

# Ассоциация между полиморфизмом -2518A/G гена CCL2 и уровнями С-реактивного белка при разных клинических и серологических фенотипах системной склеродермии в российской когорте больных

Крылов М.Ю., Ананьева Л.П., Гусева И.А., Самаркина Е.Ю., Конева О.А., Старовойтова М.Н., Десинова О.В., Овсянникова О.Б.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой  
115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34А

Установлено, что полиморфизмы генов медиаторов воспаления, тканевых матричных белков и ростовых факторов вовлечены в аутоиммунные и фибротические процессы при системной склеродермии (ССД). Хемокин CCL2 является ключевым воспалительным белком, присутствующим в циркулирующей крови и в очагах повреждения кожи больных ССД. Цель настоящего исследования состояла в изучении связи полиморфизма -2518 A/G гена CCL2 с уровнем С-реактивного белка (СРБ) у больных с разными клиническими и серологическими фенотипами ССД. В общей группе пациентов носители генотипа -2518AA имели статистически значимо более высокий средний уровень СРБ по сравнению с носителями аллеля -2518G (AG+GG генотипы) ( $p=0,032$ ). Сходные различия уровней СРБ были получены у пациентов с диффузной формой ССД и у пациентов с позитивными титрами антител к топоизомеразе I ( $p=0,041$  и  $p=0,042$  соответственно). Выводы. Носительство генотипа -2518AA ассоциировано с высоким уровнем СРБ у больных с плохим прогнозом ССД (диффузная форма и позитивные титры аутоантител к топоизомеразе I) по сравнению с носительством аллеля -2518G. Полиморфизм -2518A/G гена CCL2 может быть использован в качестве генетического маркера тяжести и неблагоприятного прогноза ССД.

**Ключевые слова:** системный склероз, диффузная форма системного склероза, интерстициальное поражение легких, полиморфизм гена CCL2, уровни С-реактивного белка, аутоантитела к топоизомеразе I.

**Для цитирования:** Крылов М.Ю., Ананьева Л.П., Гусева И.А., Самаркина Е.Ю., Конева О.А., Старовойтова М.Н., Десинова О.В., Овсянникова О.Б. Ассоциация между полиморфизмом -2518A/G гена CCL2 и уровнями С-реактивного белка при разных клинических и серологических фенотипах системной склеродермии в российской когорте больных. *Медицинская генетика* 2019; 18(7): 34-39.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.07.34-39

**Автор для корреспонденции:** Крылов Михаил Юрьевич: e-mail: mekry@yandex.ru

**Финансирование:** Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования России на выполнение НИР.

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

**Поступила:** 22.07.2019

## Association between (rs1024611) -12518A/G CCL2 gene polymorphism and serum level of C-reactive protein with different clinical and serological phenotypes of systemic sclerosis in the Russian cohort of patients

Krylov M., Ananieva L., Guseva I., Samarkina E., Koneva O., Starovoytova M., Desinova O., Ovsaynnikova O.

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology  
Kashirskoye shosse 34A, 115522 Moscow, Russia

It has been established that polymorphisms of inflammatory mediator genes, tissue matrix proteins and growth factors are involved in autoimmune and fibrotic processes in systemic sclerosis (SSc). CCL2 chemokine is a key inflammatory protein present in the circulating blood and in the lesions of the skin of patients with SSc. The purpose of this study was to study the association of the polymorphism -2518 A / G of the CCL2 gene with C-reactive protein (CRP) levels among patients with different clinical and serological phenotypes of SJS. In the general group of patients, carriers of the genotype -2518AA had a statistically significant higher average CRP level compared to carriers of the -2518G allele (AG + GG genotypes) ( $p = 0.032$ ). Similar differences in CRP levels were obtained in patients with a diffuse form of SJS and in patients with positive antibody titers to topoisomerase I ( $p = 0.041$  and  $p = 0.042$ , respectively). Conclusions: The carriage of the -2518AA genotype was significantly associated with a high level of CRP in patients with poor prognosis of SSc (presence of a diffuse form and seropositive autoantibody titers to topoisomerase I) compared with patients carrying the -2518G allele. Polymorphism -2518 A / G of the CCL2 gene can be used as a genetic marker of severity and poor prognosis for SSc.

**Keywords:** systemic sclerosis, diffuse form systemic sclerosis (dcSSc), interstitial lung disease (ILD), CCL2 gene polymorphism, C-reactive protein levels, anti-topoisomerase I antibodies (ATA).

**For citation:** Krylov M., Ananieva L., Guseva I., Samarkina E., Koneva O., Starovoytova M., Desinova O., Ovsaynnikova O. Association between (rs1024611)-12518A/G *CCL2* gene polymorphism and serum level of C-reactive protein with different clinical and serological phenotypes of systemic sclerosis in the Russian cohort of patients. *Medical genetics* 2019; 18(7): 34-39 [In Rus].

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.07.34-39

**Corresponding author:** Krylov Mikhail; e-mail: mekry@yandex.ru

**Funding:** The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**Conflict of interests:** The authors declare no conflict of interests.

**Accepted:** 22.07.2019

## Введение

Системная склеродермия (ССД) представляет собой комплексное аутоиммунное заболевание, которое характеризуется фибротическими изменениями соединительной ткани кожи и внутренних органов [1]. Одной из характерных особенностей гистологической картины ССД является наличие инфильтратов из мононуклеарных клеток в коже, особенно на ранней стадии заболевания, ассоциированных с повышенным синтезом коллагена. Считается, что кожные фибробласты играют важную роль в патогенезе склероза кожи, синтезируя повышенные количества коллагена I, III, VI и VII типов, гликозамингликанов, декорина и фибронектина. Коллаген подвергается деградации ферментами матричными-металлопротеиназами (ММП-1, -2, -3), что приводит к снижению его содержания [2]. Этиология ССД не ясна, однако было установлено, что полиморфизмы генов медиаторов воспаления, тканевых матричных белков и ростовых факторов вовлечены в аутоиммунные и фибротические процессы при ССД [3]. В частности, лиганд хемокина 2 (*CCL2*) является хемоаттрактантом для моноцитов и макрофагов и был выявлен в циркулирующей крови и очагах повреждения кожи больных ССД [4]. Показано, что уровни *CCL2* у больных ССД достоверно повышены по сравнению с контролем [5,6]. Полиморфизм в дистальной регуляторной области гена *CCL2* в позиции -2518 относительно старта транскрипции был впервые идентифицирован Rovin с соавт. [7]. С-реактивный белок (СРБ) является остро-фазным реактантом, который используется как маркер инфекции и воспаления [8]. Известно, что СРБ синтезируется гепатоцитами в результате стимуляции интерлейкином-6. В канадском исследовании [9] было показано, что повышенные уровни СРБ встречаются у 25% больных и ассоциируются с диффузным кожным подтипом ССД, небольшой длительностью заболевания и более тяжелым поражением кожи и легких. Уровень этого маркера был повышен почти у половины японских пациентов с ССД [10]. Механизмы, лежащие в основе ассоциации сывороточных уровней СРБ и ССД, не совсем ясны.

Вместе с тем существует достаточное число исследований, указывающих на участие генетических факторов в регуляции уровня СРБ в сыворотке.

Показано, что хемокин *CCL2* является ключевым воспалительным хемокином, играющим важную роль при хронических воспалительных состояниях [11,12]. Цель настоящего исследования состояла в изучении связи полиморфизма -2518A/G гена *CCL2* с предрасположенностью к ССД и уровнем СРБ у больных с разными клиническими и серологическими фенотипами ССД.

## Методы

### Пациенты и контроль

Демографические, клинические и аутоиммунные фенотипы исследованных больных ССД представлены в табл. 1.

Больные, включенные в настоящее исследование, были охарактеризованы и подразделены на подгруппы согласно критериям классификации Американской коллегии ревматологии (АКР) 1980 г. Когорта больных (n=91) была представлена пациентами, имеющими типичную развернутую картину болезни, средним возрастом  $49,8 \pm 12,4$  года и средней длительностью заболевания  $11,2 \pm 9,3$  года. Все больные не состояли в родстве, проживали в Центральном регионе России и находились на лечении в Институте ревматологии им. В.А. Насоновой в период с 2011 по 2014 гг. Контрольную группу составили 207 здоровых, не родственных между собой лиц, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных, не имеющих аутоиммунных заболеваний и проживающих в Московском регионе.

На основании медицинской документации (диагноз при выписке) все пациенты были стратифицированы по клиническому кожному фенотипу на группы с лимитированной (ЛФ) и диффузной (ДФ) формами. На основании характерной картины данных мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки пациенты

были разделены на имеющих интерстициальное поражение легких (ИПЛ+) или не имеющих его (ИПЛ-).

Аутоиммунные фенотипы включали пациентов, в сыворотке которых были выявлены положительные титры антинуклеарных антител (АНА+), антител к топоизомеразе I (АТА+) и антител к центромерам (АЦА+). АНА и АЦА определяли методом непрямой иммунофлюоресценции на HEp-2 клетках (НПИФ-HEp-2) с использованием набора реагентов «IMMSO Diagnostics» США, АТА – методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реагентов «Orgentec». Положительными результатами считали титры АНА и АЦА  $\geq 1/160$  ед/мл, АТА  $>25,0$  ед/мл. Уровни СРБ были определены в мг/л высокочувствительным иммунонефелометрическим методом (вчСРБ). Значение уровня СРБ  $>5$  мг/л считали повышенным (СРБ+), а уровень СРБ  $\leq 5$  мг/л – нормальным (СРБн).

#### Исследование полиморфизма (-2518A/G) гена CCL2

Геномная ДНК была выделена из свежих или замороженных образцов периферической крови с использованием набора «ГС-генетика» производства компании «ДНК-Технология» (Москва). Полиморфизм -2518A/G изучался методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ), как описано в исследовании [13]. В качестве праймеров использовали олигонуклеотидные последовательности, синтезированные в компании «Синтол» (Москва).

Исследование было одобрено этическим комитетом НИИР им. В.А. Насоновой и письменное информированное согласие было получено от всех пациентов.

#### Статистический анализ

Различия в распределении частот генотипов между больными и контролем были оценены путем прямого подсчета, используя точный критерий Фишера. В качестве референсного генотипа использовали наиболее частый АА генотип. Клинические фенотипы представлены как дихотомические переменные. Возраст и длительность заболевания представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $m \pm \delta$ ). Дисперсионный анализ связи между дихотомическими переменными и изученным полиморфизмом гена CCL2 был проведен с использованием ANOVA *post hoc* теста. Соответствие распределения частот генотипов закону Харди-Вайнберга в контрольной группе было проверено с использованием критерия  $\chi^2$ . Уровень значимости  $p < 0,05$  считали статистически достоверным. Статистический анализ полученных данных был выполнен в пакете программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc, Tulsa, USA).

#### Результаты

##### Полиморфизм -2518 A/G и фенотипы ССД

Распределение частот генотипов в группе контроля находилось в согласии с законом Харди-Вайнберга и было сходным с распределением, наблюдаемым в европейских популяциях [6,12]. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма -2518A/G гена CCL2 не показал значимых различий между больными в целом и контрольной группой (табл. 2). Не обнаружено связи изученного полиморфизма с полом, возрастом и клиническими и серологическими фенотипами ССД.

Таблица 1

Характеристика клинических и серологических фенотипов пациентов с системной склеродермией

Характеристика	Показатель
Пол: муж. /жен.	8/83
Возраст, ( $m \pm \delta$ ) лет	49,8 $\pm$ 12,3
Длительность заболевания, ( $M \pm \delta$ ) лет	11,2 $\pm$ 8,9
ЛФ, n (%)	46 (50,5)
ДФ, n (%)	45 (49,5)
ИПЛ (+), n (%)	74 (81,3)
АНА (+), n (%)	84 (92,3)
АТА (+), n (%)	51 (56,0)
АЦА (+), n (%)	14 (15,4)

**Примечание:** ЛФ – лимитированная форма, ДФ – диффузная форма, ИПЛ (+) – наличие интерстициального поражения легких, АНА (+) – наличие антинуклеарных антител, АТА (+) – наличие антител к топоизомеразе I, АЦА (+) – наличие антител к центромерам.

Анализ возможной ассоциативной связи полиморфизма -2518A/G гена *CCL2* с уровнем СРБ при разных клинических и серологических вариантах ССД показал, что носительство генотипа -2518AA связано с повышенным уровнем СРБ (табл. 3).

В общей группе пациентов носители генотипа -2518AA имели статистически значимо более высокий средний уровень СРБ по сравнению с носителями аллеля -2518G (генотипы AG и GG) ( $p=0,032$ ). Сходные значения уровней СРБ были получены у пациентов с ДФ заболевания ( $p=0,041$ ) и у пациентов с позитивными титрами АТА ( $p=0,042$ ). Пациенты с ИПЛ (+) и длительностью заболевания более 3 лет также имели тренд более высоких значений уровней СРБ у носителей генотипа -2518AA по сравнению с носителями аллеля -2518G, но различия не достигали статистически значимого уровня (табл. 3).

Таким образом, в настоящем исследовании у российской когорты больных ССД не установлена связь полиморфизма -2518A/G с предрасположенностью к ССД. Показано, что носительство генотипа -2518AA достоверно ассоциировано с высоким уровнем СРБ у больных с плохим прогнозом ССД (наличие ДФ, ИПЛ (+) и АТА серопозитивности) по сравнению с носителями аллеля -2518G. Полиморфизм -2518A/G гена *CCL2* может быть использован в качестве генетического маркера тяжести и неблагоприятного прогноза ССД.

### Обсуждение

Результаты, полученные в настоящем исследовании, показывают, что изученный полиморфизм -2518A/G гена *CCL2* не участвует в формировании предрасположенности к ССД у российских больных.

Таблица 2

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизма -2518A/G гена *CCL2* у больных ССД и в контроле**

Генотипы и аллели	ССД n=91, n (%)	Контроль n=207, n (%)	p
AA	48 (52,7)	112 (54,1)	н.д.
AG	41 (45,0)	78 (37,7)	н.д.
GG	2 (2,2)	17 (8,2)	н.д.
AG+GG	43 (47,2)	95 (45,9)	н.д.
A	137 (75,3)	302 (72,9)	н.д.
G	45 (24,7)	112 (27,1)	н.д.

Примечание: н.д. –  $p>0,05$ .

Таблица 3

**Средние значения уровня СРБ при разных клинических и серологических фенотипах ССД в зависимости от генетических вариантов полиморфизма -2518A/G гена *CCL2***

Фенотип	СРБ мг/л ( $m \pm \delta$ )		p ANOVA <i>post hoc</i>
	Генотип AA	Генотип AA+AG	
Все больные	<b>12,6 ± 17,5</b>	<b>5,1 ± 4,8</b>	<b>0,032</b>
ДФ	<b>16,6 ± 19,9</b>	<b>6,5 ± 4,6</b>	<b>0,041</b>
ЛФ	6,1 ± 11,1	4,3 ± 5,1	0,780
ИПЛ (+)	12,4 ± 15,6	5,7 ± 5,1	0,070
ИПЛ (-)	14,0 ± 26,6	3,1 ± 3,3	0,268
ИПЛ (+) длит. <3 лет	20,7 ± 21,6	9,3 ± 6,4	0,594
ИПЛ (+) длит. > 3лет	11,6 ± 17,2	4,6 ± 4,5	0,066
АТА (+)	<b>17,6 ± 20,9</b>	<b>5,9 ± 5,6</b>	<b>0,042</b>
АТА (-)	6,9 ± 10,3	4,1 ± 3,6	0,306

Примечание: ЛФ – лимитированная форма, ДФ – диффузная форма, ИПЛ (+) – наличие интерстициального поражения легких, АТА (+) – серопозитивность по антителам к топоизомеразе I.

В исследовании [6] было показано, что аллель -2518G был ассоциирован с повышенной транскрипционной активностью гена *CCL2*. Повышенная частота гомозигот -2518GG у немецких больных позволила авторам считать носительство аллеля -2518G фактором риска ССД. Однако, это наблюдение не было подтверждено в других когортах и популяционных группах.

В работе Radstake с соавт. [14] полиморфизм -2518A/G был изучен в когорте из 345 пациентов с ССД из Нидерландов и Германии и контрольной группе из 242 здоровых лиц. Авторы нашли сходное распределение частот генотипов между больными и контролем. В исследовании словацких коллег [15] на другой европейской популяции также не было обнаружено различий в распределении частот аллеля -2518G между больными ССД (46 человек) и здоровым контролем (449 индивидуумов). Авторы указывают на отсутствие связи изученного полиморфизма с предрасположенностью к ССД. Отсутствие различий в частотах полиморфных вариантов гена *CCL2* было подтверждено в исследовании Sagullí с соавт. [16]. Авторы изучили распределение частот 7 полиморфизмов гена *CCL2*: 3-х в промоторной области, 2-х в кодирующем экзоне, одного в 3'-нетранслируемой области и одного функционального -2518A/G полиморфизма. Не было найдено различий в распределении частот генотипов, аллелей и гаплотипов между больными и контролем или между группами пациентов с разными фенотипами. С другой стороны, в исследовании Cheng с соавт. [17] путём мета-анализа была показана ассоциация полиморфизма -2518A/G гена *CCL2* с предрасположенностью к некоторым аутоиммунным заболеваниям. Была установлена статистически значимая связь генотипов -2518AA и -2518AA+AG с предрасположенностью к ревматоидному артриту в азиатской популяции и к болезни Крона среди европейцев.

Механизмы, лежащие в основе ассоциации сывороточных уровней СРБ и ССД, не совсем ясны. Вместе с тем существует достаточное число исследований, указывающих на участие генетических факторов в регуляции уровней СРБ в сыворотке. Следует отметить, что большинство исследований, связанных с поиском связи между полиморфизмами гена *CCL2* и уровнями СРБ проведено в связи с осложнениями сердечно-сосудистых заболеваний: инфаркт миокарда, инсульт, ишемическая болезнь и др. При этих состояниях наблюдается статистически значимая ассоциация аллеля -2518G полиморфизма -2518A/G гена *CCL2* с уровнями СРБ. Висова с соавт. [12] в словацкой группе больных с кардиоваскулярными заболеваниями нашла высокие уровни СРБ, ассоциированные с носительством аллеля -2518G по сравнению с контрольной группой.

Ряд ассоциативных генетических исследований, включая полногеномные (GWAS), показал генетическую детерминированность уровней воспалительных маркеров, включая СРБ, при разных заболеваниях. В ряде исследований при ревматоидном артрите, ССД, красной волчанке и некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях был интенсивно изучен полиморфизм rs1205 гена *CRP* [18–20] и показана его связь с уровнями этого биомаркера.

## Заключение

В данном исследовании мы впервые установили, что генотип -2518AA ассоциирован с высокими уровнями СРБ у больных с плохим прогнозом ССД (наличие ДФ, ИПЛ (+) и АТА серопозитивности) по сравнению с носителями аллеля -2518G. Полиморфизм -2518 A/G гена *CCL2* может быть использован в качестве одного из генетических маркеров тяжести и неблагоприятного прогноза ССД.

Тем не менее, необходимо указать на некоторые ограничения настоящего исследования. Это исследование охватило выборки относительно небольшого объема, и наши результаты нуждаются в подтверждении в более крупных когортах пациентов из разных этнических групп.

## Список литературы

1. Elhai M., Meune C., Avouac J., Kahan A., Sllanore Y. Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology (Oxford)*. 2012; 51:1017–26. doi: 10.1093/rheumatology/ker269
2. Hawk A., English F.C. Localized and systemic scleroderma. *Semin Cutan Med Surg*. 2001; 20:27–37. doi: 10.1053/der.2001.23093
3. Kovacs E.J., DiPietro L.A. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 1994; 8:854–861. doi: 10.1096/fasebj.8.11.7520879
4. Boring L., Charo I.F., Rollins B.J. MCP-1 in human disease: Insights gained from animal models. In: Totowa N (ed). *Chemokines in Disease: Biology and Clinical Research*, 1st edn. Humana, 1999; p 53–65.
5. Hasegawa M., Sato S., Takehara K. Augmented production of chemokines (monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1a (MIP-1a) and MIPb) in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP-1a may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol*. 1999; 117:159–165. doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.00929.x
6. Karrer S., Bosserhoff A.K., Weiderer P., Distler O., Landthaler M., Szeimies R.M., Muller-Ladner U., Scholmerich J., and Hellerbrand C. The -2518 Promotor Polymorphism in the MCP-1 Gene Is Associated with Systemic Sclerosis. *J Invest Dermatol*. 2005; 124:92–98. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23512.x
7. Rovin B.H., Lu L., Saxena R. A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 259:344–348. doi: 10.1006/bbrc.1999.0796

8. Mortensen R.F. C-reactive protein, inflammation and innate immunity. *Immunol Res.* 2001; 24:163-76. doi: 10.1385/IR:24:2:163
9. Muangchan C., Harding S., Khimdas S., Bonner A., Canadian Scleroderma Research Group. Baron M, et al. Association of C-reactive protein with high disease activity in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012; 64:1405-14. doi: 10.1002/acr.21716
10. Ohtsuka T. Serum interleukin-6 level is reflected in elevated high-sensitivity C-reactive protein level in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2010; 37:801-6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.00883.x
11. Bucova M., Bernadic M., Buckingham T. C-reactive protein, cytokines and inflammation in cardiovascular diseases. *Bratislavské Lekárske Listy.* 2008; 109(8):333-340. PMID: 18837239
12. Bucova M., Lietava J., Penz P., Mrazek F., Petrková J., Bernadic M., Petrek M. Association of MCP-1 -2518 A/G Single Nucleotide Polymorphism with the Serum Level of CRP in Slovak Patients with Ischemic Heart Disease, Angina Pectoris, and Hypertension. *Mediators Inflamm.* 2009; 2009: 390951. doi: 10.1155/2009/390951
13. Крылов М.Ю., Беневоленская Л.И., Мякоткин В.А. Полиморфизм A19G гена лептина и полиморфизмы Gln223Arg и Lys109Arg гена рецептора лептина при постменопаузальном остеопорозе. *Научно-практическая ревматология.* 2010;48(5):27-31
14. Radstake T.R., Vonk M.C., Dekkers M., et al. The -2518A/G promoter polymorphism in the CCL2 gene is not associated with systemic sclerosis susceptibility or phenotype: result from a multicenter study of European Caucasian patients. *Hum Immunol* 2009; Feb;70(2):130-3. doi: 10.1016/j.humimm.2008.10.012
15. Navratilova Z., Lukas J., Mrazek F., et al. MCP-1 -2518A/G single nucleotide polymorphism in Slovak patients with systemic sclerosis. *Mediators Inflamm.* 2008; 2008:204063. doi: 10.1155/2008/204063
16. Carulli M.T., Spagnolo P., Fonseca C., et al. Single-nucleotide polymorphisms in CCL2 gene are not associated with susceptibility to systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2008; 35(5): 839-44. PMID: 18381789
17. Chen S., Deng C., Hu C., et al. Association of MCP-1 -2518A/G polymorphism with susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2016; 35(5):1169-79. doi:10.1007/s10067-015-3060-5
18. Rhodes B., Merriman M.E., Harrison A., et al. A genetic association study of serum acute-phase C-reactive protein levels in rheumatoid arthritis: implications of clinical interpretation. *PLoS Med.* 2010; 7: e1000341. doi: 10.1371/journal.pmed.1000341.
19. Shih P.B., Manzi S., Shaw P., et al. Genetic variation in C-reactive protein (CRP) gene may be associated with risk of systemic lupus erythematosus and CRP concentrations. *J Rheumatol.* 2008;35:2171-78. doi: 10.3899/jrheum.080262
20. Wypasek E., Potaczek D. and Undas A. Association of the C-reactive Gene (CRP) rs1205 C>T Polymorphism with Aortic Valve Calcification in Patients with Aortic Stenosis. *Int J Mol Sci* 2015; 16:23745-23759 doi: 10.3390/ijms161023745
5. Hasegawa M., Sato S., Takehara K. Augmented production of chemokines (monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1a (MIP-1a) and MIPb) in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP-1a may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol.* 1999; 117:159-165. doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.00929.x
6. Karrer S., Bosserhoff A.K., Weiderer P., Distler O., Landthaler M., Szeimies R.M., Muller-Ladner U., Scholmerich J., and Hellerbrand C. The -2518 Promotor Polymorphism in the MCP-1 Gene Is Associated with Systemic Sclerosis. *J Invest Dermatol.* 2005; 124:92-98. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23512.x
7. Rovin B.H., Lu L., Saxena R. A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 259:344-348. doi: 10.1006/bbrc.1999.0796
8. Mortensen R.F. C-reactive protein, inflammation and innate immunity. *Immunol Res.* 2001; 24:163-76. doi: 10.1385/IR:24:2:163
9. Muangchan C., Harding S., Khimdas S., Bonner A., Canadian Scleroderma Research Group. Baron M, et al. Association of C-reactive protein with high disease activity in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012; 64:1405-14. doi: 10.1002/acr.21716
10. Ohtsuka T. Serum interleukin-6 level is reflected in elevated high-sensitivity C-reactive protein level in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2010; 37:801-6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.00883.x
11. Bucova M., Bernadic M., Buckingham T. C-reactive protein, cytokines and inflammation in cardiovascular diseases. *Bratislavské Lekárske Listy.* 2008; 109(8):333-340. PMID: 18837239
12. Bucova M., Lietava J., Penz P., Mrazek F., Petrková J., Bernadic M., Petrek M. Association of MCP-1 -2518 A/G Single Nucleotide Polymorphism with the Serum Level of CRP in Slovak Patients with Ischemic Heart Disease, Angina Pectoris, and Hypertension. *Mediators Inflamm.* 2009; 2009: 390951. doi: 10.1155/2009/390951
13. Krylov M.Y., Benevolenskaya L.I., Myakotkin V.A. Polimorfizm A19G гена лептина и полиморфизмы Gln223Arg и Lys109Arg гена рецептора лептина при постменопаузальном остеопорозе [Leptin A19G polymorphism and leptin receptor Gln223Arg and Lys109Arg polymorphisms in postmenopausal osteoporosis]. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya [Rheumatology Science and Practice]*. 2010;48(5):27-31. (In Russ.)
14. Radstake T.R., Vonk M.C., Dekkers M., et al. The -2518A/G promoter polymorphism in the CCL2 gene is not associated with systemic sclerosis susceptibility or phenotype: result from a multicenter study of European Caucasian patients. *Hum Immunol* 2009; Feb;70(2):130-3. doi: 10.1016/j.humimm.2008.10.012
15. Navratilova Z., Lukas J., Mrazek F., et al. MCP-1 -2518A/G single nucleotide polymorphism in Slovak patients with systemic sclerosis. *Mediators Inflamm.* 2008; 2008:204063. doi: 10.1155/2008/204063
16. Carulli M.T., Spagnolo P., Fonseca C., et al. Single-nucleotide polymorphisms in CCL2 gene are not associated with susceptibility to systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2008; 35(5): 839-44. PMID: 18381789
17. Chen S., Deng C., Hu C., et al. Association of MCP-1 -2518A/G polymorphism with susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2016; 35(5):1169-79. doi:10.1007/s10067-015-3060-5
18. Rhodes B., Merriman M.E., Harrison A., et al. A genetic association study of serum acute-phase C-reactive protein levels in rheumatoid arthritis: implications of clinical interpretation. *PLoS Med.* 2010; 7: e1000341. doi: 10.1371/journal.pmed.1000341.
19. Shih P.B., Manzi S., Shaw P., et al. Genetic variation in C-reactive protein (CRP) gene may be associated with risk of systemic lupus erythematosus and CRP concentrations. *J Rheumatol.* 2008;35:2171-78. doi: 10.3899/jrheum.080262
20. Wypasek E., Potaczek D. and Undas A. Association of the C-reactive Gene (CRP) rs1205 C>T Polymorphism with Aortic Valve Calcification in Patients with Aortic Stenosis. *Int J Mol Sci* 2015; 16:23745-23759 doi: 10.3390/ijms161023745

## References

1. Elhai M, Meune C, Avouac J, Kahan A, Sllanore Y. Trends in mortality in patients Elhai M., Meune C., Avouac J., Kahan A., Sllanore Y. Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology (Oxford)*. 2012; 51:1017-26. doi: 10.1093/rheumatology/ker269
2. Hawk A., English F.C. Localized and systemic scleroderma. *Semin Cutan Med Surg.* 2001; 20:27-37. doi: 10.1053/sder.2001.23093
3. Kovacs E.J., DiPietro L.A. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 1994; 8:854-861. doi: 10.1096/fasebj.8.11.7520879
4. Boring L., Charo I.F., Rollins B.J. MCP-1 in human disease: Insights gained from animal models. In: Totowa N (ed). *Chemokines in Disease: Biology and Clinical Research*, 1st edn. Humana, 1999; p 53-65.