

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РЕВМАТОЛОГИИ

И.А. Гусева<sup>1</sup>, Н.В. Демидова<sup>1</sup>, Н.Е. Сорока<sup>2</sup>, А.А. Новиков<sup>1</sup>, Е.Л. Лучихина<sup>1</sup>, Е.Н. Александрова<sup>1</sup>,  
Г.В. Лукина<sup>1</sup>, Е.В. Федоренко<sup>1</sup>, Е.С. Аронова<sup>1</sup>, Е.Ю. Самаркина<sup>1</sup>, М.Н. Болдырева<sup>3</sup>, Д.Ю. Трофимов<sup>2</sup>,  
Д.Е. Каратеев<sup>1</sup>, Е.Л. Насонов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт ревматологии РАМН, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-производственная фирма «ДНК-Технология», Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Институт иммунологии ФМБА, Москва, Российская Федерация

## Иммуногенетические аспекты раннего ревматоидного артрита

*Изучено распределение аллелей гена HLA-DRB1 у больных ранним ревматоидным артритом и здоровых лиц контрольной группы российской популяции и оценена их значимость в качестве молекулярно-генетических маркеров предрасположенности и протекции ревматоидного артрита. Определена сила ассоциативной связи аллелей гена HLA-DRB1 с продукцией антител к циклическим цитруллиновым пептидам и ревматоидному фактору класса М. В исследовании проведено сравнение методов высоко- и низкоразрешающего генотипирования аллелей HLA-DRB1. У больных ранним ревматоидным артритом обнаружены аллели гена HLA-DRB1, являющиеся маркерами риска и протекции ревматоидного артрита, детерминирующие продукцию антител к циклическим цитруллиновым пептидам, но не ассоциированные с антителами класса М к ревматоидному фактору. Полученные данные могут свидетельствовать о различных аутоиммунных механизмах патогенеза ревматоидного артрита.*

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, HLA-DRB1, shared epitope, антитела к циклическим цитруллиновым пептидам, ревматоидный фактор.

(Вестник РАМН. 2013; 4:36–43)

36

### Введение

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое системное воспалительное заболевание соединительной ткани, характеризующееся деструктивным поражением суставов, в патогенезе которого значительную роль играют аутоиммунные механизмы [1]. РА является мультифакториальным заболеванием, при котором взаимодействие генетической составляющей и факторов внешней среды обуславливает не только развитие болезни, но и его выраженный клинический полиморфизм.

В недавнем 5-летнем проспективном исследовании на материале 570 пациентов с недифференцированным артритом и 676 пациентов с ранним артритом с длитель-

ностью болезни не более 2 лет на момент включения в исследование было показано, что такие лабораторные маркеры, как антитела к циклическим цитруллиновым пептидам (АЦЦП), антитела к модифицированному цитруллиновому виментину, ревматоидный фактор — антитела класса IgM (IgM РФ) — в большей степени и С-реактивный белок и аллели *HLA-DRB1* (*SE+*) — в меньшей степени, являются не только предикторами развития РА, но и прогностическими маркерами деструктивного поражения суставов [2].

Среди иммунологических показателей АЦЦП являются на сегодня наилучшим, апробированным на практике лабораторным маркером для диагностики и прогнозирования заболевания [3–6]. АЦЦП обладают аналогичной

I.A. Guseva<sup>1</sup>, N.V. Demidova<sup>1</sup>, N.E. Soroka<sup>2</sup>, A.A. Novikov<sup>1</sup>, E.L. Lutchihina<sup>1</sup>, E.N. Alexandrova<sup>1</sup>, G.V. Lukina<sup>1</sup>,  
E.V. Fedorenko<sup>1</sup>, E.S. Aronova<sup>1</sup>, E.Y. Samarkina<sup>1</sup>, M.N. Boldyreva<sup>3</sup>, D.Y. Trofimov<sup>2</sup>, D.E. Karateev<sup>1</sup>,  
E.L. Nasonov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Rheumatology RAMS, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Joint Stock Company «DNA-Technology», Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research Centre Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russian Federation

## Immunogenetic Aspects of Early Rheumatoid Arthritis

*The study is aimed to investigate the distribution of alleles of HLA-DRB1 gene in patients with early rheumatoid arthritis and healthy individuals in Russian population, and evaluate their significance as molecular genetic markers of rheumatoid arthritis predisposition and protection. The association between alleles of HLA-DRB1 genes, antibodies to cyclic citrullinated peptides and IgM rheumatoid factor was also studied. Low and high resolution HLA-DRB1 genotyping were compared. In the cohort of patients with early rheumatoid arthritis, the alleles of HLA-DRB1 gene were found to be markers of rheumatoid arthritis protection/risk, especially in the homozygous state. They determined production of antibodies to cyclic citrullinated peptides but were not associated with rheumatoid factor IgM levels. These findings support different autoimmune mechanisms of rheumatoid arthritis pathogenesis.*

**Key words:** rheumatoid arthritis, HLA-DRB1, shared epitope, antibodies to cyclic citrullinated peptides, rheumatoid factor.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2013. 4: 36–43)

чувствительностью и более высокой специфичностью по сравнению с IgM РФ. АЦЦП наряду с РФ включены в новые классификационные критерии РА с градацией уровней этих серологических маркеров в баллах: ≤ принятой для лаборатории нормы — 0 баллов, ≤3 норм (низкопозитивный) — 2 балла, >3 норм (высокопозитивный) — 3 балла [7].

В шведском исследовании АЦЦП были обнаружены в ряде сывороток больных РА, коллекционированных за несколько лет до клинической манифестации заболевания [8, 9]. Такая ранняя продукция АЦЦП может свидетельствовать о нераспознанном измененном (ауто)иммунитете, детерминированном сочетанием генетических и внешнесредовых факторов.

Среди всех установленных к настоящему времени генетических маркеров, ассоциированных или сцепленных с РА, наибольший вклад принадлежит гену *HLA-DRB1*, картированному на коротком плече хромосомы 6 (6q21.3) (30–40% по сравнению с 5% для совокупности всех других маркеров) [10].

Были предложены различные гипотезы и классификации для объяснения выраженной положительной и отрицательной взаимосвязи антигенов/генов локуса *HLA-DRB1* и РА [11–15], суть которых была изложена нами ранее [16]. В целом авторы различных подходов к классификации, несмотря на некоторые расхождения, подразделяют аллели *HLA-DRB1* на аллели риска (Р) и протекции (П). Ряд аллелей был отнесен к нейтральным (Х).

Наиболее часто в научной литературе используют классификацию аллелей *DRB1* по P.K. Gregersen и соавт. [11]. Согласно их гипотезе, чувствительность к РА ассоциирована с аллелями *DRB1*, кодирующими высококонсервативную аминокислотную последовательность в позиции 70–74 (QKRAA/QRRRAA/RRRAA) в 3-м гипервариабельном регионе молекулы *DRβ1*, которая получила название *SE* (*Shared Epitope* — общий, схожий эпитоп). К аллелям SE относят \*0101, \*0102, \*0401, \*0404, \*0405, \*0408, \*10. Еще ряд аллелей, относящихся к SE по аминокислотной последовательности в позиции 70–74, либо чрезвычайно редко, либо практически не встречаются у лиц белой расы.

**Цель исследования:** изучить распределение аллелей гена *HLA-DRB1* у больных ранним ревматоидным артритом (РРА) и в контрольной группе здоровых лиц российской популяции и оценить их значимость в качестве молекулярно-генетических маркеров предрасположенности и протекции РА, а также определить силу ассоциативной связи изученных аллелей с продукцией АЦЦП и IgM РФ.

## Пациенты и методы

### Участники исследования

Исследование проведено в рамках программы «Ранний артрит: диагностика, исход, критерии, активное лечение (РАДИКАЛ)». В проспективное наблюдение были включены пациенты с достоверным диагнозом «Ревматоидный артрит» согласно критериям Американской коллегии ревматологов (АКР) 1987 г., с длительностью заболевания не более 2 лет. К моменту включения в исследование больные не лечились базисными противовоспалительными препаратами и глюкокортикоидами.

Обследовано 123 пациента (21 мужчина, 102 женщины). Возраст больных варьировал от 18 до 72 лет и в среднем составил 48,9±13,4 лет. Средняя продолжительность заболевания на момент включения в ис-

следование была равна 7,5±6,1 мес (от 1,5 до 24 мес), причем 73 (59%) пациента были взяты под наблюдение в первые 6 мес после появления признаков заболевания. Эрозии кистей и стоп выявлены у 18,7% больных. АЦЦП и IgM РФ идентифицированы у 61,0 и 67,5% пациентов, соответственно.

### Методы исследования

Определение IgM РФ проводили методом иммунонефелометрии на автоматическом анализаторе «BN-100» (Dade Behring, Германия); верхняя граница нормы (cut-off) — 15 МЕ/л.

Концентрацию АЦЦП измеряли при помощи иммуноферментного метода с использованием коммерческого набора фирмы «Axis-Shield Diagnostic Ltd» (Великобритания) согласно инструкции фирмы-производителя; cut-off — 5 Ед/мл.

Геномная ДНК была 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. Разработанная тест-система представляла собой 13 комплектов реагентов, предназначенных 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 экзона 2 локуса *HLA DRB1*, общего для всех групп аллелей.

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

Высокоразрешающее генотипирование аллелей *DRB1*, позволяющее установить последовательность нуклеотидов и точно определить аллель до 4–8 знаков после значка «\*» (например, *DRB1\*040101*, \*0404, \*010101, \*150101, \*130101, \*110101 и т.д.), было выполнено на секвенаторе «3130I Genetic Analyzer» (Applied Biosystems, США). Экзон 2 гена *DRB1* был амплифицирован с использованием групп-специфических праймеров с последующим секвенированием ампликонов.

Низкоразрешающее генотипирование было проведено у всех 123 больных, высокоразрешающее — у 118. В соответствии с новой номенклатурой системы HLA 2010 г. при обозначении аллелей группы цифр разделяются дробитием (например, *HLA-DRB1\*04:01*). Возможно более детальное обозначение аллелей (*HLA-DRB1\*04:01:02*) или даже *DRB1\*04:01:02:01*. Однако в нашем тексте мы будем использовать обозначение аллелей *HLA-DR* локуса, рекомендованное номенклатурным комитетом 1987 г., принятое в подавляющем большинстве цитируемых нами исследований.

В качестве группы контроля выступали 300 здоровых доноров крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных. У всех доноров было проведено базовое низкоразрешающее генотипирование на уровне групп аллелей гена *HLA-DRB1*. Первым 135 донорам было выполнено высокоразрешающее олиготипирование аллелей гена *DRB1\*04* методом мультиплексной ПЦР с использованием сиквенс-специфических прайме-

ров [17]. АЦПП и IgM РФ в контрольной группе не определяли, но применяли усредненные значения позитивности по этим маркерам, исходя из данных метаанализа [18].

**Статистическая обработка данных**

Анализ результатов проводили с использованием версии 10.0 статистической программы «SPSS». Различия в распределении частот аллелей и генотипов, а также иммунологических параметров как бинарных переменных (положительное или отрицательное значение теста) между группами оценивали по величине критерия независимости  $\chi^2$ . Для оценки меры риска развития болезни вычисляли показатель OR (odds ratio) с подсчетом 95% доверительных интервалов (ДИ). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

**Результаты**

**Частоты аллелей HLA-DRB1 у больных ранним ревматоидным артритом и в контрольной группе**

Анализ распределения аллелей гена HLA-DRB1 проведен в группе 118 больных РРА, прошедших тестирование высокоразрешающим методом.

Носительство (фенотип) хотя бы одного группоспецифического аллеля \*01 выявлено у 29,7% больных РРА (35/118) и у 18,8% лиц контрольной группы (56/300;  $p = 0,02$ ). Носительство хотя бы одного группоспеци-

ческого аллеля \*04 обнаружено у 39,0% больных (46/118) и 19,3% лиц контрольной группы (58/300;  $p = 0,0004$ ). Носительство группоспецифического аллеля \*10 статистически значимо не различалось в группе РРА (5,1%) и контрольной группе (2,7%;  $p > 0,05$ ).

Сравнительная характеристика генотипических частот аллелей DRB1 среди больных РРА и в контрольной выборке здоровых лиц представлена в табл. 1. Подсчет частот аллелей проводился относительно числа аллелей на двух хромосомах ( $2 \times 118 = 236$  аллелей в группе больных,  $2 \times 300 = 600$  аллелей в контрольной группе).

Как видно из представленных данных, распределение аллелей в исследуемой и контрольной группе в целом статистически значимо различалось ( $\chi^2 = 38,2$  при 9 степенях свободы;  $p < 0,00001$ ). Различия касались группоспецифических аллелей \*01, \*02, \*04, \*06 и \*07.

Аллели \*01 и \*04 повышали риск развития РА в 2 раза ( $OR = 2,0$ ; 95% ДИ 1,3–3,2;  $p = 0,002$  и  $OR = 2,0$ ; 95% ДИ 1,2–3,3;  $p = 0,005$ , соответственно).

Аллели \*02, \*06 и \*07, напротив, снижали предрасположенность к развитию РА, т.е. оказывали протективный эффект ( $OR = 0,5$ ; 95% ДИ 0,3–0,8;  $p = 0,003$ ,  $OR = 0,6$ ; 95% ДИ 0,4–0,9;  $p = 0,02$ ,  $OR = 0,6$ ; 95% ДИ 0,3–0,9;  $p = 0,03$ , соответственно).

Среди аллелей гена \*04 в группе больных РРА и в контрольной группе выявлены как SE-позитивные аллели \*0401, \*0404, \*0405, \*0408 (суммарно 18,6 и 8,8%, соответственно;  $OR = 2,4$ ; 95% ДИ 1,3–4,1;  $p = 0,002$ ), так и SE-негативные \*0402, \*0403, \*0407 (суммарно 3,9 и 3,8%, соответственно;  $p > 0,05$ ). У больных РРА доля

38

**Таблица 1.** Частоты аллелей HLA среди больных ранним ревматоидным артритом ( $n = 118$ ) и в контрольной группе ( $n = 300$ )

| HLA-DRB1  | РРА (2n =236), абс. (%) | Контроль (2n =600), абс. (%) | OR [95% ДИ]    | p     |
|-----------|-------------------------|------------------------------|----------------|-------|
| *01       | 41 (17,3)               | 57 (9,5)                     | 2,0 [1,3–3,2]  | 0,002 |
| *0101     | 34                      |                              |                |       |
| *0102     | 6                       |                              |                |       |
| *0103     | 0                       |                              |                |       |
| *02       | 26 (11,0)               | 119 (19,8)                   | 0,5 [0,3–0,8]  | 0,003 |
| *15       | 20 (8,5)                | 79 (13,2)                    | 0,6 [0,4–1,1]  | 0,07  |
| *16       | 6 (2,5)                 | 40 (6,7)                     | 0,4 [0,1–0,9]  | 0,02  |
| *03       | 23 (9,7)                | 45 (7,5)                     | 1,3 [0,8–2,3]  | 0,4   |
| *04       | 53 (22,5)               | 34 (12,6)#                   | 2,0 [1,2–3,3]  | 0,005 |
| *04(SE+)  | 44 (18,6)               | 24 (8,8)#                    | 2,4 [1,3–4,1]  | 0,002 |
| *0401     | 30 (12,7)               | 11 (4,1)                     | 3,4 [1,6–7,5]  | 0,001 |
| *0404     | 5 (2,1)                 | 9 (3,3)                      |                |       |
| *0405     | 4 (1,7)                 | 0                            |                |       |
| *0408     | 5 (2,1)                 | 4 (1,5)                      |                |       |
| *04 (SE-) | 9 (3,9)                 | 10 (3,8)                     |                |       |
| *0402     | 2 (0,8)                 | 4 (1,5)                      |                |       |
| *0403     | 6 (2,5)                 | 2 (0,7)                      |                |       |
| *0407     | 1 (0,4)                 | 4 (1,5)                      |                |       |
| *05       | 34 (14,4)               | 101 (16,8)                   | 0,8 [0,5–1,3]  | 0,5   |
| *11       | 29 (10,6)               | 85 (14,2)                    | 0,9 [0,5–1,4]  | 0,5   |
| *12       | 5 (2,1)                 | 16 (2,6)                     | 0,8 [0,3–2,3]  | 0,8   |
| *06       | 24 (10,2)               | 99 (16,5)                    | 0,6 [0,4–0,9]  | 0,02  |
| *13       | 23 (9,7)                | 85 (14,2)                    | 0,7 [0,4–1,1]  | 0,1   |
| *1301     | 12 (5,1)                |                              |                |       |
| *1302     | 5 (2,1)                 |                              |                |       |
| *1303     | 6 (2,5)                 |                              |                |       |
| *14       | 1 (0,4)                 | 14 (2,3)                     | 0,2 [0,0–1,3]  | 0,08  |
| *07       | 20 (8,5)                | 86 (14,3)                    | 0,6 [0,3–0,9]  | 0,03  |
| *08       | 6 (2,5)                 | 11 (1,8)                     | 1,4 [0,5–4,1]  | 0,6   |
| *09       | 3 (1,3)                 | 4 (0,7)                      | 1,9 [0,3–10,2] | 0,4   |
| *10       | 6 (2,5)                 | 8 (1,3)                      | 1,9 [0,6–6,2]  | 0,2   |

Примечание. 2n — число хромосом у больных и лиц контрольной группы. # — расчеты проведены в группе 135 доноров (2n =270). К аллелям SE+ отнесены \*0101, \*0102, \*0401, \*0404, \*0405, \*0408, \*10 [11]. РРА — ранний ревматоидный артрит, OR — отношение рисков, ДИ — доверительный интервал.

**Таблица 2.** Частоты встречаемости антител к циклическим цитруллинированным пептидам и антител класса М к ревматоидному фактору и генотипов *HLA-DRB1* (*SE*) в группе больных ранним ревматоидным артритом

| Лабораторные маркеры                             | PPA (n =123)        | Контроль (n =300)   | OR [95% ДИ]      |
|--|---------------------|---------------------|------------------|
| АЦЦП   | 75 (61,0%)          | 15 (5,0%)           | 29,7 [15,2–59,0] |
| IgM PΦ   | 83 (67,5%)          | 45 (15,0%)          | 11,8 [7,0–19,9]  |
| <i>SE<sub>low</sub></i><br>Хотя бы 1 <i>SE+</i>  | 76 (61,8%)          | 108 (36,0%)         | 2,9 [1,8–4,5]    |
| <i>SE+/SE+</i>                                   | 25 (20,3%)          | 20 (6,6%)           | 5,1 [2,5–10,5]   |
| <i>SE+/SE-</i>                                   | 51 (41,5%)          | 88 (29,4%)          | 2,4 [1,4–3,9]    |
| <i>SE-/SE-</i>                                   | 47 (38,2%)          | 192 (64,0%)         | 1,0              |
| <i>SE<sub>high</sub></i><br>Хотя бы 1 <i>SE+</i> | n=118<br>69 (58,5%) | n=135<br>45 (33,3%) | 2,8 [1,6–4,9]    |
| <i>SE+/SE+</i>                                   | 22 (18,6%)          | 7 (5,2%)            | 5,7 [2,1–16,1]   |
| <i>SE+/SE-</i>                                   | 47 (39,8%)          | 38 (28,1%)          | 2,3 [1,3–4,1]    |
| <i>SE-/SE-</i>                                   | 49 (41,5%)          | 90 (66,7%)          | 1,0              |

*Примечание.* АЦЦП — антитела к циклическим цитруллинированным пептидам, IgM PΦ — антитела класса М к ревматоидному фактору, PPA — ранний ревматоидный артрит, *SE<sub>low</sub>* — при низкоразрешающем генотипировании 123 пациентов и 300 лиц контрольной группы к *SE* условно отнесены аллели \*01, \*04, \*10, *SE<sub>high</sub>* — при высокоразрешающем генотипировании 118 пациентов и 135 лиц контрольной группы к *SE* отнесены аллели \*0101, \*0102, \*0401, \*0404, \*0405, \*0408, \*10, *SE* — shared epitope. АЦЦП и IgM PΦ в группе контроля не определяли, но использовали усредненные величины позитивности по этим маркерам у здоровых лиц в различных популяциях, исходя из данных метаанализа К. Nishimura и соавт. [18]. OR для *SE+/SE+* и *SE+/SE-* считали относительно *SE-/SE-*.

аллелей, относящихся к \*04(*SE+*) составила 87%, у лиц контрольной группы — 70%. Аллель \*0401 являлся наиболее значимым маркером риска развития PPA (OR =3,4; 95% ДИ 1,6–7,5; *p* =0,001).

Среди аллелей гена \*01 в группе больных обнаружено только 2 аллеля (\*0101 и \*0102), имеющих отношение к *SE*. По литературным данным, аллель \*0103, отнесенный в различных классификационных системах к аллелям протекции, в европейских популяциях встречается чрезвычайно редко (1,0–0,5%).

По данным зарубежных авторов, среди аллелей гена \*06 в контроле подавляющее большинство представлено вариантами \*1301 и \*1302, которые, по разным классификациям, относят к аллелям протекции. Аллель \*1303, который согласно классификации S. Tezenas и T.S. du Montcel [15] относится к *SE*, а по другим схемам — к аллелям протекции, в здоровой популяции встречается с частотой 0,4–1,0%. В подавляющем большинстве зарубежных исследований ген *DRB1\*06* относят к маркерам протекции.

Среди аллелей гена \*02, обладающего протективным эффектом, вариант \*16 статистически значимо реже встречался у больных PPA по сравнению с контролем (OR =0,4; 95% ДИ 0,1–0,9; *p* =0,02), а для варианта \*15 выявлена выраженная тенденция к статистически значимым различиям в группе больных и контроле (*p* =0,07).

**Генотипы риска и протекции раннего ревматоидного артрита и их взаимосвязь с антителами к циклическим цитруллинированным пептидам и ревматоидному фактору класса М**

В табл. 2 представлены частоты генотипов *SE* гена *HLA-DRB1*, величины АЦЦП, IgM PΦ у больных PPA и в контрольной группе, а также дана оценка величины риска развития РА при выявлении этих маркеров. Частоты *SE* в группе больных и контроле представлены в зависимости от метода генотипирования. При низкоразрешающем генотипировании частоты *SE* (*SE<sub>low</sub>*) определены у 123 пациентов PPA и 300 лиц контрольной группы; при высокоразрешающем *SE<sub>high</sub>* — у 118 пациентов и 135 лиц контрольной группы. Как видно из таблицы, наибольший риск развития РА связан с позитивностью по АЦЦП и далее по убывающей —

с IgM PΦ и *SE*. Предрасположенность к РА, связанная с носительством аллелей *SE*, носила дозозависимый характер: наличие двойного набора *SE* повышало чувствительность к заболеванию в 5 раз, при наличии в генотипе одного аллеля *SE* риск снижался до 2,5 раза. В целом у носителей хотя бы одного аллеля *SE* вероятность заболеть РА была повышена в 3 раза по сравнению с лицами, у которых не были обнаружены аллели *SE*.

Среди истинных гомозигот по *SE* у больных PPA наиболее часто (5/118; 4,2%) встречался генотип \*01/\*01, а также в 3 (2,5%) случаях был обнаружен генотип \*0401/\*0401. В контрольной выборке генотип \*01/\*01 определялся в 0,7% (1/135) случаев, генотип \*0401/\*0401 — в 1,5% (2/135). Все различия не носили статистически значимого характера.

Среди генотипов-компаундов по *SE* (в генотипе присутствуют 2 неидентичных патологических аллеля *SE*) у больных PPA статистически значимо чаще, чем в контрольной группе, обнаруживали генотип \*01/\*0401 (10/118; 8,4% и 1/135; 0,7%, соответственно; OR =12,4; 95% ДИ 1,6–263,0; *p* <0,005). Кроме того, у 2 пациентов был выявлен генотип \*01/\*10, и по 1 случаю — генотипы \*0401/\*0405 и \*0401/\*0408. В контрольной группе в 1 случае идентифицирован компаунд-вариант \*01/\*0408.

Также был проведен анализ ассоциативной связи иммунологических показателей АЦЦП и IgM PΦ как бинарных переменных (позитивное и негативное значение) с аллелями и генотипами гена *HLA-DRB1* с учетом их подразделения в различных классификационных системах на аллели и генотипы риска и протекции (табл. 3).

Носительство хотя бы одного аллеля *SE<sub>high</sub>* повышало риск развития АЦЦП-позитивного РА в 5,7 раза (OR =5,7; 95% ДИ 2,6–12,7; *p* <1×10<sup>-5</sup>), причем наиболее значимый риск был связан с двойным набором аллелей *SE<sub>high</sub>* (OR =6,0; 95% ДИ 1,6–24,8), в то время как 1 аллель *SE* в генотипе только в 2,6 раза увеличивал риск АЦЦП-позитивного РА.

При низкоразрешающем генотипировании по сравнению с высокоразрешающим установленная взаимосвязь наличия АЦЦП с аллелями *SE<sub>low</sub>* была менее выраженной. При наличии хотя бы 1 аллеля *SE<sub>low</sub>* величина риска

**Таблица 3.** Сравнение величины взаимосвязи (OR) генотипов *HLA-DRB1* с позитивностью по АЦЦП и IgM РФ в группе пациентов PPA в зависимости от метода генотипирования

| Алели <i>DRB1</i>                 |                          | Число пациентов с PPA (n = 118) | АЦЦП+ (n = 70)  |                | IgM РФ+ (n = 77) |               |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------|----------------|------------------|---------------|
|                                   |                          |                                 | Число пациентов | OR [95% ДИ]    | Число пациентов  | OR [95% ДИ]   |
| Высокоразрешающее генотипирование | <i>SEhigh</i>            | 22                              | 18              | 6,0 [1,6–24,8] | 16               | 1,7 [0,5–5,9] |
|                                   | +/+                      | 47                              | 31              | 2,6 [1,0–6,3]  | 31               | 1,2 [0,5–3,1] |
|                                   | +/-                      | 49                              | 21              | 1,0            | 30               | 1,0           |
|                                   | -/-                      |                                 |                 |                |                  |               |
| Низкоразрешающее генотипирование  | <i>SElow</i>             | 26                              | 20              | 4,0 [1,2–13,8] | 19               | 1,4 [0,4–4,7] |
|                                   | +/+                      | 48                              | 30              | 2,0 [0,8–5,0]  | 29               | 0,8 [0,3–2,0] |
|                                   | +/-                      | 44                              | 20              | 1,0            | 29               | 1,0           |
|                                   | -/-                      |                                 |                 |                |                  |               |
| Высокоразрешающее генотипирование | <i>DERAA#</i>            | 16                              | 5               | 0,3 [0,1–0,9]  | 8                | 2,1 [0,6–6,8] |
|                                   | +/+ и +/-                | 99                              | 63              | 1,0            | 67               | 1,0           |
|                                   | -/-                      |                                 |                 |                |                  |               |
| Высокоразрешающее генотипирование | <i>D<sup>70+</sup>##</i> | 47                              | 27              | 3,2 [1,2–8,5]  | 15               | 1,1 [0,4–2,8] |
|                                   | +/+ и +/-                | 44                              | 13              | 1,0            |                  | 1,0           |
|                                   | -/-                      |                                 |                 |                |                  |               |

*Примечание.* # — n = 115 (из анализа исключены 3 пациента с генотипом *DERAA/SE+*), ## — n = 91 (из анализа исключены 27 пациентов с генотипом *D<sup>70+</sup>/SE+*). PPA — ранний ревматоидный артрит, АЦЦП — антитела к циклическим цитруллинированным пептидам, IgM РФ — антитела класса М к ревматоидному фактору, *SEhigh* — при высокоразрешающем генотипировании к *SE* относят аллели \*0101, \*0102, \*0401, \*0405, \*0408, \*1001 согласно P.K. Gregersen [11], *SElow* — при низкоразрешающем генотипировании к *SE* условно можно отнести аллели \*01, \*04, \*10. Величину OR с 95% ДИ у больных с *SE+/SE+* и *SE+/SE-* рассчитывали относительно больных с отсутствием *SE (-/-)*. *DERAA* — аллели протекции \*0103, \*0402, \*11, \*1301, \*1302 согласно классификации I.E. van der Horst-Bruinsma и соавт. [12]. *D<sup>70+</sup>* — аллели протекции \*0103, \*16, \*0402, \*11, \*12, \*13, \*07, \*08 согласно классификации D.L. Matthey и соавт. [13].

40

**Таблица 4.** Распределение генотипов *HLA-DRB1* у пациентов с отрицательными, низкоположительными и высокоположительными значениями антител к циклическим цитруллинированным пептидам

| Генотипы       |                 | Количественное содержание АЦЦП, ЕД/мл |                   |                 |
|----------------|-----------------|---------------------------------------|-------------------|-----------------|
| Gregersen [11] | du Montcel [15] | ≤5,0<br>n = 48                        | 5,1–15,0<br>n = 8 | >15,0<br>n = 62 |
| <i>SE+/SE+</i> | P/P             | 8,3%                                  | 12,5%             | 32,3%           |
| <i>SE+/SE-</i> | P/X             | 18,8%                                 | 37,5%             | 21,0%           |
|                | P/П             | 18,8%                                 | 12,5%             | 19,4%           |
| <i>SE-/SE-</i> | П/П             | 27,1%                                 | 25,0%             | 3,2%            |
|                | П/X             | 25,0%                                 | 12,5%             | 17,7%           |
|                | X/X             | 12,5%                                 | 0%                | 6,4%            |

*Примечание.* АЦЦП — антитела к циклическим цитруллинированным пептидам, *SE+* — все аллели риска, *SE-* — все другие аллели согласно P.K. Gregersen и соавт. [11]. P — все аллели риска (*SE+* и \*1303), П — все аллели протекции (\*0103, \*0402, \*11, \*12, \*13 кроме \*1303, \*14), X — нейтральные аллели (\*03, \*0403, \*0407, \*0411, \*07, \*08, \*09) согласно T.S. du Montcel и соавт. [15].

развития АЦЦП+РА составила 2,5 (95% ДИ 1,1–5,8), при двойном наборе *SE<sub>low</sub>* — 4,0 (95% ДИ 1,2–13,8), при наличии 1 аллеля *SE<sub>low</sub>* ассоциативная связь отсутствовала.

Ассоциативная взаимосвязь аллелей *DRB1* с позитивностью по IgM РФ установлена не была (см. табл. 3).

Между наличием хотя бы одного протективного аллеля, кодирующего аминокислотную последовательность *DERAA* [12], и негативностью по АЦЦП была выявлена положительная ассоциативная взаимосвязь (OR = 3,9; 95%, ДИ 1,1–14,0; p = 0,03). Необходимо отметить, что из анализа были исключены 3 пациента с генотипом *DERAA+/SE+* (у двух больных АЦЦП = 100,0 ЕД/мл, у одного — отрицательное значение АЦЦП).

Протективные аллели, согласно D.L. Matthey с соавт. [15], выявлены в 51,6% случаев и ассоциированы с позитивностью по АЦЦП. Из исследования было исключено 27 пациентов с сочетанием в генотипе аллелей риска *SE* и протективных аллелей *D<sup>70+</sup>*. Позитивность по АЦЦП в этой группе больных составила 66,7%.

Далее мы разделили пациентов на 3 категории в зависимости от 3 градаций уровня АЦЦП в классификационных критериях АКР/EULAR (2010) и проанализировали зависимость титров АЦЦП как категориальных переменных от генотипов *DRB1* (табл. 4). Генотипы были

представлены согласно классификации P. Gregersen [11] и T.S. du Montcel [15]. Среди пациентов с отрицательными значениями АЦЦП преобладали носители генотипа *SE-/SE-* (64,6%) и редко встречались носители двух аллелей риска *SE+/SE+* (8,3%). Среди носителей генотипа *SE-/SE-* преобладали пациенты хотя бы с 1 аллелем протекции в генотипе (52,1%). Низкоположительные значения АЦЦП обнаружены только у 8 пациентов, и среди них наиболее часто выявлялись у пациентов с генотипами *SE+/SE-* (50,0%) и *SE-/SE-* (37,5%), причем чаще у больных с генотипами P/X (37,5%) и П/П (25,0%) и реже (12,5%) у носителей генотипов P/P, P/П и П/X. Высокоположительный показатель АЦЦП часто встречался у носителей гомозиготного генотипа *SE+/SE+* (32,3%) и гетерозиготного генотипа *SE+/SE-* (40,4%). У носителей генотипа *SE-/SE-* высокие значения АЦЦП редко имели место у пациентов с генотипами П/П (3,2%) и X/X (6,4%) и относительно часто (17,7%) — у носителей генотипа П/X.

В нашей выборке пациентов с PPA не было обнаружено взаимосвязи каких-либо конкретных аллелей *DRB1* с титром АЦЦП, кроме аллелей, принадлежащих группоспецифическому гену \*06. Аллели \*1301 и \*1302 были выявлены у 15 (12,7%) человек. У этих пациентов уровень

АЦЦП при включении в исследование был статистически ниже, чем у всех других больных ( $p = 0,023$ ). Наличие 1 из 2 аллелей в генотипе предсказывало развитие АЦЦП-негативного РА ( $OR = 0,29$ ; 95% ДИ 0,09–0,9;  $p = 0,035$ ). Когда мы исключили из анализа 3 человек, имеющих в своем генотипе аллель *SE+*, помимо аллелей \*1301 или \*1302, взаимосвязь сохранялась ( $OR = 0,19$ ; 95% ДИ 0,04–0,86;  $p = 0,01$ ).

### Обсуждение

В исследование по изучению ассоциативной связи аллелей гена *HLA-DRB1* с предрасположенностью к развитию РА и продукцией серологических маркеров АЦЦП и IgM РФ были включены больные с достоверным диагнозом РА по критериям АКР (1987). Длительность РА на момент включения в исследование не превышала 2 лет.

В изученной выборке пациентов маркерами предрасположенности к РА были гены \*01 и \*04, а маркерами-протекторами — гены \*02, \*06 и \*07. В проведенных нами более ранних исследованиях на материале больных с семейным РА [19, 20] и длительно текущим эрозивным РА [21], с преобладающими III и IV рентгенологическими стадиями ген \*04 выявляли с гораздо более высокой частотой (61,3 и 61,4%, соответственно), чем у больных PPA (39,0%), у которых при включении в исследование преобладали стадии I, IIА и IIВ. Кроме того, у пациентов с тяжелым деструктивным поражением суставов выявляли только те аллели гена \*04, которые относятся к *SE* (\*0401, \*0404, \*0405 и \*0408). У больных PPA наряду с аллелями \*04 (*SE+*) были обнаружены аллели \*04, не относящиеся ни в одной классификационной системе к аллелям *SE+* (\*0402, \*0403, \*0407). Наши данные соотносятся с результатами зарубежных исследователей, в которых ряд генов, в т.ч. аллели *DRB1*, имели различия в частоте распределения в зависимости от выборки пациентов (длительно текущий РА с выраженным деструктивным поражением суставов, PPA, семейный РА).

Риск развития PPA при обнаружении гена \*04 и \*04 (*SE+*) низко- и высокоразрешающим способом составил 2,0 и 2,4, соответственно. В то же время при идентификации гена \*04 низкоразрешающим методом риск развития РА с семейной отягощенностью по заболеванию и длительно текущего эрозивного РА составил в обоих случаях 6,6, а при выявлении аллелей гена \*04 (*SE+*) высокоразрешающим способом — 12,7. Полученные данные свидетельствуют о том, что аллели гена *HLA-DRB1* в большей степени детерминируют степень тяжести заболевания, чем чувствительность к нему. Кроме того, высокоразрешающее генотипирование позволяет дифференцировать аллели гена *DRB1*\*04 на маркеры риска/прогноза течения РА, протективные и нейтральные аллели.

В настоящее время РА подразделяют на 2 субтипа болезни на основании наличия или отсутствия АЦЦП, что подтверждено результатами генетических исследований [22, 23]. Полученные данные о прогностической роли АЦЦП в развитии РА [8, 9], о неблагоприятном прогнозе течения болезни с более выраженным деструктивным поражением суставов и воспалительным компонентом у АЦЦП-позитивных (по сравнению с АЦЦП-негативными пациентами) [2, 24–27] дают основание полагать, что и патогенетические механизмы развития этих подтипов заболевания различаются. Действительно, выявление ассоциативной взаимосвязи аллелей *DRB1* (*SE+*) с развитием РА в подгруппе АЦЦП-позитивных, но не АЦЦП-негативных пациентов, дало основание

голландским ученым высказать предположение о том, что аллели *SE+* детерминируют развитие АЦЦП-позитивного (но не АЦЦП-негативного) РА [28], что было подтверждено в шведском исследовании [29].

Мы провели подробный анализ взаимосвязи продукции аутоантител с генотипами *DRB1*, используя результаты низко- и высокоразрешающего генотипирования. В нашей выборке больных с PPA установлена существенная связь продукции и уровня продукции АЦЦП не только с генотипами риска, но и с генотипами протекции, что подтверждает концепцию о вовлечении гена *HLA-DRB1* наряду с другими генными локусами в развитие патологического иммунного процесса, в частности в продукцию аутоантител [30].

Высокоразрешающее генотипирование предоставило нам дополнительную информацию о взаимосвязи аллелей *DRB1* и содержания АЦЦП. Взаимосвязь позитивности по АЦЦП и их концентрации с аллелями *DRB1* носила дозозависимый характер: самый высокий титр антител был зафиксирован у носителей двойной дозы *DRB1* (*SE+*), более низкий — у носителей 1 аллеля *SE*, самый низкий — у носителей протективных аллелей. Для группы PPA более адекватной явилась классификация аллелей по аминокислотной последовательности DERAA [12]. Среди конкретных аллелей протекции аллели \*1301 и \*1302 были ассоциированы с АЦЦП-негативным РА, что частично согласуется с результатом недавно проведенного метаанализа [31].

Вместе с тем необходимо отметить, что вопрос об отсутствии генетической детерминации АЦЦП-негативного РА аллелями *DRB1* (*SE+*) окончательно не решен, поскольку совсем недавно было опубликовано исследование английских ученых об обнаружении положительной ассоциативной взаимосвязи аллелей *DRB1* (*SE+*) как с АЦЦП-позитивным, так и с АЦЦП-негативным РА [32]. В исследование было включено значительное число АЦЦП-позитивных ( $n = 4068$ ) и АЦЦП-негативных ( $n = 2040$ ) пациентов РА, а также 13 000 здоровых лиц контрольной группы. Развитие РА в группе АЦЦП-негативных больных было статистически значимо ассоциировано с аллелями *DRB1* (*SE+*), хотя сила этой ассоциации была в 3 раза меньшей, чем в группе АЦЦП-позитивных пациентов. Возможно, эти данные свидетельствуют о независимой предсказательной ценности аллелей *DRB1* (*SE+*) в развитии РА у АЦЦП-негативных пациентов.

В нашей выборке пациентов с PPA не было обнаружено взаимосвязи аллелей *DRB1* с продукцией IgM РФ — значимого маркера РА, что согласуется с рядом исследований, в которых высказывают предположение о том, что наличие корреляции между присутствием *DRB1* (*SE+*) и продукцией IgM РФ в ряде исследований носит опосредованный характер ввиду тесной взаимосвязи АЦЦП и РФ [28, 33]. Полученные нами данные о различиях в генетической детерминации значимых серологических маркеров РА — АЦЦП и РФ — могут свидетельствовать о различных патогенетических механизмах развития РА.

### Заключение

Таким образом, впервые на материале российских больных РА с длительностью заболевания не более двух лет исследована значимость иммуногенетических (аллели локуса *DRB1* системы HLA) и иммунологических (АЦЦП и IgM РФ) маркеров в формировании чувствительности

к развитию заболевания. Сравнение методов высоко- и низкоразрешающего генотипирования показало преимущество высокоразрешающего типирования аллелей *DRB1*, позволяющее уточнить взаимосвязь генетического маркера с продукцией диагностически значимых имму-

нологических маркеров РА. Показано, что аллели риска и протекции гена *DRB1* детерминируют уровень синтеза АЦЦП, но не ассоциированы с продукцией IgM РФ, что может свидетельствовать о различных аутоиммунных механизмах патогенеза РА.

REFERENCES

1. Nasonov E.L., Karateev D.E., Balabanova R.M. Revmatoidnyi artrit. V kn.: Revmatologiya. Natsional'noe rukovodstvo. [Rheumatoid arthritis. In: Rheumatology. National guidelines]. Pod redaktsiei E.L. Nasonova, V.A. Nasonovoi. [E.L. Nasonov, V.A. Nasonova (editors)]. Moscow, GEOTAR-Media. 2008; p. 290–331.
2. de Rooy D.P.C., van der Linden M.P.M., Knevel R., de Rooy D.P., van der Linden M.P., Knevel R., Huizinga T.W., van der Helm-van Mil A.H. Predicting arthritis outcomes — what can be learned from the Leiden Early Arthritis Clinic? *Rheumatology (Oxford)*. 2010; 51 (1): 93–100.
3. Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Nasonov E.L. *Klin. meditsina — Clinical Medicine*. 2007; 85 (8): 4–9.
4. Niewold T.B., Harrison M.J., Paget S.A. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis. *QJM*. 2007; 100 (4): 193–201.
5. van Venrooij W.J., Zendman A.J. Anti-CCP2 antibodies: an overview and perspective of the diagnostic abilities of this serological marker for early rheumatoid arthritis. *Clin. Rev. Allergy. Immunol*. 2008; 34 (1): 36–39.
6. Aggarwal R., Liao K., Nair R. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009; 61 (11): 1472–1483.
7. Aletaha D., Neogi .T, Silman A.J., Funovits J., Felson D.T., Bingham C.O., 3rd, Birnbaum N.S., Burmester G.R., Bykerk V.P., Cohen M.D., Combe B., Costenbader K.H., Dougados M., Emery P., Ferraccioli G., Hazes J.M., Hobbs K., Huizinga T.W., Kavanaugh A., Kay J., Kvien T.K., Laing T., Mease P., Menard H.A., Moreland L.W., Naden R.L., Pincus T., Smolen J.S., Stanislawski-Biernat E., Symmons D., Tak P.P., Upchurch K.S., Vencovsky J., Wolfe F., Hawker G. The 2010 American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism Classification Criteria for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum*. 2010; 62 (9): 2569–2581.
8. Rantapaa-Dahlqvist S., de Jong B.A., Berglin E., Hallmans G., Wadell G., Stenlund H., Sundin U., van Venrooij W.J. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48 (10): 2741–2749.
9. Kokkonen H., Mullazehi M., Berglin E., Hallmans G., Wadell G., Ronnelid J., Rantapaa-Dahlqvist S. Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthr. Res. Ther*. 2011; 13 (1): 13.
10. McAllister K.M., Eyre S., Orozco G. Genetics of rheumatoid arthritis: GWAS and beyond. Review. *Open Access Rheumatology: Research and Reviews*. 2011; 3: 31–46.
11. Gregersen P.K., Silver J., Winchester R.J. The shared epitope hypothesis: an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1987; 30 (11): 1205–1213.
12. van der Horst-Bruinsma I.E., Visser H., Hazes J.M., Breedveld F.C., Verduyn W., Schreuder G.M., de Vries R.R., Zanelli E. *HLA-DQ*-associated predisposition to and dominant *HLA-DR*-associated protection against rheumatoid arthritis. *Hum. Immunol*. 1999; 60 (2): 152–158.
13. Matvey D.L., Dawes P.T., Gonzalez-Gay M.A., Garcia-Porrúa C., Thomson W., Hajeer A.H., Ollier W.E. *HLA-DRB1* alleles encoding an aspartic acid at position 70 protect against development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2001; 28 (2): 232–239.
14. de Vries N., Tijssen H., van Riel P.L., van de Putte L.B. Reshaping the shared epitope hypothesis: HLA-associated risk for rheumatoid arthritis is encoded by amino acid substitutions at positions 67–74 of the *HLA-DRB1* molecule. *Arthritis Rheum*. 2002; 46 (4): 921–928.
15. du Montcel S.T., Michou L., Petit-Teixeira E., Osorio J., Lemaire I., Lasbleiz S., Pierlot C., Quillet P., Bardin T., Prum B., Cornelis F., Clerget-Darpoux F. New classification of *HLA-DRB1* alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum*. 2005; 52 (4): 1063–1068.
16. Guseva I.A., Nasonov E.L. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* . 2008; 6: 7–13.
17. Boldyreva M.N., Grudakova E.G., Bukina A.M. i dr. Raspredelenie HLA-DRB1\*04 v semi etnicheskikh gruppakh Rossii. [Distribution of HLA-DRB1 \* 04 in the seven ethnic groups of Russia] *Mat-ly II (IV) ross. s'ezda meditsinskikh genetikov*. [Materials of the II<sup>nd</sup> (VII<sup>th</sup>) Russian Congress of Medical Geneticists]. May 17–19, 2000; Kursk, pp. 156–157.
18. Nishimura K., Sugiyama D., Kogata Y., Tsuji G., Nakazawa T., Kawano S., Saigo K., Morinobu A., Koshihara M., Kuntz K.M., Kamae I., Kumagai S. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med*. 2007; 146 (11): 797–808.
19. Guseva I.A., Myakotkin V.A., Sharapova E.P., Samarkina E.Yu. *Nauch.-prakt. revmatol — Science-Practical Rheumatology*. 2001; 3: 32.
20. Myakotkin V.A., Moshnina M.A., Krylov M.Yu., Guseva I.A. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2003; 7: 27–30.
21. Taukumova L.A., Guseva I.A. *Nauch.-prakt. revmatol. — Science-Practical Rheumatology*. 2004; 4: 29–34.
22. van der Helm-van Mil A.H., Huizinga T.W. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. *Arthritis Res. Ther*. 2008; 10 (2): 205.
23. Padyukov L., Seielstad M., Ong R.T., Ding B., Ronnelid J., Sedgighzadeh M., Alfredsson L., Klareskog L.A. genome-wide association study suggests contrasting associations in ACPA-positive versus ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis*. 2011; 70 (2): 259–265.
24. Meyer O., Labarre C., Dougados M., Goupille P., Cantagrel A., Dubois A., Nicaise-Roland P., Sibilia J., Combe B. Anticitrullinated protein / peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann. Rheum. Dis*. 2003; 62 (2): 120–126.
25. van Gaalen F.A., Linn-Rasker S.P., van Venrooij W.J., de Jong B.A., Breedveld F.C., Verweij C.L., Toes R.E., Huizinga T.W. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthr. Rheum*. 2004; 50 (3): 709–715.
26. Kastbom A., Strandberg G., Lindroos A., Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann. Rheum. Dis*. 2004; 63 (9): 1085–1089.
27. Quinn M.A., Gough A.K., Green M.J., Devlin J., Hensor E.M., Greenstein A., Fraser A., Emery P. Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology (UK)*. 2006; 45 (4): 478–480.
28. van der Helm-van Mil A.H., Verpoort K.N., Breedveld F.C., Huizinga T.W., Toes R.E., de Vries R.R. The *HLA-DRB1* shared

- epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007; 54 (4): 1117–1121.
29. Ding B., Padyukov L., Lundstrom E., Seielstad M., Plenge R.M., Oksenberg J.R., Gregersen P.K., Alfredsson L., Klareskog L. Different patterns of associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in the extended major histocompatibility complex region. *Arthritis Rheum.* 2009; 60 (1): 30–38.
  30. Hill J.A., Southwood S., Sette A., Jevnikar A.M., Bell D.A., Cairns E. Cutting Edge: The conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated *HLA-DRB1\*0401* MHC Class II molecule. *J. Immunol.* 2003; 171 (2): 538–541.
  31. van der Woude D., Lie B.A., Lundstrom 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., Martin 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 antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis Rheum.* 2010; 62 (2): 1236–1245.
  32. Viatte S., Plant D., Bowes J., Lunt M., Eyre S., Barton A., Worthington J. Genetic markers of rheumatoid arthritis susceptibility in anti-citrullinated peptide antibody negative patients. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71 (12): 1984–1990.
  33. 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; 52 (11): 3433–3438.

FOR CORRESPONDENCE

**Guseva Irina Anatol'evna**, PhD, Senior Research Worker, Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 615-93-07; **e-mail:** irrgus@yandex.ru

**Demidova Natal'ia Viktorovna**, PhD, Research Worker, Department of Early Arthritis, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 614-42-79; **e-mail:** natasha-demidova@mail.ru

**Soroka Natalia Evgen'evna**, Research Worker of Scientific and Production Department, Research and Production Company DNA Technology.

**Address:** 115478, Moscow, Kashirskoye Highway 2/2; **tel.:** (495) 980-45-55; **e-mail:** nataliyasoroka@yandex.ru

**Novikov Alexander Alexandrovich**, PhD, Leading Research Worker, Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 614-09-33; **e-mail:** irramnlab@rambler.ru

**Luchihina Elena Evovna**, PhD, Leading Research Worker, Department of Early Arthritis, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 614-42-79; **e-mail:** eleluch@yandex.ru

**Alexandrova Elena Nikolaevna**, PhD, Head of the Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 614-09-33; **e-mail:** irramnlab@rambler.ru

**Lukina Galina Viktorovna**, PhD, Head of the Laboratory of Clinical Pharmacology, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 618-92-38; **e-mail:** gvl3@yandex.ru

**Fedorenko Evgenia Vladimirovna**, PhD, Junior Research Worker, Laboratory of Clinical Pharmacology Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 618-92-38; **e-mail:** ev\_f@bk.ru

**Aronova Evgenia Sergeevna**, PhD, Junior Research Worker, Laboratory of Clinical Pharmacology Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 618-92-38; **e-mail:** eugpoz@mail.ru

**Samarkina Elena Yur'evna**, Junior Research Worker, Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 615-93-07; **e-mail:** samarkinale@list.ru

**Boldyreva Margarita Nikolaevna**, PhD, Leading Research Worker, Department of Immunogenetics, Institute of Immunology.

**Address:** 115478, Kashirskoye Highway 24/2; **tel.:** (499) 617-78-22; **e-mail:** rita@dna-technology.ru

**Trofimov Dmitriy Jur'evich**, PhD, General Director of Research and Production Company DNA Technology.

**Address:** 115478, Kashirskoye Highway 24/2; **tel.:** (495) 980-45-55; **e-mail:** molgen@bk.ru

**Karateev Dmitriy Evgen'evich**, PhD, Head of Department of Early Arthritis, Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499)614-31-73; **e-mail:** dekar@inbox.ru

**Nasonov Evgeniy Evovich**, PhD, Professor, RAMS academician, Director of Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences

**Address:** 115522, Moscow, Kashirskoye Highway, 34A; **tel.:** (499) 614-44-90; **e-mail:** sokrat@irramn.ru