

Многopараметрический анализ биомаркеров в лабораторной диагностике раннего ревматоидного артрита

А.А. Новиков¹, Е.Н. Александрова¹, А.Н. Герасимов²,
М.В. Черкасова¹, Д.Е. Каратеев¹, Е.Л. Лучихина¹, Е.Л. Насонов¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт ревматологии» РАМН, Москва
²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

¹Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia

Контакты: Александр Александрович Новиков
irramnlab@rambler.ru

Contact: Aleksandr Aleksandrovich Novikov
irramnlab@rambler.ru

Поступила 28.02.13

Цель – разработать многopараметрический диагностический индекс (МДИ) для лабораторной диагностики раннего ревматоидного артрита (РА).

Материал и методы. Обследовано 102 пациента с ранним РА: 79 женщин и 23 мужчины; возраст (МЕ [25-й; 75-й перцентили]) 51 [41; 62] год, длительность 4 [2,5; 6,0] мес, DAS28 5,4 [4,1; 5,9]. Группу сравнения (n=616) составили: 27 пациентов с системной красной волчанкой, 15 – с синдромом Шегрена, 25 – с анкилозирующим спондилоартритом, 33 – с остеоартритом, 20 – с OVERLAP-синдромом; 9 – с подагрическим, 22 – с псориатическим и 168 – с недифференцированным артритом, а также 297 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными. Концентрации 36 биомаркеров измеряли с использованием иммунонефелометрического метода, иммуноферментного анализа и технологии «xMAP».

Прогноз значений одной переменной по другим проводили при помощи метода многомерной линейной регрессии (многофакторного анализа).

Результаты. Выделены наиболее «сильные» факторы прогнозирования наличия раннего РА, а именно: концентрации интерлейкина 6, С-реактивного белка, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, интерферон γ (ИФН γ), ИФН γ -индуцибельный белок, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду – и создан кандидатный МДИ для раннего РА (МИРРА). После тщательной валидации МИРРА может рассматриваться как высокоточный серологический тест для ранней диагностики РА.

Заключение. Создание МДИ с более высокой диагностической точностью, по сравнению с рутинно используемыми биомаркерами, крайне важно для ранней диагностики РА, позволяющей начать активную противоревматическую терапию, способную эффективно затормозить прогрессирующее поражение суставов.

Ключевые слова: ранний ревматоидный артрит, биомаркеры, многopараметрический диагностический индекс.

MULTIPARAMETER ANALYSIS OF BIOMARKERS IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS

A.A. Novikov¹, E.N. Aleksandrova¹, A.N. Gerasimov²,
M.V. Cherkasova¹, D.E. Karateev¹, E.L. Luchikhina¹, E.L. Nasonov¹

Objective: to develop a multiparameter diagnostic index (MDI) for the laboratory diagnosis of early rheumatoid arthritis (RA).

Subjects and methods. 102 patients with early RA (79 women and 23 men; median age 51 years [41 to 62, 25th to 75th percentile]; disease duration 4 months [2.5 to 6.0]); DAS28 5.4 [4.1 to 5.9]) were examined. A comparison group consisted of 616 patients including 27 with systemic lupus erythematosus, 15 with Sjögren's syndrome, 25 with ankylosing spondyloarthritis; 33 with osteoarthritis, 20 with overlap syndrome, 9, 22, and 168 patients with gouty, psoriatic, and undifferentiated arthritis, respectively; as well as 297 healthy donors matched with the examinees for gender and age. The concentrations of 36 biomarkers were measured by an immunonephelometric method, enzyme immunoassay, and xMAP technology. The values of one variable from others were predicted using a multiple linear regression method (multivariate analysis).

Results. The strongest predictors of early RA, such as the concentrations of interleukin-6, C-reactive protein, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interferon- γ (IFN- γ), IFN- γ -inducible protein, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, were identified and a candidate for MDI was developed for early RA (MIRRA). After thorough validation, MIRRA may be regarded as a precision serological assay for the early diagnosis of RA.

Conclusion. The development of MDI having a higher diagnostic precision than routinely used biomarkers is imperative for early RA diagnosis that allows one to initiate active antirheumatic therapy that is able to effectively delay progressive joint injury.

Key words: early rheumatoid arthritis, biomarkers, multiparameter diagnostic index.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) – гетерогенное заболевание, в основе патогенеза которого лежит сложное, плохо изученное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов нормальных регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные и, нередко, физиологические стимулы [1]. Это определяет чрезвычайное разнообразие

клинических, патологических и иммунологических проявлений, сочетание которых делает РА более похожим на клинко-иммунологический синдром. Имеются данные о том, что «субклинически» текущий иммунопатологический процесс развивается задолго до появления клинически очевидных признаков артрита. При этом промежуток времени, в течение которого даже самая активная противовоспалительная терапия может эффективно затормозить прогрессиру-

вание поражения суставов, крайне короткий и составляет всего несколько месяцев от начала болезни [2–4]. Все это свидетельствует о том, что РА является ярким примером заболеваний, при которых отдаленный прогноз во многом зависит от того, насколько рано удастся поставить диагноз и начать активную терапию. Однако диагностика РА в его дебюте является крайне трудной задачей. Клинические симптомы раннего РА часто не специфичны и могут наблюдаться при широком круге как ревматических, так и неревматических заболеваний [5, 6]. Более того, существующие классификационные критерии РА, принятые в 1987 г. Американской коллегией ревматологов (ACR) и в 2010 г. ACR и Европейской антиревматической лигой (EULAR), обладают недостаточно высокими чувствительностью и специфичностью при диагностике раннего РА [6–8].

В связи с этим поиск новых биомаркеров РА, обладающих высокой диагностической точностью, – важная задача современной ревматологии [9, 10]. В сыворотке крови больных РА выявляют широкий спектр аутоантител, включающий ревматоидные факторы (РФ) и антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ): антикератиновые антитела, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ), – обладающие различной диагностической точностью [11–14]. На сегодняшний день основными входящими в диагностические критерии лабораторными маркерами РА являются IgM РФ и АЦЦП [15, 16]. Другим важным аспектом лабораторной диагностики РА является исследование диагностического значения маркеров воспаления, среди которых наиболее часто используются СОЭ и уровень С-реактивного белка (СРБ) [17]. При РА происходит повышение содержания в сыворотке крови и другого провоспалительного маркера – кальпротектина (КП), представляющего собой гетерокомплекс белков S100A8/S100A9 [18]. При протеомном анализе сывороточных белков у больных с ранним РА обнаружена тесная взаимосвязь между высокой концентрацией провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкинов (ИЛ) 1 β , 6, 15 – и продукцией АЦБ [19]. Цитокины этого функционального класса способствуют развитию локальных провоспалительных эффектов, вызывая активацию эндотелия и накопление лейкоцитов в полости сустава, секрецию протеаз и матриксных металлопротеиназ (ММП); индуцируют костную деструкцию и образование паннуса; приводят к аутоиммунным нарушениям, участвуют в развитии системных проявлений РА [20]. Цитокины, обладающие выраженными противовоспалительными свойствами, наоборот, способны замедлять суставную деструкцию. Существуют данные об участии не только Th1-, но и Th2-цитокинов в развитии раннего РА. Эти факты свидетельствуют о необходимости более тщательного изучения баланса между Th1- и Th2-типами иммунного ответа на разных стадиях заболевания [21].

Пока еще не удалось обнаружить лабораторный маркер, который выявлялся бы только при одном конкретном ревматическом заболевании, поэтому с целью повышения диагностической точности в лабораторной практике начинают применяться диагностические индексы, полученные путем многопараметрического анализа (In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay – IVDMIA), – многопа-

раметрические диагностические индексы (МДИ) [22–25]. Накопленная к настоящему времени информация об особенностях белкового профиля при РА позволила создать только МДИ для определения индекса активности болезни, основанный на измерении концентраций 12 ключевых белков (молекулы адгезии сосудистого эндотелия первого типа, эпидермального фактора роста, васкулоэндотелиального фактора роста, ИЛ6, рецептора ФНО первого типа, ММП1, ММП3, хрящевого гликопротеина 39, лептина, резистина, сывороточного амiloидного белка А и СРБ), ассоциирующихся с определенными компонентами DAS28 [26]. Целью данной работы стала разработка МДИ для раннего РА (МИРРА).

Материал и методы

Обследовано 102 пациента с ранним РА: 79 женщин и 23 мужчины; возраст (МЕ [25-й; 75-й перцентили]): 51 [41; 62] год, длительность 4 [2,5; 6,0] мес, DAS28 – 5,4 [4,1; 5,9]. Группу сравнения (n=616) составили: 27 пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), 15 – с синдромом Шегрена (СШ), 25 – с анкилозирующим спондилартритом (АС), 33 – с остеоартритом (ОА), 20 – с OVERLAP-синдромом; 9 – с подагрическим (ПА), 22 – с псориазическим (ПсА) и 168 – с недифференцированным (НДА) артритом, а также 297 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными. Все образцы исследуемого биологического материала хранили при –70 °С. Интервал между процедурой взятия крови и замораживанием образцов сывороток составлял не более 30 мин. Концентрации 36 биомаркеров измеряли с использованием иммунофелометрического метода (ИНМ), иммуноферментного анализа (ИФА) и технологии «xMAP» (табл. 1).

Оценка диагностической точности определения биомаркеров РА осуществлялась путем расчета операционных характеристик теста: диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов (ОППР и ОПОР), оценки площади под ROC-кривой (ППК) [11].

Статистический анализ результатов проводили с помощью программного комплекса EpiInfo 5.0, рекомендованного для использования в медико-биологических приложениях (центр слежения за заболеваемостью и смертностью, США, www.cdc.gov). Обработка результатов включала общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для проверки корректности использования методов параметрической статистики анализировали формы распределения переменных. В случае их некомпактности (с целью исключения погрешностей при расчете достоверности различий средних по группам) использовали аналогичные методы непараметрической статистики, т. е. проводили сравнение не исходных значений переменных, а их рангов [27]. При сравнении параметров с нормальным распределением применялся парный t-тест для независимых выборок. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уоллеса, результаты представлены в виде медианы (Ме) с интерквартильным размахом (ИР) [25-й; 75-й перцентили]. Корреляционный

Таблица 1 Концентрации исследуемых биомаркеров и методы их определения

| Биомаркеры | Ранний РА | | Группа сравнения | | Метод | ЕИ | АЧ* | ВГН |
|--------------------------------------|------------------------------|-----|-----------------------------|-----------------|-------|---------|-------|----------|
| | Ме [ИР] | n | Ме [ИР] | n | | | | |
| <i>Аутоантитела</i> | | | | | | | | |
| IgM РФ ¹ | 39 [5; 137]* | 102 | 0 [0; 17] | 616 | ИНМ | МЕ/мл | 9,5 | 15,0° |
| IgA РФ ² | 27 [19; 80]* | 21 | 0,1 [0,1; 0,1] | 85 | ИФА | ЕД/мл | 0,1 | 20,0° |
| АЦЦП ³ | 36 [0,5; 100]* | 102 | 0,1 [0,1; 0,1] | 616 | « | « | 0,1 | 5,0° |
| АМЦВ ² | 68,5 [1; 692]* | 102 | 1,0 [0,2; 14] | 616 | « | « | 0,1 | 20,0° |
| <i>Острая фаза воспаления</i> | | | | | | | | |
| СРБ ¹ | 9,5 [3; 33]* | 102 | 1 [0,5; 5] | 518 | ИНМ | мг/л | 0,175 | 5,0° |
| КП ⁴ | 24 [11; 43]* | 32 | 9 [4,5; 22] | 84 | ИФА | мкг/мл | <0,4 | 20,0° |
| <i>Костный и хрящевой метаболизм</i> | | | | | | | | |
| sRANKL ⁵ | 0,1 [0,1; 1,3] | 32 | 0,1 [0,1; 0,6] | 84 | « | пмоль/л | 0,08 | 0,6° |
| СОМР ⁶ | 13 [9; 42] | 32 | 12 [9; 28] | 84 | « | нг/мл | 0,4 | 28,0° |
| <i>Цитокины⁷</i> | | | | | | | | |
| ИЛ1β | 4,8 [3,7; 13,4]* | 37 | 4,07 [2,61; 5,0] | 30 [†] | хМАР | пг/мл | 0,1 | 7,6° |
| ИЛ1га | 430,2 [130,1; 942,0]* | 37 | 150,64 [111,19; 253,8] | 30 [†] | « | « | 0,4 | 1082,8° |
| ИЛ2 | 50,0 [12,0; 296,6]* | 37 | 10,77 [5,53; 13,8] | 30 [†] | « | « | 2,2 | 37,5° |
| ИЛ4 | 6,0 [2,5; 12,9]* | 37 | 3,31 [0,21; 6,0] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 8,9° |
| ИЛ5 | 5,1 [3,9; 10,2]* | 37 | 2,92 [0,2; 5,2] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 9,5° |
| ИЛ6 | 47,0 [28,1; 240,1]* | 37 | 7,78 [4,5; 13,1] | 30 [†] | « | « | 0,0 | 33,47° |
| ИЛ7 | 22,6 [8,8; 65,5]* | 37 | 8,15 [0,5; 21,5] | 30 [†] | « | « | 0,0 | 76,5° |
| ИЛ8 | 14,92 [10,14; 17,62] | 37 | 12,47 [4,76; 9,0] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 28,15° |
| ИЛ9 | 116,3 [53,0; 811,0]* | 37 | 34,17 [26,3; 42,3] | 30 [†] | « | « | 0,5 | 186,2° |
| ИЛ10 | 43,6 [26,6; 131,0]* | 37 | 13,22 [5,83; 34,5] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 411,3° |
| ИЛ12 | 16,0 [7,3; 97,3]* | 37 | 5,78 [2,24; 9,9] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 27,6° |
| ИЛ13 | 24,8 [17,3; 71,0]* | 37 | 16,69 [9,9; 22,4] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 63,3° |
| ИЛ15 | 20,0 [5,1; 63,1]* | 37 | 6,7 [3,92; 17,4] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 40,8° |
| ИЛ17 | 82,0 [45,0; 121,0]* | 37 | 22,87 [5,23; 90,3] | 30 [†] | « | « | 0,4 | 385,7° |
| Эотаксин | 397,3 [99,0; 1544,3]* | 37 | 102,41 [19,39; 585,7] | 30 [†] | « | « | 1,7 | 1247,9° |
| ФРФ2 | 36,2 [25,7; 69,8]* | 37 | 27,25 [19,32; 44,3] | 30 [†] | « | « | 4,1 | 70,1° |
| Г-КСФ | 164,53 [56,89; 838,69] | 37 | 10,86 [2,37; 56,5] | 30 [†] | « | « | 0,4 | 31,5° |
| ГМ-КСФ | 164,5 [57,0; 838,9]* | 37 | 39,93 [21,6; 61,3] | 30 [†] | « | « | 5,4 | 182,1° |
| ИФНγ | 2434,0 [479,4; 3376,0]* | 37 | 285,35 [112,2; 1038,0] | 30 [†] | « | « | 0,3 | 2342,6° |
| ИБ10 | 9454,0 [1609,2; 138,0]* | 37 | 717,8 [188,68; 17831,0] | 30 [†] | « | « | 1,6 | 4064,0° |
| МХБ1 | 84,63 [21,38; 254,75] | 37 | 48,59 [22,26; 6169,5] | 30 [†] | « | « | 0,2 | 248,5° |
| МБВ1α | 21,8 [14,0; 32,7]* | 37 | 10,82 [8,84; 18,1] | 30 [†] | « | « | 0,4 | 37,2° |
| МБВ1β | 81,92 [43,98; 132,45] | 37 | 66,05 [49,36; 99,5] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 153,3° |
| ТФР-βВ | 29912,32 [10329,17; 4571,33] | 37 | 26024,51 [5854,75; 56472,8] | 30 [†] | « | « | 1,4 | 93646,9° |
| RANTES | 1802,29 [1802,29; 6169,50] | 37 | 1809,29 [1802,29; 6169,5] | 30 [†] | « | « | 0,4 | 6169,5° |
| ФНОα | 82,0 [50,4; 162,4]* | 37 | 39,0 [17,2; 65,0] | 30 [†] | « | « | 2,9 | 65,0° |
| ВЭФР | 509,3 [153,3; 518,4]* | 37 | 205,6 [64,0; 313,0] | 30 [†] | « | « | 0,1 | 313,0° |

Примечание. ЕИ – единицы измерения, АЧ – аналитическая чувствительность, ВГН – верхняя граница нормы; sRANKL – растворимый лиганд остеопротегерина, СОМР – олигомерный матриксный белок хряща, ИЛ1га – антагонист рецептора ИЛ1, ФРФ2 – фактор роста фибробластов, Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИФНγ – интерферон γ, ИБ10 – ИФНγ-индуцибельный белок, МХБ1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, МБВ – макрофагальный белок воспаления, ТФР – тромбоцитарный фактор роста, RANTES – хемокин, выделяемый Т-клетками при активации, ВЭФР – васкулоэндотелиальный фактор роста; * – p<0,05; † – условно здоровые доноры; ° – определен изготовителем, ° – рассчитан при исследовании сывороток здоровых доноров. Производители тест-систем: ¹ – Siemens (ФРГ), ² – ORGENTEC Diagnostika (ФРГ), ³ – Axis-Shield (Великобритания), ⁴ – Buhlmann Laboratories (ФРГ), ⁵ – Biomedica (Австрия), ⁶ – BioVendor (ФРГ), ⁷ – Bio-Rad (США)

анализ проводили по методу Спирмена, кластерный – методом двухходового объединения. Различия считались достоверными при p<0,05.

Прогноз значений одной переменной по другим проводили при помощи метода многомерной линейной регрессии (многофакторного анализа), при котором

прогноз показателя ξ по показателям η₁...η_n осуществляется в виде:

$$\xi_{\text{прогноз}} = c + \sum_{k=1}^n b_k \cdot \eta_k.$$

Коэффициенты b_k в приведенных таблицах называются нестандартизованными коэффициентами. Для срав-

Таблица 2 Коэффициенты прогностической модели для диагностики раннего РА

| Прогностическая модель | Нестандартизованные коэффициенты | | Стандартизованные коэффициенты β | p |
|------------------------|----------------------------------|--------------------|--|-------|
| | B | стандартная ошибка | | |
| Константа α | -0,105 | 0,090 | | |
| ИЛ6 | -0,002 | 0,003 | -0,125 | 0,247 |
| СРБ | 0,000 | 0,000 | 0,342 | 0,467 |
| ГМ-КСФ | 0,002 | 0,003 | 0,145 | 0,003 |
| ИФН γ | 0,001 | 0,003 | 0,070 | 0,430 |
| ИБ10 | 0,005 | 0,002 | 0,350 | 0,736 |
| АЦЦП | 0,000 | 0,000 | 0,309 | 0,024 |

нительного анализа вклада факторов в прогностическую модель приведены также таблицы стандартизованных коэффициентов β_k , определяемых как:

$$\beta_k = b_k \cdot \frac{\sigma(\xi)}{\sigma(\eta_k)},$$

а также статистическая достоверность (p) их отличия от нуля.

Результаты

Концентрации 27 биомаркеров: IgM РФ, IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ, СРБ, КП, ИЛ 1 β , ИЛ1 α , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ9, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13, ИЛ15, ИЛ17, эотаксин, ФРФ2, ГМ-КСФ, ИФН γ , ИБ10, МБВ1 α , ФНО α , ВЭФР – при раннем РА достоверно превышали таковые в контрольной группе (см. табл. 1). После проведения соответствующего статистического анализа полученных данных стало возможным выделить наиболее «сильные» факторы прогнозирования наличия данного заболевания, а именно: концентрации ИЛ6, СРБ, ГМ-КСФ, ИФН γ , ИБ10 и АЦЦП (табл. 2; см. рисунок) – и создать кандидатный МДИ для раннего РА (МИРРА). Вероятность наличия раннего РА рассчитывается по формуле:

$$-0,5 - 0,002 \cdot [\text{ИЛ6}] + 0,001 \cdot [\text{СРБ}] + 0,002 \cdot [\text{ГМ-КСФ}] + 0,001 \cdot [\text{ИФН}\gamma] + 0,05 \cdot [\text{ИБ10}] + 0,001 \cdot [\text{АЦЦП}].$$

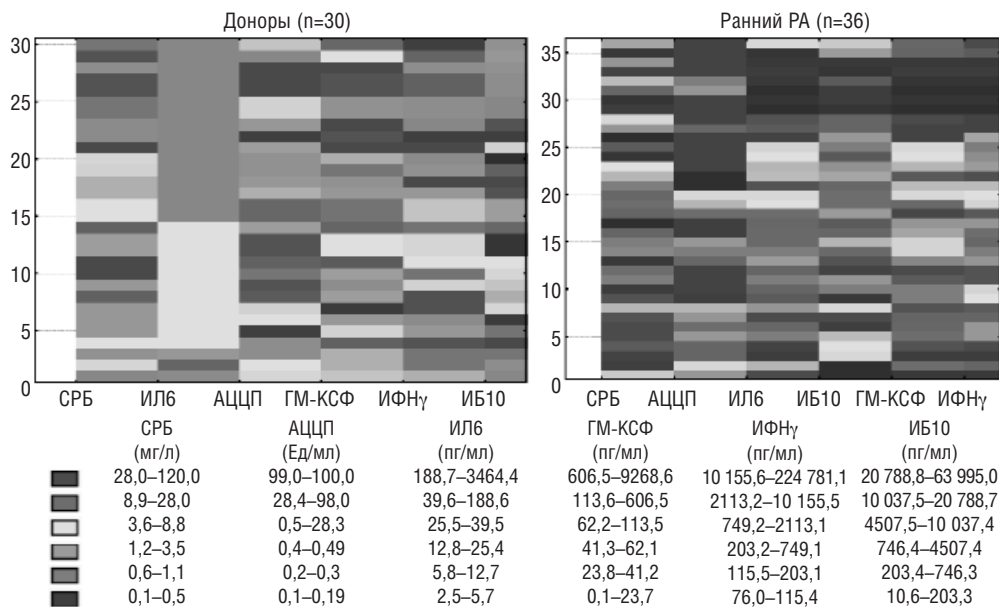
В качестве ВГН выбрано значение 0,5, при котором данная панель обладает наилучшими диагностическими

характеристиками. В целом диагностическая точность МИРРА превышает таковую каждого входящего в него биомаркера (табл. 3).

Обсуждение

Развитие протеомных технологий, с помощью которых можно одновременно определять множество биомаркеров в одном образце биоматериала, позволило перейти к созданию МДИ, обладающих лучшими параметрами диагностической точности, чем отдельные ранее используемые показатели. Предпосылкой для создания МДИ для лабораторной диагностики раннего РА стало описание особенностей белкового профиля при данном заболевании (табл. 4).

В ходе прогрессирования РА в периферической крови происходит достоверное изменение уровней аутоантител, острофазовых белков и цитокинов, принадлежащих ко всем основным функциональным классам [28–33]. Важно отметить, что изменение концентраций биомаркеров в крови не обязательно напрямую связано с воспалением в синовиальной ткани и в большей степени отражает развитие общего аутоиммунного воспалительного процесса. Появление аутоантител и признаков дисбаланса цитокинового профиля отмечают за 3–6 лет до первой манифестации заболевания [30, 33, 34]. После развития первых симптомов РА наряду с высоким содер-



Концентрации ИЛ6, СРБ, ГМ-КСФ, ИФН γ , ИБ10 и АЦЦП при раннем РА и у здоровых доноров

Таблица 3 Диагностические характеристики входящих в МИРРА биомаркеров при раннем РА

| Характеристика | ИЛ6 | СРБ | ГМ-КСФ | ИФН γ | ИБ10 | АЦЦП | МИРРА |
|------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| ДЧ, % | 64 | 75 | 47 | 50 | 69 | 64 | 97 |
| ДС, % | 99 | 99 | 99 | 99 | 94 | 94 | 94 |
| ОППР | 64 | 75 | 47 | 50 | 11,5 | 11 | 16,1 |
| ОПОР | 0,4 | 0,2 | 0,5 | 0,5 | 0,3 | 0,4 | 0,03 |
| ППК, Ме (95% ДИ) | 0,9 (0,81–0,99) | 0,9 (0,82–0,98) | 0,85 (0,76–0,95) | 0,98 (0,81–0,98) | 0,88 (0,77–0,99) | 0,87 (0,77–0,97) | 0,98 (0,95–1,01) |

жанием аутоантител, провоспалительных и Th1-цитокинов, происходит повышение уровня провоспалительных белков, противовоспалительных цитокинов, колоние-стимулирующих факторов и хемокинов (см. табл. 4) [19, 33, 35, 36]. Так, изменение содержания биомаркеров, использованных при создании МИРРА, способно отражать воспалительную активность РА (СРБ, ИЛ6), гиперпродукцию АЦБ (АЦЦП), развитие иммунного ответа по Th1-типу (ИФН γ), активацию процессов гемопоэза (ГМ-КСФ) и хемотаксиса (ИБ10) [37–41]. При диагностике раннего РА МИРРА обладает высокой ДЧ и ДС (94%), превосходя IgM РФ (59, 79%) по обоим параметрам, а АЦЦП (71, 97%) – по ДЧ [16]. В 2011 г. группа под руководством W.H. Robinson с помощью мультиплексного анализа создала аналогичную диагностическую панель из 6 биомаркеров: гистон 2В/е, виментин, фибриноген А, олигомерный матриксный протеин хряща

(СОМР), профилагрин, IgA РФ. При диагностике раннего РА данная панель проявляет более высокую ДС (96%), чем IgM РФ, однако не превосходит по таковой АЦЦП и МИРРА [42–45]. Таким образом, после тщательной валидации МИРРА сможет рассматриваться как высокоточный серологический тест для ранней диагностики РА.

По данным литературы, в настоящее время около 200 МДИ находится в фазе разработки, в реальной клинической практике применяется только три, при этом ни один из них не предназначен для диагностики РА [46]. Создание МДИ с более высокой диагностической точностью, по сравнению с рутинно используемыми биомаркерами, крайне важно для ранней диагностики РА, позволяющей начать активную противоревматическую терапию, способную эффективно затормозить прогрессирующее поражение суставов.

Таблица 4 Повышение уровней биомаркеров в доклинический период и при раннем РА

| Биомаркеры | Доклинический период (3–6 лет до начала заболевания), данные литературы | Ранний РА (<6 мес) | |
|-----------------------------------|---|--|--|
| | | данные литературы | собственные данные |
| Маркеры воспаления | СРБ [30] | СРБ [17, 29] | СРБ, КП |
| Аутоантитела | РФ [30, 34], АЦЦП [30, 34] | РФ [16, 33], АЦЦП [16, 33], АМЦВ [35, 36] | РФ, АЦЦП, АМЦВ |
| Цитокины: | | | |
| провоспалительные | ИЛ1 α [30, 34], ИЛ1 β [30, 33, 34], ИЛ6 [30, 33], ИЛ15 [30], ФНО α [30] | ИЛ1 α [19, 33], ИЛ1 β [33], ИЛ6 [33], ИЛ12 [19, 33], ИЛ15 [33], ФНО α [19] | ИЛ1, ИЛ1 β , ИЛ6, ИЛ12, ИЛ15, ФНО α , МБВ1? |
| противовоспалительные | ИЛ1ra [33, 34] | ИЛ1ra [33], ИЛ13 [19] | ИЛ1ra, ИЛ10, ИЛ13 |
| Th1 | ИЛ2 [33], ИЛ12 [30], ИФН γ [33] | ИФН γ [19, 33], ИЛ2 [33], ИЛ12 [19, 33] | ИФН γ , ИЛ2, ИЛ12 |
| Th2 | ИЛ4 [33, 34], зотаксин [33] | ИЛ9 [33], зотаксин [19, 33] | ИЛ4, ИЛ9, зотаксин |
| Th17 | ИЛ17 [33] | | ИЛ17 |
| Т-регуляторные | ИЛ10 [33, 34] | ИЛ10 [33] | ИЛ10 |
| Колонистимулирующие факторы | ИЛ7 [33], ФРФ2 [30], ГМ-КСФ [30] | | ИЛ7, ГКСФ, ГМ-КСФ |
| Стромальные и ангиогенные факторы | | ТФР-ВВ [33], ВЭФР [33] | ФРФ-2, ВЭФР |
| Хемокины | МХБ1 [33] | ИЛ8 [33], МХБ1 [19], МБВ1 β [33], ИБ10 [19, 33] | ИЛ8, ИБ10, МХБ1 |

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008;290–331.
- O'Dell J.R. Treating rheumatoid arthritis early: a window of opportunity? *Arthr Rheum* 2002;46:283–5.
- Scott D.L. The diagnosis and prognosis of early arthritis: rationale for new prognostic criteria. *Arthr Rheum* 2002;46:286–90.
- Насонов Е.Л. Почему необходима ранняя диагностика и лечение ревматоидного артрита? *Рус мед журн* 2002;10:1009–10.
- Orozco C., Olsen N.G. Identification of patients with early rheumatoid arthritis: challenges and future directions. *Clin Devel Immunol* 2006;13:295–7.
- Krabben A., Huizinga T.W., van der Helm-van Mil A.H. Undifferentiated arthritis characteristics and outcomes when applying the 2010 and 1987 criteria for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012;71:238–41.
- Arnett F.C., Edworthy S.M., Bloch D.A. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1988;31:315–24.
- Van Venrooij W.J., van Beers J.J., Pruijn G.J. Anti-CCP antibody, a marker for the early detection of rheumatoid arthritis. *Ann NY Acad Sci* 2008;1143:268–85.
- Miossec P., Verweij C.L., Klareskog L. et al. Biomarkers and personalized medicine in rheumatoid arthritis: a proposal for interac-

- tions between academia, industry and regulatory bodies. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1713–8.
10. Gibson D.S., Rooney M.E., Finnegan S. et al. Biomarkers in rheumatology, now and in the future. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51:423–33.
 11. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний. *М.*, 2012;6–9.
 12. Schellekens G.A., Visser H., de Jong B.A. et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthr Rheum* 2000;43:155–63.
 13. Schellekens G.A., de Jong B.A., van den Hoogen F.H. et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101:273–81.
 14. Bang H., Luthke K., Gauliard A. et al. Mutated citrullinated vimentin (MCV) as a candidate autoantigen for diagnosis and monitoring of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006;65:144.
 15. Aletaha D., Neogi T., Silman A. et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Arthr Rheum* 2010;62:2569–81.
 16. Taylor P., Gartemann J., Hsieh J. et al. A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor as tests for rheumatoid arthritis. *SAGE-Hindawi Access to Research Autoimmune Diseases Volume 2011*, Article ID 815038.
 17. Dayer E., Dayer J., Roux-Lombard P. Primer: the practical use of biological markers of rheumatic and systemic inflammatory diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007;3:512–20.
 18. de Seny D., Fillet M., Ribbens C. et al. Monomeric calgranulins measured by SELDI-TOF mass spectrometry and calprotectin measured by ELISA as biomarkers in arthritis. *Clin Chem* 2008;54:1066–75.
 19. Hueber W., Tomooka B.H., Zhao X. et al. Proteomic analysis of secreted proteins in early rheumatoid arthritis: anti-citrulline autoreactivity is associated with up regulation of proinflammatory cytokines. *Ann Rheum Dis* 2007;66:712–9.
 20. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А. и др. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита. *Науч-практич ревматол* 2010;2:71–82.
 21. Firestein G.S. Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 2005;11:39–44.
 22. Wener M. Multiplex, megaplex, index, and complex: the present and future of laboratory diagnostics in rheumatology. *Arthr Res Ther* 2011;13:134.
 23. Zhou X., Fragala M.S., McElhaney J. et al. Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurements in clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13:541–7.
 24. Bossuyt P.M. The thin line between hope and hype in biomarker research. *JAMA* 2011;305:2229–30.
 25. Katz M.H. Multivariable analysis: a primer for readers of medical research. *Ann Intern Med* 2003;138:644–50.
 26. Cavet G., Centola M., Shen Y. et al. Development of a multi-biomarker test for rheumatoid arthritis (RA) disease activity. *Ann Rheum Dis* 2010;69:148.
 27. Герасимов А.Н. Медицинская статистика: Учебное пособие. М.: Медицинское информационное агентство, 2007; 480 с.
 28. Alex P., Szodoray P., Knowlton N. et al. Multiplex serum cytokine monitoring as a prognostic tool in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25:584–92.
 29. Meyer P., Hodkinson B., Ally M. et al. Circulating cytokine profiles and their relationships with autoantibodies, acute phase reactants, and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation Vol 2010*, Article ID 158514.
 30. Deane K., O'Donnell C., Hueber W. et al. The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthr Rheum* 2010;62:3161–72.
 31. Paramalingam S., Thumboo J., Vasoo S. et al. In vivo pro- and anti-inflammatory cytokines in normal and patients with rheumatoid arthritis. *Ann Acad Med Singapore* 2007;36:96–9.
 32. Hitchon C.A., Alex P., Erdile L.B. et al. A distinct multicytokine profile is associated with anti-cyclical citrullinated peptide antibodies in patients with early untreated inflammatory arthritis. *J Rheumatol* 2004;31:2336–46.
 33. Kokkonen H., Soderstrom I., Rocklov J. et al. Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 2010;62:383–91.
 34. Jorgensen K.T., Wiik A., Pedersen M. et al. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in premonitory and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis* 2008;67:860–6.
 35. Poulson H., Charles P. Antibodies to citrullinated vimentin are a specific and sensitive marker for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Rev Allerg Immun* 2008;34:410.
 36. Raza K., Mathsson L., Buckley C.D. et al. Antimodified citrullinated vimentin (MCV) antibodies in patients with very early synovitis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:6278.
 37. Bizzaro N. Antibodies to citrullinated peptides: a significant step forward in the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:150–7.
 38. Dasgupta B., Corkill M., Kirkham B. et al. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1992;19:22–5.
 39. Hanaoka R., Kasama T., Muramatsu M. et al. A novel mechanism for the regulation of IFN-gamma inducible protein-10 expression in rheumatoid arthritis. *Arthr Res Ther* 2003;5:74–81.
 40. Müller B., Paulukat J., Nold M. et al. Interferon-gamma induces expression of interleukin-18 binding protein in fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:442–5.
 41. Koch A.E., Kunkel S.L., Harlow L.A. et al. Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992;90:772–9.
 42. Chandra P.E., Sokolove J., Hipp B.G. et al. Novel multiplex technology for diagnostic characterization of rheumatoid arthritis. *Arthr Res Ther* 2011;13:102.
 43. Rantapää ä-Dahlqvist S. Diagnostic and prognostic significance of autoantibodies in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005;34:83–96.
 44. Zeng X., Ai M., Tian X. et al. Diagnostic value of anticyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30:1451–5.
 45. Niewold T., Harrison M., Paget S. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis. *Q J Med* 2007;100:193–201.
 46. <http://www.cap.org/apps/docs/committees/technology/ivdmia.pdf>