Свойства данного РФП позволяют визуализировать его локализацию методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, оценивать накопление в ткани и рассчитывать поглощенную дозу, а также проводить дозиметрическое планирование [12, 14].

В Медицинском радиологическом научном центре им. А.Ф. Цыба (Обнинск) создан новый оригинальный препарат для РСЭ на основе Re-188, помещенного в микросферы альбумина с размерами частиц 5–10 мкм [27]. В доклинических исследованиях показано, что при внутрисуставном введении достигается практически полная фиксация РФП в коленном суставе, тогда как в печени и других органах и тканях определяется лишь следовое накопление. Поглощенная доза в синовии — 240 Гр (при введении 3 МБк). Через 21 сут отмечается подавление экспериментального синовита [24]. Развитие этого метода в России позволит нашим пациентам получать лечение, доступное сейчас только за рубежом. Ограниченная доступность РФП для РСЭ в России является основным недостатком метода, не позволяющим широко использовать его в клинической практике. Необходима кооперация радиологов и ревматологов в проведении исследований по оценке эффективности Re-188 у пациентов с рецидивирующими синовитами, не отвечающих на стандартную медикаментозную терапию.

Литература

1. Ревматология. Российские клинические рекомендации. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. [Rheumatology. Russian clinical guidelines. Ed. E.L. Nasonov. M.: GEOTAR-Media; 2017 (in Russ.)].
2. Ковалерский Г.М., Гаркави А.В., Меньшикова И.В. и др. Артроскопическая синовэктомия при ревматоидном синовите коленного сустава. Научно-практическая ревматология. 2009;4:85–89. [Kovalersky G.M., Garkavi A.V., Menshikova I.V. et al. Arthroscopic synovectomy for rheumatoid synovitis of the knee joint. Scientific-practical rheumatology. 2009;4:85–89 (in Russ.)].
3. Липина М.М., Макаров М.А., Амирджанова В.Н. и др. Влияние артроскопической синовэктомии коленного сустава на показатели качества жизни и функциональное состояние больных ревматоидным артритом. Научно-практическая ревматология. 2012;52(3):120–124. [Lipina M. M., Makarov M.A., Amirdzhanova V.N. et al. Influence of arthroscopic knee synovectomy on the quality of life and functional status of patients with rheumatoid arthritis. Scientific and practical rheumatology. 2012;52(3):120–124 (in Russ.)].
4. Роскидайло А.А., Макаров С.А., Амирджанова В.Н. Отдаленные результаты синовэктомии и дебримента локтевого сустава при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2011;6:65–69. [Roskidailo A.A., Makarov S.A., Amirjanova V.N. et al. Long-term results of synovectomy and debridement of elbow joint in rheumatoid arthritis. Scientific and practical rheumatology. 2011;6:65–69 (in Russ.)].
5. Heuft-Dorenbosch E., De Vet H., van der Linden S. Yttrium radiosynoviorthesis in the treatment of knee arthritis in rheumatoid arthritis: a systematic review. Ann Rheum Dis. 2000;59:583–586.
6. Jahangier Z.N., Moolenburgh J.D. The effect of radiation synovectomy in patients with persistent arthritis: a prospective study. Clin Exp Rrheumatol. 2001;19:417–424.
7. Kahan A., Modder G., Menkes C.J. 169 Erbium-citrate after failure of local MCP and PIP corticosteroid injections to treat rheumatoid arthritis affected finger joints. Clin Exp Rheumat. 2004;22:722–726.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте http://www.rmj.ru

Связь уровней С-реактивного белка сыворотки с клиническими и серологическими фенотипами системной склеродермии и полиморфизмом rs1205 c/t гена С-реактивного белка

К.м.н. М.Ю. Крылов[1], д.м.н. Л.П. Ананьева[1], к.м.н. И.А. Гусева[1], к.м.н. О.А. Конева[1], к.м.н. М.Н. Старовойтова[1], Е.Ю. Самаркина[1], к.б.н. Н.В. Коновалова[2], к.б.н. Д.А. Варламов[2]

[1]ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, Москва
[2]ФБГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: *изучение уровней С-реактивного белка (СРБ) у больных системной склеродермией (ССД) с разными клиническими и серологическими фенотипами и связи уровней СРБ с полиморфизмом rs1205 (C/T) гена СРБ.*

Материал и методы: *в исследование включили 90 пациентов с ССД (из них 87% (78) составляли женщины), 104 здоровых добровольца составили группу контроля. Средний возраст пациентов — 49,6±12,6 года, средняя длительность заболевания — 11,1±9,0 лет. Уровни СРБ определяли высокочувствительным иммунонефелометрическим методом в мг/л. Полиморфизм rs1205 гена CRP исследовали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Клинические фенотипы представлены как дихотомические вариабельности. Корреляцию между уровнями СРБ и категорийной клинической изменчивостью изучали с помощью непараметрического метода Спирмена. Уровень значимости <0,05 считали статистически достоверным. При малых значениях вариабельности был использован двусторонний точный критерий Фишера. Различия в распределении частот генотипов между исследуемой группой и контрольной группой оценивали с помощью таблицы сопряжения, используя критерий χ^2. Для обработки данных использовали пакет программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).*

Результаты исследования: *показана ассоциация положительных уровней СРБ у больных с диффузной формой ССД (ДФ) с небольшой продолжительностью заболевания и повышенными титрами антител к топоизомеразе I (АТА).*

Заключение: *полученные результаты подтвердили связь повышенных уровней СРБ с фенотипами ССД: ДФ, длительностью дебюта, серопозитивностью по АТА и генетическими вариантами гена CRP в исследуемой популяции.*

Ключевые слова: *системная склеродермия, уровни С-реактивного белка, генетика, rs1205 полиморфизм гена СРБ.*

Для цитирования: *Крылов М.Ю., Ананьева Л.П., Гусева И.А. и др. Связь уровней С-реактивного белка сыворотки с клиническими и серологическими фенотипами системной склеродермии и полиморфизмом rs1205 c/t гена С-реактивного белка. РМЖ. Медицинское обозрение. 2019;4(I):19–22.*

ABSTRACT

Association of the C-reactive protein levels with clinical and serological phenotypes of systemic scleroderma and CRP gene rs1205 C/T polymorphism

M.Yu. Krylov[1], L.P. Ananieva[1], I.A. Guseva[1], O.A. Koneva[1], M.N. Starovoitova[1], N.V. Konovalova[2], D.A. Varlamov[2]

[1]V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow
[2]All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

Aim: *to study C-reactive protein (CRP) levels in patients with systemic scleroderma (SSD) with different clinical and serological phenotypes and the association of CRP levels with CRP gene rs1205 (C/T) polymorphism.*
Patients and Methods: *90 patients with SSD (87.0% (78) of them were women) underwent the study, whereas 104 healthy volunteers formed a control group. The average age of patients was 49.6±12.6 years and the average disease duration — 11.1±9.0 years. The highly sensitive immunonephelometric assay determined the CRP levels in mg/l. CRP gene rs1205 polymorphism was studied using the real-time polymerase chain reaction. Clinical phenotypes are presented as dichotomous variables. Correlation between CRP levels and categorical clinical variation was studied using the Spearman's rank correlation coefficient. The significance level p <0.05 was considered statistically significant. Two-tailed Fisher's exact test was used at low variability values. Differences in the distribution of genotype frequencies between the study and control groups were estimated using the conjugation table with the χ^2 criterion. Statistica 6.0 software package (StatSoft Inc., Tulsa, USA) was used for data processing.*
Results: *association of elevated CRP levels in patients with the diffuse form (DF) of SSD with short disease duration and elevated titers of type I topoisomerase antibodies (ATA) was shown.*
Conclusion: *obtained results from the following points confirmed the association of the elevated CRP levels with SSD phenotypes: DF, disease onset duration, ATA seropositivity and CRP gene genetic variants in the studied population.*
Keywords: *systemic scleroderma, C-reactive protein levels, genetics, CRP gene rs1205 polymorphism.*
For citation: *Krylov M.Yu., Ananieva L.P., Guseva I.A. et al. Association of the C-reactive protein levels with clinical and serological phenotypes of systemic scleroderma and CRP gene rs1205 C/T polymorphism. RMJ. Medical Review. 2019;4(I):19–22.*

Системная склеродермия (ССД) относится к аутоиммунным заболеваниям соединительной ткани. ССД развивается чаще у молодых женщин и ассоциируется с высокой заболеваемостью и смертностью [1]. К числу главных причин смертности при ССД относятся интерстициальное поражение легких (ИПЛ) и легочная артериальная гипертензия [2, 3]. Течение ИПЛ, ассоциированного с ССД, характеризуется большой вариабельностью. Поэтому выявление маркеров — предикторов прогрессирования ИПЛ, которые будут помогать идентифицировать больных, требующих более интенсивного мониторинга и лечения, имеет большое значение для врачей.

С-реактивный белок (СРБ) является острофазным реактантом, который используется как маркер инфекции и воспаления [4]. Известно, что СРБ синтезируется гепатоцитами в результате стимуляции интерлейкином-6. У больных ССД присутствуют повышенные уровни СРБ, которые ассоциируются с плохой выживаемостью. В недавнем канадском исследовании [5] было показано, что повышенные уровни СРБ встречаются у 25% больных и ассоциируются с диффузным вариантом ССД, небольшой длительностью заболевания и более тяжелым поражением кожи и легких. Среди российских пациентов с ССД повышенные уровни СРБ выявлены примерно в 50% случаев [6]. Уровни этого маркера были повышены почти у 50% японских пациентов с ССД [7, 8], однако в обоих исследованиях был небольшой размер выборки (40 пациентов). Чаще повышенные уровни СРБ отмечаются у больных с диффузной формой (ДФ) ССД и при уровне более 20 мг/л ассоциируются с плохой выживаемостью [5, 9, 10]. При артритах воспалительной этиологии также наблюдаются повышенные уровни СРБ [11, 12]. Механизмы, лежащие в основе ассоциации сывороточных уровней СРБ и ССД, не совсем ясны. Вместе с тем существует достаточное число исследований, указывающих на участие генетических факторов в регуляции уровня СРБ в сыворотке. Ряд больших ассоциативных исследований, включая полногеномные (GWAS), показал, что значительная часть индивидуальной вариабельности воспалительных биомаркеров, включая СРБ, генетически детерминирована [13, 14], однако данные исследований противоречивы. Установлено, что полиморфизм rs1205C>T гена *CRP* был ассоциирован с уровнями СРБ. В исследовании Wypasek et al. [15] была показана связь минорного аллеля rs1205T гена *CRP* с высокими уровнями СРБ среди больных со стенозом аортального клапана по сравнению с мажорным rs1205CC генотипом. В исследовании [12] было показано, что носительство минорного аллеля rs1205T гена *CRP* ассоциировано с низкими уровнями СРБ среди белых американцев. Сходные результаты были получены ранее при исследовании трех независимых когорт [14]. Однако результаты, полученные при изучении другой большой европейской когорты (651 больной ССД), не подтвердили участия 4 полиморфизмов гена *CRP* в патогенезе ССД [16].

Цель исследования: проверка гипотезы ассоциации уровней СРБ с клиническими и серологическими фенотипами ССД и возможной связи полиморфизма rs1205 гена *CRP* с предрасположенностью к ССД в русской когорте больных.

Материал и методы

В исследование включены 90 пациентов с диагнозом ССД, находившихся на лечении в клинике ФБГУ НИИР им. В.А. Насоновой в период с 2011 по 2014 г. Все пациенты отвечали критериям Американской коллегии ревматологов классификации 1980 г. [17]. На основании медицинской документации (клинический диагноз при выписке) все пациенты с ССД были классифицированы по клиническим и серологическим вариантам. По клиническому варианту различали лимитированную кожную форму (ЛФ) и диффузную кожную форму (ДФ) (длительность заболевания ≤ 3 лет и >3 лет). Кроме того, все пациенты были стратифицированы по наличию или отсутствию ИПЛ (ИПЛ(+) и ИПЛ(-) соответственно).

Диагноз ИПЛ был установлен у пациентов на основании характерной картины по данным мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки. Серологические фенотипы включали пациентов, в сыворотке которых были определены повышенные и нормальные показатели: уровни СРБ+ и СРБн, антитела к топоизомеразе 1 — АТА(+) и АТАн и антитела к центромерам АЦА(+) и АЦАн. АЦА были определены методом непрямой иммунофлюоресценции на HEp-2 клетках с помощью набора реагентов IMMCO Diagnostics США. АТА определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов Orgentec. Позитивными результатами исследования АЦА(+) считали титры ≥1/160 ед/мл, АТА(+) >25,0 ед/мл.

Уровни СРБ были определены в мг/л высокочувствительным иммунонефелометрическим методом (вчСРБ). Уровень СРБ >5 мг/л считали повышенным СРБ(+), а уровень СРБ до 5 мг/л — нормальным СРБн.

Генотипирование

У 90 больных и 104 практически здоровых неродственных субъектов (персонал института), сопоставимых по полу и возрасту, без симптомов или признаков любого аутоиммунного заболевания, были взяты образцы венозной крови. ДНК выделяли из свежих или замороженных образцов крови, используя набор «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» НПО «ДНК-Технология» (Москва).

Полиморфизм rs1205 гена *CRP* изучали, используя аллель-специфическую полимеразную цепную реакцию в реальном времени. Дизайн праймеров и меченых зондов, их синтез и условия амплификации были разработаны в ЗАО «СИНТОЛ» (Москва). Исследование проведено с использованием амплификатора ДТ-96 (НПО «ДНК-Технология», Москва).

Статистический анализ

Клинические фенотипы представляли как дихотомические вариабельности. Нормальные распределения сравнивали с использованием дисперсионного анализа ANOVA post hoc или теста Стьюдента и представляли как среднее ± стандартное отклонение (M±δ). Уровень значимости $p<0,05$ считали статистически достоверным. При малых значениях вариабельностей был использован 2-сторонний точный критерий Фишера. Различия в распределении частот генотипов между больными и контролем были оценены с помощью 2×2 таблицы сопряженности с использованием критерия χ^2. Анализ был выполнен с использованием пакета программ Statistica 6.0 (Stat Soft Inc, Tulsa, USA).

Исследование было одобрено этическим комитетом ФБГУ НИИР им. В.А. Насоновой, письменное информированное согласие было получено у всех пациентов.

Результаты исследования

Из 90 пациентов 87,0% (78) составляли женщины. Средний возраст пациентов составлял 49,4±12,6 года, средняя длительность заболевания — 11,1±9,0 лет. ДФ имели 51 (57%) больных, из них у 9 (18%) длительность заболевания была менее 3 лет. В группе больных с ЛФ сходная длительность заболевания была выявлена у 3 (8%). Фенотип ИПЛ(+) был диагностирован у 71 (79%) пациента, АТА(+) — у 50 (55%), АЦА(+) — у 13 (14%) пациентов соответственно. Анализ индивидуальных уровней СРБ показал выраженную вариабельность данного признака. Повышенные концентрации СРБ >5 мг/л были обнаружены у 39 (43%) пациентов, из них у 12 (31%) с ЛФ и у 27 (69%) с ДФ ССД.

В таблице 1 приведены базовые показатели клинических и серологических фенотипов изученной группы пациентов с ССД.

В таблице 2 приведены базовые характеристики пациентов с повышенным и нормальным уровнем СРБ.

Таблица 1. Демографические, клинические и серологические фенотипы пациентов с ССД

Характеристики заболевания	Количество пациентов, n (%)
Длительность <3 лет	12 (13,3)
Длительность >3 лет	78 (86,7)
Лимитированная форма	39 (44,3)
Диффузная форма	51 (56,7)
Уровень СРБ > 5 мг/л	39 (43,3)
Уровень СРБн	51 (56,7)
ИПЛ(+)	71 (78,9)
ИПЛ(-)	19 (21,1)
АТА(+)	50 (55,5)
АТА(н)	40 (44,5)
АЦА(+)	13 (14,4)
АЦА(н)	77 (85,6)

Примечание. *ИПЛ(+) – интерстициальное поражение легких, ИПЛ(-) – отсутствие интерстициального поражения легких, АТА(+) – серопозитивность по аутоантителам к топоизомеразе I, АТАн – нормальные показатели аутоантител к топоизомеразе I, АЦА(+) – серопозитивность по аутоантителам к центромерам, АЦАн – нормальные титры аутоантител к центромерам.*

Таблица 2. Демографические и клинические фенотипы ССД пациентов в зависимости от средних уровней СРБн и СРБ >5 мг/л

Характеристики	СРБн, n=51	СРБ >5 мг/л, n=39	p
Пол (женщины), n (%)	45 (88,2%)	33 (84,6%)	>0,05
Возраст (годы) [M±δ]	48,4±14,1	51,1±10,2	>0,05
Длительность (годы) [M±δ]	12,2±9,8	9,7±7,8	>0,05
Длительность <3 лет, n (%)	3 (5,9)	9 (23,1)	0,027
Диффузная форма, n (%)	20 (39,2)	27 (69,2)	0,009
ИПЛ(+), n (%)	39 (76,5)	32 (82,0)	>0,05
АТА(+), n (%)	25 (49,0)	25 (64,1)	>0,05
АЦА(+), n (%)	7 (13,7)	6 (15,4)	>0,05

Примечание. *ИПЛ(+) – интерстициальное поражение легких, АТА(+) – серопозитивность по аутоантителам к топоизомеразе I, АЦА(+) – серопозитивность по аутоантителам к центромерам, M±δ – среднее значение ± стандартное отклонение.*

Анализ полученных данных показал, что в группе с высоким уровнем СРБ чаще присутствовали пациенты старшего возраста, с небольшой длительностью заболевания, имеющие ДФ, ИПЛ+ и серопозитивность по АТА, чем пациенты альтернативной группы. Достоверные различия были получены для длительности заболевания <3 лет (p=0,027) и ДФ-варианта (p=0,009) по сравнению с пациентами, имевшими нормальные уровни СРБ.

Анализ распределения частот генотипов полиморфизма rs1205 гена *CRP* между больными ССД и контрольной группой не выявил достоверных различий. Частота гомозиготного генотипа CC у больных составляла 36% против 42% в контрольной группе, генотипа CT — 51% и 50%, генотипа TT — 13% и 8% соответственно.

При сравнении частот генотипов rs1205 полиморфизма между группой пациентов с уровнем СРБ >5 мг/л и группой СРБн была установлена достоверно повышенная частота генотипа дикого типа CC у пациентов с высоким СРБ по сравнению с альтернативной группой пациентов (p=0,022). В этих группах не установлено значимых различий в распределении частот генотипов в зависимости от клинических вариантов, таких как ЛФ, ДФ, ИПЛ(+) и серологических фенотипов АТА(+) и АЦА(+).

Установлена связь повышенного уровня СРБ с носительством генетических вариантов rs1205 полиморфизма. Отмечена тенденция к снижению среднего уровня СРБ от носительства генотипа дикого типа к генотипу мутантного типа (CC→CT→TT).

Обсуждение результатов

У 43% больных ССД в нашей выборке были выявлены повышенные уровни СРБ, которые чаще встречались у пациентов с ДФ ССД, небольшой продолжительностью заболевания (менее 3 лет) и наличием серопозитивных аутоантител к топоизомеразе I, что согласуется с рядом сходных исследований в Канаде, Америке и Японии. В канадском исследовании [5] у больных с ДФ ССД средний уровень СРБ был выше, чем у больных с ЛФ (p=0,016). Пациенты с ДФ, особенно с небольшой длительностью заболевания, чаще имели повышенные уровни СРБ, чем больные с большой длительностью ССД (p=0,041). Авторы не выявили корреляции уровней СРБ с уровнями специфических аутоантител. Также было установлено, что выживаемость больных с высокими уровнями СРБ была ниже, чем у больных с нормальными уровнями СРБ. В американской когорте GENISOS [18] достоверно повышенные уровни СРБ были обнаружены у 22% пациентов чаще с ДФ ССД (p=0,040) и среди пожилых больных (p=0,026), чем в контрольной группе. Длительность заболевания, наличие аутоантител не коррелировали с уровнями СРБ. Авторы впервые установили, что базовые значения СРБ могут являться предикторами прогрессирования ИПЛ. Одно из объяснений высоких уровней СРБ может быть связано с влиянием цитокинов, вызывающих повышенное воспаление при раннем начале ССД. При заболевании с большей длительностью нормальные уровни СРБ определяются в большей степени процессом фиброза легочной ткани. Известно, что СРБ является общим маркером воспаления и частью естественного иммунного ответа на системное воспаление в ответ на высвобождение цитокинов интерлейкина-6 (IL-6) и интерлейкина-1β (IL-1β) из поврежденной ткани после взаимодействия с рядом ядерных рецепторов. Ранее было показано, что уровни IL-6 коррелировали с уровнями СРБ (r=0,69) и, как полагают, на 48% могут объяснять вариации в уровнях СРБ [8]. Механизмы, лежащие в основе ассоциации между СРБ и ССД, особенно роль генетических факторов, остаются неясными. Ряд ассоциативных генетических исследований, включая полногеномные (GWAS), показали генетическую детерминированность уровней воспалительных маркеров, включая СРБ, при разных заболеваниях [11].

В настоящем исследовании мы показали участие генетических вариантов одного из частых полиморфизмов rs1205 C/T гена *CRP* в регуляции уровня СРБ у больных ССД.

При сравнении частот генотипов rs1205 полиморфизма между группой пациентов с уровнем СРБ >5 мг/л и группой СРБн нами была установлена достоверно повышенная частота генотипа дикого типа CC у пациентов с высоким уровнем СРБ по сравнению с альтернативной группой пациентов (p=0,022).

Носители минорного генотипа rs1205TT имели почти на 60% ниже уровень СРБ по сравнению с генотипом rs1205CC дикого типа (11,1±5,9 мг/л и 18,9±18,4 мг/л). Эти данные согласуются с результатами исследования Rhodos et al. [19], где снижение составило 40%, и исследования Ammitzboll et al. [20], где оно достигало 50%, однако Plant et al. [21] такой связи не обнаружили. Необходимо отметить, что указанные исследования были проведены на когортах больных с ревматоидным артритом. Сходные данные были получены на других популяциях больных с кардиоваскулярными заболеваниями [15, 22] и системной красной волчанкой [23].

Заключение

Таким образом, в нашей выборке были выявлены повышенные уровни СРБ, которые коррелировали с ДФ пациентов с небольшой продолжительностью заболевания и повышенными уровнями аутоантител к топоизомеразе I, которые могут являться маркерами — предикторами плохой выживаемости пациентов. Кроме того, мы подтвердили ассоциацию между минорным аллелем rs1205T гена *CRP* и сниженным уровнем СРБ в русской когорте больных ССД. Показано, что rs1205 полиморфизм гена *CRP* не связан с предрасположенностью к ССД в изученной когорте пациентов.

Наше исследование имеет ряд ограничений ввиду небольшой выборки пациентов с ССД. Для подтверждения полученных нами данных относительно связи уровней СРБ с полиморфизмом rs1205 гена *CRP* необходимо использовать другие полиморфизмы гена *CRP* и большие по размеру выборки пациентов из разных этнических популяций.

Литература

1. Elhai M., Meune C., Avouac J. et al. Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. Rheumatology (Oxford). 2012;51:1017–1026. DOI: 10.1093/rheumatology/ker269.
2. Steen V.D., Conte C., Owens G.R. et al. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 1994;37:1283–1389.
3. Tyndall A.J., Bannert B., Vonk M. et al. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. Ann Rheum Dis. 2010;69:1809–1815. DOI: 10.1136/ard.2009.114264.
4. Mortensen R.F. C-reactive protein, inflammation and innate immunity. Immunol Res 2001;24:163–176. DOI: 10.1385/IR:24:2:163.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте http://www.rmj.ru