

Антитела к различным посттрансляционным модификациям виментина у больных ревматоидным артритом

Кузнецова П.А.¹, Маслянский А.Л.¹, Лапин С.В.², Мазинг А.В.², Бэнг Х.³, Мазуров В.И.⁴

¹ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия; ³Отдел исследований и разработок, «Орджентек Диагностика», Майнц, Германия; ⁴ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

¹197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2; ²197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8;

³55129, Mainz, Germany, Carl-Zeiss-Straze, 49; ⁴191015, Санкт-Петербург, ул. Кировная, 41

Ревматоидный артрит (РА) — наиболее распространенное аутоиммунное ревматическое заболевание (АРЗ), ассоциированное с продукцией широкого спектра антител, определение которых имеет важное диагностическое и прогностическое значение. Проблемы диагностики РА связаны с ограниченной чувствительностью применяемых в настоящее время серологических маркеров.

Цель исследования — оценка диагностической информативности аутоантител к различным посттрансляционным модификациям (ПТМ) виментина у пациентов с РА и другими АРЗ.

Паценты и методы. Оценивали встречаемость аутоантител к различным изоформам виментина у 144 пациентов с РА, 36 больных с другими АРЗ (анкилозирующий спондилоартрит и системная склеродермия), а также у 25 пациентов контрольной группы, не страдавших ревматическими заболеваниями. Определяли антитела к различным ПТМ виментина, полученным методами цитруллинирования, карбамилрования/гомоцитруллинирования и ацетилирования. Аутоантитела к цитруллинированному (anti-citrullinated vimentin peptide, анти-CitVim), карбамилрованному (anti-carbamylated vimentin peptide, анти-CarVim) и ацетилированному (anti-acetylated vimentin peptide, анти-AcVim) виментину классов IgG и IgA оценивали в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Как показали результаты исследования, максимальной площадью под характеристической кривой (AUC) оказалась у анти-CitVim IgG и IgA — 0,859 и 0,855 соответственно. Немного меньшая AUC была у анти-CarVim IgG (0,85), анти-AcVim IgG (0,784) и анти-AcVim IgA (0,651). Диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность для анти-CitVim IgG составили 66,2 и 96,77%, анти-CitVim IgA — 60,56 и 91,94%, анти-CarVim IgG — 91,55 и 53,23%, анти-AcVim IgG — 63,38 и 93,55% и анти-AcVim IgA — 49,3 и 70,97% соответственно.

Позитивность по анти-CitVim, анти-CarVim и анти-AcVim класса IgG, а также анти-CitVim IgA значительно чаще выявлялась у больных РА, чем у пациентов с другими АРЗ и в контрольной группе ($p < 0,05$).

Таким образом, выявленные аутоантитела к модифицированным пептидам виментина оказались диагностически полезными серологическими маркерами при РА. Анти-CarVim и анти-AcVim класса IgA могут быть также использованы в диагностике РА у пациентов, серонегативных по ревматоидному фактору и антителам к циклическому цитруллиновому пептиду.

Выводы. При установленных значениях верхней границы нормы для анти-CitVim IgG — 20 ед/мл, анти-CitVim IgA — 8,95 ед/мл, анти-CarVim IgG — 6,25 ед/мл, анти-AcVim IgG — 17,1 ед/мл, анти-AcVim класса IgA — 9,85 ед/мл аутоантитела к различным изоформам виментина рекомендуются к применению в качестве дополнительных лабораторных тестов для диагностики РА.

Ключевые слова: антитела; аутоантитела к различным посттрансляционным модификациям виментина; ревматоидный артрит; модифицированные формы виментина; цитруллинированный виментин; карбамилрованный виментин; ацетилированный виментин.

Контакты: Полина Андреевна Кузнецова; olejnik.polina@yandex.ru

Для ссылки: Кузнецова ПА, Маслянский АЛ, Лапин СВ и др. Антитела к различным посттрансляционным модификациям виментина у больных ревматоидным артритом. Современная ревматология. 2017;11(3):44–49.

Antibodies against post-translationally modified vimentin peptides in patients with rheumatoid arthritis

Kuznetsova P.A.¹, Maslyanskiy A.L.¹, Lapin S.V.², Mazing A.V.², Bang H.³, Mazurov V.I.⁴

¹V.A. Almazov North-Western Federal Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia; ²Acad. I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia; ³Research and Development Department, Orgentec Diagnostika, Mainz, Germany; ⁴I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia

¹2, Akkuratov St., Saint Petersburg 197341; ²6-8, Lev Tolstoy St., Saint Petersburg 197022; ³Carl-Zeiss-Straze 49, 55129, Mainz, Germany; ⁴41, Kirochnaya St., Saint Petersburg 191015

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common autoimmune rheumatic disease (ARD) associated with the production of broad-spectrum antibodies, the detection of which is of important diagnostic and prognostic values. The problems of RA diagnosis are associated with the limited sensitivity of currently used serological markers.

Objective: to evaluate the diagnostic informative value of autoantibodies against different post-translationally modified (PTM) vimentin peptides in patients with RA and other ARDs.

Patients and methods. The frequency of autoantibodies against different isoforms of vimentin was estimated in 144 patients with RA, in 36 patients with other ARDs (ankylosing spondylitis and scleroderma systematica), and in 25 patients of a control group, who had no rheumatic diseases. Antibodies against different PTM vimentin peptides obtained using citrullination, carbamylation/homocitrullination, and acetylation were determined. Anti-citrullinated vimentin (anti-CitVim) peptide, anti-carbamylated vimentin (anti-CarVim) peptide, and anti-acetylated vimentin (anti-AcVim) peptide autoantibodies of IgG and IgA classes were estimated in the serum by enzyme immunoassay.

Results. The results of the study showed that IgG and IgA anti-CitVim had the maximum area under the ROC curve (AUC) (0.859 and 0.855, respectively). A slightly smaller AUC was seen in IgG anti-CarVim (0.85), IgG anti-AcVim (0.784), and IgA anti-AcVim (0.651). The diagnostic sensitivity and diagnostic specificity were 66.2 and 96.77% for IgG anti-CitVim, 60.56 and 91.94% for IgA anti-CitVim, 91.55 and 53.23% for IgG anti-CarVim, 63.38 and 93.55% for IgG anti-AcVim, and 49.3 and 70.97%, IgA anti-AcVim, respectively.

Positivity for IgG anti-CitVim, IgG anti-CarVim, and IgG anti-AcVim, and anti-IgA CitVim was significantly more frequently detected in patients with RA than in those with other ARDs and in the control group ($p < 0.05$).

Thus, the identified autoantibodies against modified vimentin peptides proved to be diagnostically useful serological markers in RA. IgA anti-CarVim and IgA anti-AcVim can also be used in the diagnosis of RA in patients who are seronegative for rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies.

Conclusion. When the upper reference limits are set for IgG anti-CitVim (20 U/ml), IgA anti-CitVim (8.95 U/ml), IgG anti-CarVim (6.25 U/ml), IgG anti-AcVim (17.1 U/ml), and IgA anti-AcVim (9.85 U/ml), antibodies against different isoforms of vimentin are recommended for use as additional laboratory tests to diagnose RA.

Keywords: antibodies; autoantibodies against different post-translationally modified vimentin peptides; rheumatoid arthritis; modified forms of vimentin; citrullinated vimentin; carbamylated vimentin; acetylated vimentin.

Contact: Polina Andreevna Kuznetsova; olejnik.polina@yandex.ru

For reference: Kuznetsova PA, Maslyanskiy AL, Lapin SV, et al. Antibodies against post-translationally modified vimentin peptides in patients with rheumatoid arthritis. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2017;11(3):44–49.

DOI: <http://dx.doi.org/10/14412/1996-7012-2017-3-44-49>

Ревматоидный артрит (РА) – классическое аутоиммунное заболевание, в патогенезе которого важная роль отводится активации В-клеточного звена иммунной системы и продукции широкого спектра различных аутоантител [1].

Основными серологическими маркерами РА являются ревматоидный фактор (РФ) и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), которые были включены в последний пересмотр классификационных критериев РА 2010 г. [2, 3]. Под термином «ревматоидный фактор» понимают семейство аутоантител, распознающих Fc-фрагмент молекулы IgG [4, 5]. РФ может быть выявлен в сыворотке крови 60–80% больных РА, однако недостатком данного биомаркера является сравнительно низкая специфичность [6]. АЦЦП превосходят по диагностической ценности РФ и используются, как правило, для распознавания ранних стадий РА [7–9]. В настоящее время определение только основных серологических маркеров (РФ и АЦЦП) не позволило окончательно решить проблему лабораторной диагностики серонегативного РА.

Высокие диагностическая чувствительность (ДЧ) и диагностическая специфичность (ДС) аутоантител к цитруллинированным белкам (АЦБ) у больных РА связаны с участием процессов цитруллинирования в формировании аутоантигенов, вовлеченных в патогенез данного заболевания. Цитруллинирование виментина приводит к изменению структурного строения белка и, таким образом, появлению большого количества иммунодоминантных эпитопов, которые в дальнейшем могут стать мишенями для АЦБ. В настоящее время основным методом выявления АЦБ в клинической практике является иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием в качестве аутоантигена синтетического циклического цитруллинированного пептида (ЦЦП).

В лабораторной диагностике РА особое внимание уделяется другому представителю семейства АЦБ – аутоанти-

телам к модифицированному цитруллинированному виментину [10]. Виментин в отличие от ЦЦП является естественным человеческим белком с известной структурой, который определяется в синовиальной жидкости при РА [11]. Если в составе синтетического ЦЦП имеется лишь 1 или 2 возможных для посттрансляционной модификации эпитопа, то белок виментин содержит до 45 возможных доменов, которые могут подвергаться цитруллинированию. У пациентов с РА в синовиальной оболочке и сыворотке крови при использовании метода масс-спектропии были выделены молекулы белка виментина, которые подвергались посттрансляционным модификациям [12].

В настоящее время продолжается поиск новых серологических маркеров, которые способны повысить ценность используемых аутоантител в диагностике РА. Наряду с цитруллинированием могут иметь значение и другие варианты модификаций белковых молекул *in vivo*: в том числе ацетилирование и карбамилирование (гомоцитруллинирование). В зарубежной литературе имеются немногочисленные данные о том, что аутоиммунные реакции против посттрансляционных модифицированных антигенов характерны для аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ) [12, 13]. Относительно недавно в сыворотках крови пациентов с РА были выявлены аутоантитела к карбамилированным isoформам виментина (anti-carbamylated vimentin peptide, anti-CarVim), которые обладали определенным прогностическим значением: их присутствие ассоциировалось с более тяжелыми клиническими проявлениями заболевания [12].

Таким образом, диагностическая значимость аутоантител к карбамилированным и ацетилированным пептидам, в том числе виментину, остается неизученной. Возможно, получение новых isoформ виментина путем превращения аргининовых остатков в цитруллин, а также с помощью гомоцитруллинирования (карбамилирования) и ацетилирова-

Таблица 1. Клиническая характеристика групп пациентов

Показатель	Группа обследованных			Достоверность различий (p)
	РА	АРЗ	контроль	
Число больных, n	144	36	25	—
Мужчины/женщины, n	35/109	21/16	9/16	<0,05
Возраст, годы, Me [25; 75 перцентили]	53,0 [47,0; 60,0]	46,0 [24,0; 63,0]	44,0 [26,0; 52,0]	<0,05
Длительность заболевания, мес, M±SD	23,0±47,0	71,0±92,0	—	>0,05
СОЭ, мм/ч, Me [25; 75 перцентили]	29,6 [15,0; 40,0]	17,4 [10,0; 24,0]	2,3 [1,5; 13]	<0,05
СРБ, ед/мл, Me [25; 75 перцентили]	39,5 [5,9; 44,12]	5,1 [1,5; 5,3]	2,1 [1,2; 4,3]	<0,05
Позитивность по РФ IgM, n, %	104 (72,2)	—	—	—
Позитивность по АЦЦП, n, %	91 (63,2)	—	—	—

ния в дальнейшем поможет выявить новые серологические маркеры для дифференциальной диагностики АРЗ.

Цель настоящего исследования — оценка диагностической информативности определения аутоантител к различным ПТМ виментина, полученным цитруллинированием, карбамилрованием и ацетилированием, у пациентов с РА по сравнению с пациентами с другими формами АРЗ, а также с контрольной группой.

Пациенты и методы. В исследование включено 144 больных РА, 36 больных с другими АРЗ, в том числе 19 пациентов с анкилозирующим спондилоартритом (АС) и 17 с системной склеродермией (ССД), а также 25 пациентов контрольной группы, не страдавших ревматическими заболеваниями. Характеристика групп пациентов представлена в табл. 1.

Диагнозы верифицированы на основе типичных клинических, биохимических, гистологических и серологических данных, согласно соответствующим классификационным критериям для каждого АРЗ: критерии ACR/EULAR 2010 г. [2] для РА, Нью-Йоркские классификационные критерии [14] для АС и критерии ACR (ARA) 1980 г. [15] для ССД. Как следует из табл. 1, большинство больных РА с длительностью заболевания 23±47,0 мес были женского пола, средний возраст — 53,0 [47,0; 60,0] года.

Маркер РФ IgM определяли латекс-иммунотурбидиметрическим методом в соответствии с инструкцией производителя тест-системы фирмы Roche Diagnostics (Германия). Концентрацию РФ >15 МЕ/мл расценивали как положительный результат. АЦЦП определяли методом ИФА, согласно инструкции завода-изготовителя Euroimmun AG. (Любек, Германия). Результаты выражали в относительных единицах (RU/ml = ед/мл). Положительными считали показатели >5 ед/мл в соответствии с рекомендациями производителя.

Пептиды виментина были получены методами твердофазного синтеза с цитруллинированием, карбамилрованием и ацетилированием ряда аминокислотных остатков. Аутоантитела к цитруллинированному виментину (anti-citrullination vimentin peptide, анти-CitVim), анти-CarVim и аутоантитела к ацетилированному виментину (anti-acetylated vimentin peptide, анти-AcVim) классов IgG и IgA оценивали с помощью ИФА в сыворотках крови пациентов с РА, а также с другими АРЗ и в контрольной группе. Тест-система предоставлена отделом исследований и разработок «Орджентек Диагностика» (Майнц, Германия). Для каждой груп-

пы аутоантител к полученным синтетическим изоформам виментина в основной группе больных РА были определены значения верхней границы нормы (ВГН) в сравнении с группой пациентов с АРЗ и группой контроля (табл. 2). ВГН рассчитывали с помощью ROC-анализа и построения ROC-кривых с использованием программной системы GraphPad Prism 6.0.

Для обработки полученных данных применяли программу Statistica for Windows (версия 5.5). В случае ненормального характера распределения выборки анализируемые параметры были представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25-й и 75-й перцентили), а в случае нормального распределения среднее значение вычисляли в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение (M±SD). Использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскелла-Уоллиса. Различия считали достоверными при p<0,05.

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» (Санкт-Петербург). Пробирки с сывороткой крови хранили при температуре -20 °C и в дальнейшем использовали для выявления антител.

Результаты. Диагностическую значимость аутоантител к различным посттрансляционным модификациям виментина оценивали по следующим показателям: площадь под характеристической кривой (AUC), ДЧ, ДС, отношение правдоподобия положительных результатов, отношение правдоподобия отрицательных результатов. Определение уровня аутоантител в группах пациентов с РА и АРЗ, а также в контрольной группе позволило провести ROC-анализ, задачами которого являлись сопоставление диагностической ценности тестов между собой и определение оптимальных пороговых уровней для разных задач клинической диагностики. При проведении ROC-анализа для расчета ВГН использовали уровень аутоантител у больных РА в сравнении с группой больных, в которую вошли пациенты с другими АРЗ, и группой контроля. Оптимальные значения ВГН представлены в табл. 2.

По данным ROC-анализа, максимальная AUC для анти-CitVim IgG составила 0,859, анти-CitVim IgA — 0,855 и анти-CarVim IgG — 0,851, что указывает на «очень хорошее» качество и высокую клиническую эффективность этих тестов. Другие серологические показатели значительно уступали трем указанным тестам, однако также были диагностиче-

О Р И Г И Н А Л Ь Н Ы Е И С С Л Е Д О В А Н И Я

Таблица 2. Диагностические параметры аутоантител к различным изоформам виментина при РА

Показатель	Аутоантитела к различным изоформам виментина (n=144)					
	анти-CitVim IgG	IgA	анти-CarVim IgG	IgA	анти-AcVim IgG	IgA
ВГН, ед/мл	20	8,95	6,25	14,3	17,1	9,85
AUC	0,849***	0,842***	0,840***	0,564	0,784***	0,661***
ДЧ, %	66,2	60,56	91,55	26,06	63,38	49,3
95% ДИ	57,79–73,92	52,02–68,65	85,7–95,56	19,06–34,08	54,89–71,30	40,81–57,81
p	0,001	0,001	0,001	0,03	0,001	0,002
ДС, %	96,77	91,94	53,23	91,94	93,55	70,97
95% ДИ	88,83–99,61	82,17–97,33	40,12–66,02	82,17–97,33	84,3–98,21	58,05–81,80
ОППР	16,5**	6,72**	1,9	3,25*	10,56**	1,68
ОПОР	0,35*	0,43*	0,16**	0,8	0,4*	0,71

Примечание. * – полезный, ** – наиболее полезный, *** – эффективный диагностический тест; p – значимые различия с контролем (p<0,05).

ски эффективными. Качество теста на выявление анти-AcVim класса IgG характеризуется как «хорошее» (AUC – 0,784), а класса IgA – как «среднее» (AUC – 0,661). Тест на определение анти-CarVim IgA обладал низким значением AUC (0,565) и расценен как диагностически неэффективный (неудовлетворительный).

Оптимальные ДЧ и ДС получены для анти-CitVim класса IgG (66,2 и 96,77%), класса IgA (60,56 и 91,94%) и анти-AcVim класса IgG (63,38 и 93,55% соответственно), различия между группами достоверны (p<0,05). Анти-CarVim

класса IgG обладали высокой ДЧ, но имели недостаточную ДС по сравнению с другими серологическими маркерами (p<0,05).

Анти-CitVim и анти-CarVim класса IgG выявлялись у больных РА значимо чаще, чем у пациентов с AP3 и контрольной группы (p<0,05; рис. 1). Наиболее высокой средняя концентрация аутоантител к различным модификациям виментина оказалась у больных РА, позитивных по анти-CitVim IgG – 247 [9,2; 935,9] и анти-CarVim IgG – 213,2 [8,2; 327,9].

При сравнении средних концентраций анти-CitVim IgA (68,7 [6,7; 95,2]) и анти-AcVim IgG (53,8 [7,0; 21,8]) получены значимые различия (p<0,05; рис. 2).

Выявляемость анти-CarVim и анти-AcVim класса IgA у больных РА и пациентов с AP3 значимо не различалась (p>0,05). У пациентов контрольной группы, не страдавших AP3, анти-AcVim IgG не найдены.

Нами проведен анализ встречаемости анти-ПТМ виментина и стандартных серологических маркеров (РФ и АЦЦП) у больных РА. Установлено, что анти-CarVim класса IgG достоверно чаще обнаруживались у больных РА по сравнению с серологическими маркерами РФ и АЦЦП (92% против 73 и 89% соответственно; p<0,05). Также анти-CarVim IgG отличались от других аутоантител к ПТМ виментина высокой частотой выявления у больных с AP3 (у 23 из 37, или 62%; p<0,05). Анти-CitVim IgG обнаружены у 95 (66%) из 144 больных РА, т. е. достоверно чаще, чем у больных с AP3 (8,1%) и пациентов контрольной группы (4%; p<0,05). Анти-AcVim IgG встречались у 91 (63%) из 144 больных РА, что также достоверно чаще, чем у больных с AP3 (16%; p<0,05).

Частота выявления анти-CitVim, анти-CarVim и анти-AcVim классов IgA у больных РА была значительно ниже при сравнении с маркерами РФ и АЦЦП (p<0,05; рис. 3).

Анализ полученных данных с помощью коэффициента корреляций Спирмена показал, что уровень анти-CitVim IgG значительно коррелировал с уровнем РФ и АЦЦП (r=0,499, p<0,05 и r=0,511, p<0,05 соответственно), как и уровень анти-CitVim IgA (r=0,46, p<0,05 и r=0,405, p<0,05 соответственно). Также тенденция к слабой положительной корреляции с уровнем АЦЦП была выявлена у анти-CarVim

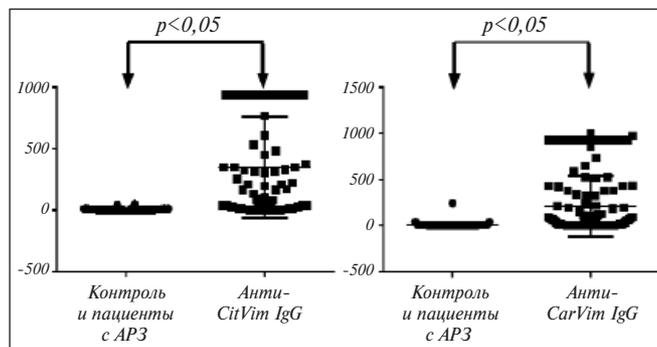


Рис. 1. Концентрация (в ед/мл) анти-CitVim и анти-CarVim класса IgG у больных РА в сравнении с пациентами с AP3 и контрольной группы

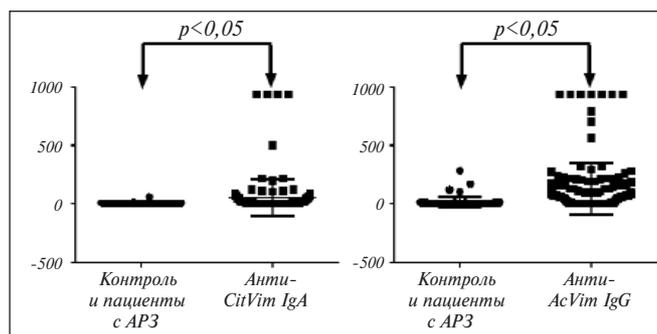


Рис. 2. Концентрация (в ед/мл) анти-CitVim IgA и анти-AcVim IgG у больных РА в сравнении с пациентами с AP3 и контрольной группы

IgG ($r=0,378$, $p<0,05$) и анти-AcVim IgG ($r=0,2724$, $p<0,05$). Полученные уровни анти-CarVim и анти-AcVim класса IgA не коррелировали с уровнем ни РФ, ни АЦЦП ($p>0,05$).

Таким образом, все полученные аутоантитела к различным модификациям виментина, за исключением анти-CarVim IgA с ДС 26%, являются диагностически эффективными лабораторными тестами. Как показал анализ встречаемости антител к различным изоформам виментина, анти-CitVim классов IgG и IgA, а также анти-CarVim и анти-AcVim класса IgG достоверно чаще выявлялись при РА, чем при других АРЗ и в группе контроля ($p<0,05$). Больные РА, серопозитивные по РФ и АЦЦП, имели более высокий уровень анти-ПТМ виментина по сравнению с пациентами, серонегативными по РФ и АЦЦП, однако данные аутоантитела также выявлялись и у пациентов, серонегативных по основным серологическим маркерам. Обращает на себя внимание, что анти-CarVim IgG встречались у больных РА чаще, чем классические серологические маркеры РФ и АЦЦП. Проведенный анализ показал, что анти-CarVim и анти-AcVim класса IgA не зависят от стандартных лабораторных маркеров и не имеют прямых взаимосвязей с РФ и АЦЦП.

Обсуждение. Наряду со стандартными серологическими маркерами РФ и АЦЦП, которые входят в современные классификационные критерии 2010 г. [2], у больных РА выявляются аутоантитела, распознающие также карбамилированные и ацетилированные аутоантигены [12]. Цитруллинование, как и карбамилирование, является вариантом ПТМ белков [13]. В настоящее время продолжается дискуссия об одинаковой встречаемости аутоантител к цитруллинированному и карбамилированному пептидам. Основная причина сходства белков, по-видимому, в том, что гомоцитруллинированные пептиды имеют сходную химическую структуру с альтернативными белками, которые подвергались цитруллинированию.

Нами изучена частота выявления аутоантител к различным изоформам виментина в сыворотках крови пациентов с РА и другими АРЗ (ССД и АС), а также контрольной группы. Особенностью исследования явилось использование широкого спектра аутоантител к различным модификациям виментина. Для данной работы в качестве аутоантигена был выбран белок виментин, который присутствует в суставах больных РА, и анти-CitVim, которые используются в качестве серологического маркера для диагностики РА.

Результаты исследования показали, что аутоантитела к различным ПТМ виментина, в частности анти-CitVim, анти-CarVim и анти-AcVim класса IgG, а также анти-CitVim класса IgA, значительно чаще встречались у больных РА по сравнению с пациентами с другими АРЗ и контрольной группы ($p<0,05$). Полученные данные соответствуют опубликованным сведениям о встречаемости аутоантител к различным изоформам виментина в сыворотке крови больных РА [12, 16].

Как показали результаты ROC-анализа, расчетные показатели AUC оказались значимо более высокими у анти-

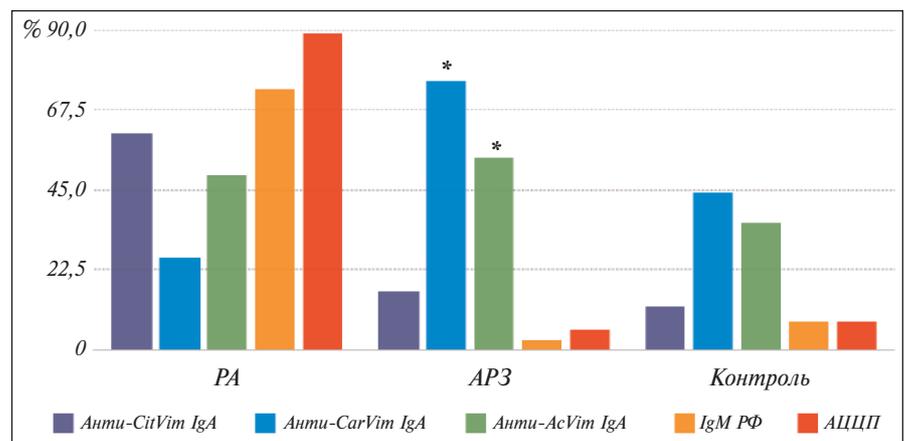


Рис. 3. Встречаемость (в %) анти-ПТМ виментина класса IgA, РФ и АЦЦП у пациентов с РА, АРЗ и контрольной группы. * – различия недостоверны ($p>0,05$)

CitVim и анти-AcVim классов IgG и IgA, а также у анти-CarVim класса IgG, что характеризует эти аутоантитела как диагностически эффективные серологические маркеры. Немногочисленные данные литературы подтверждают немаловажную роль аутоантител к различным модификациям пептидов у больных РА. Имеются исследования, указывающие на относительно высокую диагностическую эффективность анти-CarVim и их связь с более тяжелым течением РА [12].

Впервые выявлено, что маркеры РФ и АЦЦП немного уступали анти-CarVim класса IgG по ДЧ (73,3 и 89,4% соответственно против 91,6%; $p<0,05$). Анти-CarVim и анти-AcVim класса IgA не имели прямых корреляционных взаимосвязей с РФ и АЦЦП и выявлялись у пациентов как серопозитивных, так и серонегативных по РФ и АЦЦП.

К настоящему времени опубликованы лишь единичные исследования, посвященные диагностической информативности аутоантител к различным модификациям виментина при РА [12, 13, 16]. Полученные нами данные указывают на то, что цитруллинование, карбамилирование и ацетилирование различных изоформ виментина могут быть вовлечены в патогенез РА и играть немаловажную роль в дифференциально-диагностическом поиске у пациентов с АРЗ. Планируются дальнейшие исследования встречаемости аутоантител к различным ПТМ виментина с целью выявления клинической значимости данных маркеров.

Выводы. Установлено, что в сыворотке крови больных РА выявляются анти-CitVim, анти-CarVim и анти-AcVim. Частота серопозитивности по анти-CitVim, анти-CarVim и анти-AcVim класса IgG, а также анти-CitVim класса IgA была значительно выше у больных РА, чем у пациентов с другими АРЗ или контрольной группы ($p<0,05$). Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают и дополняют данные предыдущих наблюдений в отношении различных ПТМ виментина.

Исследованные аутоантитела к различным модификациям виментина можно охарактеризовать как диагностически полезные маркеры, ДЧ и ДС которых составили: для анти-CitVim IgG – 66,2 и 96,7%, анти-CitVim IgA – 60,56 и 91,94%, анти-CarVim IgG – 91,55 и 53,23%, анти-AcVim IgG – 63,38 и 93,55%. Группы анти-CitVim IgG, анти-CarVim IgG и анти-AcVim IgG, а также к анти-CitVim IgA выявляются у пациентов с РА статистически значительно чаще, чем в группах больных ССД и АС, что обосновывает их значение в

дифференциальной диагностике системных аутоиммунных заболеваний. А анти-CarVim IgA и анти-AcVim IgA не проявили себя как диагностически эффективные маркеры.

Проведенный анализ показал, что анти-CarVim IgA и анти-AcVim IgA не имеют прямых взаимосвязей со стандартными маркерами РФ и АЦЦП. Таким образом, анти-CarVim IgA и анти-AcVim IgA могут быть отнесены к независимым диагностическим маркерам, применение которых оправдано у больных РА, серонегативных по РФ и АЦЦП.

Полученные данные подчеркивают важную роль процессов цитруллинирования, карбамиллирования и ацетилирования в формировании неантигенов у больных РА. Исследованные нами аутоантитела к различным ПТМ ви-

ментина могут служить информативными серологическими маркерами для диагностики РА и в дальнейшем быть внедрены в клиническую практику в качестве дополнительных лабораторных тестов при установленных значениях ВГН: для анти-CitVim IgG – 20 ед/мл, анти-CitVim IgA – 8,95 ед/мл, анти-CarVim IgG – 6,25 ед/мл, анти-AcVim IgG – 17,1 ед/мл и анти-AcVim IgA – 9,85 ед/мл.

Благодарность

Авторы статьи выражают благодарность компании «Орджентек Диагностика» (Майнц, Германия), а также ЗАО «БиоХимМак» (Москва, Россия) за помощь в проведении данного исследования.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Александрова ЕН, Новиков АА, Насонов ЕЛ. Клиническое значение антител к циклическому цитруллинированному пептиду: новые данные. *Клиническая медицина*. 2007;85(8);4–9. [Aleksandrova EN, Novikov AA, Nasonov EL. Clinical significance of antibodies to cyclic citrullinated peptide: new data. *Klinicheskaya meditsina*. 2007;85(8);4–9. (In Russ.)].
2. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep;69(9):1580-8. doi: 10.1136/ard.2010.138461.
3. Олейник ПА, Маслянский АЛ, Мазуров ВИ и др. Антитела к HnRNP (RA33) у больных с ревматоидным артритом. *Медицинский Академический журнал*. 2014;14(3): 59-66. [Oleinik PA, Maslyanskii AL, Mazurov VI, et al. Anti-HNRNP (RA33) anti-body in rheumatoid arthritis. *Meditsinskii Akademicheskii Zhurnal*. 2014;14(3):59-66 (In Russ.)].
4. Лапин СВ, Тотолян АА. Иммунологическая лабораторная диагностика ревматических заболеваний. Пособие для врачей. Санкт-Петербург: Человек; 2006. 128 с. [Lapin SV, Totolyan AA. *Immunologicheskaya laboratornaya diagnostika revmaticheskikh zabolevanii. Posobie dlya vrachei* [Immunological laboratory diagnosis of rheumatic diseases. Manual for doctors]. Saint-Petersburg: Chelovek; 2006. 128 p.]
5. Maslyanskiy AL, Olinek PA, Lapin SV, et al. Anti-hnRNP B1 (RA33) autoantibodies are associated with the clinical phenotype in russian patients with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *J Immunol Res*. 2014;2014: 516593. doi: 10.1155/2014/516593. Epub 2014 May 4.
6. Shmerling RH, Delbanco TL. The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility. *Am J Med*. 1991 Nov;91(5):528-34. doi: 10.1016/0002-9343(91)90190-9.
7. Новиков АА, Александрова ЕН, Черкасова МВ и др. Современные методы лабораторной диагностики ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2010;48(1):31-45. [Novikov AA, Aleksandrova EN, Cherkasova MV, et al. Current methods for laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2010;48(1):31-45. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2010-1404
8. Лапин СВ, Маслянский АЛ. Лабораторная диагностика ревматоидного артрита. Новые перспективы. Клинико-лабораторный консилиум. 2009;(1):69-74 [Lapin SV, Maslyanskii AL. Laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis: new perspectives. *Kliniko-laboratornyi konsilium*. 2009;(1):69-74 (In Russ.)].
9. Van Venrooij WJ, Van Beers JJ, Pruijn GJ. Anti-CCP antibody, a marker for the early detection of rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Nov;1143:268-85. doi: 10.1196/annals.1443.013.
10. Bang H, Egerer K, Gauliard A, et al. Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007 Aug;56(8): 2503-11.
11. Hueber W, Hassfeld W, Smolen JS, et al. Sensitivity and specificity of anti-Sa autoantibodies for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Feb;38(2):155-9.
12. Shi J, Knevel R, Suwannalai P, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Oct 18; 108(42):17372-7. doi: 10.1073/pnas.1114465108. Epub 2011 Oct 10.
13. Shi J, Willemze A, Janssen GM, et al. Recognition of citrullinated and carbamylated proteins by human antibodies: specificity, cross-reactivity and the «АМС-Sneshu» method. *Ann Rheum Dis*. 2013 Jan;72(1): 148-50. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201559. Epub 2012 Jul 26.
14. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum*. 1984 Apr;27(4):361-8. doi: 10.1002/art.1780270401.
15. Masi AT, Rodnan GP, Medsger TA, et al. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum*. 1980 May;23(5):581-90. doi: 10.1002/art.1780230510.
16. Juarez M, Bang H, Hammar F, et al. Identification of novel antiacetylated vimentin antibodies in patients with early inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jun;75(6):1099-107. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206785. Epub 2015 Jul 9.

Поступила 15.05. 2017

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.