

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

Один В.И., Дворовкин А.Э., Колубаева С.Н., Тыренко В.В., Топорков М.М., Цыган Е.Н.

ФГБВОУ ВПО «Военно – медицинская академия им. С.М. Кирова», МО РФ, г. Санкт – Петербург, ул. Лебедева, 6, эл.почта OdinVitali@mail.ru

Резюме. Аутоиммунный тиреоидит и ревматоидный артрит являются наиболее распространенными и часто совместно встречающимися аутоиммунными заболеваниями, имеющими общие механизмы иммунопатогенеза. В рамках пилотного исследования были обследованы 8 больных только аутоиммунным тиреоидитом и в сочетании с ревматоидным артритом, у которых были проанализированы цитогенетические нарушения.

У больных только аутоиммунным тиреоидитом отмечалось существенное увеличение числа цитогенетических аномалий после облучения, в том числе увеличение числа клонов в 6 раз в сравнении со спонтанным уровнем ($p < 0,05$). Но у больных ревматоидным артритом, ассоциированным с аутоиммунным тиреоидитом было выявлено значительное увеличение исходных общих цитогенетических нарушений в сравнении с группой больных только аутоиммунным тиреоидитом ($10 \pm 0,8$ vs. $6 \pm 1,4$ соответственно ($p < 0,05$)).

Таким образом, формирование генетической нестабильности у пациентов с ревматоидным артритом ассоциированным с аутоиммунным тиреоидитом происходит более глубоко, что, по-видимому, связано с синдромом взаимного отягощения. Для уточнения характера этих связей необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова ревматоидный артрит, аутоиммунный тиреоидит, цитогенетические нарушения

CYTOGENETIC ABNORMALITIES IN RHEUMATOID ARTHRITIS ASSOCIATED WITH AUTOIMMUNE THYROIDITIS

Odin V.I., Dvorovkin A.E., Kolubaeva S.N., Tyrenko V.V., Toporkov M.M., Tzygan E.N.

FGBVOU VPO "Military Medical Academy named after S.M. Kirov" Defense of the Russian Federation , St. Petersburg, Lebedeva str., 6 , E-mail : OdinVitali@mail.ru

Summery. Autoimmune thyroiditis and rheumatoid arthritis are the most common and often co-occurring autoimmune diseases that share common mechanisms immunopathogenesis. The pilot studies were examined 8 patients who were analyzed by cytogenetic abnormalities.

Only patients with autoimmune thyroiditis noted a significant increase in the number of cytogenetic abnormalities after irradiation, including increasing the number of clones in the 6-fold compared to the spontaneous level ($p < 0,05$). But in patients with rheumatoid arthritis associated with autoimmune thyroiditis it was revealed a significant increase in baseline common cytogenetic damage in comparison with group of patients only autoimmune thyroiditis ($10 \pm 0,8$ vs. $6 \pm 1,4$, respectively ($p < 0,05$)).

Thus, the formation of genetic instability in patients with rheumatoid arthritis are associated with autoimmune thyroiditis occurs more deeply that seems to be associated with the syndrome of mutual aggravation. To clarify the nature of these relationships further research is needed.

Keywords rheumatoid arthritis, autoimmune thyroiditis, cytogenetic abnormalities

Введение

Аутоиммунные заболевания относятся к числу наиболее распространенных болезней человека, включающих в себя более 80 нозологических форм (их частота в популяции приближается к 10%) и являются одними из наиболее тяжелых хронических болезней человека [1,2]. Основу аутоиммунных заболеваний составляет аутоиммунитет, который характеризуется нарушением толерантности к собственным антигенам, приводящим к развитию иммунного ответа против нормальных тканей, как если бы они были чужеродны для организма [3].

Ревматоидный артрит – системное аутоиммунное ревматическое заболевание, характеризующееся воспалением синовиальной оболочки суставов, прогрессирующей деструкцией хрящевой и костной ткани, развитием широкого спектра внесуставных проявлений [4]. Социальная значимость РА обусловлена высокой степенью инвалидности. Так, почти 50% больных РА становятся инвалидами в течение 5 лет заболевания, а 10% - в течение первых двух лет болезни [5]. Продолжительность жизни у больных РА по сравнению с общей популяцией также уменьшается: в среднем этот показатель равен 3–7 годам [6]. По результатам эпидемиологического исследования, проведенного на популяционной выборке взрослых жителей России, распространенность РА составила 0,61 % (610 на 100 тыс. населения) [7]. Общемировая же распространенность РА составила 1% (1000 на 100 тыс. населения) [8].

По современным представлениям, АИТ – большая группа заболеваний, различающихся по клиническим проявлениям и объединяемых общностью патогенеза и общей морфологической картиной, заключающейся в лимфоцитарной инфильтрации ткани ЩЖ. В патогенезе АИТ ключевую роль играют аутоиммунные нарушения. Выделяется ряд вариантов хронического АИТ, объединяемых по сходству иммунологических признаков [9]. АИТ поражает до 2%

взрослого трудоспособного населения, чаще встречается у женщин, нежели у мужчин [10]. АИТ лидирует в кластере аутоиммунных заболеваний, которые встречаются в совокупности с другими аутоиммунными заболеваниями наиболее часто (наряду с ревматоидным артритом, сахарным диабетом 1 типа и витилиго) [11].

Проблеме сочетания РА с патологией ЩЖ уделяется достаточное внимание, которое объясняется их частой встречаемостью, общими механизмами иммунопатогенеза и гормональными нарушениями при этих заболеваниях [12,13]. Ранее нами было показано, что существуют два фенотипа аутоиммунного тиреоидита ассоциированного с ревматоидным артритом имеющие особые характеристики, в частности первичный АИТ, который дебютировал до манифестации РА, и вторичный, который развивался на фоне существующего РА [14,15].

Однако на тему цитогенетических нарушений, которые наблюдаются при обоих заболеваниях и, возможно, перекрестно патогенетически объединяют АИТ и РА, имеются единичные работы [16].

Цель исследования

В рамках пилотного исследования были изучены цитогенетические нарушения у больных ревматоидным артритом, ассоциированным с аутоиммунным тиреоидитом, и у больных только аутоиммунным тиреоидитом.

Материалы и методы

Было обследовано 4 пациента с ревматоидным артритом в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом (РА+АИТ) (средний возраст составил $46 \pm 1,73$ лет), и 4 пациента с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) (средний возраст – $32,5 \pm 3,57$ лет). Все больные прошли общеклиническое обследование, диагноз был установлен согласно общепринятым критериям (для РА – критерии ACR / EULAR пересмотра 2010 года, для АИТ - клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита у взрослых 2003 года). Все пациенты получали стандартную противовоспалительную терапию. Обязательным критерием включения пациентов в обследование было отсутствие гормон-заместительной терапии тироксином. Культивирование клеток периферической крови, подвергнутой облучению в дозе 1,0 Гр на аппарате Игур-1(Cs^{137}), и без облучения производили в среде RPMI-1640 с добавлением сыворотки эмбрионов коров и ФГА. Колхицин добавляли за 1,5 часа до начала фиксации, которую осуществляли по общепринятой методике метанол-уксусной кислотой через 54-56 часов от начала культивирования. Учет хромосомных aberrаций (ХА) производили в соответствии с номенклатурой ISCN 2009 [17].

Статистический анализ проведен при помощи пакета прикладных статистических программ «Statistica 7.0». Проводился анализ статистических гипотез на основе непараметрических методов, в том числе U-критерия Манна-Уитни, критерия знаков и t-критерия Вилкоксона. Данные представлены как $M \pm m$. Достоверность различий принимали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения

Анализ хромосомных aberrаций выявил наибольшее количество повреждений у больных ревматоидным артритом в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом по сравнению с группой больных только аутоиммунным тиреоидитом более чем на 160%. Возможно, вклад внесла разница в возрасте, так как известно, что после 40 лет увеличивается спонтанный уровень цитогенетических повреждений в лимфоцитах периферической крови и составляет по нашим данным $3,3 \pm 0,51$ в группе доноров от 40 до 60 лет и $2,3 \pm 0,4$ в группе доноров от 20 до 40 лет (собственные данные).

В результате облучения периферической крови пациентов *in vitro* наблюдается большее количество частоты хромосомных aberrаций у больных с диагнозом АИТ, чем с РА + АИТ. Так, увеличение в первой группе (больные аутоиммунным тиреоидитом) наблюдается на 430%, в то время как во второй группе (сочетание ревматоидного артрита и аутоиммунного тиреоидита) – только на 180% (см. таблицу №1).

Увеличение частоты делеций и транслокаций в обеих группах больных после облучения не являлось статистически значимым, в то время как наблюдалась обратная тенденция в случае с частотой фрагментов и клонов. Так, частота фрагментов в первой группе больных (только АИТ) после облучения увеличилась значительно в большей степени, чем во второй группе (АИТ + РА). В свою очередь, увеличение частоты клонов в первой группе пациентов после облучения в три раза превышало аналогичный показатель во второй.

Данное явление можно объяснить снижением чувствительности к облучению в результате так называемого «адаптивного ответа» клеток периферической крови больных с РА + АИТ, при котором воздействие на лимфоциты было более сложным, что сделало их более устойчивыми к последующим воздействиям.

По полученным данным можно сделать вывод о том, что аутоиммунный тиреоидит *per se* является цитогенетически неблагоприятным состоянием, что, по-видимому, и обуславливает его лидирующую роль в кластере наиболее часто встречающихся аутоиммунных заболеваний,

наблюдающихся в комплексе с другими аутоиммунными заболеваниями. Наиболее чувствительным критерием, подтверждающим данный вывод, является трехкратное увеличение количества фрагментов. Также обращает на себя внимание значительное увеличение числа клонов у больных аутоиммунным тиреоидитом после облучения (в 6 раз). Появление клеток с клональным характером повреждений в результате генотоксических воздействий может иметь отношение к канцерогенезу, как это показано в работах [18, 19]. Также ранее было показано, что базисная терапия ревматоидного артрита способна приводить к увеличению числа цитогенетических нарушений, которые в свою очередь могут приводить к онкологическим и онкогематологическим заболеваниям присущим больным ревматоидным артритом [20,21,22].

Таблица 1. Цитогенетические нарушения у обследованных больных

Диагноз	Общая частота нарушений	Частота делеций n (%)	Частота транслокаций n (%)	Частота фрагментов n (%)	Частота клонов n (%)	Частота маркеров, дополнительных хромосом и др. n (%)
АИТ (n=4)	6±1,4 ^{1,2}	1±0,4 (16,7)	0	4±0,36 ¹ (66,6)	1±0,3 ¹ (16,7)	0
АИТ (+облучение in vitro) (n=4)	26±1,7 ¹	2±0,6 (7,7)	1±0,3 (3,8)	12±0,7 ¹ (46,2)	6±1,1 ¹ (23,1)	5±1,3 (19,2)
АИТ +РА (n=4)	10±0,8 ²	1±0,5 (10)	0	5±1,2 (50)	1±0,5 (10)	3±1,0 (30)
АИТ +РА (+облучение in vitro) (n=4)	18±1,7	2±0,7 (11,1)	1±0,6 (5,6)	9±1,1 (50,0)	2±0,6 (11,1)	4±1,0 (22,2)

^{1,2}p<0.05¹p<0.05¹p<0.05

* В скобках указан процент цитогенетических повреждений от общего количества цитогенетических нарушений

Формирование генетической нестабильности у пациентов с РА + АИТ происходит более глубоко, что связано с синдромом взаимногоотягощения, который характеризует взаимосвязь этих двух диагнозов и имеет свои особенности. Для уточнения найденных взаимоотношений показаны дальнейшие исследования данной темы.

Выводы

1. Аутоиммунный тиреоидит характеризуется существенной генетической нестабильностью, что проявляется увеличением числа клонов при облучении культуры клеток периферической крови.
2. Сочетание аутоиммунного тиреоидита у больных ревматоидным артритом предполагает формирование генетической нестабильности у данной категории пациентов и, соответственно, более пессимистический прогноз течения основного заболевания.

Литература

1. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Ревматические заболевания у взрослого населения в федеральных округах России. // Научно – практическая ревматология. – 2014. – № 1 (52) – С. 5–7.
2. Парамонова О.В., Русанова О.А., Гонтарь И.П. Взаимосвязь органоспецифической аутоиммунной патологии щитовидной железы с неорганическими аутоиммунными ревматическими заболеваниями // Клиническая и экспериментальная тиреодология. -2012.- Т. 8.- N1.- С.46 – 50.
3. Imboden J. B. The Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis // Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. – 2009. – V.4.- P.417-434.
4. Ревматология: Клинические рекомендации / под ред. акад. РАМН Е.Л. Насонова. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2010. – С.752.
5. Эрдес Ш.А., Фоломеева О.М. Ревматические заболевания и инвалидность взрослого населения Российской Федерации // Научно-практическая ревматология.- 2007.- Т.45.- № 4.- С.4 - 9.
6. Насонова В.А. Медицинская и социальная значимость ревматических болезней в России и состояние специализированной помощи. Прогресс в лечении хронических воспалительных заболеваний суставов // Русский медицинский журнал.- 2003. – Т.11.- N2. - С. 4-5.
7. Галушко Е.А. , Эрдес Ш.Ф., Виноградова И.Б. и др. Распространённость ревматических заболеваний по данным эпидемиологического исследования // Научно-практическая ревматология. - 2009. - N1. - С.13-17.
8. Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology and diagnosis of rheumatoid arthritis // Am J Man Care. – 2012.-V.18.- P.295–302.

9. Weetman A.P. The Spectrum of Autoimmunity in Thyroid Disease // *Thyroid Intern.*- 2005; N1.- P. 1–15.
10. Harris R.E. *Epidemiology of Chronic Disease: Global Perspectives* / NY.: Jones & Bartlett Learning, 2013. –P.707.
11. Cárdenas-Roldán J., Rojas-Villarraga A., Juan-Manuel A. How do autoimmune diseases cluster in families? A systematic review and meta-analysis // *BMC Medicine.*- 2013. - 11:73
12. Kerimovi_M.D. Autoimmune thyroid disease and associated rheumatic disorders // *Srp. Arh. Celok. Lek.* – 2005. – V. 133, S.1. – P. 55–60.
13. Staykova N. D. Rheumatoid arthritis and thyroid abnormalities // *Folia Medica.* – 2007. – V. 49, N. 3–4. – P. 5–12.
14. Один В.И., Королев А.С., Тыренко В.В., Цыган Е.Н., Блохин М.П. Онтогенетические особенности аутоиммунного тиреоидита ассоциированного с ревматоидным артритом // *Вестник СПбГМА им.И.И. Мечникова.*- 2009.- №2.- Приложение 1- С. 324
15. Один В.И., Королев А.С., Тыренко В.В., Цыган Е.Н., Блохин М.П. Аутоиммунный тиреоидит ассоциированный с ревматоидным артритом // *Материалы V съезда ревматологов России, М., 2009.* – С.81.
16. Recalcati MP, Valtorta E, Romitti L, et al. Characterisation of complex chromosome 18p rearrangements in two syndromic patients with immunological deficits // *Eur. J Med Genet.*- 2010.- V.53.- N4.- P.186-191.
17. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2009). Recommendations of International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature / Eds. L. Shaffer, N. Tommerup. – Basel,: S. Karger, 2009.-P. 138.
18. Toufexi E., Tsarpali V., Efthimiou I. et al. Environmental and human risk assessment of landfill leachate: an integrated approach with the use of cytotoxic and genotoxic stress indices in mussel and human cells // *J. Hazard. Mater.* – 2013. – N 260. - P. 593-601.
19. Lin P., Mobasher ME, Alawi F. Acute dyskerin depletion trigger cellular senescence and renders osteosarcoma cells resistant to genotoxic stress-induced apoptosis. // *Biochem. Biophys Res Commun.* – 2014. – V.446.-N4.- P.1268-1275.
20. Jarmalaitė S., Dedonytė V., Mierauskienė J. et al. Cytogenetic effects of treatment with methotrexate and infliximab in rheumatoid arthritis patient // *Biologija.*- 2008.- Vol. 54.- N 1.- P. 7–11.

21. Askling J., Forel C. M., Brandt L. et al. Risks of solid cancers in patients with rheumatoid arthritis and after treatment with tumour necrosis factor antagonists // *Ann Rheum Dis.*- 2005.- V.64. –P.1421–142.
22. McCarthy C.J., Sheldon S., Ross C.W. , McCune W.J. Cytogenetic abnormalities and therapy-related myelodysplastic syndromes in rheumatic disease // *Arthritis & Rheumatism* .- 1998.- Vol.41.- N. 8.- P. 1493-1496