

Ассоциативная связь полиморфизмов *HLA-DRB1* и *TNFA-308 A/G* с деструктивным поражением суставов у больных ранним ревматоидным артритом с высокой воспалительной активностью заболевания (исследование РЕМАРКА)

И.А. ГУСЕВА¹, А.В. СМЕРНОВ¹, Н.В. ДЕМИДОВА¹, М.Ю. КРЫЛОВ¹, А.С. АВДЕЕВА¹, Е.Ю. САМАРКИНА¹, Е.Л. ЛУЧИХИНА², Д.Е. КАРАТЕЕВ², Д.Д. АБРАМОВ³, Е.Л. НАСОНОВ^{1,4}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия;

²БУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия;

³ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

⁴ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, кафедра ревматологии института профессионального образования, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучение взаимосвязи аллелей гена *HLA-DRB1* и полиморфизма *TNFA(-308G>A)* с деструктивным поражением суставов и его прогрессированием в течение 12 мес у больных с ранним (<6 мес), активным ревматоидным артритом (РА), преимущественно позитивным по антителам к циклическим цитруллинированным пептидам (АЦЦП) и ревматоидному фактору (РФ), леченным согласно стратегии «Treat to target».

Материалы и методы. В исследование включены 85 пациентов с ранним РА с длительностью симптомов не более 6 мес. Всем пациентам первоначально назначен метотрексат (МТ) с быстрой эскалацией дозы до 20–25 мг/нед. При неэффективности назначали комбинированную терапию МТ+генно-инженерный биологический препарат (ГИБП), главным образом адалимумаб. Степень деструктивного поражения суставов оценивали в момент включения в исследование и через 12 мес наблюдения. Полиморфизм гена *TNFA(-308G>A)* генотипировали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Полиморфизм гена *HLA-DRB1* исследовали с использованием низкоразрешающего генотипирования PCR-RT с последующим секвенированием аллеля *04. К аллелям SE+ (Shared Epitope) относили аллели *HLA-DRB1**01, *04:01, *04:04, *04:05, *04:08, *10.

Результаты. Показано, что базовые значения числа сужений и общего счета по Шарпу у носителей генотипа GG гена *TNFA* почти в два раза превышали таковые у носителей генотипа GA ($p<0,005$ и $p<0,004$ соответственно). Аналогичная взаимосвязь выявлена через 12 мес. Прогрессирование деструктивного поражения суставов, оцененное как изменение (Δ) числа эрозий, сужений суставных щелей и общего счета статистически значимо ассоциировано с генотипами *HLA-DRB1**(SE): у носителей двойной дозы SE (SE+/SE+) прогрессирование выражено значительно по сравнению с таковым у носителей (SE+/SE-) + (SE-/SE-) ($p<0,028$, $p<0,019$, $p<0,035$ соответственно).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что полиморфизмы генов *HLA-DRB1* и *TNFA(-308G>A)* независимо друг от друга ассоциированы с рентгенологическим деструктивным поражением суставов у больных с ранним, активным РА после 12 мес лечения согласно стратегии «Treat to target».

Ключевые слова: ранний ревматоидный артрит, активность заболевания, деструктивное поражение суставов, *HLA-DRB1*, Shared epitope, SE, *TNFA*, однонуклеотидный полиморфизм.

Association of polymorphisms of *HLA-DRB1* and *TNF-308 G/A* with radiographic joint damage in patients with early rheumatoid arthritis with high inflammatory activity, treated according to the principle of “Treat to target” (REMARKA study)

I.A. GUSEVA¹, A.V. SMIRNOV¹, N.V. DEMIDOVA¹, M.Yu. KRYLOV¹, A.S. AVDEEVA¹, E.Yu. SAMARKINA¹, E.L. LUCHIKHINA², D.E. KARATEEV², D.D. ABRAMOV³, E.L. NASONOV^{1,4}

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Rheumatology named after V.A. Nasonova», Moscow, Russia;

²Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow, Russia;

³National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

⁴Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Summary

Objective. To clarify the association between *HLA-DRB1* and *TNFA(-308G>A)* genes polymorphism and joint destruction/further progression during 12 months of the follow-up period (FUP) in patients with early (<6 months), active, predominantly antibodies to cyclic citrullinated peptide (ACCP) and rheumatoid factor (RF)-positive rheumatoid arthritis (RA) treated according to "Treat to target" strategy.

Materials and Methods. The study included 85 patients with early RA and duration of symptoms <6 months. All patients were initially assigned to subcutaneous methotrexate (MTX) with rapid dose escalation to 20-25 mg/week. Combination MTX + biological therapy, mainly adalimumab, was used when MTX was ineffective. Joint destruction was assessed by Sharp-Van der Heijde modification scoring method at baseline and after 12 months FUP. Real time polymerase chain reaction (PCR-RT) was used for *TNFA* gene polymorphism (-308G>A) genotyping. Low resolution PCR-RT with subsequent sequence-based typing of *04 were performed to study *HLA-DRB1* gene polymorphism. The *HLA-DRB1**01, *04:01, *04:04, *04:05, *04:08, *10 alleles were categorized as SE+ (Shared Epitope) alleles.

Results. As for *TNFA* gene polymorphism, it was demonstrated that the number of narrowings and total Sharp score values were almost twice as high at baseline in GG genotype carriers as compared to GA genotype carriers ($p<0,005$, and $p<0,004$ respectively). Similar association was found after 12mo FUP.

The progression of joint destruction, assessed as the change (Δ) in the number of erosions, joint space narrowings and the total score, was statistically significantly associated with *HLA-DRB1**(SE) genotypes: the carriers of SE (SE+/SE+) double-dose had more advanced progression as compared to (SE+/-SE-)/(SE-/SE-) carriers ($p < 0,028$, $p < 0,019$, $p < 0,035$ respectively).

Conclusion. Our data suggest that *HLA-DRB1* (SE+) gene and *TNFA* (-308G>A) polymorphisms are associated with the progression of radiographic joint destruction in early, active RA patients managed according to "Treat to target" strategy.

Keywords: early rheumatoid arthritis, disease activity, radiographic damage, *HLA-DRB1*, Shared epitope, SE, *TNFA*, single nucleotide polymorphism.

АЦЦП - антитела к циклическим цитруллинированным пептидам
БПВП – базисные противовоспалительные препараты
ВГН – верхняя граница нормы
ГИБП – генно-инженерный биологический препарат
МТ – метотрексат
ОШ – отношение шансов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ – ПЦР в режиме реального времени

РА – ревматоидный артрит
РРА – ранний РА
РФ – ревматоидный фактор
СРБ – С-реактивный белок
ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
ЧПС – число припухших суставов
IgM – иммуноглобулин М

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое системное воспалительное заболевание соединительной ткани, характеризующееся деструктивным поражением суставов, в патогенезе которого значительную роль играют аутоиммунные механизмы [1]. РА относится к большой группе мультифакториальных, полигенных заболеваний, которые характеризуются вовлеченностью в формирование предрасположенности к болезни и выраженный клинический полиморфизм многих генов.

Для идентификации пациентов с РА на ранней стадии болезни разработаны критерии ACR/EULAR 2010 г. [2], что позволило начинать лечение как можно раньше, следуя стратегии «Лечения до достижения цели» ("Treat to target"). Основная цель такого подхода – достижение клинической ремиссии или низкой активности заболевания. Однако необходимо подчеркнуть, что у пациентов с одинаковым диагнозом наблюдается межиндивидуальная вариабельность клинических, лабораторных, инструментальных и функциональных параметров как в момент постановки диагноза, так и в процессе лечения. В частности, у ряда пациентов наблюдается быстрое рентгенологическое прогрессирование суставного процесса с разрушением хряща и образованием эрозий, несмотря на проводимое лечение, что может приводить к функциональной недостаточности уже на ранних стадиях РА. В семейных и популяционных исследованиях показано, что не только предрасположенность к развитию РА, но и степень деструктивного поражения суставов, продукции антител к циклическим цитруллинированным пептидам (АЦЦП), ревматоидного фактора РФ генетически детерминированы [3–6].

Наиболее значимым генетическим маркером прогрессирования деструктивного поражения суставов является ген *HLA-DRB1*, точнее, некоторые его аллели, которые обозначают как Shared Epitope, SE-общий, схожий эпитоп, который кодируется аллелями *01:01, *01:02, *04:01, *04:04, *04:05, *04:08, *14:02, *10 [7, 8].

Всего в системе гистосовместимости человека HLA идентифицировано 200–220 генов, 30–40% из которых принимают участие в реализации иммунного ответа. Одним из ключевых цитокинов, играющих центральную роль в патогенезе РА, является интерлейкин TNF- α [фактор некроза опухоли (ФНО- α)], который кодируется геном *TNFA* и который, в свою очередь, картируется в регионе класса III системы HLA. В силу выраженного неравновесия по сцеплению (физически близкое расположение более 200 генов на участке ≈ 6 килобаз) образуются устойчивые гаплотипы. Наиболее известным является *HLA-A1*; B8; DR3; DQ2. Кроме того, установлено, что аллель *HLA**03 ассоциирован с аллелем А полиморфного варианта гена *TNFA*(-308G>A). Данные о взаимосвязи наиболее хорошо изученного полиморфизма *TNFA*(-308G>A) в рентгенологической суставной деструкции противоречивы.

Цель нашего исследования заключалась в изучении взаимосвязи аллелей гена *HLA-DRB1* и полиморфизма *TNFA*(-308G>A) независимо друг от друга или в комбинации с деструктивным поражением суставов и его прогрессированием в течение 12 мес у больных с ранним (<6 мес), активным, преимущественно АЦЦП и РФ-позитивным РА, леченным согласно стратегии «Treat to target».

Материалы и методы

Исследование проведено в рамках программы РЕМАР-КА (Российское исследование Метотрексата и биологических препаратов при Раннем Активном Артритe). В исследование включены 85 больных ранним РА (РРА) с длительностью симптомов не более 6 мес. Диагноз РА ставился по критериям ACR/EULAR 2010 г. Необходимые условия для включения пациентов в исследование: высокая активность заболевания [SDAI ≥ 11 , число припухших суставов (ЧПС) ≥ 3 , СОЭ по Вестергрэну ≥ 28 мм/ч или С-реактивный белок (СРБ) ≥ 10 мг/л]; наличие прогностических неблагоприятных факторов (обнаружение АЦЦП, иммуноглобулина М (IgM) РФ, эрозий по данным рентгенографии, значение индекса HAQ); отсутствие терапии базисными противовоспалительными препаратами (БПВП) к моменту включения пациентов в исследование.

Всем пациентам первоначально назначен метотрексат (МТ) с быстрой эскалацией дозы до 20–25 мг/нед. При неэффективности назначали комбинированную терапию МТ+ГИБП, главным образом адалимумаб. Каждые 3 мес

Сведения об авторах:

Смирнов Александр Викторович – д.м.н., зав. лаб., 8(903) 266-22-42

Демидова Наталья Викторовна – к.м.н., н.с., 8(910) 468-97-09

Крылов Михаил Юрьевич – к.м.н., ст.н.с., 8(916) 306-10-64

Авдеева Анастасия Сергеевна – к.м.н., н.с., 8(903) 841-84-95

Самаркина Елена Юрьевна – м.н.с., 8(916) 831-19-36

Лучихина Елена Львовна – к.м.н., в.н.с., 8(916) 196-35-20

Каратеев Дмитрий Евгеньевич – д.м.н., гл. н.с., 8(985) 921-57-99

Абрамов Дмитрий Дмитриевич – к.б.н., в.н.с., 8(903) 197-81-56

Насонов Евгений Львович – акад. РАН, научный руководитель ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой

Контактная информация:

Гусева Ирина Анатольевна – к.м.н., с.н.с.; ORCID ID orcid.org/0000-0002-4906-7148; тел.: 8(916)870-14-74; e-mail: irigus@yandex.ru

эффективность терапии контролировали по индексам активности DAS28, SDAI, CDAI.

Степень деструктивного поражения суставов оценивали в момент включения в исследование (85 человек) и через 12 мес наблюдения (68 человек). Для оценки прогрессирования изменений в суставах при РА использовали метод Sharp в модификации van der Heijde. Оценивались суставы кистей и дистальных отделов стоп. Максимальный общий счет (модифицированный счет Шарпа) представлял собой суммирование баллов по эрозиям и сужениям суставных щелей. Прогрессирование суставной деструкции оценивали у каждого пациента как разность баллов (Δ счета эрозий, Δ счета сужений суставных щелей и Δ общего счета), измеренных при включении в исследование и через 12 мес. Кроме того, прогрессия оценивалась как дихотомичная вариабельность (есть/нет), при этом наличие прогрессии регистрировали, если имелись изменения в счете баллов ($\Delta=1,0$ балл) при оценке рентгенограмм между временными точками 0–12 мес.

Геномная ДНК выделена методом солевой экстракции с использованием хлорида натрия.

Для базового низкоразрешающего генотипирования локуса *HLA-DRB1* на уровне групп аллелей использовали метод на основе классической методики сиквенс-специфических праймеров (Sequence Specific Primers, SSP), модифицированной для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (ПЦР-РВ; НПФ «ДНК-Технология»).

Разработанная тест-система представляла собой 13 комплектов реагентов, предназначенных соответственно для выявления в образце следующих групп аллелей локуса *HLA-DRB1*: *01, *15(*02), *16(*02), *03, *04, *11(*05), *12(*05), *13(*06), *14(*06), *07, *08, *09, *10.

Накопление продуктов амплификации регистрировали с помощью флуоресцентно-меченого зонда типа Taq-man[®], расположенного на участке второго экзона локуса *HLA-DRB1*, общего для всех групп аллелей.

ПЦР, детекцию продуктов амплификации в режиме РВ и интерпретацию полученных результатов проводили с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия) и программного обеспечения к нему.

Высокоразрешающее генотипирование аллелей *DRB1**04, позволяющее «прочитать» последовательность нуклеотидов и точно определить аллель до 4–8 знаков после значка «*» (например, *DRB1**040101, *0404) осуществлено на секвенаторе 3130I Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Экзон 2-го гена *DRB1* амплифицирован с использованием групп специфических праймеров с последующим секвенированием ампликонов.

Генотипирование полиморфизма гена *TNFA(-308G>A, rs1800629)* выполнено методом ПЦР-РВ (PCR-RT) с использованием оригинальных сиквенс-специфических праймеров и проб, меченных различными флуоресцентными метками (НПФ «ДНК-Технология»). Автоматическую регистрацию и интерпретацию полученных результатов проводили на отечественном инновационном детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология»). Генотипирование проводили согласно инструкции фирмы-изготовителя наборов. При проверке работоспособности созданных тест-систем в качестве референсного метода определения генотипа образцов использовали автоматическое секвенирование ДНК по Сэнгеру с применением автоматического секвенатора ABI PRISM[®]310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Определение концентрации АЦЦП 2 проводили иммуноферментным методом с использованием коммерческого

набора фирмы «Axis-Shield Diagnostic Limited» (Великобритания) согласно инструкции фирмы-производителя, верхняя граница нормы (ВГН) – 5 Ед/мл. Больных с уровнем продукции АЦЦП > 5 Ед/мл относили в группу АЦЦП-положительных лиц, с уровнем продукции \leq 5 Ед/мл – в группу АЦЦП-негативных лиц. Также АЦЦП определяли электрохемилюминесцентным методом (Cobas e411), ВГН – 17 Ед/мл.

Определение IgM РФ проводили методом иммунофлуориметрии на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring, Германия), ВГН – 15 МЕ/л. Больные с уровнем продукции IgM РФ >15 МЕ/л отнесены в группу РФ-положительных лиц, с уровнем продукции \leq 15 МЕ/л – в группу РФ-негативных лиц.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ SPSS 17.0 с включением методов параметрического и непараметрического анализов.

Для вариабельностей с нормальным распределением подсчитаны средние величины (means – М) и среднеквадратичные отклонения (Standard Deviations – SD), *t*-критерий использован для сравнения двух выборок. При асимметричном распределении вариабельностей данные представлены как медиана и межквартильный размах. Для сравнения двух независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни, для сравнения двух зависимых выборок – критерий Вилкоксона. При сравнении трех и более независимых выборок использовали критерий Краскала–Уоллеса.

Для оценки информативности генетических маркеров (аллели гена *HLA-DRB1* и полиморфизм гена *TNFA-308G/A*) в качестве предикторов прогрессирования эрозивного процесса как бинарной переменной использован метод логистической регрессии. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты

Демографическая, клинично-лабораторная, рентгенологическая и молекулярно-генетическая характеристики больных РРА при включении в исследование представлены в **табл. 1**. Обследованы 85 пациентов (19 мужчин, 66 женщин). Возраст больных варьировал от 20 до 74 лет и в среднем составил $52,0 \pm 12,9$ года. В группе преобладали женщины – 66 (77,6%), соотношение мужчин и женщин равнялось 1:3,5. Средняя продолжительность заболевания на момент включения в исследование составила $4,1 \pm 1,4$ мес (от 1 до 6 мес). Подавляющее число больных являлись АЦЦП (79/85) и РФ (80/85) положительными. Количественные значения АЦЦП оказались высокими: у подавляющего числа пациентов концентрация достигала 50 Ед/мл и выше.

При включении в исследование эрозии выявлены у 35 (41,2%) из 85 пациентов, через 12 мес – у 30 (44,1%) из 68 пациентов. Сужение суставных щелей наблюдалось у 82 (96,5%) из 85 и у 84 (98,8%) из 85 пациентов на момент включения в исследование и через 12 мес динамического наблюдения. Базовые количества эрозий, сужения суставных щелей и общий счет по Шарпу в баллах представлены в **табл. 1**.

Аллели *HLA-DRB1**(SE+) определялись у 56 (65,8%) пациентов, из них двойная доза SE (SE+/SE+) выявлена у 15 (17,6%) и одна копия SE (SE+/SE-) – у 41 (48,2%) пациента (**см. табл. 1**).

Генотип *TNFA-308GG* обнаружен у 64 (75,3%) пациентов и генотип *GA* – у 21 (24,7%) пациента. Генотип *AA* не выявлен ни у одного пациента (**см. табл. 1**).

В **табл. 2** представлены значения счета эрозий, сужения суставных щелей, общего счета по Шарпу, стратифи-

Таблица 1. Базовые демографическая, клиничко-лабораторная, рентгенологическая и молекулярно-генетическая характеристики больных PPA

Параметр	Число больных (n=85)
Пол, число женщин/мужчин	66/19
Возраст, лет, Mean (SD)	52,0 (12,9)
Длительность заболевания, мес, ME [25%; 75%]	4,0 [3,0; 5,0]
СРБ, мг/л, ME [25%; 75%]	25,3 [8,4; 52,0]
DAS28, баллы, Mean (SD)	5,7(1,18)
SDAI, баллы, ME [25%; 75%]	30,7 [21,1; 41,8]
CDAI, баллы, ME [25%; 75%]	28,0 [19,5; 38,5]
HAQ (баллы)	1,56 (0,72)
Число эрозий, баллы, ME [25%; 75%]	0,0 [0,0; 2,5]
Число сужений суставных щелей, баллы, ME [25%; 75%]	65,0 [37,5; 95,0]
Общий счет по Шарпу, баллы, ME [25%; 75%]	67,0 [39,0; 97,5]
АЦЦП, позитивность, %	92,9
IgM РФ, позитивность, %	94,1
<i>DRB1</i> *SE+/SE+, число (%)	15 (17,6)
*SE+/SE-, число (%)	41 (48,2)
*SE-/SE-, число (%)	29 (34,2)
<i>TNFA</i> -308G/G, число (%)	64 (75,3)
-308G/A, число (%)	21 (24,7)

Примечание. Mean (SD) – среднее (среднеквадратичное отклонение); ME [25%; 75%] – медиана [25-й; 75-й процентиля]; SE+/SE+ – наличие аллелей *DRB1**01, *0401, *0404, *0405, *0408, *10 (“двойная доза” SE+) в двух хромосомах; SE-/SE- – отсутствие в генотипе аллелей SE+; SE+/SE- – наличие аллелей SE+ только на одной хромосоме.

Таблица 2. Счет эрозий, сужений суставных щелей, общий счет по Шарпу в зависимости от генотипов гена *TNFA*-308G/A у больных PPA при включении в исследование и через 12 мес лечения (ME [25%; 75%])

Показатели деструкции суставов	Генотип (количество пациентов) [#]	Базовые значения	<i>p</i>	Значения через 12 мес	<i>p</i>
Эрозии	GG (64/49)	0,0 [0,0; 3,0]	>0,05	0,0 [0,0; 4,5]	>0,05
	GA (21/19)	0,0 [0,0; 1,0]		0,0 [0,0; 1,0]	
Сужение суставных щелей	GG (64/49)	69,0 [49,5; 98,0]	<0,005	72,0 [49,5; 98,5]	<0,007
	GA (21/19)	37,0 [29,0; 63,0]		37,0 [29,0; 63,0]	
Общий счет по Шарпу	GG (64/49)	72,0 [50,0; 99,5]	<0,004	76,0 [50,0; 102,0]	<0,002
	GA (21/19)	38,0 [29,0; 63,0]		38,0 [29,0; 67,0]	

Примечание. [#]Первая цифра – количество пациентов с определенным генотипом в начале исследования, вторая цифра – количество пациентов через 12 мес исследования.

цированных по генотипам гена *TNFA*. При включении в исследование и через 12 мес проспективного наблюдения значения счета эрозий не различались у носителей генотипов GG и GA ($p>0,05$). В то же время сужение суставных щелей и общего счета по Шарпу значительно коррелировало с генотипами гена *TNFA*. Базовые значения числа сужений и общего счета по Шарпу у носителей генотипа GG почти в два раза превышали таковые у носителей генотипа GA ($p<0,005$ и $p<0,004$ соответственно). Аналогично через 1 год значения числа сужений и общего счета по Шарпу у носителей генотипа GG в два раза превышали таковые у носителей генотипа GA ($p<0,007$ и $p<0,002$ соответственно).

Необходимо отметить, что прогрессирование деструкции суставов, оцененное как Δ сужения суставных щелей и общего счета Шарпа, не ассоциировано с полиморфизмом гена *TNFA* ($p>0,05$) через 12 мес проспективного исследования.

Кроме того, мы проанализировали, усиливается ли взаимосвязь комбинации аллелей *HLA-DRB1**03 и аллелей *TNFA* (GG/*DRB1**03+, GG/*DRB1**03-, GA/*DRB1**03+, GA/*DRB1**03-) с прогрессированием деструкции суставов. Анализ показал, что ни одна комбинация не увеличивала взаимосвязь с рентгенологическими изменениями по сравнению с генотипами *TNFA*.

В табл. 3 представлены данные по счету эрозий, сужению суставных щелей, общему счету по Шарпу, а также прогрессированию суставного процесса, оцененному как Δ вышеперечисленных показателей в зависимости от носительства генотипов *HLA-DRB1**(SE). Пациентов разделили на две группы: 1) носители двойной дозы SE (SE+/SE+); 2) носители или одной дозы SE (SE+/SE-) или аллелей *HLA-DRB1*, не относящихся к SE (SE-/SE-). Как следует из табл. 3, число эрозий, сужений суставных щелей и общий счет по Шарпу как при включении в исследование, так и через 12 мес не ассоциированы с носительством и дозой аллелей SE ($p>0,05$). Однако прогрессирование деструктивного поражения суставов, оцененное как изменение (Δ) числа эрозий, сужений суставных щелей и общего счета статистически значимо ассоциировано с генотипами *HLA-DRB1**(SE): у носителей двойной дозы SE (SE+/SE+) прогрессирование выражено значительно по сравнению с таковым у носителей (SE+/SE-)/(SE-/SE-).

Логистический регрессионный анализ также выявил взаимосвязь прогрессирования деструкции суставов (эрозирование, общий счет по Шарпу), как бинарных переменных, с наличием в генотипе большого двойной дозы SE+. Показатели отношения шансов (ОШ) оказались практиче-

Таблица 3. Счет эрозий, сужений суставных щелей, общий счет по Шарпу, Δсчета эрозий, Δ сужения суставных щелей и Δ общего счета по Шарпу в зависимости от генотипов гена *DRB1*(SE+) у больных РРА при включении в исследование и через 12 мес лечения [ME (25%; 75%)]

Показатели деструкции суставов	Генотип (количество пациентов) [#]	Базовые значения	<i>p</i>	Значения через 12 мес	<i>p</i>
Эрозии	SE+/SE+ (15/11)	0,0 [0,0; 3,0]	>0,05	1,0 [0,0; 7,0]	>0,05
	SE+/SE-/SE-/SE- (70/57)	0,0 [0,0; 2,0]		0,0 [0,0; 3,0]	
Сужение суставных щелей	SE+/SE+ (15/11)	62,0 [50,0; 81,0]	>0,05	62,0 [50,0; 85,0]	>0,05
	SE+/SE-/SE-/SE- (70/57)	67,0 [37,5; 92,5]		67,0 [37,5; 92,5]	
Общий счет по Шарпу	SE+/SE+ (15/11)	63,0 [51,0; 88,0]	>0,05	63,0 [51,0; 101,0]	>0,05
	SE+/SE-/SE-/SE- (70/57)	67,0 [39,0; 95,0]		67,0 [39,0; 95,0]	
Δ Эрозий	SE+/SE+ (11) SE+/SE-/SE-/SE- (57)	–		0,0 [0,0; 3,0] 0,0 [0,0; 0,0]	0,028
Δ Сужения суставных щелей	SE+/SE+ (11) SE+/SE-/SE-/SE- (57)	–		0,0 [0,0; 3,0] 0,0 [0,0; 0,0]	0,019
Δ Общего счета по Шарпу	SE+/SE+ (11) SE+/SE-/SE-/SE- (57)	–		0,0 [0,0; 6,0] 0,0 [0,0; 0,0]	0,035

Примечание. [#]Первая цифра – количество пациентов с определенным генотипом в начале исследования, вторая цифра – количество пациентов через 12 мес исследования.

ски одинаковыми при оценке прогрессирования по изменению счета баллов по эрозиям и общему счету по Шарпу (ОШ=4,1 [1,1–17,6], $p=0,05$). Это объясняется тем, что прогрессирование в большей мере связано с увеличением числа эрозий, но не числа сужений суставных щелей.

Нами проанализирована дополнительно взаимосвязь позитивности по АЦЦП и РФ как бинарных переменных с рентгенологическими показателями деструкции суставов и генотипами генов *TNFA* и *HLA-DRB1* (SE+). Никаких статистически значимых взаимосвязей иммунологических показателей с инструментальными и молекулярно-генетическими параметрами не обнаружено.

Обсуждение

РА относится к большой группе мультифакториальных, полигенных заболеваний, которые характеризуются вовлеченностью в формирование предрасположенности к болезни и выраженный клинический полиморфизм многих генов. Вполне вероятно, что гены или их полиморфные варианты могут быть ассоциированы не только с предрасположенностью к развитию заболевания, но и его отдельными фенотипами. До сих пор деструктивное поражение суставов является практически неотъемлемым признаком РА, хотя у пациентов это проявление болезни носит чрезвычайно вариабельный характер.

Ранее во многих исследованиях показана важная роль аллелей гена *HLA-DRB1*(SE+) в качестве генетического маркера неблагоприятного прогноза прогрессирования деструкции суставов [9,10], хотя ряд исследователей полагают, что такая взаимосвязь обусловлена тесной ассоциацией аллелей *HLA-DRB1*(SE) с АЦЦП, которые и определяют тяжелое течение болезни. В нашем исследовании практически все больные являлись АЦЦП-позитивными, причем с очень высокими титрами аутоантител (выше трех норм). Однако деструктивное поражение суставов, в частности эрозивное, развилось лишь у части пациентов.

Поскольку наша выборка больных с ранним активным РА характеризовалась чрезвычайно высокой частотой позитивности по АЦЦП и РФ (условие включения пациента в исследование), мы ожидали, что и частота аллелей SE+ также будет более высокой. К нашему удивлению, распределение генотипов *HLA-DRB1* (SE+/SE+, SE+/SE-, SE-/SE-) не отличалось от такового в выборке больных из исследования РАДИКАЛ (21,1, 40,6, 38,3% соответственно), которая характеризовалась более низкой частотой позитивности по АЦЦП и РФ (61,0 и 67,0% соответственно) [11]. Можно предположить, что прямая взаимосвязь аллелей гена *HLA-DRB1* с продукцией АЦЦП не является столь очевидным фактом.

Несмотря на проводимое лечение согласно принципу «Тreat to target», причем начатое на ранней стадии заболевания, у больных с активным РА наблюдалось некоторое прогрессирование деструкции суставов. Такая прогрессия связана скорее с увеличением числа эрозий, чем числа сужений суставных щелей. Мы выявили статистически значимую взаимосвязь прогрессирования деструкции суставов по Шарпу с генотипами гена *HLA-DRB1*(SE+).

В то же время полиморфизм гена *TNFA*-308G/A статистически значимо ассоциирован с сужением суставных щелей и общим счетом по Шарпу как при включении больных в исследование, так и через 1 год динамического наблюдения. Однако необходимо отметить, что на фоне лечения согласно принципу «Тreat to target» прогрессирования сужения щелей и общего счета по Шарпу не наблюдалось.

В литературе мы не обнаружили исследований, посвященных изучению взаимосвязи полиморфизмов генов *HLA-DRB1* и *TNFA*-308G/A с деструктивным поражением суставов и его прогрессированием в ходе лечения больных РА согласно стратегии «Тreat to target».

В более ранних исследованиях ассоциативная связь выше перечисленных полиморфизмов с деструкцией суставов тестировалась у больных с ранним РА, леченных базисными противовоспалительными препаратами. В 5-летнем про-

спективном исследовании D. Khanna и соавт. выявлена ассоциация генотипов AA/AG с более высокой степенью прогрессирования эрозий, сужения суставных щелей и общим счетом по Шарпу по сравнению с генотипом GG. Ассоциативная взаимосвязь полиморфизма гена *HLA-DRB1* и совместных генотипов *HLA-DRB1* и *TNFA-308G/A* с деструктивным поражением суставов и его прогрессированием не обнаружена [12]. Исследования A.H. van der Helm-van Mil и соавт. и S. Reneses и соавт. не выявили взаимосвязь степени деструктивного поражения суставов с полиморфизмом *TNFA-308G/A* [13,14].

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют, что полиморфизм гена *HLA-DRB* (SE+) ассоциирован с прогрессированием деструктивного поражения суставов через 12 мес лечения. В то же время полиморфизм *TNFA(-308G>A)* ассоциирован с базовыми значениями сужения суставов и общим счетом по Шарпу, но не прогрессированием суставного процесса у больных с ранним, активным РА после 12 мес лечения согласно стратегии «Treat to target».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология. Национальное руководство. Под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008: 290-331. [Nasonov EL, Karateev DE, Balabanova RM. Rheumatoid arthritis. V knige: Revmatologiya. Nacional'noe rukovodstvo. Pod redakciej EL Nasonova, VA Nasonovoj. Moskva: GEHOTAR-Media, 2008: 290-331 (In Russ.)].
2. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawski-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-2581. <https://doi.org/10.1002/art.27584>
3. Rojas-Villarraga A, Diaz FJ, Calvo-Páramo E, Salazar JC, Iglesias-Gamarrá A, Mantilla RD, Anaya JM. Familial disease, the HLA-DRB1 shared epitope and anti-CCP antibodies influence time at appearance of substantial joint damage in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2009;32(1):64-69. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2008.11.004>
4. Knevel R, Gröndal G, Huizinga TW, Visser AW, Jönsson H, Vikingsson A, Geirsson AJ, Steinsson K, van der Helm-van Mil AH. Genetic predisposition of the severity of joint destruction in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(5):707-709. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200627>
5. Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, O'Donnell C, Weisman MH, Buckner JH, Gersuk VH, Wei S, Mikuls TR, O'Dell J, Gregersen PK, Keating RM, Norris JM, Holers VM. A prospective approach to investigating the natural history of preclinical rheumatoid arthritis (RA) using first-degree relatives of probands with RA. *Arthritis Rheum.* 2009;61(12):1735-1742. <https://doi.org/10.1002/art.24833>
6. Ärlestig L, Mullazehi M, Kokkonen H, Rocklöv J, Rönnelid J, Dahlqvist SR. Antibodies against cyclic citrullinated peptides of IgG, IgA and IgM isotype and rheumatoid factor of IgM and IgA isotype are increased in unaffected members of multicase rheumatoid arthritis families from northern Sweden. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(6):825-829. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200668>
7. van den Berg WB, van Riel PL. Uncoupling of inflammation and destruction in rheumatoid arthritis: myth or reality? *Arthritis Rheum.* 2005 Apr;52(4):995-9.
8. Aletaha D, Alasti F, Smolen JS. Rituximab dissociates the tight link between disease activity and joint damage in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(1):7-12. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201970>
9. MacGregor A, Ollier W, Thomson W, Jawaheer D, Silman A. HLA-DRB1*0401/0404 genotype and rheumatoid arthritis: increased association in men, young age at onset, and disease severity. *J Rheumatol.* 1995;22(6):1032-1036.
10. Gorman JD, Lum RF, Chen JJ, Suarez-Almazor ME, Thomson G, Criswell LA. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3,240 rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2004;50(2):400-412.
11. Гусева И.А., Демидова Н.В., Лучихина Е.Л., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л. Иммуногенетические и иммунологические маркеры раннего ревматоидного артрита (РА). Результаты первого этапа исследований по программе РАДИКАЛ. Научно-практическая ревматология. 2008; 6: 17-26. [Guseva IA, Demidova NV, Luchihina EL, Novikov AA, Aleksandrova EN, Boldyreva MN, Gus'kova IA, Karateev DE, Nasonov EL. Immunogeneticheskie i immunologicheskie markery rannego revmatoidnogo artrita (RA). Rezul'taty pervogo etapa issledovanij po programme RADIKAL. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2008; 6: 17-26. (In Russ)]
12. Khanna D, Wu H, Park G, Gersuk V, Gold RH, Nepom GT, Wong WK, Sharp JT, Reed EF, Paulus HE, Tsao BP; Western Consortium of Practicing Rheumatologists. Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism, but not the shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort. *Arthritis Rheum.* 2006;54(4):1105-1116.
13. van der Helm-van Mil AH, Kurreeman FA, Toes RE, Huizinga TW. Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism and radiographic progression in rheumatoid arthritis: comment on the article by Khanna et al. *Arthritis Rheum.* 2007;56(3):1032-1033; author reply 1033-1034.
14. Reneses S, González-Escribano MF, Fernández-Suárez A, Pestana L, Davila B, Wichmann I, García A. The value of HLA-DRB1 shared epitope, -308 tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism, rheumatoid factor, anti-citrullinated peptide antibodies, and early erosions for predicting radiological outcome in recent-onset rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2009;36(6):1143-1149. <https://doi.org/10.3899/jrheum.081075>

Поступила 29.01.18