

6. Oradova A.Sh., Ustenova G.O., Stabaeva G.S. Methods of study of cytokines (review). *Meditsina (Kazakhstan)*. 2014; (10): 84—7. (in Russian)
7. Rukavishnikov V.S., Pankov V.A., Kuleshova M.V., Rusanova D.V., Kartapol'tseva N.V., Sudakova N.G. et al. Results and prospects of the study of occupational diseases among workers in the aircraft industry in Eastern Siberia. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2012; (1): 105—12. (in Russian)
8. Yarin A.A. *Immunology [Immunologiya]*. Moscow: GEOTAR — Media; 2010. (in Russian)
9. Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. *Cytokines [Tsitokiny]*. St.Petersburg; 2008. (in Russian)
10. Lyubimova N.V., Toms M.G., Fu R.G., Bondarenko Yu.V. The clinical significance of determining neurospecific proteins in the serum of patients with brain tumors. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; (10): 40—2. (in Russian)
11. Shaymardanova G.F., Mukhamedshina Ya.O., Chelyshev Yu.A. The Assessment of Efficiency of Local Delivery Pathways of Therapeutic Genes in Murine Spinal Cord Injury: Correlation of Structure and Function Parameters. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2013; 5(3): 16—20. (in Russian)
12. Grigor'ev E.V., Vavin G.V., Grishanova T.G., Budaev A.V., Derbeneva O.A. Neuron proteins — markers encephalopathy with severe concomitant injury. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy*. 2010; (2): 91—5. (in Russian)
13. Morozova Yu.A., Kamchatnov P.R., Akhmetzhanova L.L. The protein content of S-100 and tumor necrosis factor-alpha in serum of patients with circulatory encephalopathy. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2009; 109(5): 53—6. (in Russian)
14. Bodienkova G.M., Kurchevko S.I. *The Method of Preclinical Diagnosis of Health Problems from Exposure to Vibration*. Patent RF № 2549435; 2015. (in Russian)

Поступила 17.11.16

Принята к печати 29.11.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-002.78-078.33-074:543.42.062

Набиева Д.А.<sup>1</sup>, Арипов А.Н.<sup>2</sup>

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОМНЫХ МАРКЕРОВ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ И ИХ СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ У БОЛЬНЫХ ПОДАГРОЙ

<sup>1</sup>Ташкентская медицинская академия, 100109, Ташкент, Республика Узбекистан;

<sup>2</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр педиатрии, 100179, Ташкент, Республика Узбекистан

Современное представление о подагре включает в себя как традиционную метаболическую теорию нарушения пуринового обмена и внешнесредовое воздействие, так и участие иммуновоспалительных, генетических и протеомных факторов. Проведенное протеомное исследование больных тофусной подагрой и людей с бессимптомной гиперурикемией методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией, а также иммунологическое профилирование позволили определить специфические протеомные маркеры подагры — циркулирующий интерлейкин-8 (IL-8)/CXCL8 и ассоциированный гетеродимерный комплекс миелоид-связанных белков MRP8/MRP14 (калгранулин A/B). Выявлена положительная корреляция со сдвигами метаболических показателей — компонентами липидного спектра и уровня мочевой кислоты как у больных тофусной подагрой, так и (в меньшей степени) у людей с бессимптомной гиперурикемией. Предлагается рассматривать биомаркеры IL-8 и MRP8/MRP14 в качестве независимых предикторов развития метаболических сдвигов и кардиоваскулярной патологии у больных подагрой.

Ключевые слова: масс-спектрометрия; иммунологический профиль; IL-8; MRP8/MRP14; подагра; гиперурикемия.

Для цитирования: Набиева Д.А., Арипов А.Н. Определение протеомных маркеров и иммунологического профиля и их связь с метаболическими параметрами у больных подагрой. *Клиническая и лабораторная диагностика*. 2017; 62 (8): 485-489. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-8-485-489>

Nabieva D.A.<sup>1</sup>, Aripov A.N.<sup>2</sup>

### THE DETECTION OF PROTEOMIC MARKERS AND IMMUNOLOGIC PROFILE AND THEIR RELATIONSHIP WITH METABOLIC PARAMETERS IN PATIENTS WITH GOUT

<sup>1</sup>The Tashkent medical academy, 100109 Tashkent, the Republic of Uzbekistan

<sup>2</sup>The Republican specialized R&D production medical center of pediatrics, 100179 Tashkent, the Republic of Uzbekistan

The actual concept of gout comprises both traditional metabolic theory of disorder of purine metabolism and external medium impact and involvement of immune inflammatory, genetic and proteomic factors. The proteomic study of patients with tofus gout and patients with asymptomatic hyperuricosuria was carried out using technique of fluid chromatography with mass-spectrometry and immunologic profiling. The specific proteomic markers of gout such as circulating interleukin-8 (IL-8)/CXCL8 and associated heterodimeric complex of myeloid-bound proteins MRP8/MRP14 (kalgranulin A/B) were established. The positive correlation was established concerning shifting of metabolic indices - components of lipid spectrum and level of uric acid both in patients with tofus gout and in lesser degree in patients with asymptomatic hyperuricosuria. It is proposed to consider biomarkers IL-8 and MRP8/MRP14 as independent predictor of development of metabolic shifting and cardiovascular pathology in patients with gout.

Key words: mass-spectrometry; immunologic profile; IL-8; MRP8/MRP14; gout; hyperuricosuria

For citation: Nabieva D.A., Aripov A.N. The detection of proteomic markers and immunologic profile and their relationship with metabolic parameters in patients with gout. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (8): 485-489. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-8-485-489>

Для корреспонденции: Набиева Дилдора Абдумаликовна, канд. мед. наук, доц.; e-mail: [dil\\_nab@mail.ru](mailto:dil_nab@mail.ru)

**For correspondence:** *Nabieva D.A.*, candidate of medical sciences, associate professor. e-mail:

**Conflict of interests.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 30.03.2017  
Accepted 15.04.2017

**Введение.** Подагра — полигенное заболевание пуринового обмена, сопровождающееся отложением кристаллов солей моноурата натрия (МУН) в различных тканях и воспалительным фоном [1], поражает 1—6% взрослого населения в развитых странах и представляет собой наиболее часто встречающийся у мужчин тип артрита [1, 2]. Актуальная доказательная база свидетельствует о том, что заболеваемость подагрой многократно увеличилась за последние десятилетия и продолжает неуклонно расти на фоне напряженной эпидемиологической обстановки по неинфекционным заболеваниям, таким как метаболический синдром, гипертоническая болезнь (ГБ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), сахарный диабет 2-го типа и их осложнения [2].

Более 70% больных подагрой имеют более 2 факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [3], при этом риск развития ИБС или цереброваскулярной болезни (ЦВБ) у людей с гиперурикемией повышен в 3—5 раз по сравнению с пациентами с нормоурикемией [4]. Связь с накоплением в тканях кристаллов уратов (тофусами), хронической почечной недостаточностью, метаболическим синдромом, неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП) и повышенным риском ССЗ [4, 5] позволяет рассматривать подагру не только как локализованное поражение суставов и околоуставных тканей, но и как мультиорганный процесс.

Геномные исследования (транскриптомика (экспрессия мРНК) и эпигенетика (метилирование ДНК, модификация гистонов и микроРНК)) позволили выявить мутации определенных генов-транспортеров мочевой кислоты (hURAT1), АТФ-связывающего кассетного транспортера G2 (ABCG2), SLC17A1-SLC17A3, а также генов, кодирующих воспалительные цитокины (ген *251T/A IL-8*, *1188A/C IL-12B*, *rs10889677 IL-23R* и др.) [5, 6], которые в совокупности определяют прогрессирование фоновой гиперурикемии в манифестирующий подагрический артрит и развитие фоновых метаболических заболеваний (гипертоническая болезнь, поражение почек, кардиоваскулярная патология и сахарный диабет 2-го типа) [4].

Тем не менее, последние тенденции в области «прецизионной медицины» (precision medicine) указывают на то, что патологические процессы, протекающие в организме на клеточном уровне, невозможно полностью отразить, основываясь только на геномных исследованиях [7]. Таргетные протеомные и метаболомные исследования позволяют проводить идентификацию и количественную оценку белков и метаболитов с целью поиска диагностических биомаркеров, идентификации точек приложения терапевтического воздействия и разработки методов оценки эффективности терапии.

Благодаря ряду иммуногистохимических исследований *in vitro* и протеомных исследований выявлено, что кристаллы МУН оказывают прямое провоспалительное действие, индуцируя продукцию цитокинов, таких как IL-1 $\beta$ , путем включения семейства толл-подобных рецепторов и ряда инфламасом в воспалительный каскад [8]. Имеются также данные о роли комплекса миелоид-связанных белков MRP8/MRP14, также известного как калгранулин А/В (S100A8/A9), который является агонистом толл-подобных рецепторов TLR-4, в повышении риска ССЗ и сахарного диабета 2-го типа у пациентов с гиперурикемией и развитием у них НЖБП [9, 10]. Кроме того, кристаллы МУН ответственны за индукцию выработки цитозольного белка NALP3 (криопирин), основного компонента одноименных провоспалительных каспаза-

1-активирующих инфламасом [11], которые запускают продукцию активных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-18 [12].

Эти данные позволяют предположить наличие таргетных воспалительных биомаркеров у больных подагрой, обуславливающих не только патогенез основного подагрического артрита, но и развитие коморбидных состояний.

Цель данной работы — исследование основных биомаркеров методом масс-селективной спектрометрии (МС) и определение их корреляции с основными метаболическими показателями у больных тофусной подагрой и бессимптомной гиперурикемией.

**Материал и методы.** Обследованы больные подагрой ( $n = 178$ , все мужского пола, средний возраст  $54,2 \pm 6,1$  года), поступившие в ревматологическое отделение и поликлинику специализированного курсового амбулаторного лечения 1-й клиники Ташкентской медицинской академии в период с 2012 по 2016 г. с клинически верифицированным диагнозом: «подагра» по критериям S.L. Wallace (1977) [13]. На момент первого осмотра у 42 больных (23,6%) был диагностирован острый подагрический артрит, у 69 больных (38,8%) артрит носил затяжной характер с длительностью от 3 нед до 3 мес, у 67 пациентов (37,6%) диагностирован хронический артрит длительностью более 3 мес. Все пациенты прошли общеклинические и специальные биохимические исследования, включающие определение в сыворотке крови уровней холестерина (ХС), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицеридов (ТГ), глюкозы, мочевой кислоты, мочевины, креатинина, общего белка, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), С-реактивного белка (СРБ).

Из 178 больных в основную группу для проведения иммунологического исследования и протеомного анализа методом МС было отобрано 20 человек с клинически верифицированным диагнозом «подагра» с тофусами в межприступный период подагрического артрита, а также 14 пациентов с бессимптомной гиперурикемией в качестве группы контроля. Все больные были сопоставимы по возрасту ( $53,8 \pm 2,1$  года), длительности заболевания ( $5,1 \pm 1,2$  года), принимаемым лекарственными препаратами и наличию сопутствующих заболеваний. Критериями исключения к проведению исследования были наличие хронических очагов инфекции и активные инфекционные заболевания. Также исключался прием любых антибактериальных, противовирусных, противогрибковых и противопаразитарных препаратов, пребиотических и пробиотических средств в течение всего периода исследования.

У 30 отобранных пациентов перед проведением МС-анализа методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли концентрации интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8), интерлейкина-10 (IL-10), интерлейкина-20 (IL-20) в сыворотке крови.

Забор венозной крови проводили утром натощак. После забора образцы крови подвергали центрифугированию в течение 15 мин при угловой скорости вращения 3000 об/мин. Далее сыворотка пипетировалась и распределялась в 2 стерильные пробирки с герметично закупоренными крышками ( $\geq 0,5$  мл сыворотки). После маркировки пробирки замораживались и хранились при температуре  $-15$  —  $-20^\circ\text{C}$ . Образцы сывороток крови перед анализом размораживали при температуре лаборатории, в виалу помещали до 1 мл сыворотки крови, 2 мл метил-трет-

Таблица 1

Фенотипическая и клиническая характеристика исследуемых групп

Показатели	Больные тофусной подагрой (n = 20)	Пациенты с бессимптомной гиперурикемией (n = 14)
Возраст, годы	52,6 ± 3,2	54,4 ± 1,7
Длительность заболевания, годы	5,1 ± 1,2	—
Артериальная гипертензия, %	8 (40)	5 (35,7)
Сердечно-сосудистая патология, %*	11 (46,6)	5 (35,7)
Хроническая болезнь почек, %**	5 (25)	1 (7,1)
Неалкогольная жировая болезнь печени, %	8 (40)	3 (21,4)
Аллопуринол, %	13 (65)	5 (35,7)
Фебукостат, %	3 (15)	3 (21,4)
Колхицин, %	1 (5)	—
Глюкокортикостероиды, %	2 (10)	—
Нестероидные противовоспалительные средства, %	13 (65)	1 (7,1)

Примечание. \* — включая транзиторную ишемическую атаку, инфаркт миокарда, поражение периферических сосудов, аритмии, ишемическую болезнь сердца и/или сердечную недостаточность; \*\* — при скорости клубочковой фильтрации ниже 60 мл/мин.

бутилового эфира с 50 мкл 5% раствора метановой кислоты. Полученную смесь перемешивали в течение 5 мин на ротаторе. Образовавшуюся эмульсию переносили в пробирки и центрифугировали при 8000 об./мин в течение 10 мин. Верхний эфирный слой переносили в посуду и высушивали стерильным воздухом. Разделение фаз проводили на жидкостном хроматографе с масс-спектрометром Agilent 6420 Triple Quadrupole LC/MS (Agilent, Германия) в режиме программирования температуры, начиная с температуры +50°C (3 мин). Дальнейшая скорость нагрева составляла 10°C в мин, конечная температура –290°C, время при конечной температуре 10 мин.

Статистическую обработку проводили путем вычисления коэффициентов корреляции по Пирсону. Белки-биомаркеры по результатам жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC/MS) были иерархически сгруппированы в программе TagIdent (ExPASy) для идентификации потенциальных белков, соответствующих отношениям вес/заряд, по молекулярным массам (±1%) каждого белка. Иерархическую кластеризацию и статистический анализ выполняли с использованием программного обеспечения Epi Info версии 6.0. Для сравнения корреляции с метаболическими показателями применяли *t*-критерий, скорректированные значения *p* рассчитывали автоматически по достижении пределов доверительного интервала.

**Результаты и обсуждение.** Фенотипическая характеристика исследуемых больных и соотношение лекарственных препаратов, принимаемых для базисного лечения, приводятся в табл. 1. У больных тофусной подагрой чаще, чем в группе с бессимптомной гиперурикемией, отмечаются эпизоды кардиоваскулярной патологии (+10,9%), поражения гломерулярного аппарата и ухудшение фильтрационной способности почек (+17,9%), а также ультразвуковые признаки неалкогольного жирового поражения печени (+18,6%).

В межприступный период подагрического артрита отмечается более частый прием урикозурических препаратов (аллопуринол, фебукостат) по показаниям, а также глюкокортикостероидов преимущественно при артралгии, резистентной к нестероидным противовоспалительным препаратам. Прием указанных препаратов на период иммунологических

и протеомных исследований был приостановлен с целью получения достоверных результатов.

Изученные показатели уровней мочевой кислоты и липидного профиля у больных подагрой и обследуемых с бессимптомной гиперурикемией представлены в табл. 2.

Данные, приведенные в табл. 3, указывают на достоверную разницу в показателях гиперурикемии у больных с тофусной формой подагры (повышение на 14,8%) в сравнении с бессимптомными пациентами. У пациентов с подагрой в динамике липидного профиля отмечается увеличение содержания ХС на 14,7%, ЛПНП — на 22,5, ЛПОНП — на 21,4, ТГ — на 20,6 и снижение уровня ЛПВП на 21% (*p* < 0,05). Коэффициент атерогенности выше в группе больных подагрой на 38,6% (*p* = 0,029). Обнаруженная гиперхолестеринемия у больных с тофусной формой подагры в сравнении с показателями пациентов без подагрического артрита ассоциировалась с более выраженной дислипидемией и атерогенной триглицеридемией (*p* = 0,008).

В отличие от обследуемых с бессимптомной гиперурикемией, у пациентов в межприступный период подагры происходило существенное увеличение продукции ключевых провоспалительных цитокинов IL-8, IL-10. При этом не отмечалось ожидаемого и достоверного повышения IL-1β, TNF-α, а также продуцируемого активированными CD4 + Т-лимфоцитами IL-4 (*p* = 0,0028). Также отсутствовала положительная коррелятивная связь между повышенным уровнем циркулирующего IL-8 и острофазных показателей воспаления — СРБ и скоростью оседания эритроцитов (*p* = 0,012). Результаты по титрам IL-2, TNF-α, IL-6, IL-20 варьировали в широких пределах и превышали установленный доверительный интервал, по-видимому, вследствие малой выборки объектов иммунологического исследования и отсутствия прогностически значимой тенденции показателей. Поскольку ожидаемое повышение уровня циркулирующих IL-8 не коррелирует с уровнем цитокинов IL-1β и TNF-α, протеомное исследование представляет собой наиболее эффективный метод определения титра потенциальных биомаркеров, сопровождающих повышенный уровень циркулирующего IL-8. С целью оптимизации протокола протеомного исследования, было решено провести масс-спектрометрический анализ субпопуляций белков у 10 больных с наибольшим (>50 пг/мл) и 10 обследуемых с наименьшим (<10 пг/мл) титром IL-8. Профили экспрессии белков по результатам масс-спектрометрии содержат четко различимые разделенные субпопуляции потенциальных белков, дифференциально экспрессированные между 10 пациентами с низким (<10 пг/мл) и 10 — с высоким (>50 пг/мл) уровнем экспрессии IL-8.

Таблица 2

Показатели уровня мочевой кислоты и липидного профиля (M ± m)

Показатели	Больные тофусной подагрой (n = 20)	Пациенты с бессимптомной гиперурикемией (n = 14)
Мочевая кислота, ммоль/л	0,69 ± 0,015	0,46 ± 0,017
Общий холестерин, ммоль/л	6,92 ± 0,016	5,90 ± 0,016
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	5,02 ± 0,016	3,89 ± 0,018
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	1,06 ± 0,002	1,34 ± 0,004
Липопротеиды очень низкой плотности, ммоль/л	0,84 ± 0,002	0,66 ± 0,002
Триглицериды, ммоль/л	1,84 ± 0,005	1,46 ± 0,003
Индекс атерогенности	5,52 ± 0,029	3,39 ± 0,024

Таблица 3

**Цитокиновый профиль исследуемых групп по данным иммуноферментного анализа**

Показатели, пг/мл	Больные тофусной подагрой (n = 20)	Пациенты с бессимптомной гиперурикемией (n = 14)	p
IL-1 $\beta$	2,92 $\pm$ 0,81	2,21 $\pm$ 0,45	0,0154
TNF- $\alpha$	3,34 $\pm$ 2,84	2,92 $\pm$ 1,10	0,0972
IL-2	4,73 $\pm$ 1,77	3,45 $\pm$ 0,89	0,0861
IL-4	1,38 $\pm$ 0,53	1,36 $\pm$ 0,40	0,0028
IL-6	4,92 $\pm$ 2,26	3,75 $\pm$ 0,53	0,0142
IL-8	38,08 $\pm$ 9,82	17,18 $\pm$ 5,61	0,0002
IL-10	11,21 $\pm$ 2,18	6,45 $\pm$ 0,61	0,0078
IL-20	7,50 $\pm$ 4,61	4,37 $\pm$ 0,75	0,087

Среди 486 потенциальных биомаркерных белков, ответственных за адгезию и миграцию клеток воспаления и участвующих в развитии иммунного ответа, по результатам автоматизированного сличения белковых молекул с базой TagIdent, наибольшая экспрессия отмечалась у калгранулина A S100A8 — миелоид-ассоциированного белка-8 (MRP-8) (10,8 кДа), и калгранулина B S100A9 — миелоид-ассоциированного белка-14 (MRP-14) (13,2 кДа), образующих единый гетеродимер (24,0 кДа), также известный как калпротектин (рис. 1).

Помимо гетеродимерного белка MRP8/MRP14, повышение IL-8 также коррелировало с хроматографическими пиками белков из диапазона 12692-12698 Да — катепсин В, хромогранин А (CMGA), фибронектин тип 3 (FNDC5), калликреин-пептидаза 8 (KLK8), амилоид А4 (SAA4), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), однако величина их экспрессии была минимум в 22 раза ниже вышеуказанного гетеродимера MRP8/MRP14. Белковый гетеродимерный комплекс MRP8/MRP14 показал четкую положительную связь с титром циркулирующего IL-8 ( $p = 0,009$ ) (рис. 2), при этом длительность заболевания подагрой и наличие тофусов положительно коррелировали с соотношением IL-8 к MRP8/MRP14 ( $p = 0,041$ ). В обеих исследуемых группах уровень мочевой кислоты показал слабую корреляционную связь с высоким титром MRP8/MRP14 или IL-8 ( $p = 0,084$ ), что соотносится с различной выраженностью клинических проявлений подагры и коморбидной патологии при вариабельном уровне мочевой кислоты в сыворотке крови (рис. 3).

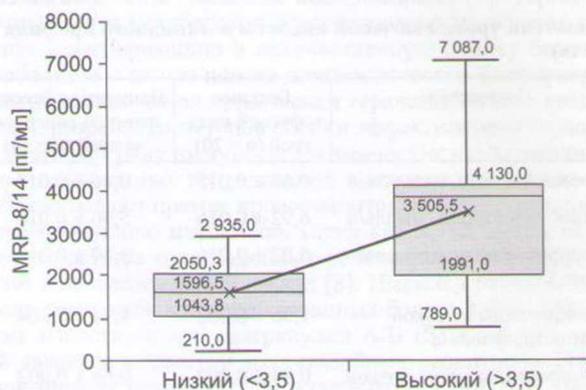


Рис. 1. Соответствие масс-спектрометрических пиков белкам MRP8, MRP14 и MRP8/14 после профилирования кандидатных маркеров по системе TagIdent.

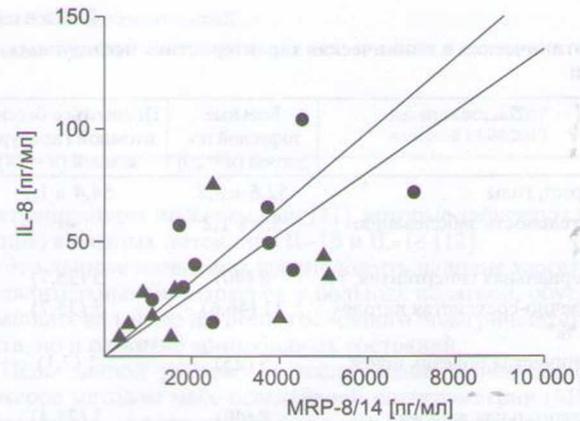


Рис. 2. Повышение уровня MRP8/14 коррелирует с титром IL-8 у больных тофусной подагрой (круги) и у обследуемых с бессимптомной гиперурикемией (треугольники).

Тем не менее, по приведенным результатам, обследуемые с высокими показателями белков MRP8/MRP14 имели больший удельный индекс атерогенности ( $p = 0,0012$ ) (рис. 4), что отражает более выраженные отклонения липидного профиля.

Проведенные исследования путем анализа группы провоспалительных цитокинов и циркулирующего протеома в сыворотке крови показали наличие таргетных биомаркеров у больных подагрическим артритом. Высокий уровень IL-8 (также описанный в литературе как CXCL8, хемокин подсемейства CXC) [14] — одного из основных провоспалительных хемотаксических цитокинов, продуцируемых макрофагами и активированными эндотелиальными клетками. По последним данным, IL-8 накапливается не только в эндотелии атеросклеротически измененных сосудов, но и в самих атеросклеротических бляшках [15], что делает его независимым предиктором кардиоваскулярной патологии и метаболических сдвигов как у больных подагрой, так и у людей с бессимптомной гиперурикемией. Выявленный масс-спектрометрическим методом димерный белковый комплекс MRP8/MRP14 является агонистом толл-подобных рецепторов 4 (TLR4), активация которого также запускает внутриклеточный сигнальный путь NF- $\kappa$ B и продукцию провоспалительных цитокинов [10], и наряду с кардиоваскулярными поражениями ассоциируется с развитием нарушения толерантности к глюкозе, метаболическим синдромом, НЖБП и сахарным диабетом 2-го типа [5, 15]. По

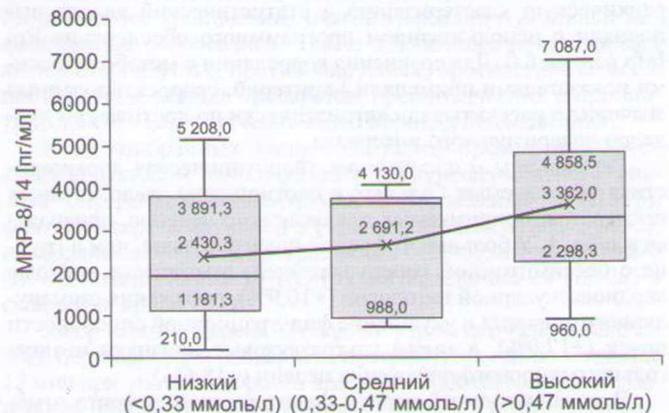


Рис. 3. Распределение больных тофусной подагрой и обследуемых с бессимптомной гиперурикемией по терциям содержания мочевой кислоты в сыворотке крови, MRP8/14 имеет слабую корреляцию с уровнем мочевой кислоты.

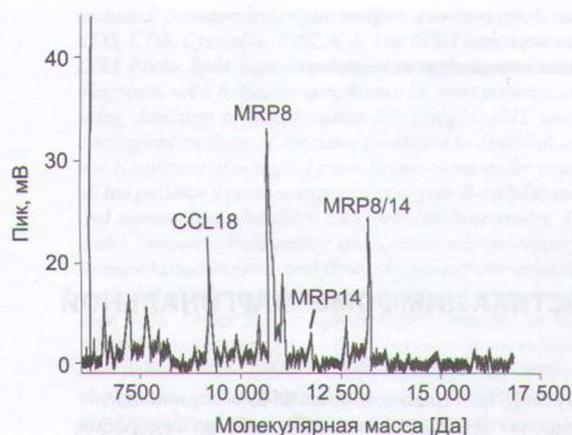


Рис. 4. Распределение больных тофусной подагрой и обследуемых с бессимптомной гиперурикемией по медиане индекса атерогенности, MRP8/14 имеет положительную корреляцию с повышенным индексом атерогенности ((ОХС-ЛПВП)/ЛПВП).

данным различных авторов, наряду с IL-8, у пациентов с метаболическими сдвигами также наблюдается экспрессия таких медиаторов, как IL-32, CXCL-7, тромбопоэтин, апелин и др., и вместе с тем снижение титра вазопротективных медиаторов, таких как онкостатин М, хромогранин А, вазостатин и др. [16] Однако более полная расшифровка протеома и расширенный поиск кандидатных биомаркеров ограничиваются малой репрезентативной выборкой, существенной длительностью исследования (на анализ одного образца требуется около 1,5 ч и в среднем 60 дней на все исследование) и чувствительностью газовой-жидкостной масс-спектрометрии [7]. В определенной степени эти недостатки могут быть нивелированы двухэтапным протеомным подходом, при котором за профилированием и функциональной категоризацией белков следует мониторинг множественных реакций (MRM масс-спектрометрия) для ускоренного определения белковых фракций в анализе без необходимости проведения иммунологического профилирования [17]. Однако данный метод отличается затратностью и в ряде исследований продемонстрировал значительные расхождения с иммуносорбентными методиками исследования.

Кроме того, белковый комплекс MRP8/MRP14 (калgranулин А/В) наряду с сывороточным белком А, виментином, коактозин-подобным белком-1 и др. не является высокоспецифичным для гиперурикемии и подагрического артрита с тофусами. Имеются данные о повышении титра калгранулина А, В и С у больных ревматоидным артритом (преимущественно эрозивным), системным склерозом (склеродермией) [18].

**Заключение.** Полученные данные позволили выявить специфические протеомные маркеры у больных подагрой — циркулирующего интерлейкина-8 (IL-8)/CXCL8 и ассоциированного гетеродимерного белкового комплекса MRP8/MRP14, коррелирующих со сдвигами метаболических показателей: ХС, ЛПНП, ЛПВП, ЛПОНП, ТГ, мочевой кислоты — как у больных тофусной подагрой, так и у людей с бессимптомной гиперурикемией, которые являются независимыми предикторами развития в данной популяции сердечно-сосудистой патологии, НЖБП и метаболического синдрома. Дальнейшее развитие и применение протеомных технологий позволит проводить системный анализ молекулярных механизмов подагры, а также сопутствующих ей коморбидных состояний.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3—6, 9—12, 14—18 см. REFERENCES)

2. Барскова В.Г., Ильиных Е.В., Елисеев М.С. Кардиоваскулярный риск у больных подагрой. *Ожирение и метаболизм*. 2006; 3(8): 40—3.
7. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Протеомные исследования в ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2012; 6(50): 56—62.
8. Елисеев М.С., Барскова В.Г., Насонов Е.Л. Канакинумаб (ингибитор интерлейкина 1 $\beta$  — прорыв в возможностях противовоспалительной терапии при подагре. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51(4): 428—31.
13. Ватулин Н.Т., Смирнова А.С., Гриценко Ю.П. Диагностика, лечение и профилактика подагры: международные клинические рекомендации 2014 г. *Современная ревматология*. 2015; 9(3): 70—2.

REFERENCES

1. Martinon F., Glimcher L.H. Gout: new insights into an old disease. *J. Clin. Invest.* 2006; 116(8): 2073—5.
2. Barskova V.G., Ilyikh E.V., Eliseev M.S. et al. Cardiovascular risk in patients with gout. *Ozhirenie i metabolizm*. 2006; 3(8): 40—3. (in Russian)
3. Kuo C.F., See L.C., Luo S.F., Ko Y.S., Lin Y.S., Hwang J.S. et al. Gout: an independent risk factor for all-cause and cardiovascular mortality. *Rheumatology (Oxford)*. 2010; 49: 141—6.
4. Kanbay M., Jensen T., Solak Y., Le M., Roncal-Jimenez C., Rivard C. et al. Uric acid in metabolic syndrome: from an innocent bystander to a central player. *Eur. J. Intern. Med.* 2016; 29: 3—8.
5. Bass M., Merriman R. Fatty acid metabolism and lipotoxicity in the pathogenesis of NAFLD/NASH. *Fatty Liver Disease: NASH and Related Disorders. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2010; 21: 109—22.
6. Piret S.E., Danoy P., Dahan K. et al. Genome-wide study of familial juvenile hyperuricaemic (gouty) nephropathy (FJHN) indicates a new locus, FJHN3, linked to chromosome 2p22.1—p21. *Hum. Genet.* 2011; 129: 51—8.
7. Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Nasonov E.L. Proteomic studies in rheumatology. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2012; 6(50): 56—62. (in Russian)
8. Eliseev M.S., Barskova V.G., Nasonov E.L. Kanakinumab (inhibitor of interleukin 1 $\beta$  — a breakthrough in the possibilities of anti-inflammatory therapy for gout. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2013; 51(4): 428—31. (in Russian)
9. Vogl T., Tenbrock K., Ludwig S., Leukert N., Ehrhardt C., van Zoelen M.A. et al. MRP8 and MRP14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat. Med.* 2007; 13: 1042—9.
10. Kim S.J., Chae S., Kim H., Mun D.G., Back S., Choi H.Y., Park K.S., Hwang D., Choi S.H., Lee S.W. A protein profile of visceral adipose tissues linked to early pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Mol. Cell. Proteomics*. 2014; 13: 811—22.
11. Schauer C., Janko C., Munoz L., Zhao Y., Kienhofer D., Frey B. et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat. Med.* 2014; 20: 511—7.
12. Chang X., Cui Y., Zong M. et al. Identification of proteins with increased expression in rheumatoid arthritis synovial tissues. *J. Rheumatol.* 2009; 36: 872—80.
13. Vatuin N.T., Smirnova A.S., Gritsenko Yu.P. Diagnosis, treatment and prevention of gout: international clinical guidelines — 2014. *Sovremennaya revmatologiya*. 2015; 9(3): 70—2. (in Russian)
14. Inoue T., Komoda H., Nonaka M., Kameda M., Uchida T., Node K. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Int. J. Cardiol.* 2008; 124: 319—25.
15. Shih M.H., Lazo M., Liu S.H., Bonekamp S., Hernaez R., Clark J.M. Association between serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease in the US population. *J. Formos. Med. Assoc.* 2015; 114: 314—20.
16. Baumann M., Schmaderer C., Burkhardt K., Haller B., Heemann U., Dugi K. et al. MRP8/14 is associated with systemic inflammation in stable coronary atherosclerosis in men. *Eur. J. Clin. Invest.* 2011; 41: 1261—7.
17. Boja E.S., Rodriguez H. Mass spectrometry-based targeted quantitative proteomics: achieving sensitive and reproducible detection of proteins. *Proteomics*. 2012; 12: 1093—1110.
18. Van Bon L., Cossu M., Lof A., Gohar F., van den Berg W., van Heerde W. et al. Proteomic analysis of plasma identifies the Tolllike receptor agonists S100A8/A9 as a novel possible marker for systemic sclerosis phenotype. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 1585—9.

Поступила 30.03.17  
Принята к печати 15.04.17