

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ ЛОКУСА HLA-DRB1 ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Гусева В.И.¹, Лапин С.В.¹, Маслянский А.Л.², Мячикова В.Ю.²,
Чухловин А.Б.¹, Иванова Н.Е.¹, Ткаченко О.Ю.¹, Блинова Т.В.¹,
Тотолян Арег А.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

³ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) является наиболее распространенным аутоиммунным воспалительным артритом у взрослых. К серологическим маркерам РА относятся ревматоидный фактор (РФ) и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП). Основным генетическим фактором, определяющим предрасположенность к РА, является носительство ряда аллелей HLA-DRB1. Аллели локуса HLA-DRB1 кодируют аминокислотную последовательность, получившую название Shared Epitope (SE).

Целью нашего исследования было оценить клиническое значение и встречаемость генов SE и HLA-DRB1, а также проанализировать прогностическую значимость этих факторов у больных РА.

Нами была собрана коллекция образцов сывороток и ДНК 72 пациентов с РА. Для типирования генов по локусу HLA-DRB1 применялись коммерческие наборы фирмы «ДНК-Технология» (Москва, Россия). HLA-DRB1 SE были генотипированы методом ПЦР в реальном времени со специфичными праймерами. Серологические маркеры АЦЦП и РФ детектировались в сыворотке методом ИФА (Euroimmun AG, Lübeck, Германия) и турбодиметрическим методом соответственно. Активность болезни оценивалась с помощью индекса активности РА DAS-28.

Анализ популяционной частоты генов HLA-DRB1 в Северо-Западном регионе показал, что встречаемость генов HLA-DRB1*04 составляет 11,4%, генов HLA-DRB1*01 – 14,2%, HLA-DRB1*10 и HLA-DRB1*14 – 0,8 и 2% соответственно. Аллельные гены DRB1*04 и DRB1*01 встречались у 73,6% пациентов с РА, в то время как в группе контроля – у 43,9%. Среди больных РА частота гена SE составила 66,6%. У пациентов с SE детектировались высокие титры АЦЦП и обнаруживалось более высокое значение индекса DAS28.

Аллельные вариации HLA-DRB, кодирующие SE, ассоциированы с АЦЦП-положительным РА у жителей Северо-Западного региона Российской Федерации. Выявление аллельных генов локуса HLA-DRB1 и SE может быть дополнением к серологической диагностике РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, курение, HLA-DRB1, общий эпитоп

Адрес для переписки:

Ткаченко О.Ю.
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого,
6/8, корп. 28.
Тел.: 8 (921) 095-94-98.
E-mail: tkachenie@mail.ru

Address for correspondence:

Tkachenko O.Yu.
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University
197022, Russian Federation, St. Petersburg, L. Tolstoy str.,
6-8, bldg 28.
Phone: 7 (921) 095-94-98.
E-mail: tkachenie@mail.ru

Образец цитирования:

В.И. Гусева, С.В. Лапин, А.Л. Маслянский,
В.Ю. Мячикова, А.Б. Чухловин, Н.Е. Иванова,
О.Ю. Ткаченко, Т.В. Блинова, Арег А. Тотолян
«Клиническое значение определения генов локуса
HLA-DRB1 при ревматоидном артрите»
// Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2.
С. 333-340. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-333-340
© Гусева В.И. и соавт., 2019

For citation:

V.I. Guseva, S.V. Lapin, A.L. Maslyansky, V.Yu. Myachikova,
A.B. Chukhlovin, N.E. Ivanova, O.Yu. Tkachenko,
T.V. Blinova, Areg A. Totolian "Clinical importance
of HLA-DRB1 gene loci detection in rheumatoid arthritis",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 2, pp. 333-340.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-333-340
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-2-333-340

CLINICAL IMPORTANCE OF HLA-DRB1 GENE LOCI DETECTION IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Guseva V.I.^a, Lapin S.V.^a, Maslyansky A.L.^b, Myachikova V.Yu.^b,
Chukhlov A.B.^a, Ivanova N.E.^a, Tkachenko O.Yu.^a, Blinova T.V.^a,
Totolian Areg A.^{a, c}

^a First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b V. Almazov North-West Federal Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

^c L. Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a most common autoimmune inflammatory arthritis in adults. Serological marker of RA are rheumatoid factor (RF) and antibodies to cyclic citrullinated peptide (ACCP). The main genetic factor that determine predisposition to RA is HLA-DRB1 alleles. The HLA-DRB1 locus alleles may encode a common 5-amino acid sequence called 'shared epitope' (SE).

The aim of our study is to assess the clinical significance and occurrence of SE and HLA-DRB1 genes and to analyze the prognostic significance of these factors for RA patients.

We collected a serum and DNA samples from 72 patients with RA. For genotyping of HLA-DRB1 locus "DNA-Technology" kits (Moscow, Russia) were used. HLA-DRB1 SE sequences were genotyped by real-time PCR with specific primers. Determination of ACCP in serum was performed by ELISA (Euroimmun AG, L beck, Germany), RF detection, by turbidimetric method. Clinical status of the disease was assessed using the RA DAS-28 Activity Index.

We have obtained the following results: determination of HLA-DRB1 gene frequency in the North-West region of Russia showed that the HLA-DRB1*04 gene variant occurred at 11.4%, HLA-DRB1*01, 14.2%. HLA-DRB1*10 and HLA- DRB1*14 occurred, respectively, in 0,8% and 2% of the cases. The DRB1*04 and DRB1*01 allelic variants were found in 73.6% of patients with RA, and in 43.9% of the control group. Among patients with RA, the SE gene frequency was 66.6%. SE is associated with ACCP detection and higher DAS28 index. Conclusions: The allelic variations of HLA-DRB1 encoding SE are associated with ACCP-positive RA in the population of the North-West region of the Russian Federation. Identification of HLA-DRB1 allelic gene variants and SE sequences in this locus serve as an additional test to specify serological diagnosis in rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, antibodies to cyclic citrullinated peptide, smoking, HLA-DRB1, shared epitope

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда Соглашение РНФ № 16-15-00118.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — это системное аутоиммунное заболевание, которое поражает до 1% взрослой популяции в большинстве стран Европы и США [21]. Основными его характеристиками являются хроническое воспаление мелких суставов с синовитом, сопровождающимся деструкцией суставного хряща и перихондральной кости, субхондральным остеопорозом, что способствует развитию функциональной недостаточности суставов. Разрушение суставов протекает на фоне системного иммуновоспалительного процесса, а также частых внесуставных проявлений заболевания [1]. Наличие специфических серологических биомаркеров отличает РА от других форм деструктивных артритов, а ревматоидный фактор, характерный для РА, был

одним из первых описанных аутоантител при аутоиммунных заболеваниях [3, 29]. Разработка тестов для определения антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антител к другим цитруллиновым антителам стала новой вехой в лабораторной диагностике этого заболевания, а также понимания этиопатогенеза РА [2, 20].

Хотя этиология развития РА установлена только частично, но не вызывает сомнения важность генетической предрасположенности к развитию заболевания, наряду с воздействием ряда факторов внешней среды. Наиболее убедительные доказательства роли наследственного фактора в развитии РА выявлены у монозиготных близнецов, у которых конкордантность развития заболевания составляет от 12 до 15% по сравнению с 1% для общей популяции. Основным генетическим фактором, определяющим предрасположенность к РА, является носительство ряда аллелей HLA-DRB1. Аллели локуса HLA-DRB1

кодируют, в частности, особую аминокислотную последовательность, получившую название “Shared Epitope” (от англ. «общий эпитоп»), или SE [7]. Структура SE представляет собой последовательность аминокислот в позиции 70-74 бета-цепи молекулы HLA-DRB1, которая кодируется исключительно несколькими аллелями локуса HLA-DRB1, в том числе HLA-DRB1*01; *0401; *0404; *0405; *0408.

В развитии аутоиммунной реакции при РА принимают участие факторы внешней среды, например курение, хронический пародонтит, производственная пыль и частицы диоксида кремния, которые способны запускать воспалительную реакцию в соединительной ткани, где экспрессируется ряд неоантигенов [9, 16]. Подобные неоантигены возникают в процессе посттрансляционной модификации белков, к которым относят цитруллинирование, карбамойлирование, ацилирование [23, 24]. Отчасти причиной этих модификаций являются ферменты нейтрофилов, в частности пептидил-аргининдезаминазы, причем особенно часто подвергаются воспалительному дезаминированию компоненты погибающих (апоптотических) клеток. Цитруллинированные антигены ряда белков, в частности фибриногена, енолазы, виментина, коллагена, становятся мишенью аутоиммунных реакций при РА [14, 21].

Особенностью генов HLA, содержащих SE, является их способность специфически связываться с цитруллинированными пептидами белков, в отличие от их нативных аргинин-содержащих форм. Участие продуктов генов HLA-DRB1 в презентации экзогенных пептидов антиген-презентирующими клетками приводит к формированию Т-клеточных иммунных ответов на цитруллинированные антигены, формированию Т-клеточных хелперных клонов, в результате чего индуцируется выработка высокопатогенных антицитруллиновых антител [19, 22].

Учитывая известную роль HLA-DRB1 генов, содержащих SE, в иммунопатогенезе РА, диагностическая ценность молекулярно-биологического выявления SE изучена недостаточно. **Цель нашего исследования** – оценить клиническое значение и встречаемость генов SE и HLA-DRB1, а также проанализировать прогностическую значимость этих факторов у больных РА. Для этого было исследовано распределение генов локуса HLA-DRB1 в популяции жителей Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального округа Российской Федерации, а также обследована группа больных с РА.

Материалы и методы

Среди пациентов, проходящих стационарное лечение по поводу РА, нами была обследована

группа из 72 больных, в том числе 61 – женского пола и 11 – мужского. В исследование были включены пациенты, получающие терапию модифицирующими препаратами – метотрексатом, лефлуномидом либо их комбинации. Ни один из пациентов не получал биологическую терапию генно-инженерными рекомбинантными препаратами. Средний возраст обследованных составил $58,9 \pm 13,8$ лет, средняя длительность заболевания составила $10,7 \pm 9,4$ лет. Вторая рентгенологическая стадия РА была выявлена у 24 пациентов, 3-я рентгенологическая стадия – у 22 пациентов. Пациенты были клинически обследованы для исключения сопутствующих аутоиммунных состояний, таких как болезнь Шегрена, аутоиммунный тиреоидит, сахарный диабет, синдром Рейно, воспалительные заболевания кишечника. Проводилось определение индекса активности артрита (DAS28), которое показало разброс значений от 2 до 8, а именно 26 пациентов имели высокую клинико-лабораторную активность ревматоидного артрита, 38 – умеренную.

Для определения встречаемости основных аллелей HLA-DRB1 в популяции Северо-Западного региона нами были проанализированы частоты аллелей среди лиц, обследованных в лаборатории тканевого типирования НИИ онкологии им. Раисы Горбачевой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова диагностическими наборами Protrans ($n = 1070$).

Определение АЦЦП в сыворотке крови осуществляли методом ИФА с помощью коммерческого набора (Euroimmun AG, Lübeck, Германия), значения нормы не превышали 5 RU/мл. Выявление РФ проводили методом турбидиметрии на биохимическом анализаторе А15 (Испания), значения нормы менее 20 МЕ/мл.

Для дополнительного генетического анализа использовали геномную ДНК, которую экстрагировали колоночным методом наборами QIAGEN “QIAamp DNA Blood Mini Kit” (Дюссельдорф, Германия) из цельной крови. Для типирования генов по локусу HLA-DRB1 применяли коммерческие наборы фирмы «ДНК-Технология» (Москва, Россия).

Для определения SE, состоящего из последовательности аминокислот QRRAA (Glu, Arg, Arg, Ala, Ala), мы использовали пару праймеров, имеющих два направления считывания: SE-Forward (5'-3') – tgt-gtc-tgc-agt-agg-tgt-cca и SE-Reverse (3'-5') – acc-tgt-gga-tga-cgt-ctg-tgt, а также флуоресцентный TaqMan зонд с 5'-3' последовательностью с меткой – (FAM) cc-tgg-agc-aga-agc-ggg-cc (BHQ1), кодирующий общий антиген из 5 аминокислот (QRRAA). ПЦР-смесь включала реактивы из набора фирмы Синтол: 2,5 mM dNTP, 10xПЦР буфер Б, 25 mM MgCl₂, SynTaq

ДНК-полимеразу с ингибирующей активностью фермента антителами (5 Е/мкл), деионизованную воду, праймеры и зонд в концентрации 10 пмоль/мл и ДНК пациентов в концентрации 20-50 нг/мл. Последующая ПЦР в реальном времени состояла из следующих этапов: «горячий старт» – 4 мин 45 с при 95 °С, затем 45 циклов из трех ступеней по 20 с при 95 °С, 55 °С и 62 °С. Статистическая обработка результатов проводилась методами описательной статистики (вычисление средних значений, средних квадратических отклонений, медианы) и непараметрическими методами (критерий Хи-квадрат Пирсона).

Результаты

Анализ популяционной частоты генов HLA-DRB1 в Северо-Западном регионе показал, что встречаемость генов HLA-DRB1*04 составляет 11,4%, генов HLA-DRB1*01 – 14,2%, HLA-DRB1*10 и HLA-DRB1*14 – 0,8 и 2% соответственно. Данные о распределении аллельных форм генов локуса HLA-DRB1 приведены в таблице 1. Результаты типирования высокого разрешения среди контрольной группы позволили проанализировать распределение аллельных форм генов риска развития РА внутри группы, данные приведены в таблице 2.

Проведенный нами анализ распределения генов системы HLA среди больных с РА показал, что гены риска развития заболевания преобладают в популяции. Так, аллельные гены DRB1*04 встречаются у 58,3% (n = 42) пациентов, из которых 8% гомозиготы (n = 5), и DRB1*01 – у 33,3% (n = 24), из которых 5% гомозиготы (n = 3). Аллельные гены из групп риска развития РА DRB1*04 и DRB1*01 отмечались у 43,9 % исследованной популяции.

Среди больных РА частота гена общего эпитопа (последовательность QRRAA), определенного с помощью метода ПЦР в реальном времени с аллель-специфическими праймерами, составила 66,6% (48/72). Также мы сопоставили результаты выявления гена SE с результатами типирования по локусу HLA-DRB1 методом статистического анализа – точного критерия Фишера. Диаграмма встречаемости гена SE среди пациентов, типированных по локусу DRB1, представлена на рисунке 1. У 63,8% (46/72) пациентов, имеющих ген DRB1*04 и/или DRB1*01, был выявлен ген SE, таким образом, можно утверждать, что именно аллели DRB1*04 и DRB1*01 преимущественно кодируют SE у мембранных белков, презентующих антигены при РА. Наши результаты указывают на то, что распределение генов риска развития РА у больных значительно отличается

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНЫХ ФОРМ ГЕНОВ HLA-DRB1 У ЖИТЕЛЕЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И СЕВЕРО-ЗАПАДА РФ (n = 1070)

TABLE 1. DISTRIBUTION OF ALLELIC FORMS OF HLA-DRB1 GENES IN RESIDENTS OF ST. PETERSBURG AND THE NORTH-WEST OF THE RUSSIAN FEDERATION (n = 1070)

Аллельные гены HLA-DRB1 Allelic genes HLA-DRB1	*01	*03	*04	*07	*08	*09	*10	*11	*12	*13	*14	*15	*16
Встречаемость, % Frequency, %	14,2	9,2	11,4	14,1	4	1,6	0,8	11	2,5	10,8	2	14,6	3,8

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНЫХ ФОРМ ГЕНОВ В ГРУППАХ ГЕНОВ DRB1*01 И DRB1*04, СОДЕРЖАЩИХ SE, ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ РИСКА РАЗВИТИЯ РА У ЖИТЕЛЕЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И СЕВЕРО-ЗАПАДА РФ (n = 1070)

TABLE 2. DISTRIBUTION OF ALLELIC FORMS OF GENES IN GROUPS OF DRB1*01 AND DRB1*04 GENES CONTAINING SE, IN DETERMINING THE RISK OF RA DEVELOPMENT AMONG RESIDENTS OF ST. PETERSBURG AND THE NORTH-WEST OF THE RUSSIAN FEDERATION (n = 1070)

Аллельные гены группы DRB1*01 Allelic genes of group DRB1*01	Встречаемость, % Frequency, %	Аллельные гены группы DRB1*04 Allelic genes of group DRB1*04	Встречаемость, % Frequency, %
DRB1*01:01	86%	DRB1*04:01	33%
Другие гены этой группы Other genes of this group	14%	DRB1*04:04	29%
		DRB1*04:08	5%
		Другие аллели этой группы Other genes of this group	33%

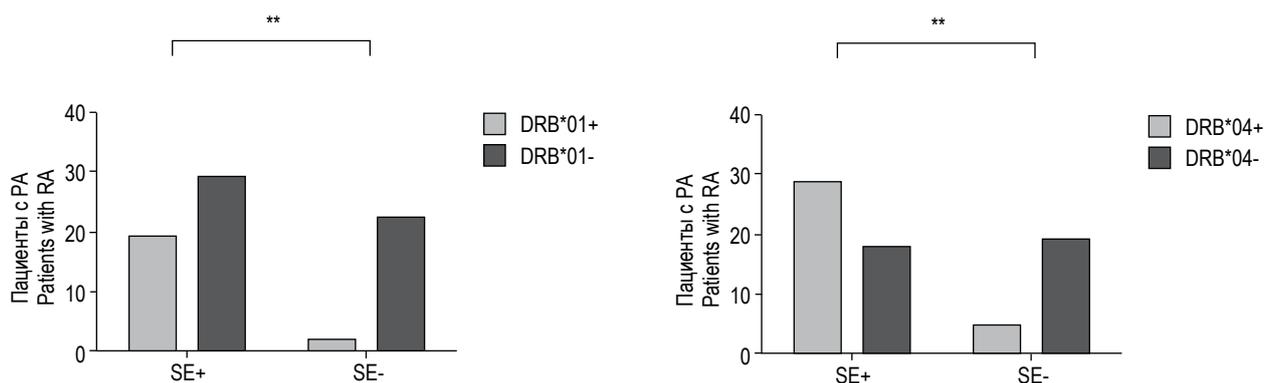


Рисунок 1. Ассоциация гена SE и аллельных генов из группы DRB1*01 у больных РА (по оси абсцисс), по оси ординат – доля пациентов с данным аллелем

Примечание. ** – $p < 0,01$ при сравнении наличия аллелей HLA-DRB1*01 и *04 и наличия гена SE в группе больных РА.

Figure 1. Association of SE gene and allelic genes from DRB1*01 group in RA patients (the abscissa axis), the ordinate represents the proportion of patients with this allele

Note. **, $p < 0.01$ when comparing the presence of HLA-DRB1*01 and *04 alleles and the presence of the SE gene in the RA patients group.

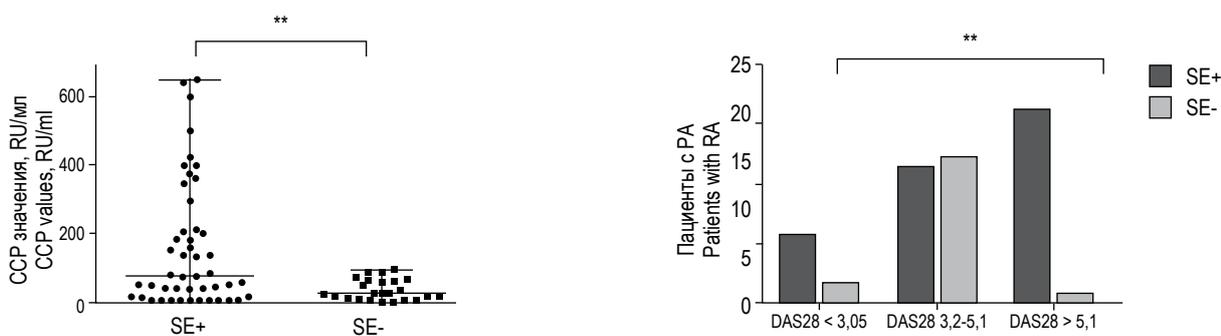


Рисунок 2. Присутствие гена SE и аллелей группы DRB1*04 у больных РА (по оси абсцисс), по оси ординат – доля пациентов с данным аллелем

Примечание. ** – $p < 0,01$ при сравнении наличия аллелей HLA-DRB1*01 и *04 и наличия гена SE в группе больных РА.

Figure 2. Presence of SE gene and alleles of DRB1*04 group in RA patients (the abscissa axis), the ordinate represents the proportion of patients with this allele

Note. **, $p < 0.01$ when comparing the presence of HLA-DRB1*01 and *04 alleles and the presence of the SE gene in the RA patients group.

Рисунок 3. Распределение показателей по АЦЦП у больных РА в двух группах: SE+ и SE

Примечание. По оси абсцисс – наличие или отсутствие общего эпитопа. По оси ординат – доля пациентов с данным аллелем. SE – ген, кодирующий «общий эпитоп». * – $p < 0,05$.

Figure 3. The distribution of the ACCP in RA patients in two groups: SE+ and SE

Note. The abscissa is the presence or absence of a common epitope.

The ordinate represents the proportion of patients with this allele. SE is a gene encoding a "sharep epitope". *, $p < 0.05$.

от данных в контрольной группе. Аллельные гены из групп риска развития РА DRB1*04 и DRB1*01 встречаются у 73,6% пациентов с РА, в то время как в группе контроля – только у 43,9%.

Мы провели анализ клинических и лабораторных данных у больных с РА в зависимости от присутствия SE в их генотипе. Нами была отмечена значительная вариация результатов измерения АЦЦП среди обследованных больных в зависимости от присутствия гена SE. Так, у пациентов с SE значения АЦЦП преимущественно превышали величину 100 RU/мл, а именно у 53%

(25/47) пациентов. Взаимосвязь АЦЦП с наличием гена SE представлена на рисунке 2.

Анализ индекса активности артрита (DAS28) в зависимости от наличия гена SE показал, что у 20 пациентов с SE отмечался высокий индекс (больше 5,1), у 14 пациентов DAS28 находился в диапазоне от 3,2 до 5,1, и у 7 пациентов с SE – ниже 3,05. У пациентов без гена SE показатель DAS28 в среднем составлял $4,7 \pm 1,3$, т.е. в основном эти пациенты попадали в группу средней и низкой активности артрита. Соотношение индекса DAS28 и наличия гена SE проиллюстрировано на рисунке 3.

Обсуждение

Связь между генами главного комплекса гистосовместимости (HLA) II класса и восприимчивостью к РА впервые была обнаружена в 1970-х годах [22]. На данный момент вклад DRB1 SE в развитие РА был широко изучен в разных популяциях, включая азиатов, европейцев и коренных американцев. Эти исследования показывают, что наличие SE-содержащих аллелей DRB1 значимо повышает риск развития РА в различных популяциях [13, 14, 15]. У европейцев с РА связаны DRB1*0401, *0404 и *0408, в азиатских популяциях – DRB1 *0405 [6, 10, 11, 12, 30, 32]. Наши результаты по исследованию значимости HLA в этиологии РА в популяции жителей Санкт-Петербурга и Северо-Западного района Российской Федерации сопоставимы с европейской популяцией. Аллельные гены DRB1*04 и DRB1*01 у пациентов с РА встречались в 2 раза чаще по сравнению с контрольной группой. Схожие результаты были получены среди жителей Москвы – среди доноров встречаемость генов риска развития РА составила 12,6%, в то время как среди больных РА – 45,5% [2]. Наши данные указывают на несколько большую частоту SE-позитивных аллелей, однако эту разницу можно объяснить наличием общих эпитопов в других аллелях DRB1 (например, *1421 и др.).

В 2005 году было впервые обнаружено, что HLA-DRB1 аллели, кодирующие SE, ассоциированы с АЦЦП-положительным РА [8]. Данная закономерность была подтверждена во многих последующих исследованиях [7, 13, 18, 19]. Эти данные легли в основу разработанной L. Klareskog этиологической модели РА. Он по-

казал, что HLA-DRB1, а также полиморфизмы в области MHC II класса ассоциированы с курением у АЦЦП-положительных пациентов с РА [9]. При этом у АЦЦП-положительных пациентов наблюдается более активное течение заболевания по сравнению с больными РА без АЦЦП [25]. Соответственно, в ряде исследований выявление SE у пациентов с РА коррелирует со степенью повреждения суставов и смертностью [4, 5, 28].

Сопоставляя наши результаты генетического типирования и серологического скрининга, мы также выявили взаимосвязь наличия SE с высокими титрами АЦЦП в группе пациентов с РА. При анализе клинической активности РА мы обнаружили, что наличие гена SE ассоциировано с более высокими значениями индекса DAS28 у большей части пациентов с РА. Полученные нами результаты перекликаются с опубликованными данными Н.В. Демидовой (Москва), где также сообщается об ассоциации SE с высоким уровнем АЦЦП, а также сохранении высокой воспалительной активности прогрессирования эрозивных изменений в суставах у пациентов при наличии SE в течение года наблюдения [17].

Таким образом, выявление аллельных генов локуса HLA-DRB1 и SE может быть дополнением к серологической диагностике РА для оценки активности заболевания, риска развития суставных деструкций и назначения адекватной иммуносупрессивной терапии. Выявление SE (общего эпитопа в последовательности DRB1) может быть дополнительным критерием большей активности заболевания у больных с РА. Для внедрения этого молекулярного теста в клинику требуются исследования в больших когортах больных РА и в разных популяциях.

Список литературы / References

1. Беляева И.Б., Лапин С.В., Созина А.В., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Антитела к цитруллин-содержащим антигенам в диагностике и прогнозировании течения раннего ревматоидного артрита // Медицинская иммунология, 2007. Т. 9, № 1. С. 77-84. [Belyaeva I.B., Lapin S.V., Sozina A.V., Mazurov V.I., Totolian A.A. Autoantibodies to citrullinated antigens for diagnosis and prediction of clinical course in early rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, Vol. 9, no. 1, pp. 77-84. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2007-1-77-84.
2. Лапин С.В., Маслянский А.Л., Иливанова Е.П., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Клиническое значение антител к циклическому цитруллинированному пептиду при раннем ревматоидном артрите // Медицинская иммунология, 2004. Т. 6, № 1-2. С. 57-66. [Lapin S.V., Maslyansky A.L., Ilivanova E.P., Mazurov V.I., Totolian A.A. Clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in patients with early rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2004, Vol. 6, no. 1-2, pp. 57-66. (In Russ.)]
3. Маслянский А.Л., Лапин С.В., Иливанова Е.П., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Антикератиновые антитела и антиперинуклеарный фактор являются маркером агрессивного течения ревматоидного артрита // Медицинская иммунология, 2003. Т. 5, № 5-6. С. 599-608. [Maslyansky A.L., Lapin S.V., Ilivanova E.P., Mazurov V.I., Totolian A.A. Antikeratin antibodies and antiperinuclear factor are markers of aggressive rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, Vol. 5, no. 5-6, pp. 599-608. (In Russ.)]
4. Ajejanova S. Disease factors in early rheumatoid arthritis are associated with differential risks for cardiovascular events and mortality depending on age at onset: A 10-year observational cohort study. *J. Rheumatol.*, 2013, Vol. 40, no. 12, pp. 1958-1966.
5. Bukhari M., Thomson W., Naseem H., Bunn D., Silman A., Symmons D., Barton A. The performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting the severity of radiologic damage in inflammatory polyarthritis: Results from the Norfolk Arthritis Register. *Arthritis Rheum.*, 2007, Vol. 56, no. 9, pp. 2929-2935.
6. Chan S.H., Lin Y.N., Wee G.B., Koh W.H., Boey M.L. HLA class 2 genes in Singaporean Chinese rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1994, Vol. 33, no. 8, pp. 713-717.

7. Gregersen P.K., Silver J., Winchester R.J. The shared epitope hypothesis. *Arthritis Rheum.*, 1987, Vol. 30, no. 11, pp. 1205-1212.
8. Huizinga T.W., Amos C.I., van der Helm-van Mil A.H., Chen W., van Gaalen F.A., Jawaheer D., Schreuder G.M., Wener M., Breedveld F.C., Ahmad N., Lum R.F., de Vries R.R., Gregersen P.K., Toes R.E., Criswell L.A. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum.*, 2005, Vol. 52, no. 11, pp. 3433-3438.
9. Klareskog L., Stolt P., Lundberg K., Källberg H., Bengtsson C., Grunewald J., Rönnelid J., Harris H.E., Ulfgrén A.K., Rantapää-Dahlqvist S., Eklund A., Padyukov L., Alfredsson L. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: Smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.*, 2006, Vol. 54, no. 1, pp. 38-46.
10. Lee H.S., Lee K.W., Song G.G., Kim H.A., Kim S.Y., Bae S.C. Increased susceptibility to rheumatoid arthritis in Koreans heterozygous for HLA-DRB1*0405 and *0901. *Arthritis Rheum.*, 2004, Vol. 50, no. 11, pp. 3468-3475.
11. Lin L., Chen Y., Xiao Z., Huang S., Yang S. The association of HLA-DRB1 alleles with rheumatoid arthritis in the Chinese Shantou population: a follow-up study. *Biochem. Cell Biol.*, 2007, Vol. 85, no. 2, pp. 227-238.
12. Liu S.C., Chang T.Y., Lee Y.J., Chu C.C., Lin M., Chen Z.X., Liu H.F., Dang C.W., Chang S.C., Lee C.S., Chen T.L., Huang C.H. Influence of HLA-DRB1 genes and the shared epitope on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in Taiwanese. *J. Rheumatol.*, 2007, Vol. 34, no. 4, pp. 674-680.
13. Louzada-Junior P., Freitas M.V.C., Oliveira R.D.R., Deghaide N.H.S., Conde R.A., Bertolo M.B., Donadi E.A. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Vol. 41, no. 6, pp. 493-499.
14. McInnes I.B., Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2011, Vol. 365, no. 23, pp. 2205-2219.
15. Okada Y., Kim K., Han B., Pillai N.E., Ong R.T., Saw W.Y., Luo M., Jiang L., Yin J., Bang S.Y., Lee H.S., Brown M.A., Bae S.C., Xu H., Teo Y.Y., de Bakker P.I., Raychaudhuri S. Risk for ACPA-positive rheumatoid arthritis is driven by shared HLA amino acid polymorphisms in Asian and European populations. *Hum. Mol. Genet.*, 2014, Vol. 23, no. 25, pp. 6916-6926.
16. Padyukov L., Suva C., Stolt P., Alfredsson L., Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2004, Vol. 50, no. 10, pp. 3085-3092.
17. Pursglove M., Murray J., Smyth S. Intermediate Russian: a Grammar and Workbook. *Mod. Lang. Rev.*, 2002, Vol. 97, no. 2, p. 509.
18. Revirón D., Perdriger A., Toussiroit E., Wendling D., Balandraud N., Guis S., Semana G., Tiberghien P., Mercier P., Roudier J. Influence of shared epitope-negative HLA-DRB1 alleles on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2001, Vol. 44, no. 3, pp. 535-540.
19. Scally S.W., Petersen J., Law S.C., Dudek N.L., Nel H.J., Loh K.L., Wijeyewickrema L.C., Eckle S.B., van Heemst J., Pike R.N., McCluskey J., Toes R.E., la Gruta N.L., Purcell A.W., Reid H.H., Thomas R., Rossjohn J. A molecular basis for the association of the HLA-DRB1 locus, citrullination, and rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.*, 2013, Vol. 210, no. 12, pp. 2569-2582.
20. Schellekens G.A., de Jong B.A.W., van den Hoogen F.H.J., van de Putte L.B.A., van Venrooij W.J. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.*, 1998, Vol. 101, no. 1, pp. 273-281.
21. Silman A.J., Pearson J.E. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.*, 2002, Vol. 4, Suppl. 3, pp. S265-S272.
22. Stastny P. Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 1978, Vol. 298, no. 16, pp. 869-871.
23. Stolt P., Yahya A., Bengtsson C., Källberg H., Rönnelid J., Lundberg I., Klareskog L., Alfredsson L.; EIRA Study Group. Silica exposure among male current smokers is associated with a high risk of developing ACPA-positive. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, Vol. 69, no. 6, pp. 1072-1076.
24. Too C.L., Muhamad N.A., Ilar A., Padyukov L., Alfredsson L., Klareskog L., Murad S., Bengtsson C. Occupational exposure to textile dust increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a Malaysian population-based case-control study. *Ann. Rheum. Dis.*, 2015, pp. 1-6.
25. van der Helm-van Mil A.H.M., Verpoort K.N., Breedveld F.C., Toes R.E.M., Huizinga T.W.J. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2005, Vol. 7, no. 5, pp. R949-R958.
26. van der Woude D., Lie B.A., Lundström E., Balsa A., Feitsma A.L., Houwing-Duistermaat J.J., Verduijn W., Nordang G.B., Alfredsson L., Klareskog L., Pascual-Salcedo D., Gonzalez-Gay M.A., Lopez-Nevot M.A., Valero F., Roep B.O., Huizinga T.W., Kvien T.K., Martín J., Padyukov L., de Vries R.R., Toes R.E. Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: A meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein. *Arthritis Rheum.*, 2010, Vol. 62, no. 5, pp. 1236-1245.
27. van Gaalen F.A., van Aken J., Huizinga T.W.J., Schreuder G.M.Th., Breedveld F.C., Zanelli E., van Venrooij W.J., Verweij C.L. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2004, Vol. 50, no. 7, pp. 2113-2121.
28. Viatte S., Barton A. The role of rheumatoid arthritis genetic susceptibility markers in the prediction of erosive disease. *Eur. Musculoskelet. Rev.*, 2012, Vol. 7, no. 2, pp. 102-107.
29. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1940, Vol. 17, no. 2, pp. 172-188.
30. Wakitani S., Imoto K., Murata N., Oonishi H., Ochi T., Yoneda M. An association between the natural course of shoulder joint destruction in rheumatoid arthritis and HLA-DRB1*0405 in Japanese patients. *Scand. J. Rheumatol.*, 1998, Vol. 27, no. 2, pp. 146-148.

31. Willkens R.F., Nepom G.T., Marks C.R., Nettles J.W., Nepom A.S. Association of HLA-Dw16 with rheumatoid arthritis in Yakima Indians. Further evidence for the "shared epitope" hypothesis. *Arthritis Rheum.*, 1991, Vol. 34, no. 1, pp. 43-47.

32. Xue Y., Zhang J., Chen Y.M., Guan M., Zheng S.G., Zou H.J. The HLA-DRB1 shared epitope is not associated with antibodies against cyclic citrullinated peptide in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, 2008, Vol. 37, no. 3, pp. 183-187.

Авторы:

Гусева В.И. — младший научный сотрудник НМЦ по молекулярной медицине Министерства здравоохранения РФ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Лапин С.В. — к.м.н., заведующий лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине Министерства здравоохранения РФ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Маслянский А.Л. — к.м.н., врач-ревматолог, старший научный сотрудник НИЛ ревматологии ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Мячикова В.Ю. — врач-ревматолог отделения ревматологии ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Чухловин А.Б. — д.м.н., заведующий лабораторией НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Иванова Н.Е. — врач-гематолог, заведующая лабораторией тканевого типирования клиники ТКМ, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Ткаченко О.Ю. — врач КЛД, лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине Министерства здравоохранения РФ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Блинова Т.В. — врач КЛД, лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине Министерства здравоохранения РФ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Тотolian Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Guseva V.I., Junior Research Associate, Center for Molecular Medicine, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Lapin S.V., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Autoimmunology, Center for Molecular Medicine, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Maslyansky A.L., PhD (Medicine), Rheumatologist, Senior Research Associate, Research Laboratory of Rheumatology, V. Almazov North-West Federal Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

Myachikova V.Yu., Rheumatologist, Department of Rheumatology, V. Almazov North-West Federal Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

Chukhlovin A.B., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Transplantation Immunology, R. Gorbacheva Memorial Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Ivanova N.E., Hematologist, Head, Laboratory of HLA Typing, R. Gorbacheva Memorial Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Tkachenko O.Yu., Clinical Laboratory Diagnostician, Laboratory of Autoimmunology, Center for Molecular Medicine, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Blinova T.V., Clinical Laboratory Diagnostician, Laboratory of Autoimmunology, Center for Molecular Medicine, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Director, L. Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Head, Immunology Department, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 20.03.2018

Отправлена на доработку 05.04.2018

Принята к печати 03.04.2018

Received 20.03.2018

Revision received 05.04.2018

Accepted 03.04.2018