времени начала терапии БП со степенью потери функциональной активности пациента ($r = -0,31$, $p < 0,037$).

Обсуждение

Проводимые иммуногенетические исследования продемонстрировали противоречивые результаты относительно роли HLA-статуса при РА. Такие различия, возможно, обусловлены гетерогенностью изучавшихся популяций в работах, анализировавших этническую принадлежность пациентов и тяжесть заболевания. Ассоциативная связь с тяжелым течением РА в различных этнических группах оказывается неоднозначной. Показано наличие такой взаимосвязи с "общим эпителиом", особенно в европейских популяциях [48,49,50,53]. В нашей работе РА в выборке пациентов русской этнической группы характеризовался высокой частотой DRB1*04, что свойственно большинству больных кавказоидной расы. Частота аллелей DRB1*05, DRB1*06 и DRB1*07 по сравнению с контролем, наоборот, оказалась сниженной. Однако у нас отсутствовала возмож-

Таблица 3

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАВШИХ БАЗИСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В НАЧАЛЕ БОЛЕЗНИ
И НА МОМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Базисный препарат (БП)	В начале болезни, n (%)			На момент исследования, n (%)		
	Все пациенты n=44	DR4 + пациенты n=27	DR4 - пациенты n=17	Все пациенты n=44	DR4 + пациенты n=27	DR4 - пациенты n=17
АХП	25 (57)	13 (48)	12 (71)	2 (5)*	2 (7)	—
Препараты золота	13 (29)	8 (30)5	(29)	3 (7)*	1 (4)	2 (12)
Сульфасалазин	1 (2)	—	1 (4)	8 (18)*	2 (7)	6 (35)#
Метотрексат	2 (5)	2 (7)	—	15 (34)*	12 (44)	3 (18)
Д-пеницилламин	2 (5)	2 (7)	—	1 (2)	1 (3)	—
ГК	—	—	—	6 (13)	2 (7)	4 (23)
БП+ГК	1 (2)	1 (4)	—	12 (27)*	9 (33)	3 (17)
Без БП	2 (5)	2 (4)	—	2 (5)	2 (7)	—

* — приведены достоверные значения $p < 0,05$ — различия в частоте назначения базисных препаратов в целом по группе в начале болезни и в момент исследования.

— статистически достоверное различие в частоте назначения сульфасалазина между группами пациентов с DR4(+) и DR4(-).

ность для проведения субтипирования DR4 с целью обнаружения общего эпитопа. Поэтому мы не получили достаточных данных для определения его роли в чувствительности к заболеванию и тяжести РА в данной группе пациентов.

Нами была выявлена ассоциация носительства DRB1*04 аллеля с тяжестью заболевания, а именно со степенью костной деструкции у больных РА. Это соответствует данным ряда авторов, которые показали прямую взаимосвязь данного носительства и преимущественную экспрессию HLA-DRB1*04 аллеля при тяжелом РА у кавказоидов. Несмотря на малую выборку исследованных пациентов, полученные нами результаты согласуются со многими работами, использовавшими клинические и рентгенологические показатели тяжести заболевания [8,9,19,22,23,25,34,44,49,51,56]. Установлено, что HLA-DRB1*0401 является основным аллелем (эпитопом высокого риска) при РА у европейцев кавказоидной расы, в то время как HLA-DRB1*0101 и другие аллели, по-видимому, определяют подобный генетический риск у больных Центральной Америки и других географических регионов мира. Была продемонстрирована корреляция эпитопа высокого риска с высоким индексом Ричи, внесуставными проявлениями, эрозивным поражением костей и суставов, снижением функциональной способности суставов и потребностью в хирургическом лечении. В то же время доказана определенная взаимосвязь между тяжестью РА и дозой генов и высказано предположение о наличии эпитопа низкого риска (DERAA), указывающего на низкую чувствительность к заболеванию и его медленную прогрессию [16,59]. Хотя мы не смогли определить эпитопы высокого и низкого риска гена HLA-DRB1 у наших пациентов, нами была обнаружена взаимосвязь носительства HLA-DRB1*04 с эрозивным процессом в суставах и их функциональной способностью, а также временем начала базисной терапии — раннее назначение БП сопровождалось меньшей степенью деструкции суставов.

Остается дискуссионным вопрос относительно роли соотношения тяжесть/генетическая предрасположенность в выборе БП для лечения РА. На различия в агрессивности

терапии между различными генетическими группами и в предпочтении того или иного БП может существенным образом сказываться стратегия терапии, применяемая в данное время у больных РА. Используемые в настоящее время БП оказывают большое влияние на обычные зависимые показатели ревматоидного процесса, такие как активность заболевания, функция суставов и рентгенологическая деструкция [6,21,37,38,55]. Поэтому генотип, ассоциированный с тяжелым РА, должен стать определяющим фактором в назначении более агрессивной ранней терапии, в выборе более активного базисного препарата, каким является, в частности, метотрексат [10,12,29]. Так, в недавнем исследовании было указано, что серопозитивным пациентам с HLA-DRB1*0404/0401, страдающим более тяжелым РА, а также пациентам с DRB1*10, несущим дополнительные аллели с общим эпитопом, предпочтительнее назначать метотрексат [10]. В своей работе мы также отметили, что пациенты с HLA-DRB1*04 несколько чаще принимали метотрексат и комбинацию метотрексата и ГК. При этом чаще применялся сульфасалазин у больных, не имевших в генотипе DRB1*04, отличающихся менее выраженной костной деструкцией, что, возможно, определяло выбор в качестве БП менее активного средства.

Таким образом, результаты нашей работы, выполненные на небольшой группе пациентов, следует оценивать как предварительные. Такие факторы, как высокая клинико-лабораторная активность в начале болезни, серопозитивность по РФ и выраженность костной деструкции, уже зарекомендовавшие себя как важные факторы прогноза РА, должны стать определяющими в отношении назначения ранней и агрессивной базисной терапии, способной затормозить, а по возможности предотвратить прогрессирование заболевания. Носительство HLA-DRB1*04, вероятно, может пополнить перечень прогностических показателей течения РА. Поэтому необходимо проведение проспективных исследований с включением достаточного числа больных для уточнения роли ассоциированных с тяжестью заболевания генетических маркеров в определении стратегии базисной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евсеева И.В., Болдырева М.Н., Грудакова Е. и др. Иммуногенетическая характеристика коренных народностей Севера европейской территории России. Иммунология, 2001, 5, 22-26.
2. Клинико-генетические аспекты ревматических заболеваний. Л.И. Беневоленская. В.А. Мякоткин, М.Ондрашик, Б.Гемер. - М., Медицина, 1989, 99-141.
3. Яковлева Д.Б., Беневоленская Л.И., Орлов-Морозов А.В., Калинина Н.М. HLA-DR при ревматоидном артрите. Тер. архив., 1981., 184.
4. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1968, 21, 97, 77-82.
5. Brown J.N., Jardetzky T.S., Gorga J.C. et al. Three-dimensional structure of the human class 2 histocompatibility antigen HLA-DR1. Nature, 1993, 364, 33-39.
6. Combe B., Dougados M., Goupille P. et al. Prognostic factors for radiographic damage in early rheumatoid arthritis: a multiparameter study. Arthr. Rheum., 2001, 44, 1736-43.
7. Combe B., Eliaou J-F., Daures J-P. et al. Prognostic factors in rheumatoid arthritis. Comparative study of two subsets of patients according to severity of articular damage. Br. J. Rheumatol., 1995, 34, 529-534.
8. Crilly A., Maiden N., Capell H.A., Madhok R. Genotyping for disease associated HLA-DR beta alleles and the need for early joint surgery in rheumatoid arthritis: a quantitative evaluation. Ann. Rheum. Dis., 1999, 58, 114-117.
9. Del Rincon I., Escalante A. HLA-DRB1 alleles associated with susceptibility or resistance to rheumatoid arthritis, articular deformities, and disability in Mexican Americans. Arthr. Rheum., 1999, 42, 1329-1338.
10. Fries J.F., Wolfe F., Apple R. et al. HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity and treatment bias. Arthr. Rheum., 2002, 40, 2320-2329.
11. Gao X., Gazit E., Livneh A., Sasny P. Rheumatoid arthritis in Israeli Jews: Shared sequences in the third hypervariable region of DRB1 alleles are associated with susceptibility. J. Rheumatol., 1991, 18, 801-803.
12. Gonzalez-Gay M.A., Hajeer A.H., Garcia-Portua C. et al. Patients chosen for treatment with cyclosporine because of severe rheumatoid arthritis are more likely to carry HLA-DRB1 shared epitope alleles, and have earlier disease onset. J. Rheumatol., 2002, 29, 271-275.
13. Gregerson 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, 1205-12013.
14. Harris E.D. Jr. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. N. Engl. J. Med., 1990, 322, 1277-1289.
15. Khani-Hanjani A., Horne C., Lacaille D. et al. HLA-class 2 gene frequencies and disease severity in rheumatoid arthritis [abstract]. J. Rheumatol., 1998, 25, suppl. 52, 45.
16. Khani-Hanjani A., Lacaille D., Horne C. et al. Expression of QK/QR/RRRAA or DERRAA motifs at the third hypervariable region of HLA-DRB1 and disease severity in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 2002, 29, 1358-1365.
17. Larsen B.A., Alderdice C.A., Hawkin D., et al. Protective HLA-DR phenotypes in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1989, 16, 455-458.
18. Larsen A., Dale K., Eek M. Radiographic evaluation of rheumatoid arthritis and related conditions by standard reference films. Acta Radiol. Diagn. 1977, 45, 491-497.
19. MacGregor A., Ollier W., Thomson W., et al. HLA-DRB1*401/404 genotype and rheumatoid arthritis: increased association in men, young age at onset and disease severity. J. Rheumatol., 1995, 22, 1032-1036.
20. Masi A.T., Maldonado-Cocco J.A., Kaplan S.B. et al. Prospective study of the early course of rheumatoid arthritis in young adults: comparison of patients with and without rheumatoid factor positivity at entry and identification of variables correlating with outcome. Semin. Arthr. Rheum., 1976, 4, 299-326.
21. Matvey D.L., Hassel A.B., Dawes P.T. et al. Independent association of rheumatoid factor and the HLA-DRB1 shared epitope with radiographic outcome in rheumatoid arthritis. Arthr. Rheum., 2001, 44, 1529-1533.
22. Matvey D.L., Hassel A.B., Plant M.J. The influence of HLA-DRB1 alleles encoding the DERRAA amino acid motif on radiological outcome in rheumatoid arthritis. Rheumatol., 1999, 38, 1221-1227.
23. Meyer J.M., Evans T.I., Small R.E. et al. HLA-DRB1 genotype influences risk for and severity of rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1999, 26, 1024-1034.
24. Mody G.M., Hammond M.G. Differences in HLA-DR association with rheumatoid arthritis among migrant Indian communities in South Africa. Br. J. Rheumatol., 1994, 33, 425-427.
25. Moreno I., Valenzuela A., Garcia A. et al. Association of the shared epitope with radiological severity of rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1996, 23, 6-9.
26. Morgan G.J., Chow W.S. Clinical features, diagnosis and prognosis in rheumatoid arthritis. Curr. Opin. Rheumatol., 1993, 5, 184-190.
27. Nelson J.L., Boyer G., Templin D. et al. HLA antigens and Tlingit Indians with rheumatoid arthritis. Tissue Antigens, 1992, 40, 57-63.
28. Nepom G.T., Gersuk V., Nepom B.S. Prognostic implications of HLA genotyping in the early assessment of patients with rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1996, 23, suppl. 44, 5-9.
29. O'Dell J.R., Nepom B.S., Haire C. et al. HLA-DRB1 typing in rheumatoid arthritis: predicting response to specific treatments. Arthr. Rheum., 1998, 57, 209-213.
30. Ohta N., Nishimura Y.K., Tanimoto K. et al. Association between HLA and Japanese patients with rheumatoid arthritis. Hum. Immunol., 1982, 5, 123.
31. Ollier W.E.R., Hajeer A. Does the HLA-DRB1 shared epitope really contribute that much to the development or severity of rheumatoid arthritis? In: Isenberg D.A., Tucker L.B., editors. Controversies in Rheumatology. London, Martin Dunitz, 1997, 1-12.
32. Ollier W., Thomson W. Population genetics of rheumatic diseases. Rheum. Dis. Clin. North. Am., 1992, 741-759.
33. Penzotti J.E., Doherty D., Lybrand T.P., Nepom G.T. A structural model for TCR recognition of the HLA class 2 shared epitope sequence implicated in susceptibility to rheumatoid arthritis. J. Autoimmun., 1996, 9, 287-293.
34. Perdriger A., Charles G., Semana G. et al. Role of HLA-DR-DR and DR-DQ associations in the expression of extraarticular manifestations and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1997, 24, 1272-1276.
35. Pincus T., Callachan L.F., Vaughn W.K. Questionnaire, walking time and button test measures of functional capacity as predictive markers for mortality in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1987, 14, 240-251.
36. Proceedings of the Twelfth International Histocompatibility Workshop and the Conference, V.II, 1997, EDK, Paris, France. Ed. By D. Charron., 584-595.
37. Rau R., Herborn G., Zueger S., Fenner H. The effect of HLA-DRB1 genes, rheumatoid factor, and treatment on radiographic disease progression in rheumatoid arthritis over 6 years. J. Rheumatol., 2000, 27, 2566-2575.
38. Reveille J.D., Alarcon C.S., Fowler S.E. et al. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis. Arthr. Rheum. 1996, 39, 1802-1807.
39. Revirion D., Perdriger A., Toussiot E. et al. Influence of shared epitope-negative HLA-DRB1 alleles on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis. Arthr. Rheum. 2001, 44, 535-540.
40. Salvarini C., Macchioni P., Mantovani W. et al. Extraarticular manifestations of rheumatoid arthritis and HLA antigens in northern Italy. J. Rheumatol., 1992, 19, 242-246.
41. Sattar M.A., Al-Saffar M., Guindi R.T. et al. Association between HLA DR antigens and rheumatoid arthritis in Arabs. Ann. Rheum. Dis., 1990, 49, 147-149.
42. Scott D.L., Symmons D.P., Couton B.L., Popert A.J. Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years. Lancet, 1987, 1, 1108-1111.
43. Seglias J., Li E.K., Cohen M.G. et al. Linkage between rheumatoid arthritis susceptibility and the presence of HLA-DR4 and DR beta allelic third hypervariable region sequences in southern Chinese persons. Arthr. Rheum., 1992, 35, 163.
44. Seidl C., Koch U., Buhleier T. et al. Association of (Q)R/KRRAA positive HLA-DRB1 alleles with disease progression in early active and severe rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1999, 26, 773-776.

45. Seidl C., Korbiter J., Badenhop K. et al. Protection against severe disease is conferred by DERA-bearing HLA-DRB1 alleles among HLA-DQ3 and HLA-DQ5 positive rheumatoid arthritis patients. *Hum. Immunol.*, 2001, 62, 523-529.
46. Sellick K., Littlejohn G., Wallace C. Over R. Identifying subclasses of patients with rheumatoid arthritis through cluster analysis. *J. Rheumatol.*, 1990, 17, 1613-1619.
47. Singal D.P., Reid B., Green D. et al. DNA restriction fragment length polymorphism of HLA-DR2 haplotypes in normal individuals and in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1990, 49, 143-146.
48. Suarez-Almazor M.E., Tao S., Moustarak F. et al. HLA-DR1, DR4 and DRB1 disease related subtypes in rheumatoid arthritis. Association with susceptibility but not severity in a city wide community based study. *J. Rheumatol.*, 1995, 22, 2027-2033.
49. Thomson W., Harrison B., Ollier B. et al. Quantifying the exact role of HLA-DRB1 alleles in susceptibility to inflammatory polyarthritis: results from a large, population-based study. *Arthr. Rheum.*, 1999, 42, 757-762.
50. Thomson W., Pepper L., Payton T. et al. Absence of an association between HLA-DRB1*04 and RA in newly diagnosed cases from the community. *Ann. Rheum. Dis.*, 1993, 52, 539-541.
51. Toussiot E., Auge B., Tiberghien P. et al. HLA-DRB1 alleles and shared amino acid sequences in disease susceptibility and severity in patients from eastern France. *J. Rheumatol.*, 1999, 26, 1446-1451.
52. Van der Heijde D.M.F.M., van Riel P.L.C.M., van Leeuwen M.A. et al. Prognostic factors for radiographic damage and physical disability in early rheumatoid arthritis: a prospective follow-up study of 147 patients. *Br. J. Rheumatol.*, 1992, 31, 519-525.
53. Van Zeben D., Hazes J.M.W., Zwinderman A.H. Association of HLA-DR4 with a more progressive disease course in patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 1991, 34, 822-830.
54. Van Zeben D., Hazes J.M.W., Zwinderman A.H. et al. Factors predicting outcome of rheumatoid arthritis: results of a follow-up study. *J. Rheumatol.*, 1993, 20, 1288-1296.
55. Wagner U., Kaltenhauser S., Sauer H. et al. HLA markers and prediction clinical course and outcome in rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 1997, 40, 341-351.
56. Weyand C.M., Goronzy J.J. Inherited and noninherited risk factors in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 1995, 7, 206-213.
57. Weyand C.M., Hicok K.C., Conn D.L., Goronzy J.J. The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.*, 1992, 117, 801-806.
58. Weyand C.M., Xie C., Goronzy J.J. Homozygosity for the HLA-DRB1 allele selects for extraarticular manifestations in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.*, 1992, 89, 2033-2039.
59. Zanelli E., Gonzalez-Gay M.A., David C.S. Could HLA-DRB1 be the protective locus in rheumatoid arthritis? *Immunol. Today*, 1995, 16, 274-278.
60. Zanelli E., Vos Koen, Visser H. et al. HLA-DQ-associated predisposition to and dominant HLA-DR-associated protection against rheumatoid arthritis. *Rheumatol.*, 2001, 40, 133-139.

Поступила 17.01.03

Abstract

L.A. Tuukumova, I.A. Guseva

HLA-DRB1 ALLELES IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Objective. To examine the distribution of HLA-DRB1 alleles frequency in pts (pts) with protracted rheumatoid arthritis in Russian population.

Material and methods. 44 pts with RA (ACR criteria) with a mean age 53,7 yrs (30-72), a mean disease duration 13,6 yrs (5-31) were included. 95% of pts were taken a monotherapy or combination of DMARDs. Radiographic damage assessment in wrists and feet was examined by Larsen method. HLA-DRB1 typing was performed using PCR method. 135 health donors were a control group.

Results. 27 RA pts had HLA-DRB1*04 alleles (45,5%), in control - in 12,6%, respectively ($p < 0,0005$, $OR = 6,3$). DRB1*04 positive pts were 24 RF(+), along 12 RF(-) pts DR4-positive were 7 pts (74% versus 58%). Radiographic destruction was equally severe both in DR4(+) pts and DR4(-) pts, 92% and 71% respectively (NS). Retrospective analysis of determination of the influence of DMARD choice showed that Antimalarics were applied at the onset of disease. At the present time Methotrexate was frequently administered both in all pts ($p < 0,0012$) and in 12 DR4(+) pts (44%) in comparison with 3 DR4(-) pts (18%), (NS). The DR(-) pts who had moderate joint damage were taken Sulphasalazine. Combination therapy with DMARD and steroids was used more active in pts with DRB1*04 (NS). HLA-DRB1*04 had an association with factor of beginning time of DMARDs therapy ($r = 0,32$, $p < 0,04$) and a functional activity ($r = 0,35$, $p < 0,05$).

Conclusion. The previously results showed that RA in Russian population is associated with a high frequency of DRB1*04 alleles and low frequency of DRB1*07 which had a protective role for disease course. HLA-DRB1*04 possibly could be included in the list of prognostic factors of RA. Large prospective long-term investigations are needed for the determination of specific genetic markers at the onset of RA that may be valuable for predicting the disease severity and selecting appropriate therapy.

Key words: *rheumatoid arthritis, joint damage, DMARDs therapy, HLA-DRB1 genotypes, prediction factors*