

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-322

НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧЕТЫРЕХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ*

NOVEL BIOMARKERS FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS: COMPARATIVE ANALYSIS OF FOUR RHEUMATIC DISEASES

Е. А. Ермаков^{1,2}, М. М. Меламуд¹, А. С. Толмачева¹, Т. С. Новикова¹,
А. Э. Сизиков¹, Г. А. Невинский^{1,2}, В. Н. Бунева^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет

E. A. Ermakov^{1,2}, M. M. Melamud¹, A. S. Tolmacheva¹, T. S. Novikova¹,
A. E. Sizikov¹, G. A. Nevinsky^{1,2}, V. N. Buneva^{1,2}

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

²Novosibirsk State University

✉ evgeny_ermakov@mail.ru

Аннотация

Алармины могут представлять собой потенциальные биомаркеры ревматических заболеваний. В работе проведен анализ концентрации ряда аларминов геномного и митохондриального происхождения при четырех распространенных ревматических заболеваниях. В результате идентифицированы новые потенциальные биомаркеры для дифференциальной диагностики ревматоидного артрита.

Abstract

Alarmins may be potential biomarkers of rheumatic diseases. In this work, the concentration of a number of alarmins of genomic and mitochondrial origin was analyzed in four common rheumatic diseases. As a result, new potential biomarkers for the differential diagnosis of rheumatoid arthritis were identified.

Алармины, или молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP), являются мощными активаторами воспалительного ответа и участвуют в патогенезе ревматических заболеваний. Алармины выделяются при повреждении или гибели клеток и могут происходить из различных компартментов клетки. К аларминам ядерного происхождения относится циркулирующая внеклеточная ДНК (вкДНК), цитруллинированный гистон H3 (citH3), ядерные белки high-mobility group protein B1 (HMGB1) и high-mobility group nucleosome-binding domain 1 (HMGN1). Среди аларминов митохондриального происхождения можно выделить митохондриальную вкДНК и некоторые белки. При этом существующие данные о концентрации аларминов в крови при ревматических заболеваниях ограничены, хотя они могут оказаться перспективными биомаркерами.

Цель работы заключалась в исследовании концентрации ряда аларминов ядерного (циркулирующая вкДНК, citH3, ядерные белки HMGB1 и HMGN1) и митохондриального происхождения (митохондриальная вкДНК и белок X, название которого нельзя раскрыть в связи с патентованием) в крови пациентов при четырех распространенных ревматических заболеваниях в сравнении со здоровыми лицами с целью идентификации потенциальных биомаркеров этих заболеваний.

Материалы и методы

Для анализа использована плазма пациентов с ревматоидным артритом (РА, $n = 89$), анкилозирующим спондилитом (АС, $n = 67$), системной красной волчанкой (СКВ, $n = 36$), псориатическим артритом (ПсА, $n = 33$) и здоровых доноров ($n = 86$). Концентрация вкДНК определена методом флуориметрического анализа набором Qubit dsDNA HS Assay Kit на приборе Qubit 4 (ThermoFisher, Германия) после предварительного выделения из плазмы с помощью набора D-Blood-250 (Biolabmix, Россия). Анализ числа копий геномной и митохондриальной вкДНК проведен методом цифровой ПЦР в системе QIAcuity (Qiagen, Германия). Концентрацию citH3, HMGB1, HMGN1, митохондриального белка X и антител к ДНК и HMGB1 определяли методом иммуноферментного анализа.

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-15-00357).

© Е. А. Ермаков, М. М. Меламуд, А. С. Толмачева, Т. С. Новикова, А. Э. Сизиков, Г. А. Невинский, В. Н. Бунева, 2025

Результаты

Средний возраст включенных в исследование участников значимо не различался (см. таблицу). Сравнительный анализ четырех ревматических заболеваний показал, что концентрация вкДНК и citH3 повышалась только у пациентов с СКВ. Интересно, что при СКВ повышение уровня вкДНК происходило за счет геномной ДНК, в то время как митохондриальная вкДНК снижалась. У пациентов с СКВ также повышался уровень антител к двухцепочечной ДНК. Концентрация HMGB1 повышалась в большей степени при СКВ, но также была выше при РА и АС, а при ПсА не изменялась. При СКВ также повышался уровень анти-HMGB1-антител. Концентрация HMGN1 и митохондриального белка X повышалась исключительно при РА. HMGN1 и белок X продемонстрировали хороший диагностический потенциал в качестве предикторов РА и здоровых лиц (AUC: 0,87 и 0,81, $p < 0,00001$ соответственно). Примечательно, что концентрация HMGN1 и митохондриального белка X повышалась даже у некоторых серонегативных пациентов с РА.

Клинические характеристики участников и концентрация ряда аларминов в плазме пациентов с ревматическими заболеваниями

Параметр	СКВ ($n = 36$)	РА ($n = 89$)	АС ($n = 67$)	ПсА ($n = 33$)	Здоровые лица ($n = 86$)
Возраст, годы	$41,8 \pm 15,3$	$49,1 \pm 14,2$	$43,9 \pm 11,4$	$46,13 \pm 13$	$41,6 \pm 19,5$
Длительность заболевания, годы	$7,4 \pm 7$	$9,7 \pm 8$	$15,3 \pm 11,1$	$13,2 \pm 11,1$	-
вкДНК, нг/мл	23,9 [16,0–35,2] *, #	15,0 [9,9–39,7]	18,4 [10,3–46,6]	16,33 [10,9–19,6]	16,3 [9,0–29,4]
CitH3, нг/мл	1,33 [0,76–2,53] *, #	0,79 [0,64–1,01]	0,73 [0,57–0,86]	0,74 [0,57–0,88]	0,64 [0,55–0,91]
HMGB1, нг/мл	21,8 [14,8–33,0] *, #	14,9 [8,9–23,1] *	13,0 [8,1–19,5] *	11,3 [5,6–20,1]	8,6 [5,9–12,3]
HMGN1, пг/мл	0 [0–0]	700 [140–2800] *, #	0 [0–210]	0 [0–0]	0 [0–0]
Белок X, пг/мл	70 [0–700]	2770 [730–6130] *, #	640 [0–1230]	160 [0–820]	440 [0–830]
Анти-ДНК-антитела, нг/мл	21 [5–122] *, #	2,6 [0,2–3,3] *	1,8 [0,2–2,9]	1,1 [0–1,8]	0,4 [0–0,8]
Анти-HMGB1-антитела, нг/мл	1,1 [6,8–3,1] *, #	0,7 [1,0–1,2]	0,6 [0,7–1,5] *	0,5 [0–1,1]	0,2 [0–0,6]

Примечание. Данные представлены как среднее \pm SD или медиана [Q1–Q3]; * — значимые отличия ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой, # — значимые отличия ($p < 0,05$) в сравнении с другими ревматическими заболеваниями. Применен критерий Краскела — Уоллиса с апостериорным тестом Данна.

Заключение

Увеличение концентрации вкДНК, citH3 и HMGB1 при СКВ может быть связано с активной гибелью нейтрофилов путем нетоза. Поэтому полученные нами данные указывают на важную роль нетоза в патогенезе СКВ, но не других изученных заболеваний. Кроме того, в рамках работы идентифицированы белки HMGN1 и митохондриальный белок X как новые потенциальные биомаркеры для дифференциальной диагностики РА.