

ТИПИРОВАНИЕ АНТИГЕНОВ HLA-A, -B И ГЕНА DRB1 В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ У ПАЦИЕНТОВ РОСТОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

А. Г. Ханов¹, С. И. Палухин², И. В. Ищенко², Э. Е. Кудинова², Т. И. Труфанова², О. А. Савченко², Я. В. Козаченко², Г. М. Перцева³, А. А. Борщева³, Е. А. Литвиненко³

¹ГБУ РО «Областная клиническая больница №2», Ростов-на-Дону, Россия

²ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия

³ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: ретроспективный анализ результатов, полученных при типировании антигенов HLA-A, -B и группы аллелей HLA DRB1 у больных ревматоидным артритом (РА) в Ростовской популяции. **Материалы и методы:** в 2019–2020 гг. в ЛИТТ ГБУ РО «СПК» проводилось типирование пациентов с ревматическими воспалительными заболеваниями, находившихся на стационарном лечении в ревматологическом отделении ГБУ «ОКБ №2». У 41 пациента (9 мужчин, 32 женщины, медиана возраста — 42 года) диагностирован РА. Все пациенты типированы по аллелям HLA-DRB1 полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени реагентами ДНК-ТЕХ (Россия). Для выделения ДНК использовали комплект Проба-Рapid-Генетика ООО НПО ДНК-Технология. По HLA-A, -B типировано 39 пациентов. Типирование проведено стандартным лимфоцитотоксическим тестом реагентами фирмы DILEN (Чешская республика). Лимфоциты выделяли в градиенте плотности «Лимфолот», фирма DILEN. Контрольная группа — здоровые жители Ростовской популяции (доноры регистра гемопоэтических стволовых клеток). **Результаты:** ретроспективный анализ показал, что при РА в Ростовской популяции HLA DRB1*04 встречается у 46,3%, в группе серопозитивного РА — у 61,1% (контроль — 20%). Отмечено снижение частоты HLA DRB1*13 (9,7%) по сравнению с контролем (24,4%). **Выводы:** высокий уровень достоверности ($p < 0,001$) повышения частоты аллелей HLA DRB1*04 подтверждает их ассоциативную связь с РА в Ростовской популяции. А снижение частоты HLA DRB1*13 указывает на протективную функцию данных аллелей при РА. Результаты типирования важны для ранней диагностики РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, HLA-типирование, антигены HLA-A, -B, аллели DRB1*04

Для цитирования: Ханов А.Г., Палухин С.И., Ищенко И.В., Кудинова Э.Е., Труфанова Т.И., Савченко О.А., Козаченко Я.В., Перцева Г.М., Борщева А.А., Литвиненко Е.А. Типирование антигенов HLA-A, -B и гена DRB1 в клинической практике у пациентов Ростовской популяции для ранней диагностики ревматоидного артрита. *Южно-Российский журнал терапевтической практики*. 2022;3(4):61-69. DOI: 10.21886/2712-8156-2022-3-4-61-69

Контактное лицо: Кудинова Эльвира Евгеньевна, zlitt@yandex.ru

TYPING OF HLA-A, -B AND DRB1 ANTIGENS IN CLINICAL PRACTICE IN PATIENTS OF THE ROSTOV POPULATION FOR EARLY DIAGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

A. G. Khanov¹, S. I. Palukhin², I. V. Ishchenkova², E. E. Kudinova², T. I. Trufanova², O. A. Savchenko², Ya. V. Kozachenko², G. M. Pertseva³, A. A. Borshcheva³, E. A. Litvinenko³

¹Regional Clinical Hospital No. 2, Rostov-on-Don, Russia

²Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia

³Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Objective: a retrospective analysis of the results obtained by typing HLA-A, -B antigens and HLA DRB1 allele groups in patients with rheumatoid arthritis (RA) in the Rostov population. **Materials and methods:** typing of patients with rheumatic

inflammatory diseases who were on inpatient treatment in the rheumatology department of the SBI "OKB No. 2" was carried out in the LITT SBI RO "BTS" in 2019-2020. 41 patients (9 men, 32 women, median age — 42 years) were diagnosed with RA. All patients were typed by HLA-DRB1 alleles by real-time polymerase chain reaction with DNA-TECH reagents (Russia). To isolate DNA, a set of Sample-Rapid-Genetics was used by NPO DNA Technology LLC. 39 patients were typed according to HLA-A, -B. Typing was carried out by a standard lymphocytotoxic test with DILEN reagents (Czech Republic). Lymphocytes were isolated in a density gradient of "Lympholot", DILEN company. The control group consisted of healthy residents of the Rostov population (donors of the hematopoietic stem cell registry). **Results:** a retrospective analysis showed that HLA DRB1*04 occurs in 46.3% of the Rostov population with RA, in 61.1% of the seropositive RA group (control — 20%). There was a decrease in the frequency of HLA DRB1*13 (9.7%) compared to the control (24.4%). **Conclusions:** the high level of reliability ($p < 0.001$) of the increase in the frequency of HLA DRB1*04 alleles confirms their associative relationship with RA in the Rostov population. A decrease in the frequency of HLA DRB1*13 indicates the protective function of these alleles in RA. Typing results are important for early diagnosis of RA.

Keywords: rheumatoid arthritis, antibodies to cyclic citrullinated peptide, HLA typing, HLA-A, -B antigens, DRB1*04 alleles

For citation: Khanov A.G., Palukhin S.I., Ishchenkova I.V., Kudina E.E., Trufanova T.I., Savchenko O.A., Kozachenko Ya.V., Pertseva G.M., Borshcheva A.A., Litvinenko E.A. Typing of HLA-A, -B and DRB1 antigens in clinical practice in patients of the Rostov population for early diagnosis of rheumatoid arthritis. *South Russian Journal of Therapeutic Practice*. 2022;3(4):61-69. DOI: 10.21886/2712-8156-2022-3-4-61-69

Corresponding author: Elvira E. Kudina, zllitt@yandex.ru

Введение

Ревматоидный артрит — ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся развитием хронического эрозивного артрита (синовиита) и системным воспалительным поражением внутренних органов. Непрерывно персистирующее течение РА приводит к нарушению функции суставов и является причиной инвалидизации пациента.

РА регистрируется у 0,5–1% взрослого населения (возраст — 35–55 лет) в популяциях всего мира и в разных этнических группах [1]. В гериатрических группах пациентов его распространение достигает 2% [2].

Скрининг РА не проводится. Но иммунологические нарушения титров ревматоидного фактора (РФ), АЦЦП и С-реактивного белка (СРБ) выявляют за несколько месяцев или лет до развития клинических симптомов РА. При этом определение содержания РФ входит в классификационные критерии анализа РА.

В качестве первичных лабораторных тестов в диагностике РА, кроме РФ, рекомендуется определение АЦЦП. Установлено, что АЦЦП по сравнению с РФ обладает более высокой специфичностью. Определение АЦЦП — важный и существенный шаг в диагностике раннего РА. Так, исследования НИИР РАМН показали, что у серопозитивных по АЦЦП пациентов с высокой степенью достоверности через 12 месяцев РА развился у 70%, а у серонегативных — по АЦЦП у 30% [1].

АЦЦП могут определяться у пациентов, находящихся в группе риска по РА ещё до развития клинических проявлений и рассматриваться как возможный предиктор заболевания [3].

Этиология развития заболевания РА пока полностью не установлена, но генетическая предрасположенность к развитию РА подтверждена.

Доказательством значительной роли наслед-

ственных факторов является анализ развития заболевания у монозиготных близнецов, у которых конкордантность развития РА составляет 12–15% по сравнению с 1% в популяции [4]. Многие исследователи считают, что на генетические факторы у близнецов приходится около 60% восприимчивости к РА [5]. Неблагоприятным генетическим фактором предрасположенности к риску развития РА, возможно одним из важных, является носительство некоторых групп аллелей гена HLA-DRB1.

При популяционных исследованиях было отмечено значительное повышение частоты аллелей DRB1*04 и DRB1*01 у больных РА. При изучении этого факта Yregersen P.K и соавт. в 1987 г. обнаружили, что в позиции 70–74 в 3-й гипервариабельной области β -1-цепи гена DRB1* содержатся сходные последовательности из консервативных аминокислот (QKRAA, QRRAA и RRRRAA), которые являются общим эпитопом («shared epitope» — SE), кодируются аллелями HLA DRB1*01 (01,02), DRB1*04(01,04,05,08), HLA DRB1*10, DRB1*14(02), и ассоциированы с РА [6,7].

Во многих популяциях также отмечен протективный эффект группы аллелей DRB1*13 по отношению к заболеванию РА [5].

К настоящему времени накоплено много убедительных доказательств, что именно наличие в генотипе больных аллелей DRB1*04, содержащих SE (у европейцев это — 04:01, 04:04; 04:08; в азиатских популяциях — 04:05), значительно повышает риск развития РА. У пациентов при РА, содержащих SE, под воздействием экзогенных факторов запускается воспалительная реакция в соединительной ткани, где экспрессируются неоантигены, особенно цитруллинированные протеины, которые становятся мишенью аутоиммунных реакций, и в результате активации В-клеток индуцируется гиперпродукция АЦЦП.

Установлено, что аллели HLA-DRB1, со-

державшие SE, чаще ассоциированы с АЦЦП-положительным РА [4]. У пациентов с высоким уровнем АЦЦП наблюдается более активное течение заболевания с повышением индекса активности заболевания DAS28 (Disease activity score, DAS28) и наблюдается быстрое прогрессирование эрозивных изменений в суставах [8,9]. Важно отметить, что при РА коморбидные заболевания встречаются чаще, чем в популяции. Все они усугубляют неблагоприятный жизненный прогноз и потерю трудоспособности [10].

К настоящему времени, благодаря своевременному применению в лечении базисных противовоспалительных препаратов и многочисленных современных генно-инженерных препаратов, которые блокируют выработку «провоспалительных» цитокинов и/или активацию Т и В лимфоцитов произошло улучшение результатов лечения РА¹ [9,11]. Однако остаются сложности в диагностике раннего РА.

Определение состава аллелей гена HLA DRB1 у пациента с подозрением на РА может быть дополнительным исследованием для диагностики, прогноза течения заболевания и своевременного начала лечения.

Важно отметить, что в клинических рекомендациях РА обращено внимание на высокий риск развития и прогрессирования заболевания у пациентов-носителей HLA-DRB1*01/DRB1*04, имеющих +SE. Носительство HLA-DRB1*04:01 выявляется у 50–61% пациентов с РА, а HLA-DRB1*04:04 у 27–37% [9].

Использовать в широкой клинической практике определение SE аллелей на данный момент пока довольно сложно. Но учитывая, что при базовом ДНК-типировании определяются все группы аллелей гена DRB1, его возможно использовать для типирования пациентов с подозрением на РА для ранней диагностики заболевания.

В лаборатории иммунологического типирования тканей (ЛИТТ) ГБУ РО «СПК» по направлениям лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) проводится определение группы аллелей гена HLA DRB1 и серологическое типирование антигенов HLA-A, -B у пациентов с ревматическими воспалительными заболеваниями для ранней диагностики, в основном у пациентов с подозрением на РА и анкилозирующий спондилоартрит (АС).

Цель исследования — ретроспективный анализ результатов, полученных при типировании антигенов HLA-A, -B и групп аллелей HLA DRB1 у больных ревматоидным артритом в Ростовской популяции.

Материалы и методы

В течение 2019–2020 гг. нами проводилось типирование антигенов системы HLA I класса (HLA-A, HLA-B) и HLA II класса (ген DRB1) у пациентов с воспалительными ревматическими заболеваниями, находившихся на стационарном лечении в ревматологическом отделении Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Областной клинической больницы №2».

Для постановки диагноза РА использовали общепринятые в ревматологии клинические, лабораторные и инструментальные исследования по классификационным критериям American College of Rheumatology (ACR)/European League Against Rheumatism (EULAR) rheumatoid arthritis 2010 г. Воспалительную активность оценивали по индексу DAS 28.

Всего типировано 194 пациента, у 41 (21,13%) из них диагностирован РА.

В общей группе пациентов (n – 41) медиана индекса активности DAS28 имела величину 5,85 (таблица 1). Все пациенты (9 мужчин, 32 женщины, медиана возраста — 42 года) были типированы по 13 аллелям гена HLA II класса DRB1. По HLA -A, -B (I класс) типировано 39 больных РА. Кроме того, нами был проведен анализ частот антигенов HLA I класса и аллелей HLA II класса в группах серопозитивного и серонегативного РА.

Серопозитивный РА диагностирован у 18 пациентов (2 мужчин, 16 женщин, медиана возраста — 40,5 лет), медиана индекса DAS28 — 6,4 (Таблица 1). В группе серонегативного ревматоидного артрита было 23 пациента (7 мужчин, 16 женщин, медиана возраста — 43 года), медиана индекса активности DAS28 равнялась 5,8.

Типирование антигенов HLA-A, -B I класса проводили стандартным микролимфоцитотоксическим тестом диагностическими реагентами фирмы DILEN (Чешская республика). Лимфоциты выделяли в градиенте плотности «Лимфолот» (фирма DILEN, Чешская республика).

Определение 13 групп аллелей гена DRB1 HLA II класса проводили полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-лайт реагентами HLA-ДНК-ТЕХ. Для выделения ДНК использовали комплект Проба-Рapid-Генетика ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия).

Контрольная группа представлена здоровыми жителями Ростовской популяции (доноры регистра гемопоэтических стволовых клеток, n – 694) ранее типированных по 5 генам HLA-A*, -B*, -C*, DRB1*, DQB1* методом PCR-SSP (базовое разрешение) с детекцией в агарозном геле, с использованием электрофореза [12]. Выделение ДНК и

¹ Протокол совещания профильной комиссии экспертного совета Минздрава России по специальности «ревматология» № 24 от 28 февраля 2020 г.

Таблица 1

Анализируемые группы пациентов с ревматоидным артритом и величина индекса DAS28

Ревматоидный артрит	Кол-во обследованных пациентов			Медиана возраста	Медиана индекса DAS28
	Количество пациентов в группе	Мужчины	Женщины		
Общая группа	41	9	32	42	5,85
Серонегативный РА	23	7	16	43	5,8
Серопозитивный РА	18	2	16	40,5	6,4

все исследования выполнены реактивами фирмы «Protrans» (Германия). Показатели (частота аллеля — pf, частота гена — gf) здоровых жителей популяции были рассчитаны с использованием компьютерной программы «Арлекин», версия 3.А.

По результатам типирования больных нами проведён анализ распределения частоты антигенов HLA-A,-B и аллелей гена HLA DRB1 у больных РА в Ростовской популяции, а также проведён сравнительный анализ с частотой HLA-

Таблица 2

Распределение частоты HLA-A, -B у пациентов с ревматоидным артритом и в контрольной группе Ростовской популяции

Ревматоидный артрит (n-39)						Контроль (n-694)					
Частота антигенов HLA-A, -B						Частота групп аллели HLA-A, -B					
HLA-A	Число наблюдений (n)	%	HLA-B	Число наблюдений (n)	%	HLA-A	Число наблюдений (n)	%	HLA-B	Число наблюдений (n)	%
A1	12	30,7	B7	7	1,79	A01	143	20,6	B07	148	21,3
A2	19	48,7	B8	8	20,5	A02	361	52,0	B08	75	10,8
A3	12	30,7	B13	3	7,6	A03	163	23,5	B13	73	10,5
A11	5	12,8	B14	-	-	A11	74	10,7	B14	45	6,5
A23	1	2,5	B(15)62	9	23,0	A23	34	4,9	B15(62)	82	11,8
A24	7	17,9	B18	6	15,3	A24	147	21,2	B18	135	19,5
A25	3	7,6	B27	6	15,3	A25	82	11,8	B27	74	10,7
A26	3	7,6	B35	4	10,2	A26	64	9,2	B35	142	20,5
A28	2	5,1	B38	3	7,6	A68(28)	43	6,2	B37	7	1,0
A29	-	-	B39	1	2,5	A69(28)	1	0,1	B38	64	9,2
A30	2	5,1	B40(60,61)	3	7,6	A29	24	3,5	B39	28	4,0
A31	2	5,1	B41	3	7,6	A30	33	4,8	B40(60,61)	67	9,7
A32	3	7,6	B44	8	20,5	A31	32	4,6	B41	36	5,2
A33	1	2,5	B49	1	2,5	A32	33	4,8	B42	3	0,4
A74	1	2,5	B51	7	17,9	A33	28	4,0	B44	125	18,0
Гомозигота	5	12,8	B52	2	5,1	A34	1	0,1	B45	4	0,6
			B53	1	2,5	A36	1	0,1	B46	1	0,1
			B55	1	2,5	A66	9	1,3	B47	4	0,6
			B57	1	2,5	A74	1	0,1	B48	2	0,3
			B58	1	2,5	Гомозигота	114	-	B49	22	3,2
			Гомозигота	3					B50	15	2,2
									B51	70	10,1
									B52	27	3,9
									B53	2	0,3
									B54	2	0,3
									B55	9	1,3
									B56	23	3,3
									B57	40	5,8
									B58	9	1,3
									B73	1	0,1
									Гомозигота	53	-

специфичностей в контрольной группе.

Статистически достоверные различия в группе «больной-здоровый» оценивали по критерию χ^2 . Использовали формулу с поправкой Йетса на непрерывность малых выборок. Значение $\chi^2 = 3,841$ соответствует показанию разницы ($p < 0,05$) в сравниваемых группах. Силу ассоциации с заболеванием определяли показателем относительного риска (RR), вычислением этиологической (EF) и превентивной (PF) фракции [13, 14].

Результаты

Ретроспективный анализ типирования по антигенам HLA I класса у пациентов с диагнозом РА показал следующие результаты.

В общей группе пациентов статистические различия в частоте распределения антигенов локусов HLA-A и -B по сравнению с контролем не выявлены (Таблица 2).

В таблице 3 представлен сравнительный анализ распределения частоты HLA-A, -B в группах

Таблица 3

Частота антигенов HLA-A, -B у пациентов с серонегативным и серопозитивным ревматоидным артритом в Ростовской популяции по сравнению с контрольной группой

HLA-A, -B	Серонегативный РА			Серопозитивный РА		
	Частота антигена у пациентов n – 22		P	Частота антигена у пациентов n – 17		P
	Количество наблюдений	%		Количество наблюдений	%	
A1	10	45,4	p<0,05	2	11,7	-
A2	10	45,4	-	9	52,9	-
A3	8	36,3	-	4	23,5	-
A11	2	9,1	-	3	17,6	-
A23	-	-	-	1	5,8	-
A24	5	22,7	-	2	11,7	-
A25	1	4,5	-	2	11,7	-
A26	-	-	-	3	17,6	-
A28(68)	1	4,5	-	1	5,8	-
A30	2	9,1	-	-	-	-
A31	1	4,5	-	1	5,8	-
A32	-	-	-	3	17,6	-
A33	-	-	-	1	5,8	-
A74	1	4,5	-	-	-	-
Гомозигота	-	-	-	2	-	-
B7	6	27,2	-	1	5,8	-
B8	6	27,2	p<0,05	2	11,7	-
B13	1	4,5	-	2	11,7	-
B18	3	13,6	-	3	17,6	-
B27	3	13,6	-	3	17,6	-
B35	1	4,5	p<0,05	3	17,6	-
B38	-	-	-	3	17,6	-
B39	-	-	-	1	5,8	-
B40	-	-	-	3	17,6	-
B41	2	9,0	-	1	5,8	-
B44	5	22,7	-	3	17,6	-
B49	-	-	-	1	5,8	-
B51	4	18,1	-	3	17,6	-
B52	2	9,0	-	-	-	-
B53	1	4,5	-	-	-	-
B55	1	4,5	-	-	-	-
B57	1	4,5	-	-	-	-
B58	-	-	-	1	5,8	-
B62(15)	6	27,2	-	3	17,6	-
Гомозигота	2	-	-	1	-	-

пациентов с серонегативным и серопозитивным РА по сравнению с контролем. В группе серонегативного ревматоидного артрита отмечено повышение частоты HLA A1 ($\chi^2 = 6,43$; $p < 0,05$; RR — 3,21; EF — 0,31) и B8 ($\chi^2 = 4,24$; $p < 0,05$; RR — 2,94; EF — 0,18) и снижение частоты HLA B35 ($\chi^2 = 4,45$; $p < 0,05$; RR — 0,18; PF — 0,16).

Результаты анализа ДНК-типирования HLA II класса гена DRB1 по распределению частоты его аллельных групп, проведённого у 41 пациента с РА (общая группа), представлены в таблице 4. В Ростовской популяции среди здоровых жителей частота группы аллелей HLA DRB1*04 составляет 20%, в общей группе у больных РА

она равна 46,3% и достоверно повышена ($\chi^2 = 14,36$; $p < 0,001$; RR — 3,4; EF — 0,33).

У пациентов в общей группе по сравнению с контролем отмечено снижение частоты аллелей HLA DRB1*11 ($\chi^2 = 4,45$; $p < 0,05$; RR — 0,43; PF — 0,16) и HLA DRB1*13 ($\chi^2 = 5,43$; $p < 0,02$; RR — 0,33; PF — 0,23).

При серопозитивном РА по сравнению с контролем (таблица 5) аллели DRB1*04 встречаются у 61,1% пациентов ($\chi^2 = 15,42$; $p < 0,001$; RR — 6,27; EF — 0,51). При серонегативном РА частота аллелей DRB1*04 также повышена (34,8%), однако статистически достоверные отличия не выявлены ($\chi^2 = 2,13$; $p < 0,05$; RR — 2,14; EF — 0,19).

Таблица 4

Частота аллельных групп гена HLA-DRB1 у пациентов с ревматоидным артритом по сравнению с его частотой в Ростовской популяции

Аллели гена HLA-DRB1*	Частота групп аллелей				
	Пациенты (n — 41)		Контроль (n — 694)		P
	Количество наблюдений	%	Количество наблюдений	%	
01	11	26,8	136	19,6	-
03	9	21,9	105	15,1	-
04	19	46,3	139	20,0	p<0,001
07	7	17,0	170	24,5	-
08	-	-	38	5,5	-
09	-	-	13	1,9	-
10	-	-	13	1,9	-
11	6	14,6	198	28,5	p<0,05
12	2	4,8	24	3,5	-
13	4	9,7	169	24,4	p<0,02
14	-	-	23	3,3	-
15	8	19,5	182	26,2	-
16	6	14,6	89	12,8	-
Гомозигота	10	-	89	-	-

Таблица 5

Распределение частоты аллельных групп гена HLA DRB1 у пациентов с серопозитивным и серонегативным ревматоидным артритом по сравнению с контрольной группой

Группы аллелей гена HLA DRB1*	Частота групп аллелей					
	Серопозитивный РА (n — 18)		P	Серонегативный РА (n — 23)		P
	Пациенты			Пациенты		
	Количество наблюдений	%		Количество наблюдений	%	
01	5	27,7	-	6	26,1	-
03	2	11,1	-	7	30,4	-
04	11	61,1	p<0,001	8	34,8	-
07	3	16,6	-	4	17,4	-
11	4	22,2	-	2	8,7	p<0,02
12	-	-	-	2	8,7	-
13	2	11,1	-	2	8,7	p<0,05
15	4	22,2	-	4	17,4	-
16	3	16	-	3	13,0	-
Гомозигота	2	-	-	8	-	-

Таблица 6

Клинические показатели у пациентов с ревматоидным артритом при наличии и при отсутствии в генотипе аллелей HLA DRB1*04

HLA DRB1*04	Кол-во наблюдений (n — 41)		Количество мужчин	Количество женщин	Медиана возраста	Стадия РА			Фаза активности	Степень активности			Медиана индекса DAS28
	n	%				название	n	%		Степень	Количество наблюдений		
												n	
Нали- чие в генотипе пациен- та HLA DRB1*04	19	46,4	7	12	39	начальная	1	5,3	активная	низкая	3	15,8	5,66
						ранняя	2	10,5		умеренная	8	42,1	
						развернутая	14	73,7		высокая	8	42,1	
						поздняя	2	10,5					
Отсут- ствие в генотипе пациен- та HLA DRB1*04	22	53,6	2	20	48	начальная	3	13,6	активная	низкая	4	18,2	5,62
						ранняя	4	18,2		умеренная	5	22,7	
						развернутая	13	59,1		высокая	13	59,1	
						поздняя	2	9,1					

Таблица 7

Поражение суставов при ревматоидном артрите у пациентов при наличии и отсутствии в генотипе HLA DRB1*04

HLA DRB1*04	Кол-во на- блюдений (n — 41)		Количество мужчин	Количество женщин	Медиана воз- раста	Поражение суставов				Пациенты с остео- артрозом крупных суставов		Пациенты с двусторон- ним сакрои- литом		Внесу- ставные проявления		Функциональ- ный класс		
						эрозивное		неэрозив- ное										
	n	%				n	%	n	%	n	%							
Нали- чие в генотипе пациен- та HLA DRB1*04	19	46,4	7	12	39	9	47,4	13	68,4	17	89,5	16	84,2	11	57,9	1-2	2	10,5
																2	11	57,9
																2-3	2	10,5
																3	4	21,0
Отсут- ствие в генотипе пациен- та HLA DRB1*04	22	53,6	2	20	48	7	31,8	11	50,0	13	59,1	17	77,2	12	54,5	1-2	5	22,7
																2	12	54,5
																2-3	2	9,1
																3	3	13,6

При серонегативном РА, как и в общей группе больных, снижена частота HLA DRB1*11 (χ^2 — 5,39; $p < 0,05$; RR — 0,24; PF — 0,21) и DRB1*13 (χ^2 — 3,93; $p < 0,05$; RR — 0,30; PF — 0,23).

Проведено сравнение некоторых клинических показателей у пациентов с РА при наличии в генотипе HLA DRB1*04 (46,4%) и не имеющих (53,6%) данную группу аллелей (таблица 6).

В сравниваемых группах у большей части пациентов определена развернутая и поздняя стадии РА. Пациенты обеих групп практически не имеют различий по степени активности заболевания и величине индекса DAS28 (носители DRB1*04 — 5,66, без DRB1*04 — 5,62). Однако, у больных-носителей DRB1*04 (таблица 7) несколько чаще встречались эрозивные (47,4%) и

неэрозивные (68,4%) поражения суставов, чем у пациентов без аллелей DRB1*04 (31,8% и 50% соответственно).

У 89,5% пациентов с DRB1*04 отмечено поражение крупных суставов (кокситроз, гонартроз и др.) по сравнению с больными, не имеющими данных аллелей (59,1%). Двусторонний сакроилиит выявлен у 84,2% пациентов с DRB1*04 и у 77,2% при их отсутствии. В сравниваемых группах отмечено, что у пациентов-носителей DRB1*04 уже при медиане возраста 39 лет чаще выявляются поражения суставов (ФК 2, 2-3, 3), такие же, как и у пациентов в более позднем возрасте (медиана — 48 лет), не несущих данные аллели. Всё вышеперечисленное косвенно даёт возможность предположить, что именно

наличие в генотипе HLA DRB1*04 утяжеляет и усиливает эрозивно-деструктивные поражения суставов у пациентов с РА.

Обсуждение

Анализ антигенов HLA I класса показал, что у пациентов с серонегативным РА по сравнению с контролем наблюдается повышение частоты антигенов HLA-A1 (45,4% (контроль — 20,6%)) и HLA-B8 (27,2% (контроль — 10,8%)). Не исключено, что при серонегативном РА у больных повышена частота антигена HLA-B8 вследствие наличия коморбидных аутоиммунных заболеваний, которые ассоциированы с данным антигеном. А повышение частоты антигена HLA-A1 объясняется высоким неравновесным сцеплением между антигенами A1 и B8.

Повышение частоты антигенов HLA-A1 и -B8 и снижение частоты антигена HLA-B35 у пациентов при серонегативном РА требует дальнейшего анализа в более многочисленной группе пациентов.

По результатам типирования генов HLA II класса установлено, что при РА аллели HLA DRB1*04 в общей группе пациентов встречаются достоверно в 2,4 раза чаще, а при серопозитивной форме болезни — в 3,1 раза чаще, чем в популяции здоровых жителей нашего региона.

Необходимо отметить, что во всех трёх анализируемых группах наблюдается некоторое повышение частоты группы аллелей DRB1*01 (общая группа — 26,8%; серопозитивный артрит — 27,7%; серонегативный — 26,1%) по сравнению с контролем (19,6%).

В Ростовской популяции отмечено снижение частоты HLA DRB1*11 ($p < 0,05$) и HLA DRB1*13 ($p < 0,02$) в общей группе пациентов РА и при серонегативной форме болезни ($p < 0,05$). Протективная функция HLA-DRB1*13 неоднократно отмечена в литературных источниках в разных регионах мира и в России [5]. Вероятнее всего, и в нашей популяции подтверждается его протективное действие. Факт снижения частоты аллеля HLA-DRB1*11 интересен и требует дальнейшего анализа на большей группе пациентов с РА.

Заключение

Необходимо отметить, что в настоящее время типирование HLA I и II класса пока не предусмотрено стандартами медицинской помощи и клиническими рекомендациями при тяжелых инвалидизирующих заболеваниях — РА и анкилозирующем спондилите (АС). Однако Ассоциация ревматологов России рекомендует использовать результаты HLA типирования на наличие у пациента антигена HLA B27 в качестве вспомогательного диагностического критерия АС. А многочисленные исследования гена HLA DRB1, проведенные в последние годы в ряде популяций мира и в России, показали, что наличие в генотипе аллеля DRB1*04 позволяет отнести пациента в группу риска по развитию РА [4, 5, 6]. Поэтому результаты HLA-типирования так же важны для диагностики раннего РА, как и АС, так как оба заболевания в дебюте имеют похожую симптоматику. И клиницисту наряду с основными обследованиями пациента (лабораторными и инструментальными) для постановки диагноза на ранних стадиях заболевания, желательно учитывать результаты типирования HLA I и II класса, которые открывают возможности для ранней диагностики заболеваний и своевременного выстраивания тактики лечения пациента. Это позволяет искать индивидуальный подход к постановке правильного диагноза с учетом симптоматики и механизмами патогенеза заболевания. А также необходимый контроль модифицируемых факторов риска (ожирение, курение и др.) и правильный выбор проведения лекарственной терапии.

Эффективное лечение позволит пациенту достичь состояния ремиссии или снижения активности заболевания и предотвратить необратимые повреждения внутренних органов.

В заключение ещё раз важно подчеркнуть, что в Ростовской популяции значительное повышение аллелей HLA DRB1*04 (46,3% — общая группа, 61,1% — серопозитивная форма) и уровень достоверности ($p < 0,001$) с высокой вероятностью указывает на ассоциативную связь данной группы аллелей с заболеванием ревматоидный артрит.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Каратеев Д.Е., Олюнин Ю.А., Лучихина Е.Л. Новые классификационные критерии ревматоидного артрита ACR/EULAR 2010 — шаг вперёд к ранней диагностике. *Научно-практическая ревматология*. 2011;49(1):10-15. eLIBRARY ID: 16324277
2. Сатыбалдыев А.М., Демидова Н.В., Гриднева Г.И., Никишина Н.Ю., Герасимова Е.В., Гукасян Д.А., и др. Клиническая характеристика трех когорт раннего ревматоидного артрита с поздним началом (в возрасте 50 лет и старше). Обобщение 40-летнего опыта. *Научно-практическая ревматология*. 2020;58(2):140-146. doi: 10.14412/1995-4484-2020-140-146

3. Ананьева Л.П. Роль аутоантител в ранней диагностике системных иммуновоспалительных ревматических заболеваний. *Современная ревматология*. 2019;13(1):5-10. doi: 10.14412/1996-7012-2019-1-5-10
4. Гусева В.И., Лапин С.В., Мячикова В.Ю., Маслянский А.Л., Чухловин А.Б., Иванова Н.Е., и др. Клиническое значение определения генов локуса HLA-DRB1 при ревматоидном артрите. *Медицинская иммунология*. 2019;21(2):333-340. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-333-340
5. Куранов А.Б., Болдырева М.Н., Момыналиев К.Т. Метаанализ ассоциаций hla-drb1 с ревматоидным артритом. *Иммунология*. 2017;38(3):140-3. doi: 10.18821/0206-4952-2017-38-3-140-143
6. Куранов А.Б., Абишева С.Т., Жусупова А.А., Абильдинова Г.Ж., Зарипова Т.Д., Табенова А.А., и др. Гены HLA класса II и ревматоидный артрит в казахской популяции. *Иммунология*. 2016;37(4):188-193. doi: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-188-193
7. Гусева И.А., Смирнов А.В., Демидова Н.В., Крылов М.Ю., Авдеева А.С., Самаркина Е.Ю., и др. 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). *Терапевтический архив*. 2018;90(5):38-43. doi: 10.26442/terarkh201890538-43
8. Чичасова Н.В. Дифференциальная диагностика при поражении суставов и позвоночника. *Современная ревматология*. 2020;14(2):14-19. doi: 10.14412/1996-7012-2020-2-14-19
9. *Клинические рекомендации. Ревматоидный артрит. МКБ10: M05, M06*. Год утверждения: 2021. Ассоциация ревматологов России. ООИ «Российская ревматологическая ассоциация «Надежда».
10. Лила А.М., Олюнин Ю.А., Гордеев А.В. Оценка статуса больных ревматоидным артритом. Современные тенденции. *Современная ревматология*. 2020;14(2):7-13. doi: 10.14412/1996-7012-2020-2-7-13
11. Насонов Е.Л., Лила А.М. Ревматоидный артрит: достижения и нерешенные проблемы. *Терапевтический архив*. 2019;91(5):4-7. doi: 10.26442/00403660.2019.05.000259
12. Ищенко И.В., Кудинова Э.Е., Савченко О.А., Труфанова Т.И., Шатохин Ю.В., Рябикина Е.В., и соавт. Гены HLA II класса DRB1 и DQB1 у доноров регистра гемопоэтических стволовых клеток г. Ростова-на-Дону. *Вестник гематологии*. 2018;14(2):4-11. eLIBRARY ID: 42772061
13. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциации HLA антигенов с заболеваниями. *Вестник АМН СССР*. 1998;7:48-51.
14. Бубнова Л.И., Глазанова Т.В., Потин В.В., Симбирцев С.А. Генетические методы в диагностике прогнозирования аутоиммунных заболеваний. *Медицинский академический журнал*. 2006;6(1):83-90. eLIBRARY ID: 9298251

Информация об авторах

Александр Григорьевич Ханов, врач-ревматолог ГБУ РО «Областная клиническая больница №2», Ростов-на-Дону, Россия.

Сергей Иванович Палухин, к.м.н., главный врач ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Ирина Владимировна Ищенко, заместитель главного врача по медицинской части ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Эльвира Евгеньевна Кудинова, заведующая лабораторией иммунологического типирования тканей, врач клинической лабораторной диагностики, ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Ольга Алексеевна Савченко, врач-лаборант лаборатории иммунологического типирования тканей ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Татьяна Ивановна Труфанова, биолог лаборатории иммунологического типирования тканей ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Яна Владимировна Козаченко, биолог лаборатории иммунологического типирования тканей ГБУ РО «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону, Россия.

Галина Маргосовна Перцева, к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии №1, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

Алла Александровна Борщева, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии №1, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

Елена Александровна Литвиненко, студентка ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

Information about the authors

Alexander G. Khanov, rheumatologist, Regional Clinical Hospital No. 2, Rostov-on-Don, Russia.

Sergey I. Palukhin, Cand. Sci. (Med.), chief physician, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Irina V. Ishchenkova, Deputy Chief Physician for the medical part, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Elvira E. Kudinova, Head of the Laboratory of immunological tissue typing, doctor of clinical laboratory diagnostics, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Olga A. Savchenko, laboratory assistant at the Laboratory of Immunological tissue typing, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Tatyana I. Trufanova, biologist at the Laboratory of Immunological tissue typing, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Yana V. Kozachenko, biologist at the Laboratory of Immunological tissue typing, Blood transfusion station, Rostov-on-Don, Russia.

Galina M. Pertseva, Cand. Sci. (Med.), Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Alla A. Borshcheva, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Elena A. Litvinenko, student Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Получено / Received: 19.10.2022

Принято к печати / Accepted: 07.11.2022