

На правах рукописи

Омельченко Виталий Олегович

**СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ РИСКИ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ
МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ**

14.01.04 – внутренние болезни

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Поспелова Татьяна Ивановна**

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Коненков Владимир Иосифович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Раскина Татьяна Алексеевна

(Кемеровский государственный медицинский университет, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней)

доктор медицинских наук, профессор

Шевела Екатерина Яковлевна

(Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, ведущий научный сотрудник, г. Новосибирск)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.02 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://www.ngmu.ru/dissertation/461>)

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

В. П. Дробышева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное ревматическое заболевание, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов. Этиология РА по-прежнему остается неизвестной. В качестве рабочей гипотезы выдвигается положение, что РА развивается у генетически предрасположенных лиц с участием факторов окружающей среды (Szodoray et al., 2010). Несмотря на четко сформулированную концепцию «лечение до достижения цели» (Smolen et al., 2016) и последующие значительные успехи в достижении контроля над течением заболевания, смертность среди этих больных, как правило, остается в 1,5 раза выше общепопуляционной, а основной причиной выступают сердечно-сосудистые катастрофы (Попкова Т. В., Новикова Д. С., Насонов Е. Л., 2016). Зачастую ревматические заболевания учитываются только как сопутствующая патология, не связанная с причиной смерти, что влечет за собой искажение реального вклада в структуру смертности (Дёмина А. Б., 2004). Важно отметить преобладание относительного риска формирования сердечно-сосудистых событий у молодых пациентов и у лиц, не имеющих в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), что объяснимо низким общепопуляционным уровнем абсолютного количества сердечно-сосудистых катастроф в данной возрастной группе (Chen et al., 2018). У пожилых пациентов, наоборот, важную роль играет большое число коморбидных состояний (Раскина Т. А., 2017). Попытка объяснить наблюдаемые выше факты основана на том, что патологический процесс при РА не ограничен лишь синовиальной тканью. Хроническое аутоиммунное воспаление, зародившись в синовиальной оболочке, начинает оказывать системное действие путем высвобождения провоспалительных молекул в кровотоки. В результате формируются проатерогенный фон и эндотелиальная дисфункция, которая выражается в дисбалансе вазоконстрикторных и вазодилатирующих факторов (NO, эндотелин, ангиотензин II и другие). Постепенно, за счет течения воспалительного процесса в сосудистой стенке, локального накопления липидов, иммунных комплексов и клеток утолщается комплекс интима-медиа (КИМ), снижается эластичность сосуда, образуется атеросклеротическая бляшка (АСБ), провоцирующая соответствующие осложнения (острые или хронические) в кровоснабжаемой области. Сформированная АСБ имеет клеточный состав аналогичный воспаленной синовиальной оболочке при РА (Full L. E., 2009). Это

может свидетельствовать об особом влиянии форсированного течения атеросклероза на высокие показатели смертности при РА. Таким образом, изучение факторов сердечно-сосудистого риска имеет важное значение при РА, в том числе, для профилактики осложнений, что послужило целью настоящего исследования.

Степень разработанности темы диссертации. Больные ревматоидным артритом имеют повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний. Как известно, рискометры, основанные на учете традиционных факторов риска и разработанные для общей популяции, недостаточно адекватно оценивают сердечно-сосудистый риск у больных ревматоидным артритом. Внедрение принципов персонализированной медицины обуславливает необходимость выявления константных молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с поражением сердечно-сосудистой системы.

Цель исследования. На основе комплексного анализа клинико-иммунологических признаков выделить факторы высокого сердечно-сосудистого риска при ревматоидном артрите.

Задачи исследования

1. Изучить частоту встречаемости факторов сердечно-сосудистого риска при ревматоидном артрите.
2. Определить частоту встречаемости атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий при ревматоидном артрите.
3. Проанализировать распределение некоторых полиморфизмов в промоторных участках генов цитокинов, фактора роста сосудистого эндотелия, эндотелиальной NO-синтазы, матриксных металлопротеиназ и их ассоциацию с традиционными и «нетрадиционными» факторами сердечно-сосудистого риска, характером атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий при ревматоидном артрите.
4. Определить наиболее значимые факторы, в том числе, константные генетические маркеры, ассоциированные с увеличением сердечно-сосудистого риска при ревматоидном артрите.

Научная новизна исследования. Впервые проведен анализ распространенности традиционных и «нетрадиционных» факторов сердечно-сосудистого риска (ССР) у больных РА – жителей Новосибирской области. Мужчины с РА демонстрировали большую приверженность к курению по

сравнению с женщинами. Выявлено значимое влияние возраста на основные факторы, связанные с увеличением сердечно-сосудистого риска (ССР): ожирение, АГ, СД 2 типа, повышенный уровень глюкозы крови, мочевой кислоты, снижение функции почек, гипотиреоз, а также на показатель степени функциональных нарушений при РА, определяемый согласно стандартному опроснику Health Assessment Questionnaire (HAQ). Продemonстрирована роль воспалительной активности в нарушении липидного профиля, что выражалось преимущественно в виде снижения уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП). Больные РА реже принимали статины даже при наличии показаний. Исходя из определения показателей свертывающей системы крови, показано наличие гиперкоагуляционного синдрома при РА.

Описана частота атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий (БЦА) у больных РА – жителей Новосибирской области. Встречаемость АСБ не отличалась статистически значимо у больных РА и остеоартритом (ОА) (27,8 % против 27,3 % соответственно), несмотря на преобладание молодых лиц в группе РА. При этом, после исключения из расчета молодых больных РА, обращало на себя внимание увеличение частоты АСБ (34,3 % против 27,3 %), что, однако, носило лишь характер тенденции.

Продemonстрированы некоторые иммуногенетические особенности, характерные для РА. Анализ полиморфизма гена IL1 в позиции -31 показал статистически значимое преобладание гомозиготного варианта СС в группе больных РА (20,28 % против 13,31%; OR 1,657; 95 % ДИ 1,052–2,609) с соответствующим уменьшением встречаемости варианта ТТ (28,30 % против 40,23 %; ОШ 0,587; 95 % ДИ 0,406–0,846) по сравнению со здоровыми. Статистически значимо различалась частота встречаемости гетерозигот СТ гена VEGF в позиции +936. Для IL10 A-1082G выявлены отличающиеся от литературных данных снижение частоты встречаемости варианта АА и увеличение встречаемости GG у пациентов с РА по сравнению со здоровыми (16,04 % против 26,31 %; ОШ 0,535; 95 % ДИ 0,328–0,872 и 37,73 % против 21,58 %; ОШ 2,203; 95 % ДИ 1,414–3,432, соответственно). Для IL6 выявлено статистически значимое снижение встречаемости гетерозиготного варианта GC в группе пациентов с РА по сравнению с ОА (41,51 % против 57,78 %; ОШ 0,519; 95 % ДИ 0,270–0,995). Выявлено статистическое значимое уменьшение концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных РА – носителей генотипа MMP2

-1306TT по сравнению с носителями MMP2 -1306CT и MMP2 -1306CC (187,6 нг/мл [158,9; 196,3] против 217,0 нг/мл [179,7; 252,2]; $p = 0,039$).

В результате проведенного многофакторного анализа продемонстрировано, что на формирование АСБ влияли как традиционные факторы риска (артериальная гипертензия, курение, возраст), так и «нетрадиционные» (позитивность по ревматоидному фактору, наличие мутантного аллеля А в точке TNFA C-863A, более низкие значения индекса массы тела); показатели чувствительности и специфичности составили 79,7 % и 87,5 %, соответственно.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты показали необходимость тщательного выявления и коррекции как традиционных, так и «нетрадиционных» факторов риска при РА, таких как курение, артериальная гипертензия, дислипидемия. Обосновано применение ультразвукового исследования брахиоцефальных артерий у больных РА. Выделены константные иммуногенетические маркеры, позволяющие улучшить раннюю диагностику ССЗ. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего анализа и создания соответствующих рискометров.

Методология и методы диссертационного исследования. Методология исследования основана на изучении результатов исследований, посвященных комплексному анализу факторов сердечно-сосудистого риска при ревматоидном артрите и молекулярно-генетических маркеров.

Диссертационное исследование является нерандомизированным контролируемым одномоментным исследованием. В исследовании приняли участие 257 человек, из них 212 больных ревматоидным артритом и 45 – остеоартритом. Все больные перед включением в исследование подписывали добровольное информированное согласие. На первом этапе проводилось общеклиническое обследование, включающее общий анализ крови, биохимический анализ крови, определение параметров коагулограммы и липидного спектра, выполнялось ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий и сердца, определение полиморфизмов в промоторных участках генов, выбранных на основании анализа литературы и пилотных исследований. Полученные данные оценивались с помощью методов статистического анализа, в том числе с использованием многофакторного анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Применение традиционных методов исследования брахиоцефальных

артерий подтверждает недостаточную информативность используемых в реальной клинической практике способов оценки сердечно-сосудистого риска.

2. Полиморфизмы регуляторных областей генов цитокинов, фактора роста сосудистого эндотелия, матриксных металлопротеиназ ассоциированы с особенностями клинической картины ревматоидного артрита и поражением сердечно-сосудистой системы.

3. Основными факторами, влияющими на формирование атеросклеротических бляшек в каротидных артериях при ревматоидном артрите, являются возраст, артериальная гипертензия, величина индекса массы тела, курение, позитивность по ревматоидному фактору, носительство мутантного аллеля *TNF* -863A.

Степень достоверности. Достоверность полученных данных подтверждается достаточным объемом материала, использованием современных методов исследования и адекватного математического аппарата.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 1-м Всероссийском съезде молодых терапевтов (Москва, 2017), на 3-м Академическом саммите по ревматологии (Новосибирск, 2018), на 4-м Евразийском конгрессе по ревматологии (Москва, 2018), на Всероссийском ревматологическом форуме молодых ученых «Междисциплинарный подход к аутоиммунным заболеваниям» (Московская область, 2019).

Диссертация апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные вопросы профилактики, диагностики и лечения внутренних болезней» (Новосибирск, 2019).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Клинико-морфологические и молекулярно-биологические основы диагностики и лечения заболеваний внутренних органов и коморбидных состояний у взрослых и детей», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910171-1.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, практику работы ревматологического и консультативного отделений клиники Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной

лимфологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 2 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Список литературы представлен 156 источниками, из которых 135 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 42 таблиц и 5 рисунков.

Личный вклад автора. Автор непосредственно участвовал в планировании и разработке дизайна исследования, лично осуществлял отбор пациентов, обработку первичной медицинской документации, определял уровни цитокинов в сыворотке крови, создавал и наполнял базу данных, выполнял статистический анализ материала, производил интерпретацию полученных результатов и подготовку публикаций по теме диссертации.

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования были 212 больных РА и 45 – ОА, находившихся на лечении в ревматологическом отделении клиники Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН).

Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте 18 лет и старше с диагнозом ревматоидного артрита, установленного в соответствии с критериями ACR 1987 г. и/или ACR/EULAR 2010 г., и больные с остеоартритом коленного сустава, установленным на основании рентгенологических критериев, не имеющие другой артропатии. Критерии исключения: наличие активного и латентного

туберкулеза в анамнезе и на момент скрининга; вирусный гепатит В и С в стадии умеренной и высокой степени активности; текущее онкологическое заболевание; РА как исход ЮХА с возрастом дебюта до 16 лет; обострение любого другого хронического заболевания помимо ревматоидного артрита.

Дизайн исследования: нерандомизированное контролируемое одномоментное исследование. Исследование было одобрено Комитетом по этике ГБОУ ВПО «Новосибирского государственного медицинского университета» Минздрава России (протокол №79 от 19.11.2015 года). Все процедуры исследования выполнялись после подписания информированного добровольного согласия.

Общий осмотр включал в себя оценку объективного статуса, в том числе, исследование числа болезненных и припухших суставов из 28 наиболее часто поражаемых при РА с дальнейшим расчетом стандартного индекса активности DAS28. Качество жизни оценивалось по самостоятельно заполняемому опроснику Health Assessment Questionnaire (HAQ). Общий анализ крови с определением скорости оседания эритроцитов, биохимический анализ крови, исследование параметров коагулограммы выполнялось на лабораторных анализаторах согласно инструкций фирмы-производителя. Выявление внесуставных проявлений РА проводилось в процессе стационарного лечения с помощью соответствующих методов исследования.

Определение уровня ревматоидного фактора (РФ), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), цитокинов, матриксных металлопротеиназ выполнялось с помощью твердофазного ИФА, в том числе с применением методов амплификации сигнала, согласно инструкции производителя. Для MMP-2 использовались наборы производства R&D (США), для TNF- α , IL-1b, IL-6, VEGF-A, MMP-9 – eBioscience (Австрия).

Рентгенологическое описание повреждения суставов кистей при РА проводилось на основании классификации Steinbrocker (1949), при остеоартрите – на основании классификации Келлгрена для коленного сустава.

Всем пациентам проведена оценка частоты встречаемости традиционных и «нетрадиционных» факторов риска. Анализировались факт курения, процентное соотношение курящих мужчин и женщин. Отклонения в массе тела классифицировались на основании индекса массы тела (ИМТ). Наличие дислипидемии определялось, исходя из рекомендаций NCEP АТР-III.

Артериальная гипертензия диагностирована на основании 2х зафиксированных амбулаторных измерений, в которых САД было не менее 140 мм рт. ст., а ДАД не менее 90 мм рт. ст., либо при ранее установленном диагнозе АГ, либо при приеме гипотензивной терапии. Учитывались наличие сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе: стенокардии напряжения, инфаркта миокарда, хронической сердечной недостаточности тяжелой степени, отек легких, реваскуляризация коронарных артерий в анамнезе. Подвергалась анализу встречаемость других сопутствующих заболеваний и состояний: сахарного диабета 2 типа, патологии щитовидной железы, менопаузы и пр.

В качестве суррогатного маркера атеросклероза использовался метод определения толщины комплекса интима-медиа (ТКИМ) с помощью триплексного сканирования брахиоцефальных артерий. Проводилось измерение ТКИМ по задней стенке общей сонной артерии (ОСА). При выявлении атеросклеротической бляшки, определяемой как локальное утолщение КИМ более 1,5 мм, измерение ТКИМ не проводилось. В случае меньших значений ТКИМ измерялась по стандартной методике с точностью до 0,1 мм. В расчетах использовано максимальное значение, измеренное в правой и левой ОСА. Проанализировано не только стандартное рекомендованное пограничное значение 0,9 мм, но и соответствующие поло-возрастные нормы, разработанные на типичной популяции г. Новосибирска. У мужчин в возрастных группах < 35/35–44/45–54/55–64/65–74/>75 лет пограничное значение показателя ТКИМ ОСА составило 0,55/0,72/0,72/0,80/0,86/1,0 мм справа и 0,53/0,65/0,73/0,85/0,89/1,0 мм слева. У женщин в тех же возрастных группах пограничное значение распределения показателя ТКИМ ОСА составило соответственно 0,47/0,51/0,71/0,78/0,87/0,87/0,87 мм справа и 0,50/0,55/0,71/0,80/0,91/0,98 мм слева. Ультразвуковое исследование сердца выполнено по стандартной методике.

В исследовании проводился расчет по 2 шкалам сердечно-сосудистого риска – SCORE (с дополнительной шкалой относительного риска для молодых пациентов), в том числе модифицированная шкала SCORE (мSCORE) с коэффициентом 1,5 для пациентов с РА, фрамингемская шкала. Для лиц молодого возраста, у которых абсолютный риск смерти от ССЗ в течение ближайших 10 лет очень низкий, применялась шкала относительного риска. Расчет значений по каждой из шкал проводился для пациентов без сахарного диабета,

диагностированных сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза.

Исследовались 14 полиморфизмов, находящихся в промоторных регионах 5 генов цитокинов, 3 генов матриксных металлопротеиназ, 1 гена фактора роста сосудистого эндотелия и 1 гена эндотелиальной NO-синтазы. Геномную ДНК выделяли из ядродержащих клеток периферической крови при помощи набора реагентов производства ООО «Лаборатория Медиген» (г. Новосибирск). Выявление полиморфизмов осуществлялось двумя основными методами – анализом длин фрагментов продуктов амплификации и ПЦР «в реальном времени» (RT-PCR). Рестриктивным анализом определялись следующие полиморфизмы: *TNFA G-308A* (rs1800629), *TNFA C-863A* (rs1800630), *TNFA G-238A* (rs361525), *IL6 G-174C* (rs1800795), *VEGFA C-2578A* (rs699947), *MMP3 5A-1171 6A* (rs 3025058), *MMP9 C-1562T* (rs3918242). Остальные полиморфизмы выявлялись с использованием метода RT-PCR: *IL1B T-31C* (rs1143627), *IL4 C-590T* (rs2243250), *IL10 C-592A* (rs1800872), *IL10 A-1082G* (rs1800896) – наборы Литех с красителем Sybr Green, *VEGFA C+936T* (rs3025039), *MMP2 C-1306T* (rs2438650) – наборы Синтол с красителем TagMan, *NOS3 C-786T* - RT литех и синтол.

Для оценки исследуемых параметров была разработана и реализована база данных на основе программного обеспечения Microsoft Access 2010. Математическая обработка полученных данных проводилась в среде программы SPSS Statistics (версия 20.0). Характер распределения признаков при проверке с помощью одновыборочного критерия Колмогорова – Смирнова в большинстве случаев не соответствовал нормальному, в связи с чем для статистической обработки полученных данных использовались следующие непараметрические методы оценки. Описание данных представлено в виде медианы, 25-го и 75-го квартильных интервалов. Статистическая значимость межгрупповых отличий оценивалась с помощью критериев Манна – Уитни для независимых выборок (для количественных переменных), Мак Немара (для номинальных переменных). Анализ корреляционных взаимодействий выполнялся на основе критерия Спирмена. Оценка вклада переменных проводилась с помощью линейного регрессионного анализа и логистической регрессии с дальнейшим построением ROC-кривой. Обработка результатов генотипирования включала расчет частот

аллелей и генотипов в соответствующих группах. Вычисление частоты встречаемости генотипов производилось по формуле:

$$f = n/N,$$

где f – частота встречаемости генотипа в группе обследуемых,

n – количество наблюдаемых генотипов в этой группе,

N – общая численность группы.

Частоты генотипов анализировались на соответствие закону Харди – Вайнберга. Вычисление значения уровня значимости (p_value) различий наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов осуществлялось также с помощью он-лайн калькулятора (URL:<https://www.graphpad.com/quickcalcs/pValue1/>). Для определения статистической значимости различий частот генотипов между различными группами применялось вычисление отношения шансов (ОШ, OR, odds ratio) с расчетом 95 %-го доверительного интервала (95 % ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Медиана возраста больных РА составила 58 лет [48,3; 65,0]. Большинство больных были женского пола (85,4 %), при этом мужчины не исключались из анализа, так как мужской пол является независимым фактором риска ССЗ. Дебют заболевания приходился на возраст 47,0 лет [33,0; 57,0]. Большинство больных были позитивны по РФ и АЦЦП, причем у мужчин данные показатели были значимо выше (652,0 U/мл [388,1; 1200,0] против 178,0 U/мл [37,0; 550,0], $p < 0,001$ и 201,0 RU/мл [76,3; 349,3] против 115,5 RU/мл [31,5; 221,3], $p = 0,008$, соответственно). Среди женщин было больше пациентов с высокой активностью заболевания, однако данное отличие было статистически не значимыми ($p = 0,25$). Медиана возраста больных ОА составила 60,0 лет [54,0; 66,0]. В данной группе также преобладали лица женского пола (91,1 %).

Больные РА и ОА не различались по половому составу ($\chi^2 = 0,61$; $p = 0,44$). Поскольку РА чаще встречается именно в молодом возрасте, это отразилось на возрастном составе групп. Так, у больных РА минимальный возраст составил 18 лет, а при ОА – 45 лет, при этом лиц моложе 45 лет в группе РА было 43, что составило 20,3 %. Мужчины с РА не отличались статистически значимо по возрасту от мужчин из контрольной группы ($p = 0,21$), в то время как женщины с РА были моложе, чем с ОА (58,0 лет [48,0; 65,0] против 62,0 года [55,0; 66,0],

соответственно, $p = 0,020$). Тем не менее, достоверных различий групп РА и ОА по возрасту не получено ($p = 0,06$), хотя для этого имелись объективные предпосылки. При дальнейшей обработке результатов дополнительно будет проанализировано влияние возраста на исследуемые параметры.

Мужчины с РА демонстрировали большую приверженность к курению по сравнению с женщинами (23 человека (74,2 %) против 18 (9,9 %), $p < 0,001$). При РА индекс массы тела (ИМТ) был ниже, чем при ОА ($26,42 \text{ кг/м}^2$ [22,96; 30,33] против $30,06 \text{ кг/м}^2$ [27,62; 33,02], $p < 0,001$). Зависимость ИМТ от возраста отмечена лишь при РА ($r_s = 0,186$; $p = 0,007$). Дефицит массы тела встречался только у больных РА (5,7 %).

У больных РА реже встречались АГ (ОШ 0,36; 95 % ДИ 0,16–0,80), СД 2 типа (ОШ 0,33; 95 % ДИ 0,12–0,88), что, преимущественно, обусловлено преобладанием в группе с ОА более возрастных пациентов. Этим же объясняется высокая частота встречаемости менопаузы у женщин с ОА. Приверженность к гипотензивной терапии была сопоставима в разных группах. Важно отметить, что, несмотря на особенность возрастного состава групп, частота встречаемости стенокардии напряжения не различалась (26 (12,3 %) при РА против 7 (15,6 %) при ОА, $p = 0,55$), хотя и выявлялась преимущественно в старшей возрастной категории – в возрасте 65 лет [53; 75] против 59 лет [54; 65] для ОА и 67 лет [62; 75] против 57 лет [45; 63] для РА.

У больных РА реже встречалась гиперхолестеринемия (19,1 % против 33,3 %, $p = 0,036$) и гипертриглицеридемия (17,5 % против 31,8 %, $p = 0,031$). Различия в частоте встречаемости повышенного уровня ХС ЛПНП достигали статистической значимости лишь при применении в качестве критерия рекомендованного уровня ХС ЛПНП не более 3 ммоль/л (55,3 % против 80,0 %, $p = 0,003$). Больные РА и ОА не различались по уровню ХС ЛПВП и частоте встречаемости его пониженного уровня в крови. Дислипидемия (ДЛП) реже встречалась при РА, чем при ОА (42,5 % против 68,9 %, $p = 0,001$). Пациенты с ДЛП относились преимущественно к старшей возрастной группе (61 год [55; 67] при РА и 63 года [54; 66] при ОА; $p = 0,69$). Различий по показателям липидного спектра у больных РА и ОА с ДЛП получено не было. Из 90 больных РА с ДЛП лишь 20 (22,2 %) получали статины, а из 31 больного ОА – 12 (38,7 %) ($p = 0,073$). У больных РА отмечена достаточно слабая, но значимая корреляция с возрастом уровней ОХС ($r_s = 0,198$; $p = 0,004$), ХС ЛПНП ($r_s = 0,195$; $p = 0,005$), ТГ

($r_s = 0,186$; $p = 0,007$). Также, наличие дислипидемии у лиц с РА было сильно ассоциировано с возрастом (61 год [55; 67] против 54 лет [40; 63], $p < 0,001$). У больных ОА такой закономерности не выявлено. У мужчин с РА показатели липидного спектра носили, на первый взгляд, более благоприятный характер, чем у лиц женского пола (4,50 ммоль/л [4,22; 5,18] против 5,14 ммоль/л [4,36; 5,87], $p = 0,009$ для ОХС; 2,82 ммоль/л [2,43; 3,16] против 3,18 ммоль/л [2,44; 3,87], $p = 0,033$ для ХС ЛПНП). Однако при этом у них отмечалось существенное снижение ХС ЛПВП (1,28 ммоль/л [1,09; 1,52] против 1,48 ммоль/л [1,26; 1,75], $p = 0,003$), что приводило к отсутствию протективного эффекта и статистически значимого различия по индексу атерогенности (ИА) (2,43 [1,98; 3,35] у мужчин против 2,56 [1,83; 3,30] у женщин, $p = 0,86$). Воспалительный процесс отрицательно влиял на совокупные значения липидного спектра. При этом известная «парадоксальность», характеризующаяся обратной зависимостью уровней ОХС и ХС ЛПНП от активности РА, не продемонстрирована в данном исследовании. Так, показатели активности РА (DAS28, СОЭ, СРБ) отрицательно коррелировали только с уровнем ХС ЛПВП ($r_s = -0,238$; $-0,248$; $-0,304$, соответственно), отражая негативное влияние воспалительного процесса на липидный профиль, преимущественно, через снижение фракции ЛПВП. Это подтверждается отсутствием подобных влияний в группе ОА, где главным фактором, влияющим на ХС ЛПВП, был ИМТ. В свою очередь, индекс атерогенности при РА коррелировал за счет ассоциации с ХС ЛПВП, что обнаруживается после исключения влияния этой переменной при анализе частных корреляций – исключение переменной ХС ЛПВП приводит к исчезновению связи ИА с уровнем СОЭ и СРБ.

У больных РА выявлены нарушения показателей коагулограммы в виде статистически значимого повышения уровня фибриногена (4,17 г/л [3,52; 4,85] против 3,77 г/л [3,43; 4,03]; $p = 0,001$), РФМК (16,0 мг/дл [9,0; 22,0] против 5,8 мг/дл [3,5; 12,0]; $p < 0,001$), D-димеров (714,0 нг/мл [353,3; 2206,5] против 263,5 нг/мл [228,5; 360,5]; $p < 0,001$). Изменения показателей свертывающей системы крови тесно зависели от активности воспаления. Так, при РА отмечена статистически значимая связь средней силы маркеров воспалительной активности (СОЭ, СРБ, тромбоцитов) со всеми параметрами коагулограммы, за исключением АПТВ, что характеризует проатерогенную направленность воспалительного состояния при РА. При этом значимых связей с традиционными факторами

кардиоваскулярного риска получено не было.

Атеросклеротическое поражение БЦА. При исследовании распространенности атеросклеротического поражения БЦА выявлено, что частота встречаемости АСБ достоверно не отличалась у больных РА и ОА (27,8 % против 27,3 %, соответственно), несмотря на различия в возрастном составе пациентов (таблица 1).

Таблица 1 – Распространенность атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий при ревматоидном артрите и остеоартрите

Параметр	Значение		Р 1–2
	РА 1	ОА 2	
АСБ, n (%) N1 = 212 N2 = 44	59 (27,8)	12 (27,3)	0,94 Xi2 = 0,01
ТКИМ, мм N1 = 153 N2 = 32	0,8 [0,7; 1,05]	1,0 [0,9; 1,2]	0,002
Группы пациентов (1) Нормальная ТКИМ Утолщение КИМ АСБ без стенозирования просвета АСБ со стенозированием просвета	79 (37,3) 74 (34,9) 20 (9,4) 39 (18,4)	7 (15,9) 25 (56,8) 5 (11,4) 7 (15,9)	0,021 Xi2 = 9,74
Группы пациентов (2) Нормальная ТКИМ Утолщение КИМ АСБ без стенозирования просвета АСБ со стенозированием просвета	30 (14,2) 123 (58,0) 20 (9,4) 39 (18,4)	5 (11,4) 27 (61,4) 5 (11,4) 7 (15,9)	0,91 Xi2 = 0,54
Примечания: 1. Группы пациентов (1) – деление пациентов на основании стандартного пограничного значения величины ТКИМ 0,9 мм; 2. Группы пациентов (2) – деление пациентов на основании половозрастных критериев ТКИМ.			

У пациентов без АСБ были отмечены более низкие значения ТКИМ в группе с РА по сравнению с ОА ($p = 0,002$), что связано с особенностями возрастного состава групп. Наличие атеросклеротического поражения БЦА сильно

коррелировало с возрастом и полом, что известно из предшествующих работ и подтверждено в данном исследовании (таблица 2).

Таблица 2 – Распространенность атеросклеротического поражения брахиоцефальных артерий у больных ревматоидным артритом и остеоартритом в зависимости от пола и возраста

Параметр		Диагноз					
		РА			ОА		
		АСБ		Р	АСБ		Р
		отсутствует	имеется		отсутствует	имеется	
Пол	мужской	15 (48,4)	16 (51,6)	0,001	3 (75,0)	1 (25,0)	0,92
	женский	138 (76,2)	43 (23,8)	$\chi^2 = 10,23$	29 (72,7)	12 (27,3)	$\chi^2 = 0,01$
Возраст		55,0 [42,0; 61,0]	66,0 [59,0; 73,0]	< 0,001	59,0 [53,5; 66,0]	63,5 [55,5; 65,5]	0,55

Пациенты с АСБ были значимо старше (медиана возраста 65 [59; 70] лет против 59 [53; 64] лет). Так, среди 43 больных РА моложе 45 лет, только у одного мужчины в возрасте 41 года выявлена АСБ. После исключения пациентов моложе 45 лет в группе РА отмечена большая частота АСБ (34,3 % против 27,3 %), не достигшая, однако, статистической значимости.

Поскольку величина ТКИМ значимо коррелировала с возрастом, применение поло-возрастных УЗ-критериев нивелировало различия между группами больных РА и ОА.

Полиморфизмы генов цитокинов, матриксных металлопротеиназ, эндотелиальной NO-синтазы и фактора роста сосудистого эндотелия. Проанализирована встречаемость отдельных полиморфизмов генов цитокинов, матриксных металлопротеиназ, фактора роста сосудистого эндотелия и эндотелиальной NO-синтазы. Для полиморфизмов *IL6 G-174C*, *IL10 C-592A*, *VEGFA C+936T*, *MMP2 C-1306T* в группе РА выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. Наибольший аллельный полиморфизм в группе больных РА наблюдался для полиморфных позиций *IL1 T-31C*, *IL6 G-174C*, *IL10 A-1082G*, *IL10 C-592A*, *VEGF C-2578A*, *NOS T-786C*, *MMP3 5A-1171 6A*, для которых наблюдаемая гетерозиготность составила 0,5142, 0,4251, 0,4623, 0,4906, 0,5330, 0,4739, 0,4528 соответственно. У больных ОА достоверное отклонение от равновесного состояния обнаружено только для полиморфизма *IL10 C-592A*, а

высокая степень гетерозиготности выявлена для полиморфных позиций *IL1 T-31C*, *IL6 G-174C*, *IL10 A-1082G*, *IL10 C-592A* (0,5333, 0,5778, 0,4667, 0,5333 соответственно).

В отличие от предыдущих работ, достоверных отличий во встречаемости различных аллелей гена *TNFA* по полиморфным точкам *C-863A*, *TNFA G-308A*, *TNFA G-238A* получено не было. Обнаружены отдельные генотипы, чаще встречающиеся при РА, что может свидетельствовать об их вкладе в предрасположенность к аутоиммунному воспалению. Для полиморфизма гена *IL1* в позиции *-31* показано статистически значимое преобладание гомозиготного варианта *CC* в группе больных РА (20,28 % против 13,31 %; ОШ 1,657; 95 % ДИ 1,052–2,609) с соответствующим уменьшением встречаемости варианта *TT* (28,30 % против 40,23 %; ОШ 0,587; 95 % ДИ 0,406–0,846) по сравнению со здоровыми. Для *IL6* выявлено статистически значимое снижение встречаемости гетерозиготного варианта *GC* в группе пациентов с РА по сравнению с ОА (41,51 % против 57,78 %; ОШ 0,519; 95 % ДИ 0,270–0,995). Распространенность вариантов гена *IL10* оценивалась для двух полиморфных точек: *-1082* и *-592*. Для *IL10 A-1082G* выявлены снижение частоты встречаемости варианта *AA* и увеличение встречаемости *GG* у пациентов с РА по сравнению со здоровыми (16,04 % против 26,31 %; ОШ 0,535; 95 % ДИ 0,328–0,872 и 37,73 % против 21,58 %; ОШ 2,203; 95 % ДИ 1,414–3,432 соответственно). Для другой точки, *IL10 C-592A*, получены достоверные отличия от здоровых как для пациентов с РА, так и с ОА, что отразилось в увеличении доли гетерозиготного варианта *CA* (49,06 % против 35,26 %; ОШ 1,768; 95 % ДИ 1,248–2,504 для РА и 53,33 % против 35,26 %; ОШ 2,098; 95 % ДИ 1,122–3,923 для ОА) и уменьшении частоты генотипа *CC* (45,75 % против 62,43 %; ОШ 0,508; 95 % ДИ 0,359–0,718 для РА и 46,67 % против 62,43 %; ОШ 0,527; 95 % ДИ 0,282–0,984 для ОА). При РА также отмечается снижение частоты встречаемости гомозиготных вариантов гена *VEGF* в позиции *+936*, статистически значимое для мутантного генотипа *TT* и незначимое для *CC*. Между тем, достоверно увеличена частота гетерозигот *CT*, которые составляли 33,18 % при РА против 23,23 % у здоровых (ОШ 1,640; 95 % ДИ 1,107–2,431). В случае гена *MMP3* выявлены меньшая частота встречаемости инсерций, что сформировало преобладание генотипа дикого типа *5A5A* у пациентов с РА (29,25 % против 14,84 %; ОШ 2,371; 95 % ДИ 1,341–4,193) с одновременным

уменьшением частоты мутантного генотипа (25,47 % против 47,66 %; ОШ 0,375; 95 % ДИ 0,236–0,597).

Значимых влияний на выработку соответствующих продуктов генов получено не было, за исключением MMP2. Выявлено статистическое значимое уменьшение концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных РА – носителей генотипа *MMP2 -1306TT* по сравнению с носителями *MMP2 -1306CT* и *MMP2 -1306CC* (187,6 нг/мл [158,9; 196,3] против 217,0 нг/мл [179,7; 252,2]; $p = 0,039$).

Исследованные полиморфизмы были в различной степени ассоциированы с клиническими проявлениями РА и факторами сердечно-сосудистого риска, что обуславливает необходимость применения комплексного многофакторного анализа.

Многофакторный регрессионный анализ. Проведен регрессионный анализ с пошаговым включением исследованных факторов с использованием статистики Вальда (таблица 3).

Таблица 3 – Анализ факторов, влияющих на формирование атеросклеротической бляшки при ревматоидном артрите (логистическая регрессия)

Параметры	B	SE	p	Exp(B)	95 % CI для Exp(B)
Возраст, лет	0,123	0,028	< 0,001	1,131	1,071–1,194
Артериальная гипертензия, 0 – нет, 1 – есть	3,114	0,743	< 0,001	22,521	5,245–96,700
Курение, 0 – нет, 1 – есть	2,167	0,564	< 0,001	8,735	2,893–26,372
РФ-позитивность, 0 – нет, 1 – есть	1,674	0,806	0,038	5,333	1,100–25,866
<i>TNFA C-863A</i> 0 – <i>TNFA -863CC</i> , 1 – <i>TNFA -863CA + TNFA -863AA</i>	1,338	0,477	0,005	3,810	1,495–9,714
ИМТ, кг/м ²	–0,098	0,042	0,019	0,906	0,835–0,984
Константа	–10,562	2,510	—	—	—

На формирование АСБ влияли такие традиционные факторы риска как АГ, курение, возраст. Носители мутантного аллеля *A* в точке *TNFA C-863A* значимо

чаще имели АСБ по сравнению с гомозиготами по дикому аллелю С. После коррекции на перечисленные факторы свою значимость показало изменение ИМТ. Интересно отметить, что при увеличении ИМТ частота встречаемости АСБ уменьшалась. Из РА-ассоциированных факторов единственным значимым была РФ-позитивность – пациенты, серопозитивные по РФ, чаще имели АСБ. При РА полученная модель приводила к значению 85,3 % в корректном классе. Показатели сводки для модели составили: -2Log правдоподобие – 146,53, R квадрат Кокса и Снелла – 0,388, R квадрат Нэйджелкерка – 0,559. На основании предсказанных вероятностей построена ROC-кривая, площадь под которой (AUC) составила 0,900 (ДИ 0,857–0,942, $p < 0,001$), что отражает высокое качество классификатора. Стандартная ошибка AUC составила 0,022. Оптимальные показатели чувствительности и специфичности были определены с помощью индекса Юдена и составили 79,7 % и 87,5 % при значении точки отсечения, разделяющей больных на 2 группы, 0,378.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность факторов сердечно-сосудистого риска у больных РА характеризуются высокой частотой встречаемости артериальной гипертензии (62,3 % больных), дислипидемии (42,5 %), избыточной массы тела (60,2 %), мужского курения (74,2 % против 9,9 % у женщин), низкой приверженностью к терапии статинами при наличии показаний, а также наличием «нетрадиционных» факторов риска (наличие гиперкоагуляционного синдрома, ассоциированного с воспалительной активностью при РА).

2. Частота встречаемости атеросклеротической бляшки в каротидных артериях у больных РА составляет 27,8 % (при дополнительном учете утолщения комплекса интима-медиа – 62,7 %), и выраженно ассоциирована с возрастом и полом, что обуславливает актуальность применения половозрастных критериев ультразвукового исследования брахиоцефальных артерий.

3. Носительство аллеля А в полиморфной позиции *TNFA* C-863A ассоциировано с большей частотой встречаемости АСБ – 39,1 % пациентов против 23,0 %. Полиморфизм *MMP9* C-1562T связан с распространенностью АСБ (СС – у 28,0 %, СТ – 21,8 %, ТТ – 71,4 %, $p = 0,022$), при этом АСБ у гомозигот *MMP9* - 1562ТТ имели стенозирующий характер.

4. Выявлены ассоциации различных генотипов *TNFA* G-308A, *TNFA* C-863A, *TNFA* G-238A, *IL6* G-174C, *VEGFA* C-2578A, *MMP3* 5A-1171 6A, *MMP9* C-

IL1B T-31C, *IL10 C-592A*, *IL10 A-1082G*, *MMP2 C-1306T*, *NOS3 C-786T* с особенностями течения РА и факторами сердечно-сосудистого риска.

5. Применение многофакторной модели позволило выделить основные факторы, ассоциированные с формированием атеросклеротической бляшки у больных РА: возраст ($B = 0,123$), артериальная гипертензия ($B = 3,114$), факт курения ($B = 2,167$), величина индекса массы тела ($B = -0,09$), серопозитивность по ревматоидному фактору ($B = 1,674$), носительство мутантного аллеля *TNF -863A* ($B = 1,338$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных ревматоидным артритом необходимы тщательное выявление коррекция традиционных и «нетрадиционных» факторов риска, проведение обучения для повышения комплаентности с целью профилактики сердечно-сосудистых осложнений и приверженности к контролю над показателями липидного профиля.

2. Пациентам, серопозитивным по РФ и носителям мутантного аллеля *TNF -863A*, рекомендуется более тщательное динамическое наблюдение с выполнением УЗДГ БЦА для выявления атеросклеротического поражения.

3. У молодых больных РА оправдано применение половозрастных ультразвуковых критериев для определения утолщения комплекса интима-медиа.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кардиоваскулярный риск при ревматоидном артрите / **В. О. Омельченко** [и др.] // **Клиническая медицина.** – 2018. – № 96 (6). – С. 491–497.

2. Полиморфизм генов эндотелиальной дисфункции, коактиваторов митохондриального биогенеза и плазминоген-плазминовой системы в развитии кардиоваскулярных осложнений при ревматоидном артрите / А. В. Шевченко [и др., в том числе **В. О. Омельченко**] // **Научно-практическая ревматология.** – 2018. – № 56 (1). – С. 55–59.

3. Ассоциация полиморфизмов промоторных участков генов *MMP2*, *MMP3* и *MMP9* с факторами сердечно-сосудистого риска у больных ревматоидным артритом / **В. О. Омельченко** [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences.** – 2019. – № 1. – С. 109–118.

4. Атеросклеротическое поражение брахиоцефальных артерий при ревматоидном артрите и его ассоциация с факторами сердечно-сосудистого риска / **В. О. Омельченко** [и др.] // **Сибирский медицинский журнал.** – 2019. – № 34 (1).

– С. 107–117.

5. Полиморфизм гена фактора роста сосудистого эндотелия как потенциальный маркер активности и тяжести ревматоидного артрита / М. А. Королев [и др., в том числе **В. О. Омельченко**] // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. – 2016. – № 5. – С. 167–169.

6. **Омельченко, В. О.** Анализ ассоциированности полиморфизмов гена VEGF A с кардиоваскулярными факторами риска у пациентов с ревматоидным артритом / **В. О. Омельченко**, Е. А. Летягина, М. А. Королев // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. – 2016. – № 5. – С. 248–251.

7. Значение константных маркеров в оценке кардиоваскулярного риска у больных ревматоидным артритом в Новосибирской области / **В. О. Омельченко** [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2018. – Т. 56, № 3, S2. – С. 62–63.

8. **Omelchenko, V. O.** Level of vascular endothelial growth factor a and intima-media thickness in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis / **V. O. Omelchenko**, E. A. Letyagina, M. A. Korolev // Annals of the rheumatic diseases. – 2017. – № 76. – С. 1067–1067.

9. FRI0087 Regional age- and sex-specific intima-media thickness criteria in young patients with rheumatoid arthritis / **V. O. Omelchenko** [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2018. – № 77. – С. 588–589.

10. AB0345 A pilot attempt to use the constant genetic markers in cardiovascular risk stratification in rheumatoid arthritis / **V. O. Omelchenko** [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2019. – № 78. – С. 1629.

11. Корреляция между уровнем фактора роста эндотелия сосудов и атеросклерозом брахиоцефальных артерий у больных воспалительными ревматическими заболеваниями / Е. А. Летягина [и др., в том числе **В. О. Омельченко**] // Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям : материалы 12-й Международной конференции, посвященной 25-летию Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии. – Новосибирск, 2016. – С. 129–131.

12. **Омельченко, В. О.** Атеросклероз как системное проявление ревматоидного артрита / **В. О. Омельченко**, Е. А. Летягина, М. А. Королев // Лимфология : от фундаментальных исследований к медицинским технологиям : материалы 12-й Международной конференции, посвященной 25-летию Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии. –

2016. – С. 191–193.

13. **Омельченко, В. О.** Особенности оценки кардиоваскулярного риска у пациентов с ревматоидным артритом / **В. О. Омельченко**, Е. А. Летягина, М. А. Королев // Мультидисциплинарный больной : сборник материалов 1-го Терапевтического форума 1-й Всероссийской конференции молодых терапевтов. – 2017. – С. 131.

14. Polymorphisms in the genes of vascular endothelial growth factor are associated with the earlier onset of rheumatoid arthritis / **V. O. Omelchenko** [et al.] // The international symposium systems biology and biomedicine (SBioMed-2016). Abstracts. – Novosibirsk, Russia, 2016. – С. 69.

15. New candidate parameters for evaluation of cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis / **V. O. Omelchenko** [et al.] // 2017 International Multi-Conference on Engineering, Computer and Information Sciences (sibircon). – Novosibirsk, Russia, 2017. – INSPEC Accession Number: 17359073.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АСБ – атеросклеротическая бляшка

АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду

ДЛП – дислипидемия

ИА – индекс атерогенности

ИМТ – индекс массы тела

КИМ – комплекс интима-медиа

ОА – остеоартрит

ОСА – общая сонная артерия

РА – ревматоидный артрит

РФ – ревматоидный фактор

СД 2 типа – сахарный диабет 2 типа

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ССР – сердечно-сосудистый риск

ТКИМ – толщина комплекса интима-медиа

ХС – холестерин

ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности

ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности