

На правах рукописи

**ИВАНИЦКИЙ
Людвиг Валерьевич**

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ
(-511)С/Т IL-1В, (-174)G/С IL-6, (-1082)G/А IL-10, С/Т (RS12979860) И Т/G
(RS8099917) IL-28В, 915G/С TGF-В1 ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПАТОЛОГИИ
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ**

Специальность 14.01.04 – внутренние болезни

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре внутренних болезней факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Научные руководители: академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
МУХИН Николай Алексеевич

кандидат медицинских наук, доцент
САМОХОДСКАЯ Лариса Михайловна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии лечебного факультета ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России
РЕБРОВ Андрей Петрович

доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник
ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой
БЕКЕТОВА Татьяна Валентиновна

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России

Защита состоится « _____ » _____ 2019 года в _____ часов на заседании Диссертационного совета Д212.203.18 по защите докторских и кандидатских диссертаций при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61, ГБУЗ ГКБ им. В. В. Виноградова ДЗМ.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макляя, д.6.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2019 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент _____ А. А. Шаваров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Системная красная волчанка (СКВ) представляет собой аутоиммунное системное заболевание соединительной ткани и сосудов, характеризующееся повреждением многих органов и систем. Течение СКВ отличается непредсказуемостью и часто демонстрирует развитие тяжелых клинических форм с вовлечением внутренних органов, которое во многом определяет прогноз заболевания (Мазуров В. И., 2005, Мухин Н. А., 2009). Наиболее значимым висцеритом при СКВ является волчаночный нефрит (ВН), который расценивается как предвестник неблагоприятного исхода СКВ (Краснова Т. Н., 2008).

Первичным патогенетическим звеном СКВ считается формирование аутоантител и депонирование иммунных комплексов с последующим развитием иммунного воспаления. Гиперпродукции аутоантител способствует повышенная активность апоптоза совместно с нарушением элиминации апоптотических клеток и продуктов ядерной деградации. В свою очередь, иммуновоспалительное повреждение тканей и органов развивается на фоне нарушения иммунорегуляторных механизмов, опосредованного дисбалансом продукции про- и противовоспалительных цитокинов (Ohl K. и соавт., 2011).

Значимая роль в патогенезе СКВ и ее осложнений принадлежит провоспалительным (интерлейкины 1 и 6, TNF- α , интерфероны I и II типа) и иммунорегуляторным цитокинам (интерлейкин-10, трансформирующий фактор роста- β 1). Дополнительно рассматривается значение интерлейкинов 2, 17, 22 и 28 в формировании данного заболевания. В последнее время в рамках изучения механизмов, противостоящих повреждению почечной ткани (система «самозащиты» почки), в том числе и при СКВ, обсуждается дуализм эффектов цитокинов по отношению к процессам ограничения аутоиммунного воспаления в пораженных тканях (Бобкова И.Н., 2013).

Одним из цитокинов, принимающих участие в выработке аутоантител у больных СКВ, является интерлейкин 1 β (IL-1 β), секреция которого значительно повышена при данном заболевании (Umare V. и соавт., 2014). Также описана взаимосвязь уровня IL-1 β с развитием ВН, синдрома Рейно, поражения кожи и антифосфолипидного синдрома у пациентов с СКВ (Шилкина Н.П. и соавт., 2005; Umare V. и соавт., 2018). Повышение концентрации интерлейкина-6 (IL-6) тесно связано с развитием СКВ и ВН (Landolt-Marticorena C. и соавт., 2016), а также коррелирует с повышением уровня таких клинических показателей как С-реактивный белок, СОЭ и концентрация аутоантител (Yin Z. и соавт., 2014). Интерлейкин-10 (IL-10) играет важную роль в ограничении воспалительного процесса (Ireland S.J. и соавт., 2015). При наличии дефицита IL-10 показано более тяжелое течение СКВ с нарушением функции почек, а также повышение частоты формирования нервно-психических и сердечнососудистых нарушений (Lopez P. и соавт., 2010; Saeed A.M. и соавт., 2016). У пациентов с СКВ отмечается повышенный уровень интерлейкина-28В (IL-28В) в сыворотке крови (Lin S.C. и соавт., 2012), а также пониженный уровень трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) (Xing Q. и соавт., 2012). Более того, снижение уровня TGF- β 1 коррелирует с тяжестью поражения почек (Jin T. и соавт., 2012).

В связи с доминирующей концепцией персонифицированного подхода к терапии, в настоящее время, наряду с клиническими предикторами развития СКВ обсуждаются генетические особенности пациентов, поскольку носительство значимых полиморфных аллелей тех или иных генов является своеобразным преморбидным фоном, способным влиять на течение заболевания, развитие осложнений, а также на эффективность иммуносупрессивной терапии.

Цель исследования: изучить прогностическое значение полиморфных маркеров генов цитокинов (-511)C/T гена IL-1 β , (-174)G/C гена IL-6, (-1082)G/A гена IL-10, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) гена IL-28В и 915G/C гена TGF- β 1 для развития СКВ и особенностей ее клинического течения.

Задачи исследования:

1. Изучить и сопоставить частоту встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма генов цитокинов (-511)C/T гена IL-1 β , (-174)G/C гена IL-6, (-1082)G/A гена IL-10, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) гена IL-28B и 915G/C гена TGF- β 1 у пациентов с СКВ и в популяции.
2. Оценить взаимосвязь носительства выбранных генов с формированием предрасположенности к развитию поражения внутренних органов.
3. Определить взаимосвязь изученных генов с частотой развития и тяжестью поражения почек.
4. Разработать алгоритм лабораторно-генетического обследования пациентов с СКВ с учетом результатов многофакторного анализа выбранных генов.

Научная новизна:

1. Впервые проведено изучение и сопоставление частоты встречаемости полиморфных маркеров генов цитокинов (-511)C/T гена IL-1 β , (-174)G/C гена IL-6, (-1082)G/A гена IL-10, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) гена IL-28B и 915G/C гена TGF- β 1 у больных СКВ и в популяции.
2. Впервые проанализирована взаимосвязь частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B, TGF- β 1) с клиническим течением СКВ.
3. Впервые проведена многофакторная оценка носительства полиморфных аллелей генов цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B, TGF- β 1) и его взаимосвязи с формированием поражения почек при СКВ.
4. Впервые выявлены клинико-генетические ассоциации, обладающие прогностической значимостью по отношению к формированию быстро прогрессирующего ВН.

Практическая значимость:

1. Результаты проведенного исследования обосновывают необходимость проведения генодиагностического анализа при СКВ, в первую очередь, для выделения группы пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания, а также для прогнозирования развития определенных клинических проявлений СКВ.
2. Для прогнозирования развития быстро прогрессирующего ВН целесообразно учитывать совокупность как стандартных показателей, используемых в рутинной клинической практике (скорость клубочковой фильтрации (СКФ), уровень суточной протеинурии (СПУ)), так и результатов генодиагностического исследования аллельных вариантов 915G/C гена TGF- β 1 и T/G (rs8099917) гена IL-28B. Подобный подход позволит персонализировать выбор терапевтических схем лечения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Наиболее прогностически значимым по отношению к развитию СКВ является полиморфный вариант гена IL-10.
2. Носительство аллельных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β 1 и IL-28B ассоциировано с предрасположенностью к формированию определенных клинических проявлений СКВ. Поражение наибольшего количества органов и систем при СКВ коррелирует с носительством полиморфных аллелей гена IL-28B.
3. Важную роль при оценке генетической предрасположенности к формированию почечных осложнений при СКВ играет определение носительства аллельных вариантов генов IL-10 и IL-6. В то же время при прогнозировании тяжести течения ВН целесообразной является оценка носительства полиморфных маркеров генов IL-28B и TGF- β 1.
4. Для определения предрасположенности к формированию наиболее тяжелой быстро прогрессирующей формы ВН целесообразно оценивать сочетание клинических маркеров (СКФ, СПУ) и результатов генодиагностического исследования (аллельные варианты 915G/C гена TGF- β 1 и T/G (rs8099917) гена IL-28B).

Внедрение в практику. Результаты исследования используются в работе нефрологического и ревматологического отделений клиники нефрологии, внутренних и

профессиональных болезней им. Е. М. Тареева УКБ №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, в учебном процессе на кафедре внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова.

Апробация работы. Основные положения работы представлены и обсуждены на заседании кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова 5 июля 2018 года.

Материалы диссертации были представлены в тезисах и докладах на Международной конференции «Ломоносов» (Москва, 2010; Москва, 2011), на VII съезде научного общества нефрологов (Москва, 2010), на 48-й международной конференции ERA-EDTA (Prague, Czech Republic, 2011), на 50-й международной конференции ERA-EDTA (Istanbul, Turkey, 2013).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 10 печатных работ в отечественной и зарубежной печати, из них 4 – в научных рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации и результаты проведенного исследования соответствуют формуле специальности 14.01.04 – «внутренние болезни». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 1, 2 паспорта специальности «внутренние болезни».

Личный вклад автора. Автором самостоятельно разработан план, определены цель и задачи исследования, а также выполнены основные этапы диссертационной работы, включающие в себя библиографический поиск, сбор, анализ и обобщение клинического материала, статистическую обработку полученных результатов. Автор принимал непосредственное участие в определении тактики обследования и лечения пациентов с СКВ, госпитализированных в терапевтическое отделение УКБ №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова. Автор самостоятельно выполнил генодиагностическую часть исследования – выделение ДНК, несколько видов полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестриктный анализ. По результатам проведенного исследования автором сделаны выводы и разработаны практические рекомендации.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиография включает 181 источник литературы (34 – отечественные и 147 – зарубежные). Работа иллюстрирована 61 таблицей и 18 рисунками.

База проведения. Клиническая часть исследования выполнена на базе кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е. М. Тареева УКБ №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (зав. кафедрой и директор клиники – академик РАН, проф., д.м.н. Н. А. Мухин). Генодиагностическая часть исследования проведена в лаборатории генных и клеточных технологий кафедры биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова (зав. кафедрой – академик РАН, проф., д.б.н. В. А. Ткачук).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Контингент, материалы и методы исследования. В исследование был включен 281 человек славянской этнической группы обоих полов после получения добровольного информированного согласия.

Основную группу составили 99 пациентов с СКВ (78 женщин (78,8%) и 21 мужчина (21,2%)) в возрасте от 16 до 76 лет. Длительность наблюдения на момент формирования основной группы составила 5 и более лет для 72 пациентов, от 1 года до 5 лет – для 18 больных и 1 год и менее – для 9 больных. Диагноз СКВ ставился согласно критериям

Американской коллегии ревматологов. Активность СКВ для контроля эффективности проводимой терапии оценивали с использованием индекса SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index). Активность ВН оценивали на основе клинической классификации И.Е. Тареевой. В группу сравнения вошло 182 человека (122 мужчины (67%) и 60 женщин (33%)) – добровольные доноры крови без клинических проявлений СКВ.

У всех пациентов с СКВ подробно изучался анамнез жизни, включая установление факта случаев заболеваний СКВ у родственников, случаев активной инсоляции, стрессовых факторов, переливаний крови. Всем пациентам было проведено полное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, включая иммунологическое исследование сыворотки крови, рентгенографию легких, УЗИ органов брюшной полости и эхокардиографию, а также консультации профильных специалистов в зависимости от клинических проявлений заболевания.

Генетический анализ проводился методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) после выделения ДНК сорбентным методом из образцов венозной крови. Анализ аллельных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10 и TGF- β 1 проводился методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с последующим электрофорезом продуктов рестрикции в агарозном геле. Для анализа аллельных вариантов гена IL-28B использовалась ПЦР в режиме реального времени с использованием готовых тест-систем, включавших в себя смеси для амплификации, специфичные для каждого генетического полиморфизма.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statistica 10. При оценке и анализе полученных данных применялись стандартные методы описательной статистики с использованием t-критерия Стьюдента (для количественных показателей) и критерия χ^2 Пирсона и двустороннего точного критерия χ^2 Фишера с поправкой Йетса (для качественных показателей). Многофакторный анализ для создания прогностических моделей проводился при помощи линейной логистической регрессии.

Клиническая характеристика пациентов. Средний возраст пациентов, включенных в исследование, составил $36,8 \pm 14,0$ лет. У подавляющего числа пациентов заболевание было представлено в хронической форме в стадии ремиссии (83,8%), средняя продолжительность СКВ на момент формирования основной группы пациентов составила $15,5 \pm 10,3$ лет (от 3 до 50 лет). Среди женщин с СКВ, включенных в исследование, отягощенный акушерский анамнез (выкидыши, внутриутробная задержка роста плода) отмечался у 16 из 78 пациенток (20,5%).

У подавляющего числа пациентов (74 из 99, 74,7%) в дебюте СКВ отмечалось поражение только одного органа или системы и лишь у 25 пациентов (25,3%) поражение было полиорганным, затрагивающим две и более системы органов. Среди симптомов начала заболевания наиболее часто встречалось поражение суставов (52,6%), кожи (33,3%), почек (23,2%) и системы крови (14,1%). В 15,2% случаев поражение внутренних органов сопровождалось лихорадкой.

По мере развития заболевания у всех пациентов с СКВ отмечалось поражение одновременно нескольких органов и систем. У подавляющего большинства пациентов было выявлено поражение почек (68,7%) и кожи (63,6%). Поражение суставов отмечалось у 80 пациентов из 99, однако воспалительный характер изменений отмечался лишь у 37,4% пациентов, в то время как у 43,4% была выявлена артралгия. Также отмечались изменения в системе крови, представленные преимущественно анемией (55,6%).

ВН, как наиболее частое осложнение СКВ, был выявлен у 68 пациентов (68,7%). Из них у 62 человек (91,2%) отмечалась активная форма нефрита, у 6 (8,8%) – неактивная. У большинства пациентов с активной формой ВН (45 из 62, 72,5%) был диагностирован медленно прогрессирующий ВН (МПВН). Из них в 64,4% случаев (29 пациентов) ВН проявлялся нефротическим синдромом и в 35,6% (16 пациентов) – мочевым синдромом. Быстро прогрессирующий ВН (БПВН) был выявлен у 17 пациентов из 62 (27,4%).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Носительство полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B и TGF- β 1 и предрасположенность к формированию СКВ. Среди пациентов с СКВ и в группе сравнения не было выявлено различий по частоте встречаемости аллелей и генотипов исследуемых полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-28B и TGF- β 1 (табл. 1). У пациентов с СКВ отмечалась тенденция к более частому выявлению минорного генотипа GG (rs8099917) гена IL-28B в отличие от группы сравнения, однако эти различия не достигали статистической значимости (6,1% и 1,0% соотв., $p=0,06$).

Для полиморфного варианта (-1082)G/A гена IL-10 была продемонстрирована стойкая ассоциация с формированием предрасположенности к развитию СКВ (табл.1). Мажорный генотип (-1082)GG гена IL-10 достоверно чаще встречался в группе сравнения в отличие от пациентов с СКВ (37,4% и 19,2% соотв., $p=0,002$). В то же время носительство минорной A-аллели достоверно чаще встречалось у пациентов с СКВ в отличие от группы сравнения (52,0% и 39,6% соотв., $p=0,005$).

Таблица 1.

Структура распределения генотипов и аллелей исследованных генов цитокинов у пациентов с СКВ и в группе сравнения

Ген	Генотип/ аллель	Группа сравнения N = 182 % (n)	СКВ N= 99 % (n)	p для критерия χ^2 Фишера	ОШ (95%ДИ)
IL-1 β (-511)C/T	CC	42,3 (77)	41,4 (41)	0,9	0,96 (0,58-1,59)
	CT	45,6 (83)	46,5 (46)	0,9	1,04 (0,64-1,69)
	TT	12,1 (22)	12,1 (12)	1,0	1,0 (0,64-1,58)
	CT+TT	57,7 (105)	58,6 (58)	0,9	1,04 (0,63-1,70)
	T-аллель	34,9 (64)	35,4 (36)	0,896	1,02
IL-6 (-174)G/C	GG	36,3 (66)	28,3 (28)	0,188	0,69 (0,41-1,18)
	GC	47,8 (87)	50,5 (50)	0,708	1,11 (0,68-1,82)
	CC	15,9 (29)	21,2 (21)	0,327	1,42 (0,76-2,66)
	GC+CC	63,7 (116)	71,7 (71)	0,188	1,44 (0,84-2,46)
	C-аллель	39,8 (72)	46,5 (46)	0,312	1,31
IL-10 (-1082)G/A	GG	37,4 (68)	19,2 (19)	0,002	0,39 (0,22-0,71)
	GA	46,1 (84)	57,6 (57)	0,08	1,58 (0,96-2,59)
	AA	16,5 (30)	23,2 (23)	0,202	0,65 (0,35-1,20)
	GA+AA	62,6 (114)	80,8 (80)	0,002	2,51 (1,39-4,51)
	A-аллель	39,6 (144)	52,0 (103)	0,005	1,35
TGF- β 1 (915)G/C	GG	86,3 (157)	86,9 (86)	0,887	1,05 (0,51-2,17)
	GC	13,7 (25)	12,1 (12)	0,702	0,86 (0,41-1,81)
	CC	0 (0)	1,0 (1)	0,174	-
	GC+CC	13,7 (25)	13,1 (13)	0,887	0,95 (0,46-1,96)
	C-аллель	6,9 (13)	7,1 (7)	1,0	1,03
IL-28B C/T (rs1297986)	CC	46,1 (47)	45,9 (45)	0,564	0,99 (0,57-1,72)
	CT	43,1 (44)	39,8 (39)	0,887	0,87 (0,49-1,54)
	TT	10,8 (11)	14,3 (14)	0,524	1,37 (0,59-3,22)
	CT+TT	53,9 (55)	54,1 (53)	0,564	1,0 (0,58-1,73)
	T-аллель	32,4 (66)	34,2 (67)	0,750	1,07
IL-28B T/G(rs809 9917)	TT	65,7 (67)	63,3(62)	0,720	0,88 (0,49-1,59)
	TG	33,3 (34)	30,6 (30)	0,762	0,89 (0,49-1,63)
	GG	1,0 (1)	6,1 (6)	0,061	6,65 (0,78-57,12)
	TG+GG	34,3 (35)	36,7 (36)	0,720	1,12 (0,63-2,03)
	G-аллель	17,7 (36)	21,4(42)	0,378	1,28

При проведении многофакторного анализа была выявлена стойкая ассоциация носительства полиморфных вариантов (-1082)G/A гена IL-10 и (-174)G/C гена IL-6 с формированием предрасположенности к развитию СКВ (табл. 2).

Таблица 2.

Данные многофакторного анализа при оценке ассоциации полиморфизма исследуемых генов и развития СКВ

Гены	Статистика Вальда	р для статистики Вальда	ОШ (95% ДИ)	р для модели логистической регрессии
IL-1β	0,310	0,577	0,84 (0,45-1,54)	0,012
IL-6	4,27	0,038	1,94 (1,03-3,67)	
IL-10	11,8	0,0005	3,17 (1,63-6,17)	
TGF-β1	0,096	0,756	0,86 (0,34-2,15)	
IL-28B C/T	0,093	0,759	1,13 (0,50-2,51)	
IL-28B T/G	0,099	0,752	1,14 (0,50-2,60)	

При попарном сравнении с генами IL-6 и IL-10 было обнаружено, что наиболее значимый вклад в формирование СКВ по отношению к другим исследуемым генам вносит полиморфизм гена IL-10 (табл. 3). Для гена IL-6 подобной взаимосвязи выявлено не было. При сравнении гена IL-10 и IL-6 между собой эффект последнего в развитии СКВ нивелировался.

Таблица 3.

Сравнение вклада полиморфизма исследуемых генов в развитие СКВ

Гены	Статистика Вальда	р для статистики Вальда	ОШ (95% ДИ)	р для модели логистической регрессии
IL-6	2,35	0,125	1,52 (0,88-2,63)	0,001
IL-10	10,04	0,001	2,58 (1,43-4,66)	
IL-1β	0,03	0,861	1,04 (0,63-1,73)	0,005
IL-10	9,57	0,001	2,51 (1,39-4,51)	
TGF-β1	0,17	0,681	0,85 (0,41-1,79)	0,005
IL-10	9,70	0,001	2,53 (1,4-4,56)	
IL-28B C/T	0,11	0,742	1,10 (0,62-1,96)	0,003
IL-10	10,88	0,0009	2,9 (1,54-5,59)	
IL-28B T/G	0,22	0,635	1,15 (0,63-1,15)	0,003
IL-10	10,87	0,0009	2,92 (1,53-5,56)	

Для более детального анализа всех пациентов разделили на три группы с учетом распределения длительности СКВ в исследуемой выборке (минимальная длительность СКВ составила 3 года, максимальная – 50 лет, 33-я百分иль – 9 лет, 66-я – 21 год): 0-9 лет (36 пациентов), 10-21 год (39 пациентов) и 22-50 лет (24 пациента). Длительность заболевания во многом зависит от тяжести его течения, которая, в свою очередь, ассоциирована с поражением почек и развитием ВН при СКВ. Поэтому дополнительно была проведена оценка частоты встречаемости полиморфных маркеров исследуемых генов в зависимости от наличия или отсутствия ВН в группе пациентов с СКВ, а также в подгруппах с продолжительностью СКВ 0-9 лет, 10-21 год и 22-50 лет.

Частота встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов (-511)C/T гена IL-1β, 915G/C гена TGF-β1, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) гена IL-28B в

группах с продолжительностью СКВ 0-9 лет, 10-21 год и 22-50 лет достоверно не различалась. Более того, не было выявлено взаимосвязи данных аллельных вариантов с формированием ВН в общей группе пациентов с СКВ, а также в подгруппах с разной продолжительностью СКВ.

Частота встречаемости минорной аллели (-174)С гена IL-6 была достоверно меньше в подгруппе пациентов с продолжительностью СКВ 22-50 лет в отличие от подгрупп 0-9 лет и 10-21 год (27,1%, 51,4% и 53,8% соотв., $p=0,009$ и $p=0,005$ соотв.) (табл. 4). Гомозиготное носительство данной аллели (генотип СС) не было выявлено ни у одного пациента с продолжительностью СКВ 22-50 лет, что статистически достоверно отличалось от частоты данного генотипа в подгруппах 0-9 лет и 10-21 год (0%, 25,0% и 30,1% соотв., $p=0,008$ и $p=0,002$ соотв.).

Таблица 4.

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма (-174)G/C гена IL-6 среди пациентов с СКВ в зависимости от продолжительности заболевания

Генотип	0-9 лет, % (n) N=36	10-21 год, % (n) N=39	22-50 лет, % (n) N=24
GG	22,2 (8)	23,1 (9)	45,8 (11)
GC	52,8 (19)	46,2 (18)	54,2 (13)
CC	25,0 (9)	30,1 (12)	0 (0)
С-аллель	51,4 (37)	53,8 (42)	27,1 (13)

Среди пациентов с СКВ с наличием или отсутствием ВН статистически достоверных различий в распределении аллелей и генотипов данного полиморфизма выявлено не было. Однако в подгруппе пациентов с продолжительностью СКВ 0-9 лет частота встречаемости генотипа (-174)СС гена IL-6 была достоверно ниже среди пациентов с СКВ/ВН в отличие от пациентов с СКВ без ВН ($p=0,036$) (рис. 1).

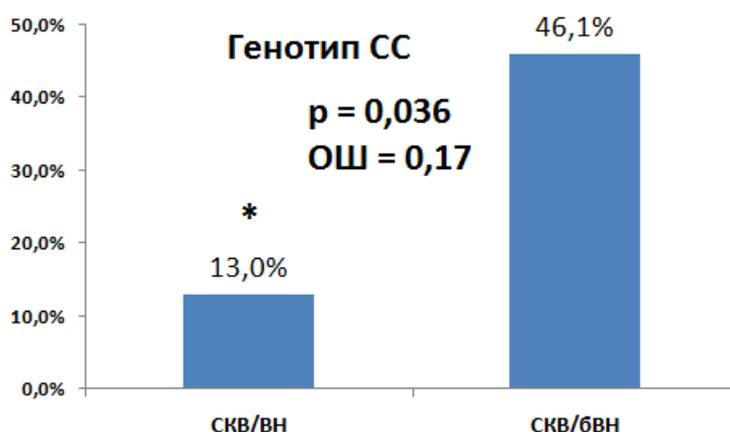


Рисунок 1. Частота встречаемости генотипа СС полиморфизма (-174)G/C гена IL-6 у пациентов с СКВ/ВН и СКВ/бВН в подгруппе с продолжительностью заболевания 0-9 лет.

Таким образом, носительство аллели (-174)С или генотипа (-174)СС можно расценивать как протективный фактор по отношению к тяжести течения СКВ, ассоциированной с развитием почечных осложнений. Носительство аллели (-174)С гена IL-6 коррелирует со снижением уровня данного цитокина по сравнению с носительством (-174)G-аллели. Поскольку IL-6 является провоспалительным цитокином системного

действия, снижение уровня IL-6, отмечаемое у носителей (-174)C-аллели, может играть роль защитного фактора по отношению к формированию предрасположенности к развитию тяжелого течения СКВ, в частности за счет уменьшения частоты ВН.

Частота встречаемости минорной аллели (-1082)A гена IL-10 была значительно ниже в группе пациентов с СКВ и продолжительностью заболевания 22-50 лет, в отличие от подгрупп с продолжительностью СКВ 0-9 лет и 10-21 год, однако данные различия не достигали статистической значимости ($p=0,097$ и $p=0,098$ соотв.) (табл. 5).

Таблица 5.

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма (-1082)G/A гена IL-10 среди пациентов с СКВ в зависимости от продолжительности заболевания

Генотип	0-9 лет, % (n) N=36	10-21 год, % (n) N=39	22-50 лет, % (n) N=24
GG	16,7 (6)	17,9 (7)	25,0 (6)
GA	55,6 (20)	51,3 (20)	70,8 (17)
AA	27,7 (10)	30,8 (12)	4,2 (1)
A-аллель	55,5 (40)	56,4 (44)	39,6 (19)

Генотип AA достоверно реже выявлялся у пациентов с продолжительностью СКВ 22-50 лет в отличие от пациентов с продолжительностью СКВ 0-9 лет и 10-21 год ($p=0,037$ и $p=0,012$ соотв.).

При сравнительном анализе частоты встречаемости генотипов и аллелей в подгруппах больных СКВ/ВН и больных СКВ/бВН было выявлено, что минорный генотип AA достоверно чаще выявляется среди пациентов СКВ/ВН в отличие от пациентов СКВ/бВН (29,4% и 9,7% соотв., $p=0,04$, ОШ = 3,89, 95%ДИ 1,04-14,5) (рис. 2).

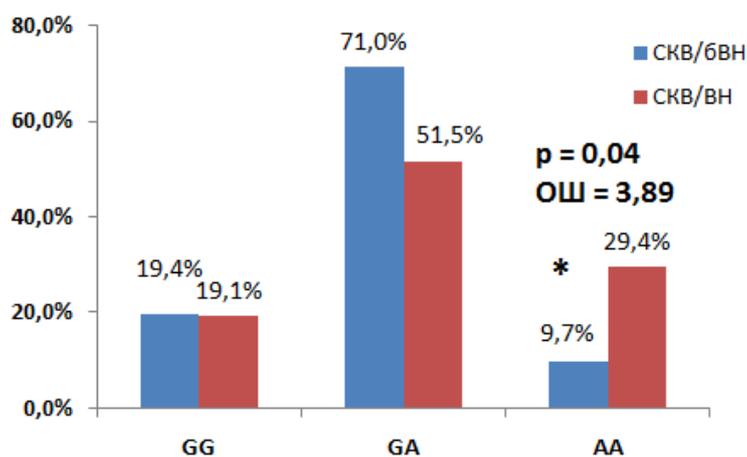


Рисунок 2. Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма (-1082)G/A гена IL-10 у пациентов с СКВ/ВН и СКВ/бВН.

В подгруппе пациентов с продолжительностью СКВ 0-9 лет у пациентов с ВН аллель (-1082)A также встречалась значительно чаще, чем у пациентов без почечных осложнений (65,2% и 38,5% соотв., $p=0,028$) (рис. 3).

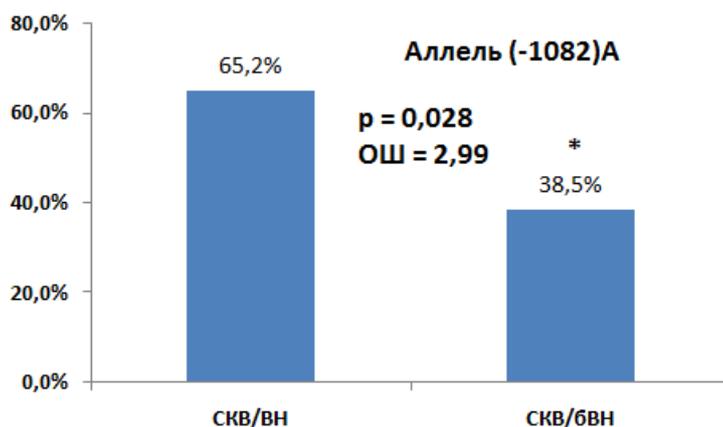


Рисунок 3. Частота встречаемости аллели (-1082)А у пациентов с продолжительностью заболевания 0-9 лет в зависимости от наличия или отсутствия ВН.

При этом значение ОШ составило 2,99, указывая на то, что носительство данного генотипа увеличивает риск развития почечных осложнений почти в 3 раза в первые 9 лет заболевания.

IL-10 является важным иммунорегуляторным цитокином, снижение продукции которого может способствовать активизации воспалительных процессов и формированию СКВ. Замена G на A в положении (-1082) приводит к уменьшению выработки IL-10 лимфоцитами крови. Тот факт, что минорный генотип AA, ассоциированный с пониженной продукцией IL-10, реже встречался у пациентов с более длительным, а значит и более легким течением СКВ, и чаще выявлялся у пациентов с СКВ и ВН, свидетельствует в пользу негативной роли аллели (-1082)А в формировании более тяжелого течения СКВ, ассоциированного с развитием почечных осложнений. По всей видимости, это обусловлено важной ролью IL-10 в обеспечении самозащиты почки, которая снижается при уменьшении уровня соответствующего белка, что и происходит при носительстве минорной (-1082)А аллели.

Носительство полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28В и TGF- β 1 и клинические проявления СКВ. СКВ является гетерогенным заболеванием с наличием разнообразных клинических проявлений. Клинические проявления СКВ у пациентов, включенных в исследование, и частота их встречаемости представлены в таблице 6.

Таблица 6.

Поражение органов и систем у пациентов с СКВ

Клинические проявления СКВ	Число пациентов с СКВ, n (%)	% (N=99)
Волчаночный нефрит	68	68,7
Поражение кожи	63	63,6
Анемия	55	55,6
Артралгия	43	43,4
Артриты	37	37,4
Лейкопения	33	33,3
Антифосфолипидный синдром	27	27,3
Поражение серозных оболочек	24	24,2
Тромбоцитопения	23	23,2

Тромбозы	23	23,2
Алопеция	23	23,2
Миалгии	21	21,2
Поражение нервной системы	15	15,2
Пневмониты/альвеолиты	14	14,1
Поражение сердца	13	13,1
Слизистые оболочки	12	12,1
Синдром Рейно	11	11,1
Фотосенсибилизация	10	10,1

Клинико-генетический анализ показал, что носительство аллельных вариантов всех генов, включенных в исследование (IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β 1 и IL-28B), ассоциировано с предрасположенностью к формированию определенных клинических проявлений СКВ (табл. 7). Поражение наибольшего количества органов и систем при СКВ было продемонстрировано для полиморфизма гена IL-28B.

Таблица 7.

Носительство полиморфных аллелей (-511)C/T гена IL-1 β , (-174)G/C гена IL-6, 915G/C гена TGF- β 1, (-1082)G/A гена IL-10, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) гена IL-28B и клинические проявления СКВ

Клинические проявления	IL-1 β	IL-6	TGF- β 1	IL-10	IL-28B C/T	IL-28B T/G
Артралгии	+/-	+				
Артриты		+/-			+	+
Алопеция	+/-		+			
Поражение кожи	+					
Синдром Рейно	+					+
Лейкопения	+/-					
Тромбоцитопения				+		
Тромбозы		+				
Миалгии					+	+
Поражение нервной системы					+	
Поражение сердца			+			

"+" - выявлено достоверно, "+/-" - на уровне тенденций

Артралгии чаще выявлялись у носителей мажорного генотипа (-174)GG гена IL-6 ($p=0,042$), в то время как у носителей минорного генотипа CC артралгии обнаруживались достоверно реже ($p=0,049$). На уровне тенденции у пациентов с артралгиями реже встречался генотип (-511)TT гена IL-1 β ($p=0,063$).

Артриты выявлялись значительно реже у носителей мажорных генотипов CC(rs12979860) и TT(rs8099917) гена IL-28B ($p=0,0002$ и $p=0,009$ соотв.), в то время как гетерозиготное носительство минорных аллелей данного интерлейкина было ассоциировано с увеличением частоты поражения суставов (генотипы CT(rs12979860) и TG(rs8099917), $p=0,010$ и $p=0,013$ соотв.). У пациентов с артритами также отмечалось снижение частоты встречаемости мажорного генотипа (-174)GG гена IL-6 ($p=0,063$).

Частота встречаемости *алопеции* была достоверно ниже у носителей генотипа 915GG ($p=0,010$) и повышалась в случае гетерозиготного носительства минорной С-аллели (генотип GC, $p=0,029$) гена TGF- β 1. Кроме того, частота встречаемости генотипа (-511)TT гена IL-1 β у пациентов с алопецией была снижена ($p=0,063$).

Поражение кожи достоверно чаще встречалось у носителей генотипа (-511)CT гена IL-1 β ($p=0,049$).

Синдром Рейно чаще выявлялся у носителей генотипа (-511)CC гена IL-1 β ($p=0,024$) и мажорного генотипа TT (rs8099917) гена IL-28B ($p=0,006$).

У пациентов с *лейкопенией* отмечалась повышенная частота встречаемости мажорного генотипа (-511)CC гена IL-1 β ($p=0,083$).

Тромбоцитопения чаще выявлялась у носителей мажорного генотипа (-1082) GG гена IL-10 ($p=0,038$).

Тромбозы чаще выявлялись у носителей мажорного генотипа (-174)GG ($p=0,001$) и реже при гетерозиготном носительстве минорной (-174)C-аллели (генотип GC, $p=0,033$) гена IL-6.

Частота встречаемости *миалгий* была достоверно выше у носителей минорных генотипов TT (rs12979860) и GG (rs8099917) гена IL-28B ($p=0,010$ и $p=0,018$), в то время как у носителей мажорного генотипа TT (rs8099917) данный клинический признак выявлялся гораздо реже ($p=0,010$).

Поражение нервной системы достоверно чаще выявлялось у носителей минорного генотипа TT (rs12979860) гена IL-28B ($p=0,037$).

Поражение сердца гораздо реже выявлялось у носителей мажорного генотипа 915GG гена TGF- β 1 ($p=0,012$), в то же время как гетерозиготное носительство минорной С-аллели (генотип GC) увеличивало частоту встречаемости поражений сердца у пациентов с СКВ ($p=0,008$).

В подавляющем большинстве случаев увеличение частоты встречаемости тех или иных клинических проявлений было ассоциировано с гетеро- или гомозиготным носительством минорных аллелей полиморфных вариантов исследованных генов. Исключение составил ген IL-6, для носительства минорной аллели которого была показана протективная роль по отношению к формированию осложнений СКВ.

Носительство полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B и TGF- β 1 и особенности поражения почек при СКВ. Учитывая полученные ранее данные о вкладе исследуемых генов цитокинов в формирование предрасположенности к СКВ и особенностей ее клинического течения, в частности тяжести заболевания и развития ВН, был проведен более подробный анализ поражения почек при СКВ. При этом оценивалась взаимосвязь носительства исследуемых полиморфных генетических вариантов с формой ВН (активная или неактивная), вариантом прогрессии (БПВН или МПВН), ведущим синдромом (мочевой или нефротический) при БПВН, а также с лабораторными показателями функции почек.

Частота встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B и TGF- β 1 была сопоставима в подгруппах пациентов с ВН в дебюте заболевания и пациентов, у которых ВН развился позже, а также в подгруппах с активным или неактивным ВН. Не было выявлено и ассоциации между данными лабораторных исследований (уровень креатинина, альбумина, показатели СПУ и СКФ) и носительством полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10 и IL-28B. Распределение частоты встречаемости аллельных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10 и IL-28B (rs12979860) существенно не отличалось в подгруппах пациентов с БПВН или МПВН и с мочевым или нефротическим синдромом.

В то же время была обнаружена взаимосвязь носительства полиморфных аллелей гена TGF- β 1 и IL-28B (rs8099917) с особенностями течения ВН. У носителей мажорного генотипа 915GG гена TGF- β 1 МПВН выявлялся чаще, чем более тяжелый БПВН, однако данные различия не достигали статистической значимости ($p=0,082$) (табл. 8).

Таблица 8.

Распределение генотипов полиморфизма 915G/C гена TGF- β 1 в зависимости от особенностей течения СКВ

	Вариант прогрессии		Ведущий синдром при МПВН	
	БПВН, % (n) N=17	МПВН, % (n) N=45	МС, % (n) N=16	НС, % (n) N=29
GG	76,5 (13)	93,3 (42)*	81,3 (13)	100,0 (29)†
GC	17,6 (3)	6,7 (3)	18,7 (3)	0,0 (0)‡
CC	5,9 (1)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
p**	0,101		0,054	

МС – мочевого синдром, НС – нефротический синдром; * $p=0,082$ – сравнение проводилось при помощи критерия χ^2 Фишера; † – $p=0,039$, ‡ – $p=0,039$, ** – сравнение проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона.

Тем не менее, среди пациентов с МПВН у носителей данного генотипа достоверно чаще встречался ВН с более тяжелым нефротическим синдромом ($p=0,039$), а мочевого синдром чаще выявлялся у носителей генотипа 915GC ($p=0,039$). Уровень альбумина был достоверно ниже у носителей генотипа GG в отличие от носителей С-аллели (генотипы GC или CC) ($3,29 \pm 1,11$ г/л и $3,96 \pm 1,04$ соотв., $p=0,042$).

TGF- β 1 является важным иммунорегуляторным цитокином, играющим двойственную роль в патогенезе СКВ и ее осложнений. По данным Jackson M. и соавт. (2006) у пациентов с СКВ отмечается снижение уровня TGF- β 1 в сыворотке крови, что, в свою очередь способствует усиленному образованию аутоантител и формированию тяжелого иммунокомплексного поражения почек. В то же время при СКВ нарушается ответ периферических Treg клеток на воздействие данного цитокина. На фоне снижения общей продукции TGF- β 1 формируется цитокиновый дисбаланс, который запускает усиленное образование TGF- β 1 в периферических органах-мишенях (в том числе в почках), что в свою очередь способствует их повреждению за счет активации воспалительного процесса (Saxena V. и соавт., 2008; El-Shereef R.R. и соавт. 2016).

Генотип 915GG ассоциирован с более высокой продукцией TGF- β 1, а значит с более выраженным воспалительным действием по отношению к органам-мишеням. Возможно поэтому у носителей данного генотипа, с одной стороны, была выявлена тенденция к снижению частоты встречаемости БПВН с активным субэндотелиальным отложением иммунных комплексов в почечных клубочках, с другой стороны, более высокая частота встречаемости нефротического синдрома, характеризующегося активным воспалительным процессом в почечных тканях. Таким образом, можно предположить, что носительство G-аллели вносит вклад в развитие тяжелого течения СКВ за счет увеличения риска воспалительного поражения почек, в то время как носительство С-аллели способствует развитию иммунокомплексного поражения.

Для полиморфного варианта T/G гена IL-28B (rs8099917) была выявлена ассоциация гомозиготного носительства мажорной T-аллели с формированием БПВН. Генотип TT полиморфизма T/G гена IL-28B чаще встречался среди пациентов с БПВН ($p=0,038$), в то время как гетерозиготное носительство аллели G (генотип TG) среди этой подгруппы пациентов выявлялось достоверно реже ($p=0,032$) (табл.9).

Таблица 9.

Распределение генотипов полиморфизма T/G (rs8099917) гена IL-28B в зависимости от варианта прогрессии СКВ

IL-28B	Вариант прогрессии ВН, % (n)		p, критерий χ^2 Фишера
	БПВН, % (n) N=16	МПВН, % (n) N=45	
TT	81,2 (13)	48,9 (22)†	0,038
TG	12,5 (2)	44,4 (20)‡	0,032
GG	6,3 (1)	6,7(3)	0,132
p, критерий χ^2 Пирсона	0,064		

IL-28B, относящийся к классу интерферонов- λ , играет важную роль в патогенезе СКВ и в особенности поражения почек за счет активации провоспалительных цитокинов и процессов апоптоза. У пациентов с СКВ и ВН отмечается увеличение уровня IL-28B в сыворотке крови и повышение экспрессии данного цитокина в биоптатах почечной ткани. При этом высокий уровень IL-28B на фоне проводимой терапии ассоциирован с неблагоприятным прогнозом СКВ. Носительство мажорной аллели T (rs8099917) ассоциировано с повышенной продукцией IL-28B, что, вероятно, способствует формированию тяжелого поражения почек.

Оценка носительства полиморфных вариантов генов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B и TGF- β 1 и клинических показателей в рамках прогнозирования развития ВН при СКВ. При проведении многофакторного анализа предрасположенности к формированию ВН на фоне носительства полиморфных аллелей исследуемых генов статистически значимых ассоциаций выявлено не было (табл. 10).

Таблица 10.

Данные многофакторного анализа при оценке ассоциации полиморфизма исследуемых генов с развитием ВН

Гены	Статистика Вальда	p для статистики Вальда	ОШ (95% ДИ)	p для модели логистической регрессии
IL-1 β	1,53	0,216	0,54 (0,21-1,43)	0,803
IL-6	0,06	0,802	1,13 (0,41-3,12)	
IL-10	0,09	0,764	1,19 (0,36-3,92)	
TGF- β 1	0,45	0,497	0,61 (0,14-2,59)	
IL-28B C/T	0,006	0,937	1,05 (0,30-3,67)	
IL-28B T/G	0,65	0,418	1,7 (0,46-6,25)	

Затем была проведена оценка прогностической значимости клинических и генодиагностических данных для развития БПВН, который является одним из основных факторов, определяющих тяжесть течения и прогноз пациентов с СКВ. По результатам многофакторного анализа с включением в модель расчета не только полиморфных аллелей изучаемых генов, но и клинических показателей, оказалось, что наибольшей прогностической значимостью по отношению к БПВН обладал показатель СПУ (табл. 11). Данная модель обладала статистической значимостью ($p < 0,00004$), а коэффициент детерминации R^2 составил 0,546.

Таблица 11.

Данные многофакторного анализа при оценке ассоциации полиморфизма исследуемых генов и клинических показателей с развитием БПВН

Факторы	Регрессионный коэффициент b	p	Коэффициент детерминации R ²	p для модели множественной регрессии
Рост	-0,006	0,267	0,546	< 0,00004
ИМТ	-0,005	0,660		
СКФ по MDRD	-0,003	0,064		
Макс. СПУ, г/сут	0,047	0,0009		
Альбумин, г/дл	0,024	0,761		
IL-1β	-0,021	0,766		
IL-6	-0,003	0,967		
IL-10	0,005	0,946		
TGF-β1	0,264	0,056		
IL-28B C/T	-0,055	0,615		
IL-28B T/G	-0,074	0,550		

При последовательном исключении из модели различных параметров удалось выявить модель, обладающую статистической значимостью и высоким коэффициентом детерминации (табл. 12). Наиболее весомыми параметрами для прогнозирования развития БПВН оказались показатели СКФ, СПУ и носительство полиморфных аллелей генов TGF-β1 (915G/C) и IL-28B (rs8099917 T/G).

Таблица 12.

Данные многофакторного анализа при оценке ассоциации полиморфизма исследуемых генов и клинических показателей с развитием БПВН

Факторы	Регрессионный коэффициент b	p	Коэффициент детерминации R ²	p для модели множественной регрессии
СКФ	-0,003	0,022	0,535	< 0,0000001
Макс. СПУ, г/сут	0,044	0,00001		
TGF-β1	0,303	0,009		
IL-28B T/G	-0,135	0,048		

С учетом регрессионных коэффициентов для полиморфного варианта T/G (rs8099917) гена IL-28B (носительство минорной G-аллели) и показателя СКФ была показана отрицательная корреляция по отношению к формированию БПВН. В то же время для показателя СПУ и полиморфного варианта 915G/C гена TGF-β1 (носительство минорной C-аллели) была продемонстрирована положительная корреляция с развитием БПВН.

Оценка вклада каждого из генотипов выбранных полиморфизмов показала, что наибольший вклад в формирование БПВН вносит гомозиготное носительство минорной C-аллели (генотип 915CC) гена TGF-β1 (рис.4), в то время как вклад гетерозиготного носительства данной аллели (генотип GC) незначительно превышает таковой для генотипа GG. Вклад различных генотипов полиморфизма T/G (rs8099917) гена IL-28B был примерно одинаков.

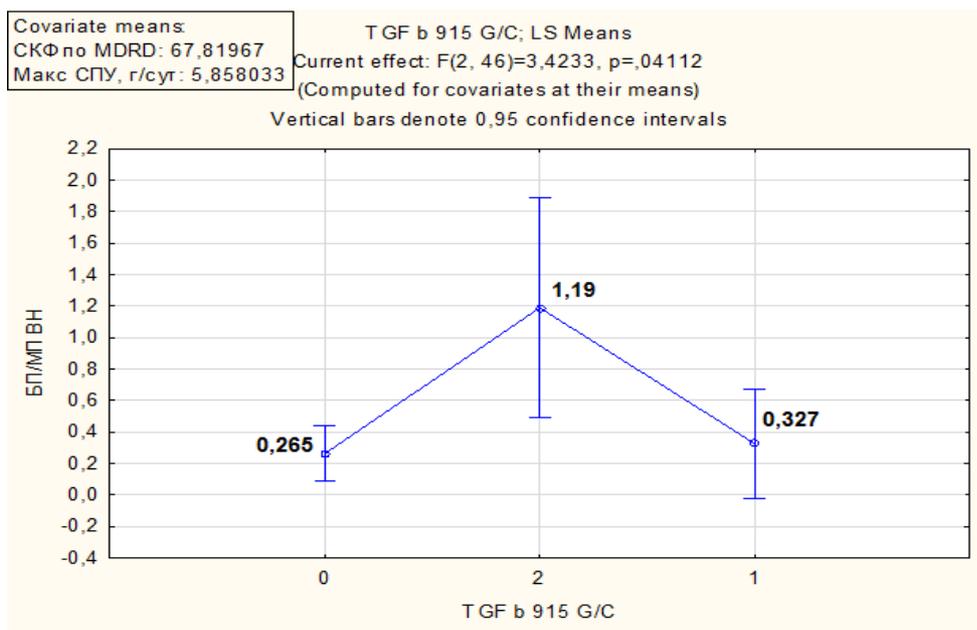


Рисунок 4. Коэффициент вклада генотипов GG (0), GC (1) и CC (2) гена TGF-β1 в формирование БПВН.

Таким образом, для прогнозирования риска развития БПВН наибольшей эффективностью обладает комбинированная оценка клинических показателей (СКФ, СПУ) и генетического статуса пациента. При проведении генодиагностического исследования пациентам с СКВ целесообразно учитывать носительство 915С-аллели гена TGF-β1 и Т-аллели (rs8099917) гена IL-28В.

ВЫВОДЫ

- При оценке распределения полиморфных аллелей и генотипов исследованных генов цитокинов среди пациентов с СКВ и в популяции отмечается:
 - отсутствие статистически достоверных различий в распределении аллельных вариантов генов IL-1β (-511)C/T, IL-6 (-174)G/C, IL-28В (C/T (rs12979860), T/G (rs8099917)) и TGF-β1 915G/C;
 - достоверное увеличение частоты встречаемости минорной аллели А (52,0% и 39,6% соотв., p=0,005, ОШ=1,35) и снижение частоты встречаемости мажорного генотипа GG (19,2% и 37,4% соотв., p=0,002) полиморфизма (-1082)G/A гена IL-10 у пациентов с СКВ; при этом данный аллельный вариант вносит наиболее значимый вклад в формирование предрасположенности к развитию СКВ по отношению к другим исследованным генам, что подтверждается результатами многофакторного анализа.
- Существует взаимосвязь носительства полиморфных вариантов изученных генов с особенностями клинической картины заболевания:
 - IL-1β (-511)C/T: носительство генотипов СТ и СС достоверно чаще выявлялось при поражениях кожи и синдроме Рейно соответственно;
 - IL-6 (-174)G/C: носительство мажорного генотипа (GG) ассоциировано с повышенной частотой формирования артралгий и тромбозов;
 - TGF-β1 915G/C: носительство мажорного генотипа (GG) достоверно связано с низким риском развития алопеции и поражением сердца, в то время как носительство генотипа GC увеличивает риск их развития;
 - IL-10 (-1082)G/A: у носителей генотипа GG достоверно чаще выявлялась тромбоцитопения;

- IL-28B C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917): носительство мажорных генотипов CC или TT ассоциировано со снижением вероятности развития артритов, в то время как гетерозиготное носительство соответствующих минорных аллелей (генотипы CT и TG) напротив, повышает вероятность формирования данных осложнений СКВ. Вероятность развития миалгий достоверно выше у носителей минорных генотипов TT (rs12979860) и GG (rs8099917) гена IL-28B, в то время как у носителей мажорного генотипа TT (rs8099917) данный клинический признак выявляется гораздо реже.
3. Показана ассоциация носительства полиморфных вариантов изученных генов с формированием ВН, а также с особенностями его клинических форм:
 - носительство минорного генотипа AA полиморфизма (-1082)G/A гена IL-10 достоверно чаще выявляется среди пациентов с СКВ/ВН в отличие от пациентов с СКВ/бВН (29,4% и 9,7% соотв., $p=0,04$);
 - носительство минорной A-аллели полиморфизма (-1082)G/A гена IL-10 вносит значимый вклад в развитие поражения почек у пациентов с СКВ продолжительностью от 0 до 9 лет, в свою очередь среди пациентов этой подгруппы носительство генотипа CC полиморфизма (-174)G/C гена IL-6 оказывает протективный эффект по отношению к формированию ВН;
 - носительство мажорного генотипа TT полиморфизма T/G (rs8099917) гена IL-28B повышает частоту развития БПВН ($p=0,038$), в то время как гетерозиготное носительство минорной G-аллели (генотип TG) достоверно реже выявляется среди пациентов с БПВН ($p=0,032$);
 - среди медленно прогрессирующих форм ВН с нефротическим синдромом чаще развивается среди носителей мажорного генотипа GG полиморфизма 915G/C гена TGF- β 1 ($p=0,039$).
 4. В качестве предикторов развития БПВН у пациентов с СКВ наибольшей прогностической значимостью обладает сочетанная оценка показателей СПУ и СКФ и носительства полиморфных вариантов 915G/C гена TGF- β 1 и T/G (rs8099917) гена IL-28B.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В рамках обследования пациентов с СКВ для прогнозирования развития ВН, в особенности БПВН, целесообразно проведение генодиагностического исследования с включением в анализ полиморфных маркеров генов цитокинов.
2. Анализ аллельных вариантов 915G/C гена TGF- β 1 и T/G (rs8099917) гена IL-28B совместно с учетом клинических показателей СПУ и СКФ позволяет выделить пациентов с СКВ с высоким риском развития БПВН.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах:

1. **Иваницкий Л. В.**, Краснова Т. Н., Самоходская Л. М., Совершаева Е. П., Борисов Е.Н., Никифорова Н. В., Мухин Н. А. Влияние полиморфизма генов воспалительных цитокинов на активность и особенности клинической картины системной красной волчанки. // Клиническая фармакология и терапия. — 2013. — N 5. — С.24-29.
2. Борисов Е. Н., Краснова Т. Н., Самоходская Л. М., **Иваницкий Л. В.**, Никифорова Н.В., Мухин Н. А. Прогностическое значение аллельных вариаций генов, влияющих на систему гемостаза, в развитии антифосфолипидного синдрома и поражения почек у больных системной красной волчанкой. // Терапевтический архив, 2014. — N 6. — С.57-62.
3. Краснова Т. Н., Самоходская Л. М., **Иваницкий Л. В.**, Корогодина А. Д., Борисов Е.Н., Никифорова Н. В., Новиков П. И., Мухин Н. А., Камалов А. А. Влияние полиморфизма генов интерлейкина-10 и интерлейкина-28 на развитие и течение волчаночного нефрита // Терапевтический архив — 2015. — № 6. — С. 40-44.
4. **Иваницкий Л. В.**, Смирнова Е. В., Краснова Т. Н., Самоходская Л. М. Роль генетических нарушений при системной красной волчанке. // Технологии живых систем. — 2017. — № 1. — Т.14. – С. 18-24.

Тезисы конференций:

1. **Иваницкий Л. В.** Роль полиморфизма гена IL-1b и гена IL-6 в развитии осложнений при системной красной волчанке. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2010» / Отв. ред. Алешковский И. А., Костылев П.Н., Андреев А. И., Андриянов А. В. [Электронный ресурс]. — М. : МАКС Пресс., 2010. — 1 электрон. опт. диск (CD-ROM)
2. **Иваницкий Л. В.**, Краснова Т. Н., Самоходская Л. М. Значение полиморфных маркеров (-511) C/T гена IL-1b и (-174) G/C гена IL-6 у больных волчаночным нефритом. Материалы VII съезда научного общества нефрологов России, 19-22 октября 2010 года.
3. **Иваницкий Л. В.** Значение генетических маркеров -1082 гена IL-10 и гена TGF- β 1 в развитии системной красной волчанки. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2011» / Отв. ред. Андреев А. И., Андриянов А. В., Антипов Е. А., Чистякова М. В. [Электронный ресурс] — М. : МАКС Пресс, 2011. — 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM)
4. **Ludwig V. Iwanitskiy**, Tatyana N. Krasnova, Larisa M. Samokhodskaya. The role of gene polymorphism (+915)G/C TGF- β in patients with systemic lupus erythematosus. Материалы XLVIII ежегодной международной конференции European Renal Association - European Dialysis Transplant Association (ERA - EDTA). Чехия, Прага, 23-26 июля 2011 года. — С. 105.
5. **Lyudvig V. Ivanitskiy**, Evgeniya Sowershaewa, Tatyana N. Krasnova, Larisa M. Samokhodskaya. The role of gene polymorphism T/G IL-28B in systemic lupus erythematosus development and its complications. Материалы 50-й ежегодной международной конференции European Renal Association – European Dialysis Transplant Association (ERA - EDTA). Турция, Стамбул, 18-21 мая 2013 года. — С. 307.
6. Борисов Е. Н., Самоходская Л. М., Краснова Т. Н., **Иваницкий Л. В.**, Мухин Н. А. Prognostic role of allelic variations of genes affecting haemostasis in the development of antiphospholipid syndrome and renal damage in patients with systemic lupus erythematosus. Материалы ежегодного Европейского конгресса по ревматологии EULAR 2014. Франция, Париж, 11-14 июня 2014 года. — С. 133.

АННОТАЦИЯ

Иваницкий Людвиг Валерьевич «Прогностическое значение полиморфизма генов цитокинов (-511)C/T IL-1 β , (-174)G/C IL-6, (-1082)G/A IL-10, C/T (rs12979860) и T/G (rs8099917) IL-28B, 915G/C TGF- β 1 для формирования патологии внутренних органов у больных системной красной волчанкой»

В работе проведено исследование взаимосвязи развития системной красной волчанки (СКВ) и особенностей ее клинического течения с носительством аллельных вариантов генов цитокинов. Обследовано 99 пациентов с диагнозом СКВ и 182 донора крови обоих полов без клинических проявлений СКВ, составивших группу сравнения.

В ходе исследования выявлены аллельные варианты генов, ассоциированные с формированием СКВ ((-1082)A гена IL-10), волчаночного нефрита (ВН) и его клинических форм ((-174)C гена IL-6, (-1082)A гена IL-10, 915G гена TGF- β 1 и 8099917T гена IL-28B). Все полиморфные варианты исследуемых генов (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B и TGF- β 1) вносили вклад в развитие тех или иных клинических проявлений СКВ с поражением кожи, костно-мышечной системы, а также системы крови, сердечнососудистой и центральной нервной системы. Учитывая результаты проведенной работы, можно предположить, что наибольший вклад в формирование предрасположенности к СКВ и ВН вносит аллельный вариант гена IL-10. В то же время для прогнозирования риска развития отдельных клинических форм ВН, как наиболее значимого висцерита при СКВ, целесообразно оценивать носительство полиморфных вариантов генов TGF- β 1 и гена IL-28B.

На основе полученных данных предложена модель прогнозирования предрасположенности к развитию тяжелой быстро прогрессирующей формы ВН, учитывающая не только клинические показатели, используемые в рутинной врачебной практике, но и результаты генодиагностического исследования (носительство аллельных вариантов 915G/C гена TGF- β 1 и T/G (rs8099917) гена IL-28B).

ANNOTATION

Ivanitsky Ludwig Valerievich «Prognostic value of polymorphism of cytokine genes (-511)C/T IL-1 β , (-174)G/C IL-6, (-1082)G/A IL-10, C/T (rs12979860) and T/G (rs8099917) IL-28B, 915G/C TGF- β 1 for the formation of pathology of internal organs in patients with systemic lupus erythematosus»

A study of the relationship between the development of systemic lupus erythematosus (SLE) and the characteristics of its clinical course with the carriage of allelic variants of cytokine genes was carried out. 99 patients with a diagnosis of SLE and 182 blood donors of both sexes without clinical manifestations of SLE that formed the comparison group were examined.

The study revealed allelic variants of genes associated with the formation of SLE ((-1082) A of the IL-10 gene), lupus nephritis (LN) and its clinical forms ((-174)C of the IL-6 gene, (-1082)A of the IL-10 gene, 915G of the TGF- β 1 gene and 8099917T of the IL-28B gene). All polymorphic variants of the studied genes (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-28B and TGF- β 1) contributed to the development of various clinical manifestations of SLE with damage of the skin, musculoskeletal system, cardiovascular and central nervous system and hematologic disturbances. Considering the results of this work, it can be assumed that the greatest contribution to the formation of susceptibility to SLE and LN has the allelic variant of the IL-10 gene. At the same time, in order to predict the risk of the development of different clinical forms of LN, it is advisable to assess the carriage of polymorphic variants of the TGF- β 1 gene and the IL-28B gene.

On the basis of the data obtained, a model for predicting susceptibility to the development of severe crescent progressive LN forms is proposed, taking into account not only the clinical parameters used in routine medical practice, but also the results of genetic study (carriage of allelic variants 915G/C of TGF- β 1 gene and T/G (rs8099917) of IL-28B gene).