

На правах рукописи

АРТЕМОВА

МАРИНА ГЕННАДЬЕВНА

**Генетические полиморфизмы, ассоциированные с развитием
криоглобулинемии у больных хроническим гепатитом С**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена на кафедре внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Мухин Николай Алексеевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой госпитальной терапии
№2 ГБОУ ВПО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова» Министерства
здравоохранения РФ

Игорь Геннадьевич Никитин

Доктор медицинских наук,
заведующий научно-консультативным
клинико-диагностическим центром ФБУН
ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Владимир Петрович Чуланов

Ведущая организация: ГБОУ «Московский Клинический Научно-практический Центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения города Москвы.

Защита диссертации состоится «25» января 2018 года в 13.00 на заседании диссертационного совета Д 212.203.18 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61, ГБУЗ ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ).

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научной библиотеке) Российского университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

Автореферат разослан « __ » _____ 2017 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Киякбаев Гайрат Калусевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Криоглобулинемия (КГ) выявляется у 25-50% больных хроническим гепатитом С (ХГС), у части из них (около 10-15%) развивается криоглобулинемический васкулит (КВ), варьирующий в своих проявлениях от спорадических петехиальных высыпаний до жизнеугрожающих состояний (F. Dammasco et al., 2016).

Несмотря на успехи современной противовирусной терапии (ПВТ), в последнее время в литературе сообщается о сохранении КГ после достижения авиремии на фоне лечения препаратами прямого противовирусного действия (Sollima S. et al., 2016; Cornella S. et al., 2016). Таким образом, элиминация вируса не гарантирует отсутствие рецидива КВ.

Причины формирования КГ и КВ только у части больных ХГС остаются неизученными. Принимая во внимание значительную географическую вариабельность распространения КГ, выделен особый вклад генетических факторов в развитие КГ и КВ (Gragnani L. et al., 2013). Учитывая, что в основе данных заболеваний лежит иммуновоспалительная реакция, большую актуальность имеют работы по изучению генетических особенностей иммунной системы.

Согласно последним результатам зарубежных исследований (Zignego et al., 2014), полногеномный поиск ассоциаций выявил однонуклеотидные полиморфизмы в регионе HLA бй хромосомы, ассоциированные с КВ. Каждая дополнительная копия аллеля G в позиции rs9461776 и аллеля A (rs2071286) увеличивала риск развития КВ в 2,16 и 2,15 раз, соответственно. В данном исследовании не изучались генотипы пациентов с бессимптомной КГ. Также исследование было выполнено с участием пациентов, проживающих на территории с наибольшей распространенностью КГ.

В настоящее время нет исследований, посвященных генетическим аспектам HCV-ассоциированных КВ и КГ с привлечением пациентов из Российской Федерации. В связи с этим, актуальным является изучение генетических рисков

развития КГ и КВ, что позволит персонифицировать подход к тактике ведения пациентов с ХГС.

Цель исследования

Исследовать связь генетических полиморфизмов в ДНК-локусе HLA с развитием HCV – ассоциированных криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита.

Задачи исследования

1. Изучить ассоциации генетических полиморфизмов с развитием HCV-ассоциированных криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита путем генотипирования полиморфизмов rs2071286 и rs9461776.
2. Сравнить частоту риск-ассоциированных аллелей в группах бессимптомной криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита.
3. Построить прогностическую модель генетического риска манифестации криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита.
4. Оценить сочетанное влияние генотипов исследуемых полиморфизмов и клинико-демографических показателей на развитие и особенности течения криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита.

Научная новизна

Впервые показана ассоциация генетических полиморфизмов с развитием HCV-ассоциированных криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита у пациентов российской популяции.

Установлена сходная величина генетического риска развития криоглобулинемического васкулита у пациентов с бессимптомной криоглобулинемией и пациентов с криоглобулинемическим васкулитом.

Проанализированы результаты терапии пациентов с HCV-ассоциированной криоглобулинемией новыми препаратами прямого противовирусного действия. Установлены факторы риска персистенции криоглобулинемии после достижения авиремии.

Предложена генетическая модель риска манифестации криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита, а также прогнозирования иммунологических исходов терапии препаратами прямого противовирусного действия.

Практическая значимость

Определены полиморфизмы, ассоциированные с развитием криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита, а также построена прогностическая модель развития данных заболеваний. Определены факторы, негативно влияющие на элиминацию криоглобулинов после достижения авиремии. Полученные результаты позволяют персонифицировать диагностику, критерии прогноза и выбор терапии у пациентов с HCV-ассоциированной криоглобулинемией и криоглобулинемическим васкулитом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Полиморфизмы rs2071286 и rs9461776 в локусе HLA ассоциированы с криоглобулинемическим васкулитом и криоглобулинемией.
2. Построенная модель генетического риска позволяет прогнозировать риски развития криоглобулинемического васкулита и бессимптомной криоглобулинемии у пациентов с хроническим гепатитом С.
3. При лечении препаратами прямого противовирусного действия, факторами, способствующими персистенции криоглобулинемии, являются высокий уровень ревматоидного фактора, а также сочетание длительности инфицирования и высокого генетического риска.

Апробация работы

Апробация диссертационной работы состоялась 16 июня 2017г. на совместном заседании кафедры внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова и кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Результаты работы представлены на зарубежной конференции Американского научного общества генетики человека (American Society of Human Genetics), в г. Орландо, США, 2017г.

Личный вклад автора

Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования от постановки задач до их теоретической и практической реализации, обсуждения результатов в научных публикациях и их внедрения в практику.

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в работе гепатологического, нефрологического и ревматологического отделений Университетской клинической больницы № 3 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; внедрены в практику преподавания курса внутренних болезней студентам Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова и Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Выражаю глубокую благодарность за повседневную помощь в работе над диссертацией научному руководителю академику РАН, д.м.н., профессору Н.А. Мухину. Признательна за помощь в работе и ценные консультации д.м.н., профессору кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Д.Т. Абдурахманову, к.м.н., доценту кафедры внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова Т.Н. Красновой, а также всему коллективу Клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 2 печатные работы, все - в журналах, включенных в перечень Высшей аттестационной комиссии, а также 1 тезисы на международной конференции.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 104 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения и выводов, практических рекомендаций, списка литературы, иллюстрирована 15 таблицами и 14 рисунками. Библиография включает 134 источника (14 – отечественных, 120 – зарубежных).

База проведения

Работа выполнена на кафедре внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Проспективно обследовано 273 больных ХГС, наблюдавшихся в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней имени Е.М. Тареева в период с 2014 по 2017г. Диагноз ХГС устанавливался на основании наличия антител к HCV и положительных тестов на HCV RNA более 6 месяцев. Диагностика КВ проводилась согласно критериям, описанным на международной согласительной конференции по номенклатуре системных васкулитов (Chapel Hill, США, 2012г). Обследование больных включало сбор жалоб, данных анамнеза, объективного обследования и стандартных лабораторных и инструментальных методов анализа. Всем больным проводился забор венозной крови или слюны для молекулярно-генетического исследования методом ПЦР в «реальном» времени с последующим анализом кривых плавления.

Основную группу составили 80 пациентов, удовлетворяющих критериям включения. Необходимыми критериями включения для всех групп были отсутствие других вирусных гепатитов, активных инфекций, сочетанных аутоиммунных заболеваний и синдромов, способных вызывать криоглобулинемию. У 54 пациентов выявлялись криоглобулины, среди которых криоглобулинемический васкулит диагностирован у 31 пациента (группа КВ). У 23 пациентов наличие криоглобулинов не сопровождалось клиническими проявлениями (группа бессимптомной криоглобулинемии – БСКГ). В группу контроля вошли 26 пациентов с длительным течением ХГС (не менее 20 лет от предполагаемого фактора риска, а также при наличии цирроза печени (ЦП) в исходе ХГС), и отсутствием КГ, определяемой как минимум два раза с интервалом не менее 12 недель.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета «R-3.2» (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Для изучения ассоциаций полиморфизмов в локусе HLA дополнительно использовались генотипы 7266 человек из открытой базы данных «gnomAD», чтобы оценить базисную частоту альтернативных аллелей. Статистическая значимость различия частот альтернативных аллелей в контрольной и целевой группе оценивалась с помощью точного теста Фишера и теста Кохрана-Мантеля-Хэнзеля. Для сравнения генетических рисков применялся критерий Манна-Уитни. Для валидации генетической модели риска были дополнительно исследованы генотипы 190 человек европейской популяции из базы данных «1000 геномов».

Прогностическое значение сочетанного влияния аллельных вариантов и клинико-лабораторных факторов проводилось с помощью многофакторного анализа методом логистической регрессии. Допустимой значимостью, при которой нулевая гипотеза могла быть ошибочно отвергнута, принималась стандартная величина 0,05. При единовременном тестировании многих статистических гипотез, величина допустимой ошибки снижалась, в соответствии с поправкой Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-лабораторная характеристика больных

Исследуемые группы были сопоставимы по полу, возрасту и длительности инфицирования. Средний возраст на момент включения в исследование в группе КВ составил 56 лет (интервал 30-75), в группе БСКГ - 51 год (интервал 32-73). Средняя длительность ХГС в группе КВ составила 30,2 года (интервал 15-49), в группе КГ 27 лет (интервал 1-42).

Основными факторами риска инфицирования у больных всех групп были гемотрансфузии, медицинские вмешательства, парентеральное введение наркотических средств. Наиболее часто наблюдалось инфицирование 1b генотипом.

Повышение уровня ревматоидного фактора и С-реактивного белка (СРБ), а также снижение гемолитической активности комплемента чаще встречались в группе КВ по сравнению с группой БСКГ.

Клинические проявления HCV-ассоциированного васкулита характеризовались, прежде всего, поражением кожи, суставов и периферической нервной системы (табл. 1).

Таблица 1

Спектр и частота клинических проявлений HCV-ассоциированного криоглобулинемического васкулита

Клинические проявления	Абс (%)
Поражение кожи:	
пурпура	29 (93,5%)
язвенно – некротическое поражение	6 (20,7%)
Артралгии	25 (80,6%)
Слабость	31 (100%)
Триада Мельцера	25 (80,6%)
Сухой синдром	16 (51,6%)
Поражение периферической нервной системы:	21 (67,7%)
полиневропатия	19
мононеврит	2
Поражение почек	15 (48,4%)
МКГН (по данным биопсии)	5
ХГН	10
Поражение легких	6 (19,4%)
В-НХЛ	2 (6,4%)

Артралгии и слабость, в том числе в составе триады Мельцера, встречались у 80,6% пациентов. Как правило, боль возникала в крупных суставах, не сопровождалась скованностью и эрозивными изменениями на рентгенограммах суставов.

Периферическая полиневропатия наблюдалась у 19 больных (61,3%), в том числе у двоих пациентов – со значительным ограничением подвижности во время обострения КВ.

Поражение почек встречалось у 15 (48,4%) больных. Почечные симптомы, как правило, манифестировали одновременно, либо спустя несколько месяцев после появления первых признаков васкулита. У 7 больных поражение почек протекало латентно, с умеренным мочевым синдромом и нормальным или умеренно

повышенным уровнем креатинина в сыворотке крови. У двоих больных – с рецидивирующим нефротическим и остронефритическим синдромами. У 5 больных по данным биопсии почек выявлялся мезангиокапиллярный гломерулонефрит с фибропластической трансформацией и тубулоинтерстициальным компонентом. У одного больного – по типу быстро прогрессирующего гломерулонефрита.

При динамическом наблюдении у двух пациентов выявлена В-клеточная неходжкинская лимфома (В-НХЛ) из клеток маргинальной зоны (по данным биопсии костного мозга, проведенной в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, г. Москва), и начато лечение ритуксимабом с достижением частичной ремиссии.

Таким образом, клинические проявления характеризовались полиморфностью, в том числе наличием тяжелых и жизнеугрожающих состояний (В-НХЛ, тяжелое поражение почек, периферической нервной системы, язвенные поражения кожи).

Результаты терапии хронического гепатита С препаратами прямого противовирусного действия у больных криоглобулинемией

Проспективно проанализированы результаты терапии 16 больных с HCV-ассоциированной КГ препаратами прямого противовирусного действия (ППД). Вирусологический ответ, клиническая эффективность и безопасность оценивались во время терапии, и в течение как минимум 16 недель после завершения лечения.

Пациенты получали лечение препаратами ППД, в зависимости от генотипа вируса, тяжести поражения печени, и ответа на предыдущую противовирусную терапию (табл. 2). Суточная доза софосбувира составила 400 мг, даклатавира – 60 мг, асунапревира – 200 мг, рибавирина 1000-1200 мг.

Таблица 2

Спектр препаратов прямого противовирусного действия

Препараты ППД	n=16
Софосбувир+даклатавир (+рибавирин)	10 (4/10)
Софосбувир+даклатавир+асунапревир	1
Асунапревир+даклатавир (+рибавирин)	5 (3/5)

Среди 16 пациентов с КГ преобладали женщины (93,7%), средний возраст составил 58,7 лет (интервал 45-70). У 9 пациентов наблюдался КВ, среди них у одной пациентки до начала лечения была диагностирована В-НХЛ из клеток маргинальной зоны. У 7 пациентов отмечалась БСКГ.

У всех пациентов к 4й неделе терапии была достигнута авиремия, которая сохранялась на всем протяжении лечения и наблюдения. Таким образом, устойчивый вирусологический ответ составил 100%.

Тяжелых нежелательных явлений за время терапии не отмечено, у части пациентов наблюдалась тошнота (6 пациентов), рвота (1), слабость и головокружение (2).

Клинический ответ в группе КВ считался полным при снижении баллов по шкале BVAS до 0, частичный – при снижении баллов менее чем на 50%. Средний балл по шкале BVAS к 24й неделе терапии снизился с $10,2 \pm 7,9$ до $3,4 \pm 3,3$ баллов. У троих пациентов полностью регрессировала кожная пурпура, артралгии, купирован мочевого синдром (полный ответ). У четверых пациентов сохранялись артралгия, общая слабость и небольшое повышение активности ревматоидного фактора (частичный ответ). У пациентки с В-НХЛ по результатам повторного иммунохимического исследования белков сыворотки крови и мочи отмечена тенденция к снижению секреции парапротеина Мк с 9,5 г/л до 7,1 г/л, снизился уровень криокрита, повысился уровень поликлональных иммуноглобулинов; начата поддерживающая терапия ритуксимабом.

В результате терапии ППД у еще одной пациентки отмечена частичная клиническая ремиссия, однако, КВ рецидивировал несмотря на стойкую авиремию, в связи с чем заподозрена В-НХЛ, подтвердившаяся в результате обследования.

Также мы отметили сохранение КГ более чем у половины больных к моменту окончания терапии. У 9 из 16 пациентов криоглобулины сохраняются и после окончания терапии (в среднем, 23 недели наблюдения), (рис.1).

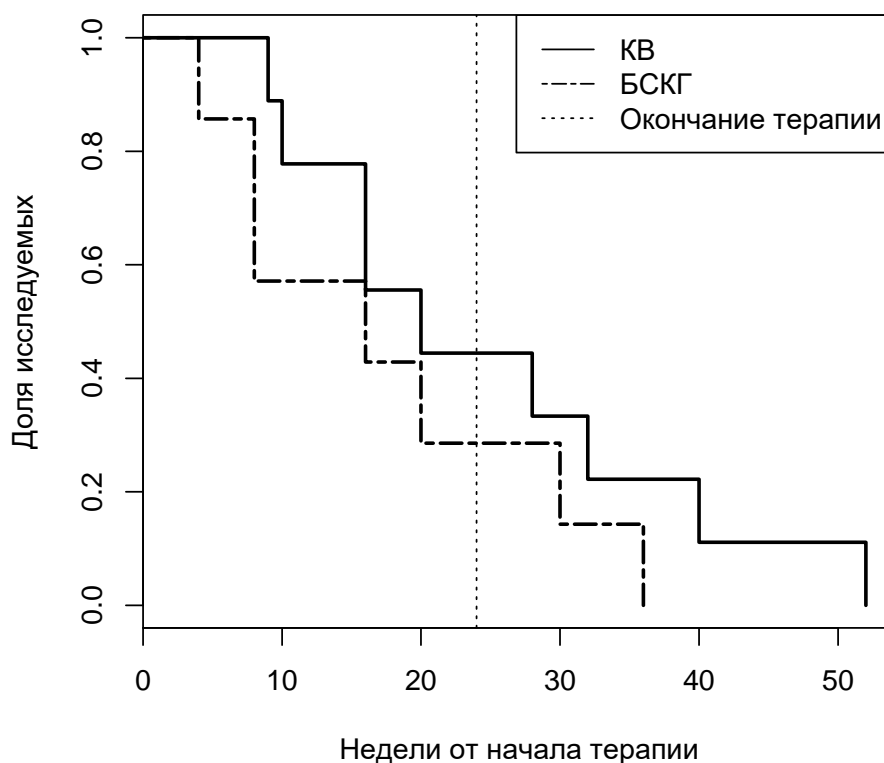


Рисунок 1. Персистенция криоглобулинемии при лечении ХГС препаратами прямого противовирусного действия

Таким образом, несмотря на высокую эффективность новых противовирусных препаратов при ХГС, крайне важно своевременно диагностировать КВ и не допустить развития необратимых органических повреждений и злокачественных лимфопролиферативных заболеваний.

Анализ взаимосвязи вариантных аллелей исследованных генов с развитием криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита

Полногеномный поиск ассоциаций в работе *Zignego et al* выявил два полиморфизма, статистически достоверно ассоциированных с развитием КВ в HLA-локусе шестой хромосомы. Данный локус содержит большое количество генов, связанных с иммунной системой. Был сделан вывод о том, что данные полиморфизмы отвечают за индивидуальные особенности иммунного ответа на HCV-инфекцию.

Для построения модели генетического риска мы добавили группу из 7266 популяционных контролей западноевропейской популяции из общедоступных баз данных (gnomAD).

Данные по генотипам для групп пациентов с КВ, БСКГ, контрольной группы и группы популяционных контролей (gnomAD) представлены в таблице 3.

Таблица 3

Обзор генотипов в группах пациентов, контролей и популяционных контролей (gnomAD)

ДНК-полиморфизм	rs2071286	rs9461776
Ген-кандидат	NOTCH4	HLA Class II
Генотипировано пациентов в группе КВ	31	31
Генотипировано пациентов в группе БСКГ	23	23
Количество аллелей риска в группе КВ	21	12
Количество аллелей риска в группе БСКГ	18	15
Суммарное количество аллелей риска	39	27
Генотипировано контролей	26	26
Количество аллелей риска в группе контроля	7	3
Генотипировано популяционных контролей	7266	7265
Количество аллелей риска в группе популяционных контролей (gnomAD)	3434	1414

Сравнив частоту риск-ассоциированных аллелей в группе больных БСКГ и КВ, мы не обнаружили статистического различия между двумя группами, как в случае rs2071286 ($p=0,83$; $OR=0,87$; доверительный интервал = 0,35-2,15), так и в случае rs9461776 ($p=0,35$; $OR=0,6$; доверительный интервал = 0,21-1,66). Что свидетельствует о сходной величине генетического риска развития КВ у пациентов с БСКГ по сравнению с группой пациентов с уже диагностированным КВ. В связи с этим, мы объединили две группы пациентов в одну для дальнейшего анализа.

Мы провели сравнение частоты риск-ассоциированных аллелей в двух ДНК-полиморфизмах в основной и контрольной группах. Получено статистически

значимое различие для маркера rs9461776 ($p=0,017$; $OR=4,29$; доверительный интервал = 1,15-24,07) и близкое к значимому различие для маркера rs2071286 ($p=0,037$; $OR=2,66$; доверительный интервал = 0,99-8,02). Статистическая значимость, в данном случае определялась поправкой Бонферрони для тестирования многочисленных гипотез. Сравнение частоты риск-ассоциированных аллелей в исследуемых группах представлено на рисунке 2.

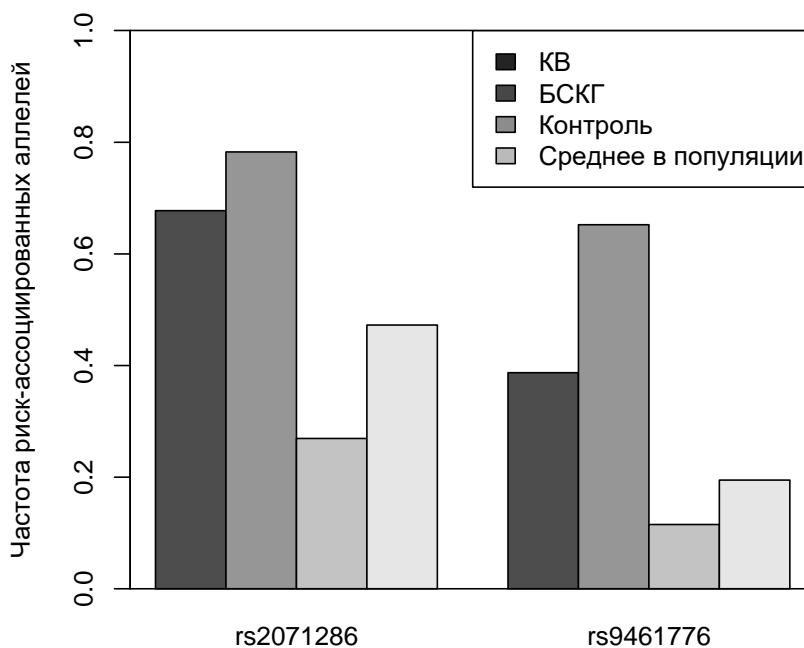


Рисунок 2. Частота риск-ассоциированных аллелей в исследуемых ДНК-маркерах

Совместный стратифицированный анализ группы пациентов против двух групп контроля (нашей контрольной группы и группы популяционных контролей) с помощью теста Кохран-Мантель-Хэнзеля показывает высокую, статистически значимую степень ассоциации обоих ДНК-маркеров ($p=0,0073$; $OR=1,7$ и $p=3,8 \times 10^{-6}$; $OR=2,82$ для rs2071286 и rs9461776, соответственно). Полиморфизм rs2071286 имеет большую частоту в популяции по сравнению с rs9461776 и, при увеличении выборки, достигает статистически значимой ассоциации. Сводная статистика тестов генетической ассоциации представлена в таблице 4.

Сводная статистика тестов генетических ассоциаций

ДНК-полиморфизм	rs2071286	rs9461776
КВ+БСКГ против группы контролей с ХГС	p=0,037 (OP=2,66)	p=0,017 (OP=4,28)
КВ+БСКГ против группы популяционных контролей	p=0,045 (OP=1,52)	p=2,1x10 ⁻⁴ (OP=2,57)
Стратифицированный анализ КВ+БСКГ против двух контрольных групп	p=7,3x10 ⁻³ (OP=1.70)	p=3,79x10 ⁻⁶ (OP=2,82)

Модель прогноза генетических рисков возникновения криоглобулинемического васкулита и бессимптомной криоглобулинемии

Для оценки индивидуального риска развития HCV-ассоциированного КВ был предложен критерий генетического риска (ГР). За основу была взята методика построения полигенного риска (PRS - polygenic risk score). Величина эффекта, оказываемого наличием каждого риск-аллеля, определяется как логарифм отношения рисков. При использовании полиморфизмов, имеющих значимый риск, определенный по результатам GWAS, сумма риск-ассоциированных аллелей для каждого полиморфизма, взвешенных на величину эффекта, является мощным статистическим предиктором относительного риска развития заболевания (уравнение 1).

$$GR = \sum_i \beta_i N \text{ (Уравнение 1).}$$

GR – генетический риск; β_i – величина эффекта, полученная из GWAS; N – количество риск-ассоциированных аллелей, наблюдаемых в полиморфизме i .

Генетический риск был рассчитан для группы пациентов с КВ (средний ГР = 0,816) и БСКГ (средний ГР = 1,1). Различия между двумя группами пациентов

оказались статистически не значимыми ($p=0,15$, тест Манна-Уитни). Следовательно, две группы пациентов были объединены для дальнейшего анализа, как и в случае анализа генотипов. Совместный анализ КВ+БСКГ групп против контрольной группы выявил статистически значимо более высокий генетический риск развития КВ в целевой группе ($p=3,4 \times 10^{-5}$, тест Манна-Уитни) (рис. 3).

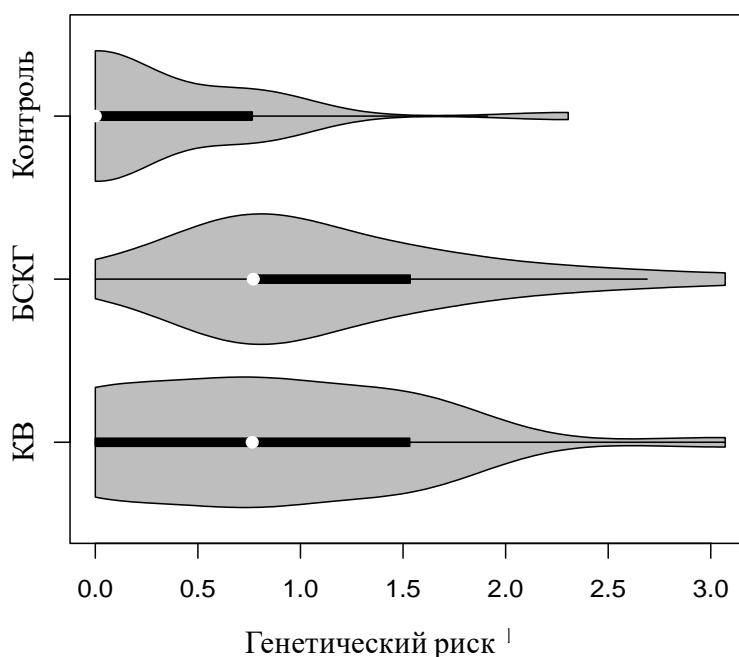


Рисунок 3. Распределение генетического риска в группах пациентов с криоглобулинемическим васкулитом (КВ), бессимптомной криоглобулинемии (БСКГ) и контрольной группе.

Для проверки полученных результатов мы дополнительно исследовали генотипы участников проекта «1000 геномов». В исследование было включено 190 ДНК-образцов из Великобритании и центральной Европы, исключая южно-европейские регионы, из-за известной высокой распространенности КВ в данных регионах. Генетический риск для каждого образца был рассчитан таким же образом, как и для основной группы пациентов. Средний риск для группы «1000 геномов» составил 0,338, что сравнимо с наблюдаемым в нашей контрольной группе. 16 человек из 190 (8,4%) имели ГР выше, чем целевая группа КВ+БСКГ. Таким образом, наша модель предсказывает, что 8,4% европейского населения имеют повышенный риск заболевания КВ в случае инфицирования HCV. Эпидемические данные показывают, что среди европейской популяции примерно у 10% больных

ХГС диагностируется КВ, что свидетельствует о том, что наша модель хорошо согласуется с наблюдаемыми данными (рис. 4).

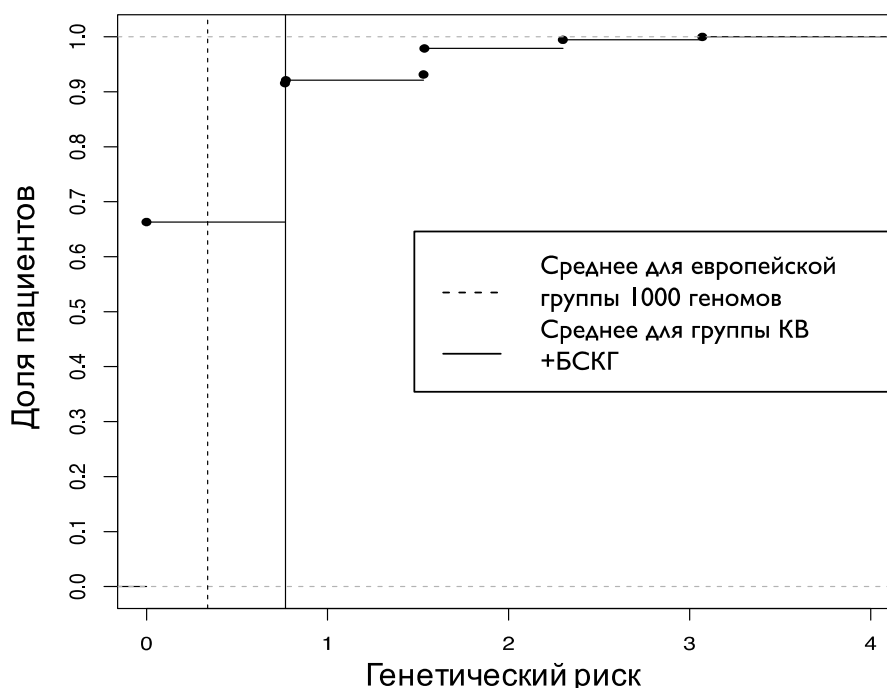


Рисунок 4. Доля пациентов с повышенным риском развития КВ среди европейской группы базы данных «1000 геномов»

Выявление факторов риска развития криоглобулинемического васкулита у обследованных больных

Согласно нашим данным, пациенты с КВ и БСКГ имеют сходный генетический риск развития криоглобулинемического васкулита. Однако, причины, по которым у части пациентов наличие КГ не сопровождается клиническими проявлениями, остаются неизученными.

Мы провели многофакторный сравнительный анализ клинико-лабораторных параметров пациентов с КВ и БСКГ. Анализ проводился методом многофакторной линейной регрессии.

Две группы пациентов сбалансированы по возрасту ($p=0,12$) и половой принадлежности ($p=0,11$). Анализ лабораторных параметров показал, что в группе КВ статистически значимо выше уровень ревматоидного фактора ($p=0,016$). Уровни

АЛТ, АСТ, ГГТ, ШФ и СРБ не имели статистических различий между двумя группами.

Еще один важный параметр сравнения - исчезновение или сохранение криоглобулинемии после лечения ХГС препаратами ППД. Используя метод построения обобщенной линейной модели, мы выяснили, что скорость исчезновения криоглобулинов в значительной степени определяется длительностью ХГС ($p=0,05$). С помощью пропорциональной модели выживания Кокса мы обнаружили, что наиболее значимым фактором, определяющим шансы на элиминацию криоглобулинов, является сочетание длительности ХГС и величины генетического риска ($p=0,044$), (рис. 5). У пациентов с более длительным течением ХГС и высоким генетическим риском после достижения авиремии криоглобулинемия сохраняется в среднем на 11 недель дольше.

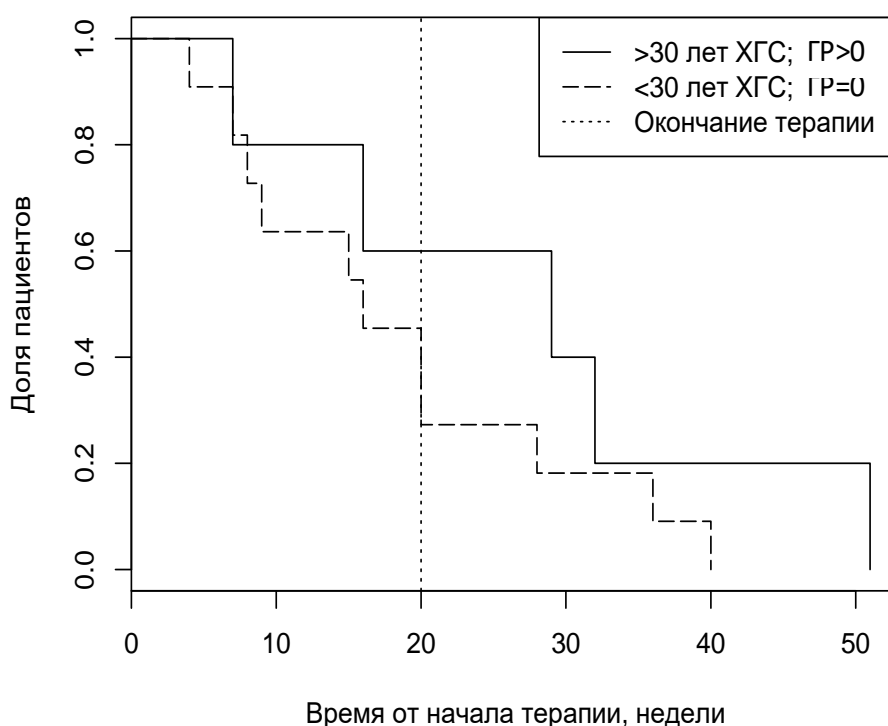


Рисунок 5. Динамика криоглобулинемии в группах пациентов с высоким генетическим риском и длительностью инфицирования; с низким генетическим риском и длительностью инфицирования

Кроме того, в недавнем исследовании E. Reyes-Aviles et al. показано, что высокий уровень ревматоидного фактора у пациентов с ХГС способствует

гиперпродукции зрелых В-клеток. Также, данный фенотип В-клеток персистирует в течение как минимум 8 недель после эрадикации вируса при лечении препаратами ППД.

Мы провели анализ сохранения криоглобулинемии в зависимости от уровня ревматоидного фактора. У пациентов с более высоким уровнем ревматоидного фактора отмечалось более длительное сохранение криоглобулинемии ($p=0,018$) (рис. б).

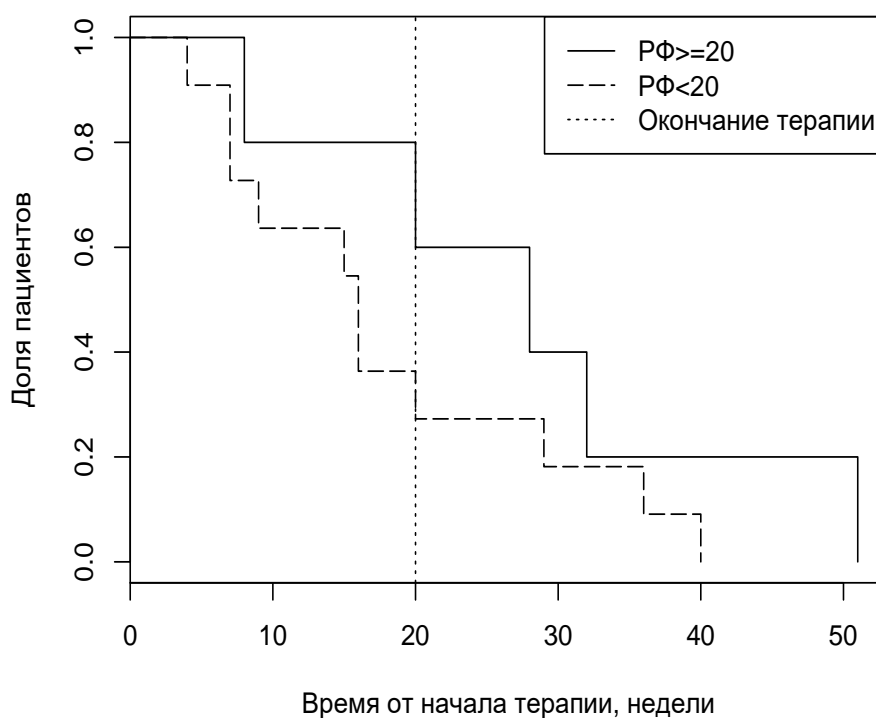


Рисунок 6. Динамика криоглобулинемии у пациентов с нормальным (<20 МЕ/мл) и высоким (≥ 20 МЕ/мл) уровнем ревматоидного фактора

Отмечено, что криоглобулинемия сохраняется в среднем на 10 недель дольше у пациентов с более высоким уровнем ревматоидного фактора.

ВЫВОДЫ

1. Развитие криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита у больных ХГС ассоциировано с полиморфизмами rs9461776 и rs2071286 ($p=7,3 \times 10^{-3}$ и $p=3,8 \times 10^{-6}$, соответственно), расположенными в локусе HLA, определяющем особенности иммунной системы.
2. При сравнении группы криоглобулинемического васкулита и группы бессимптомной криоглобулинемии не отмечено статистически значимых различий в частоте риск-ассоциированных аллелей, что говорит о сходной величине генетического риска развития криоглобулинемического васкулита у обеих групп.
3. Построенная прогностическая модель позволяет оценивать риски развития криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита у больных ХГС по двум ДНК-полиморфизмам. Достоверность модели была подтверждена на независимых данных геномного секвенирования ДНК-образцов.
4. Взаимосвязи между клиническими проявлениями криоглобулинемического васкулита и исследуемыми полиморфизмами выявлено не было.
5. При лечении препаратами прямого противовирусного действия у части больных после достижения авиремии сохраняется криоглобулинемия. Факторами, способствующими персистенции криоглобулинов, являются высокий уровень ревматоидного фактора ($p=0,018$), а также сочетание длительности инфицирования и высокого генетического риска ($p=0,044$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Включить в план обследования больных ХГС генотипирование полиморфизмов rs2071286 и rs9461776, с целью прогнозирования развития криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита.
2. Рекомендовать внедрение построенной прогностической модели развития криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита для персонификации тактики ведения и лечения больных ХГС.
3. Целесообразно определение индивидуального генетического риска для прогнозирования динамики криоглобулинемии после элиминации вируса гепатита С.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. **Artemova M.**, Abdurakhmanov D., Ignatova T., Mukhin N. // Persistent HCV-associated Cryoglobulinemic Vasculitis Following Virus Eradication after Direct-Acting Antivirals Therapy. *Hepatology*. – 2017. – Vol. 65(5). – P. 1770-1771. (Импакт-фактор журнала 11,7).

2. **М.Г. Артемова**, Д.Т. Абдурахманов. Генетические аспекты криоглобулинемического васкулита при хроническом гепатите С // *Терапевтический архив*. – 2017. – 89(4). – С. 110-114. (Импакт-фактор журнала 0,8).

Тезисы конференций:

1. **Artemova M.**, Mukhin N. Polygenic risk score predicts development of HCV-associated mixed cryoglobulinemia and response to interferon-free therapy. Presented at the 67th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics (Orlando, Florida, 2017). №1884F.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БСКГ	бессимптомная криоглобулинемия
В-НХЛ	В-клеточная неходжкинская лимфома
ГР	генетический риск
ИМТ	индекс массы тела
КВ	криоглобулинемический васкулит
КГ	криоглобулинемия
ПВТ	противовирусная терапия
ППД	(препараты) прямого противовирусного действия
ХГС	хронический гепатит С
GWAS	полногеномный поиск ассоциаций (Genome-Wide Association Studies)
НСV	вирус гепатита С (hepatitis C virus)
PRS	полигенный фактор риска (polygenic risk score)

Артемова Марина Геннадьевна (Российская Федерация)

**Генетические полиморфизмы, ассоциированные с развитием криоглобулинемии
у больных хроническим гепатитом С**

В работе изучена ассоциация полиморфизмов, находящихся в HLA-локусе ДНК, с развитием HCV-ассоциированных криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита, а также влияние данных полиморфизмов на достижение иммунологической ремиссии при лечении ХГС препаратами прямого противовирусного действия. Показано, что частота риск-ассоциированных аллелей статистически значимо выше у больных ХГС с криоглобулинемией и криоглобулинемическим васкулитом, по сравнению с больными без криоглобулинемии. Вместе с тем, показан сходный генетический риск манифестации криоглобулинемического васкулита у пациентов с бессимптомной криоглобулинемией и криоглобулинемическим васкулитом.

Построена прогностическая модель развития криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита у больных ХГС, которая может быть использована для персонализации тактики ведения пациентов.

На основании комбинации клинико-лабораторных и генетических параметров предложена прогностическая модель персистенции криоглобулинемии на фоне достижения авиремии при лечении ХГС препаратами прямого противовирусного действия.

Artemova Marina Gennadyevna (Russian Federation)

Cryoglobulinemia associated genetic polymorphisms in chronic hepatitis C patients

In this work we investigated association of HLA-locus common DNA polymorphisms with onset of HCV-associated cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis. We also studied their association with chances to achieve immunologic remission upon treatment of HCV with direct-acting antivirals therapy. We demonstrated significant increase in risk allele frequency among HCV patients with cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis compared to HCV patients without records of detected cryoglobulins. We found similarity of inherited genetic risk of cryoglobulinemic vasculitis manifestation among patients with asymptomatic cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis. We proposed a predictive model for development of cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis in HCV patients which could be used for clinical treatment personalization. Based on composition of clinical and genetic data we developed a prediction model for persistence of cryoglobulinemia upon complete virus clearance after direct-acting antiviral therapy.