

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Северо-Осетинская государственная медицинская академия"
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Налдикоева Тамара Александровна

**Клинико-патогенетическое и прогностическое значение определения
уровня хрящевого гликопротеина - 39 (YKL-40) в сыворотке крови
больных ревматоидным артритом болезни**

31.06.01 Клиническая медицина
14.01.04 Внутренние болезни

Научный доклад

Научный руководитель доктор медицинских наук
Тотров Игорь Николаевич

Владикавказ, 2022

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы

Известно, что заболевания опорно-двигательного аппарата являются одной из ведущих причин возникновения стойкой нетрудоспособности населения, оказывая тем самым влияние на систему здравоохранения, увеличивая социальные и экономические затраты. Ревматоидный артрит (РА) не является исключением. Согласно статистике он поражает в среднем 1% населения среднего возраста и 2,5% населения в возрасте старше 65 лет. В течение первых пяти от начала заболевания приводит к стойкой нетрудоспособности около 40% больных, а через 8-10 лет - 60%.

На сегодняшний день для диагностики РА применяются классификационные критерии ACR/EULAR (American College of Rheumatology/European League against Rheumatism -2010), среди которых такие лабораторные маркеры, как ревматоидный фактор и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду. Считается, что комбинация этих показателей представляет высокую диагностическую ценность для диагностики РА. Однако следует сказать, что существуют данные исследований, которые свидетельствуют об ограниченной чувствительности вышеуказанных показателей, основываясь на этих критериях можно верифицировать только 62% впервые выявленных диагнозов РА.

Ревматоидный фактор обнаруживается в крови у 50-70% больных РА, но в тоже время определяется и при некоторых других ревматических и инфекционных заболеваниях, что снижает его диагностическую ценность. В ходе одного исследования, направленного на оценку диагностической значимости аутоантител, было обнаружено, что АЦЦП в сравнении с РФ обладает большей чувствительностью (около 77% при специфичности 95%), но все же, несмотря на диагностическую ценность комбинации этих показателей, около 20-30% пациентов являются серонегативными в отношении АЦЦП и РФ. То есть для выявления и

постановки диагноза при серонегативной форме согласно квалификационным критериям необходима более развернутая клиническая картина, что не всегда наблюдается при раннем РА. И если до недавнего времени эта форма РА считалась прогностически более благоприятной, то данные двухлетнего исследования ARCTIC доказывают, что серонегативный РА не подразумевает собой более легкое течение заболевания и требует такой же ранней и интенсивной терапии, как и серопозитивный. Большинство исследований было направлено на анализ общей популяции больных с РА без прицельного изучения серонегативных форм. Таким образом, диагностика очень ранней и ранней стадии серонегативного РА вызывает значительные затруднения, а, следовательно, и лечение назначается позже, тем самым снижая шансы на благоприятный прогноз заболевания.

Согласно разработанной в 2010 году стратегии «Лечения до достижения цели» и «Treattotarget», направленной на эффективное лечение до достижения ремиссии или снижение активности заболевания, рекомендовано в ходе проводимой терапии проводить регулярный мониторинг активности заболевания, с целью своевременной корректировки лечения. Несмотря на то, что на сегодняшний день в арсенале врача-ревматолога имеется целый спектр биохимических маркеров, наиболее широко используемые из которых скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и С-реактивный белок (СРБ), большая часть из них не обладает высокой специфичностью к ревматоидному артриту. Учитывая вышеизложенное, следует считать поиск биохимических маркеров для улучшения оценки активности заболевания и прогрессирования заболевания остается актуальной темой клинических исследований.

Цель работы

Изучить роль хрящевого гликопротеина – 39 в диагностике ревматоидного артрита в сопоставлении с клиническими и лабораторными данными.

Задачи исследования

1. изучить концентрацию хрящевого гликопротеина – 39 в сыворотке крови у больных РА и здоровых лиц;
2. определить взаимосвязь между уровнем хрящевого гликопротеина – 39, активностью заболевания и воспаления у больных ревматоидным артритом;
3. изучить концентрацию хрящевого гликопротеина – 39, учитывая серологический статус больного РА;
4. проанализировать лабораторные показатели активности воспаления и хрящевого гликопротеина – 39 при разных рентгенологических стадиях ревматоидного артрита;
5. оценить возможность использования хрящевого гликопротеина – 39, в качестве дополнительного критерия прогрессирования деструкции суставов.

Научная новизна

Впервые в РФ и выявлена взаимосвязь хрящевого гликопротеина – 39 с активностью заболевания и ревматоидного воспаления. Изучена связь хрящевого гликопротеина – 39 с серологическим статусом заболевания. Выявлена роль хрящевого гликопротеина – 39 в оценке тяжести деструктивных изменений суставов и прогнозировании течения заболевания.

Практическая значимость

Показано, что чем выше концентрация хрящевого гликопротеина – 39 в сыворотке крови больных РА, тем выше активность заболевания и тем выше рентгенологическая стадия. А также выявлена взаимосвязь между уровнем хрящевого гликопротеина – 39 в сыворотке крови с лабораторными маркерами воспаления. Все это позволяет рекомендовать определение хрящевого гликопротеина – 39 в сыворотке крови для

мониторинга активности воспаления и тяжести заболевания больных с РА в клинической практике.

Личный вклад автора

Автором лично проведен поиск и анализ отечественной и зарубежной литературы, разработан дизайн исследования, выполнены все этапы эксперимента, обработаны и проанализированы результаты исследования, внесен основной вклад в написание публикаций по теме исследования.

Основное содержание работы

Материалы и методы.

В исследование было отобрано 106 пациентов - 62 женщины (59%) и 44 мужчин (41%) с достоверным диагнозом РА, наблюдение и лечение которых осуществлялось в отделении ревматологии Клинической больницы ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России в период с марта 2018 г. по декабрь 2019 г. Группу контроля составили 30 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Критерии включения:

1. пациенты (мужчины и женщины) старше от 18 лет;
2. достоверный диагноз РА (критерии ACR/EULAR, 2010).
3. наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании

Критерии исключения:

1. пациенты в возрасте моложе 18 и старше 75 лет;
2. другие воспалительные заболевания суставов, отличные от ревматоидного артрита;
3. острые или хронические инфекционные заболевания в фазе обострения (ВИЧ, гепатиты В и С);

4. соматические заболевания в стадии декомпенсации (дыхательная, сердечная, почечная, печеночная недостаточность).
5. отказ пациента от участия в исследовании.

Пациенты, включенные в исследование, были обследованы по единому протоколу, в который входили: клинический анализ крови, определение в периферической крови С-реактивного белка (СРБ), скорости оседания эритроцитов (СОЭ), ревматоидного фактора (РФ), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), хрящевого гликопротеина – 39 (ХГП-39), рентгенография кистей и стоп. Активность заболевания оценивалась с помощью клинического индекса DAS28-СОЭ. Рентгенологическая стадия определялась по Штенброкеру. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) проводили методом Вестергрена (Westergren), нормальными считались показатели менее 25 мм/ч. Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) и IgM РФ определялись с помощью иммунотурбидиметрии (норма СРБ $\leq 5,0$ мг/л, IgM РФ $\leq 14,0$ МЕ/мл). Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) определяли электрохемилюминесцентным методом. Уровень ХГП-39 в сыворотке крови оценивали с помощью иммуноферментного анализатора MultiskanFC, используя наборы реагентов [ELISAKitforGlycoprotein 39, Cartilage \(GP39\)](#) (производитель Cloud-CloneCorp.).

Методы статистического анализа

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью пакета программ Statistica 13.0 (StatSoft, США) и программы MsExcel(MsOffice). Анализ распределения полученных данных осуществлялся с помощью критериев асимметрии и эксцесса, а также критерия Шапиро-Уилка. В результате было выявлено, что данные распределены ненормально, в связи, с чем нами использовались непараметрические методы анализа. Количественные данные

представлены в виде медианы (Me) с межквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили]. При сравнении двух групп использовался Укритерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уоллиса. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. При величине коэффициента корреляции (r) менее 0,3 связь оценивалась нами, как слабая и низкая, от 0,31 до 0,7 – умеренная, от 0,7 – значительная и высокая. Когда коэффициент был положительный, связь считалась прямой, а когда отрицательный – обратной. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Протокол исследования был одобрен на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (протокол №7, от 30 ноября 2017 года). Для включения в исследование все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие и обработку персональных данных.

Результаты и обсуждение научно-квалификационной работы

Клинико-лабораторная характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Общая клинико-иммунологическая характеристика пациентов, включенных в исследование (n=106)

Показатель	Значение
Пол n (%): Мужчины/женщины	62 (59)/44 (41)
Возраст (годы) Me[25-й; 75-й перцентили]	51 [43,5; 63]
Длительность заболевания (годы) Me[25-й; 75-й перцентили]	7,5 [5,5; 10,5]
DAS 28, баллы, Me[25-й; 75-й перцентили]	5,5 [4,65; 5,8]
РФ МЕ/мл, Me[25-й; 75-й перцентили]	20,0 [4,0; 35,5]
АЦЦП Ед/мл, Me[25-й; 75-й перцентили]	115,0 [48,0; 217,9]
СОЭ по Вестергрену, мм/ч, Me ([25-й; 75-й перцентили]	28,5 [5,5; 40,5]
СРБ мг/л, Me ([25-й; 75-й перцентили]	46,2 [16,8; 68,4]
ХГП – 39, пг/мл, Me[25-й; 75-й перцентили]	119,6 [54,2 – 219,2]
IgM РФ позитивные/ IgM РФ негативные, n (%)	81 (68)

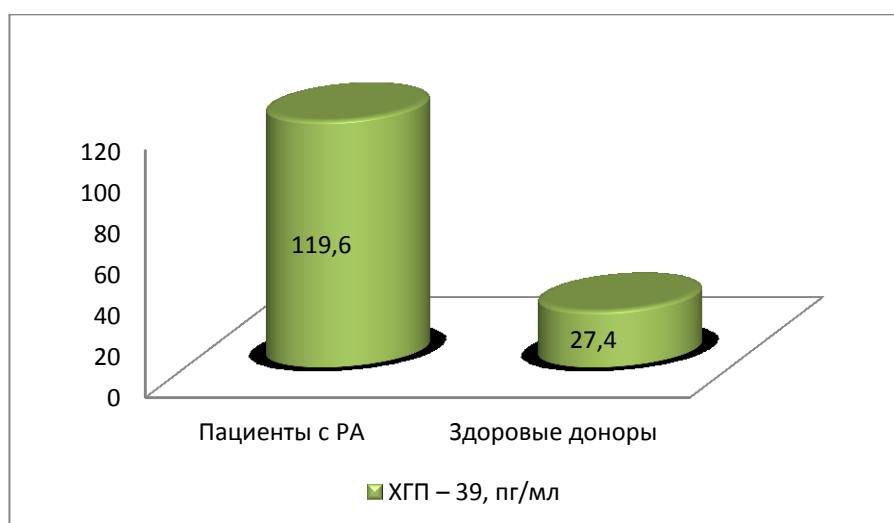
АЦЦП позитивные/ АЦЦП негативные, n (%)	98 (82)
Рентгенологическая стадия (I/II/III/IV), n	20/49/37/0

Примечание: DAS28 – индекс активности заболевания при ревматоидном артрите (DiseaseActivityScore), СОЭ – скорость оседания эритроцитов, АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор, ХГП-39 – хрящевой гликопротеин – 39.

Как показано в таблице, большинство больных была женского пола, среднего возраста, медиана возраста составила 51 [43,5; 63] год, продолжительности заболевания – 7,5 [5,5; 10,5] лет. Доля серопозитивных по IgM ревматоидному фактору (IgM РФ) составила 68%, а по антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) – 82%. Медиана (Ме) [25-й; 75-й перцентили] уровня СРБ - 46,2 [16,8; 68,4] мг/л, СОЭ - 28,5 [5,5; 40,5] мм/ч.

Сравнение уровня ХГП-39 между группой пациентов с РА и контрольной выявило статистически значимые различия ($p < 0,00001$). Как показано на рисунке 1, медиана значений гликопротеина у пациентов составила 119,6 [54,2 – 219,2] пг/мл, у здоровых – 27,4 [7,2; 43,7].

Рисунок 1. Концентрации ХГП-39 между группой больных РА и здоровых лиц



Примечание. ХГП-39 – хрящевой гликопротеин – 39; значения представлены в виде медианы

Для определения взаимосвязи ХГП-39 и показателей активности заболевания и воспаления проведен корреляционный анализ, данные которого представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты корреляционного анализа ХГП-39 и показателей воспаления.

Переменная	Коэффициент корреляции	p
DAS28	0,663	<0,00001
С-реактивный белок (СРБ)	0,632	<0,00001
Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	0,505	0,009

Как показано в таблице и на рисунках 2 и 3, в результате анализа выявлены статистически значимые умеренные прямые корреляции между ХГП-39 и DAS28 ($r=0,663$, $p<0,00001$), СРБ ($r=0,632$, $p<0,00001$), СОЭ ($r=0,505$, $p=0,009$).

Рисунок 2. Корреляция между ХГП-39 и DAS28 у больных РА.

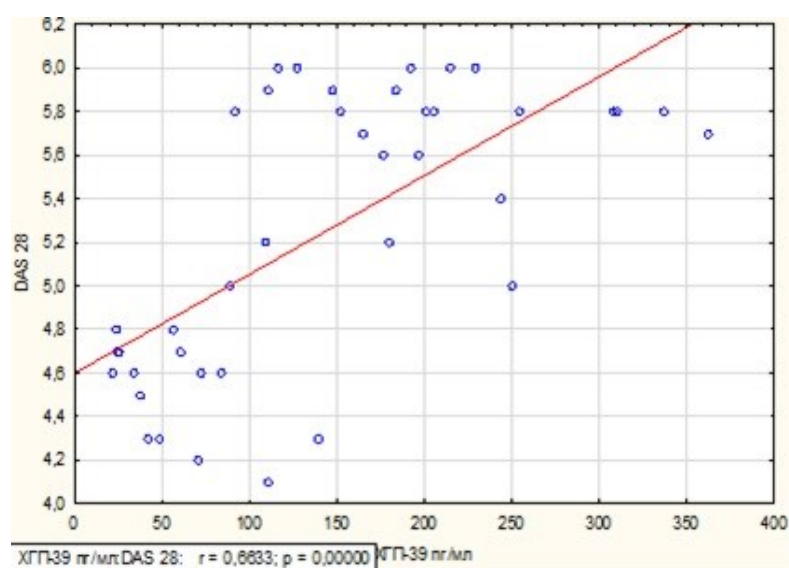
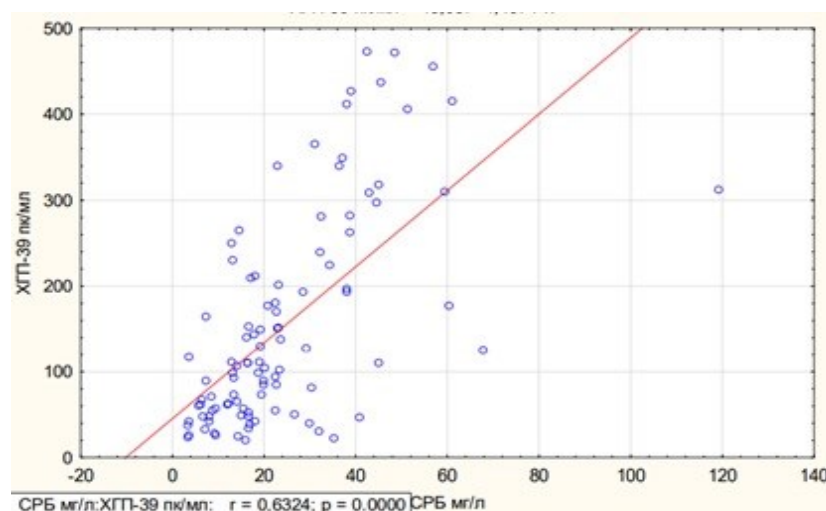


Рисунок 3. Корреляция между ХГП-39 и СРБ у больных РА.



Для определения взаимосвязи АЦЦП с ХГП-39, СРБ и СОЭ проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены в таблице 3.

Таблица 3. Взаимосвязь АЦЦП с ХГП-39 и показателями воспаления

Переменная, коррелирующая с АЦЦП	Коэффициент корреляции Спирмена	p
ХГП-39	0,4553	0,013
СРБ мг/л	0,2874	0,035
СОЭ, мм/ч,	0,2372	0,026

Примечание: DAS28 – индекс активности заболевания при ревматоидном артрите (DiseaseActivityScore), СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ХГП-39 – хрящевой гликопротеин – 39.

Выявлена статистически значимая умеренная прямая корреляция АЦЦП с ХГП-39 ($r=0,4563$, $p=0,012$), а также слабые корреляционные связи с СРБ ($r=0,3834$, $p=0,35$) и СОЭ ($r=0,1312$, $p=0,026$).

Хрящевой гликопротеин -39 не различался статистически значимо внутри групп с РА ($p=0,065$), но отличался от группы здоровых лиц

($p < 0,00001$). Медиана ХГП-39 у больных серопозитивной формы РА – 129,87 пг/мл, с серонегативной формой – 106,05 пг/мл, у здоровых добровольцев – 29,63 пг/мл.

С целью определить различия в активности заболевания и воспаления между группами больных с серопозитивным и серонегативным РА, мы провели сравнение показателей DAS 28, СРБ, СОЭ и ХГП-39. Проведенный нами анализ не выявил статистически значимых различий по уровню ХГП-39 ($p = 0,065$), СРБ ($p = 0,134$), DAS28 ($p = 0,187$) и СОЭ ($p = 0,218$). Данные приведены в таблице 4.

Таблица 4. Сравнение показателей активности заболевания и воспаления у больных РА

Показатель	Группа №1 с серопозитивным РА (n=98)	Группа №2 с серонегативным РА (n=21)	p
ХГП – 39, пг/мл, Ме[25-й; 75-й перцентили]	129,87 [64,38; 209,45]	106,05 [59,34; 197,56]	0,065
DAS 28, баллы, Ме[25-й; 75-й перцентили]	5,65 [5,1; 5,85]	5,45 [4,95; 5,75]	0,187
СРБ мг/л, Ме ([25-й; 75-й перцентили])	44 [18,5; 57,6]	38,10 [19,20; 55]	0,134
СОЭ мм/ч, Ме ([25-й; 75-й перцентили])	30,5 [19,6; 50,5]	27 [18; 49,2]	0,218

Примечание. DAS28 – индекс активности заболевания при ревматоидном артрите (DiseaseActivityScore), СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ХГП-39 – хрящевой гликопротеин – 39.

Для определения взаимосвязи ХГП-39 и показателей активности заболевания и ревматоидного воспаления проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены в таблице 2.

Проведено сравнение значений ХГП-39, активности заболевания и лабораторных показателей воспаления в трех группах пациентов, разделенных в зависимости от рентгенологической стадии. В результате установлены статистически значимые различия в группах по уровню ХГП-39 ($p < 0,00001$), по уровню СРБ ($p < 0,00001$) и СОЭ ($p = 0,004$). Сравнение же групп по значению индекса DAS28 не выявило статистически значимых различий ($p = 0,112$). Данные приведены в таблице 5.

Таблица 5. Различия уровня ХГП-39, показателей активности заболевания и воспаления в зависимости от рентгенологической стадии у пациентов с РА.

Показатель	I стадия (n=20)	II стадия (n=49)	III стадия (n=37)	p
ХГП – 39, пг/мл, Ме[25-й; 75-й перцентили]	37,29 [25,80; 64,63]	90,46 [54,68; 146,78]	128,26 [55,54;217,61]	0,001
DAS 28, баллы, Ме[25-й; 75-й перцентили]	4,9 [4,2; 5,6]	5,3 [4,85; 5,45]	5,75 [5,05; 5,85]	0,112
СРБ мг/л, Ме ([25-й; 75-й перцентили])	14,10[7,3; 16,7]	19,25 [12,25; 25,25]	38,10 [19,20; 45,00]	0,001
СОЭ мм/ч, Ме ([25-й; 75-й перцентили])	19,5 [12; 34]	23,5 [19,5;27,5]	32 [25;42,5]	0,004

Примечание. DAS28 – индекс активности заболевания при ревматоидном артрите (DiseaseActivityScore), СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ХГП-39 – хрящевой гликопротеин – 39. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Для сравнения независимых количественных показателей использовался критерий Краскела–Уоллиса. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Значимых нежелательных явлений во время проведения исследования отмечено не было.

Главной целью нашего исследования было выявить возможные взаимосвязи ХГП-39 с показателями активности заболевания, ревматоидного воспаления, а так же его роли в прогрессировании деструктивных изменений суставов. Для ответа на эти вопросы мы определили его уровень в периферической крови у больных с РА и здоровых пациентов. В результате были выявлены более высокие значения ХГП-39 при ревматоидном артрите в сравнении со здоровыми людьми, что в сочетании с высокой корреляцией его с показателями воспаления подтверждает его провоспалительную активность. Кроме того согласно нашим данным исследования, при сравнении нами групп пациентов с разными рентгенологическими стадиями, было выявлено что, чем выше стадия, а, следовательно, степень деструкции хряща, тем выше уровень ХГП-39, СРБ и СОЭ.

При сравнении больных внутри групп, различающихся по серологическому статусу, статистически значимых различий выявлено не было. Оценивая взаимосвязь АЦЦП с уровнями ХГП-39, СРБ и СОЭ, мы обнаружили низкие корреляционные связи. При сравнении показателей активности заболевания (DAS28), степени воспаления (СРБ, СОЭ) и концентрации ХГП-39 между группой с серонегативным и группой с серопозитивным РА, статистически значимых различий выявлено не было.

Выводы

1. У пациентов с РА обнаружено статистически значимое повышение уровня ХГП-39 в крови по сравнению с контрольной группой здоровых лиц, что может свидетельствовать об участии его в патогенезе РА.
2. Установлена прямая корреляционная зависимость между уровнем сывороточного ХГП-39 и показателями системного воспаления (СРБ, СОЭ)
3. Концентрация ХГП-39 находится в прямой зависимости от выраженности деструктивных изменений в суставах и функциональных нарушений при РА (наиболее высокие показатели уровня ХГП-39 в крови обнаружены у пациентов с РА третьей рентгенологической стадии), что позволяет использовать данный маркер для оценки тяжести поражения суставов.