

РОЛЬ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЁРОВ В РАЗВИТИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Каримов М.Ш., Эшмурзаева А.А., Сибиркина М.В.

Ташкентская медицинская академия

✓ Резюме

В ходе проведенных исследований было выявлено, что аллель G и гетерозиготный генотип A/G гена IL17F (rs763780) среди пациентов с РА встречаются существенно выше по сравнению с контрольной группой. В частности, наиболее значимые различия выявлены у пациентов с суставно-висцеральной формой заболевания, у которых аллель G превышал долю носительства в контроле статистически достоверно в 2.58 раз ($\chi^2=4.512$; $P=0.037$; OR=2.58; 95% CI:1.076-6.188), а со стороны гетерозиготного генотипа A/G отмечалась явная тенденция к повышению его частоты более чем в два раза ($\chi^2=2.011$; $P=0.165$; OR=2.068; 95% CI: 0.758-5.645), что в свою очередь свидетельствует о возможном участии исследованного полиморфизма в патогенезе РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, полиморфизм rs763780 гена IL17F, носительство, аллель, генотип, факторы развития, методы исследования.

REVMATOID ARTRITNING RIVOJLANISHIDA IMMUNOGENETIK MARKERLARNING O'RNI

Karimov M.Sh., Eshmurzaeva A.A., Sibirkin M.V.

Toshkent tibbiyot akademiyasi

✓ Rezyume

Tadqiqotlar davomida G alleli va IL17F genining heterozigot A / G genotipi (rs763780) RA bilan og'rigan bemorlarda nazorat guruhiga nisbatan sezilarli darajada yuqori ekanligi aniqlandi. Xususan, eng muhim farqlar kasallikning artikulyar-visseral shakli bo'lgan bemorlarda aniqlandi, ularda G alleli nazoratdagi tashish ulushidan statistik jihatdan sezilarli darajada 2,58 marta oshdi ($\chi^2 = 4,512$; $P = 0,037$; OR = 2,58). ; 95% CI: 1,076 -6,188) va geterozigota A / G genotipi tomonidan uning chastotasini ikki baravardan ko'proq oshirish tendentsiyasi aniqlandi ($\chi^2 = 2,011$; $P = 0,165$; OR = 2,068; 95% CI: 0.758-5.645), bu o'z navbatida o'rganilayotgan polimorfizmning RA patogenezida mumkin bo'lgan ishtirokini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: revmatoid artrit, IL17F geni rs763780 polimorfizmi, tashish, allel, genotip, rivojlanish omillari, tadqiqot usullari.

ROLE OF IMMUNOGENETIC MARKERS IN THE DEVELOPMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Karimov M.Sh., Eshmurzaeva A.A., Sibirkin M.V.

Tashkent Medical Academy

✓ **Resume**

In the course of the studies, it was revealed that the G allele and the heterozygous A / G genotype of the IL17F gene (rs763780) are significantly higher among patients with RA compared to the control group.

In particular, the most significant differences were found in patients with the articular-visceral form of the disease, in whom the G allele exceeded the proportion of carriage in the control statistically significantly 2.58 times ($\chi^2 = 4.512$; $P = 0.037$; $OR = 2.58$; 95% CI: 1.076 -6.188), and on the part of the heterozygous genotype A / G there was a clear tendency to increase its frequency by more than two times ($\chi^2 = 2.011$; $P = 0.165$; $OR = 2.068$; 95% CI: 0.758-5.645), which in turn, indicates the possible participation of the studied polymorphism in the pathogenesis of RA.

Key words: rheumatoid arthritis, IL17F gene rs763780 polymorphism, carriage, allele, genotype, developmental factors, research methods.

Актуальность

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное заболевание с развитием и прогрессированием деструктивного процесса в суставах, приводящее уже в течение первых пяти лет к стойкой потере трудоспособности и инвалидности [1, 2]. Ранняя диагностика и тяжесть течения РА имеет важное клиническое значение для улучшения качества жизни больного.

Полиморфизм генов IL-17A и IL-17F активно исследуется в настоящее время. Актуальность таких работ обусловлена требованиями современной персонализированной медицины. Ведется поиск мутаций (генетических маркеров), связанных с предрасположенностью человека к тому или иному заболеванию, а также выясняются возможные причины неэффективности в ряде случаев антицитокиновой терапии. К настоящему времени найдено около полусотни вариантов полиморфизма одиночных нуклеотидов в генах IL-17A и IL-17F, однако, лишь в некоторых случаях исследован результат такой замены. Рассмотрим некоторые из изученных вариантов полиморфизма генов, кодирующих IL-17A (IL-17F). Большей частью замены расположены в областях генов цитокинов. В минорных аллелях rs2275913 (G/A) и rs3819024 (A/G) вариации расположены в 5'-нетранслируемой области гена IL-17A и могут быть связаны с пониженным

риском развития ревматоидного артрита [73]. В аллели rs2275913 нуклеотид G в положении -197 находится в промоторной области гена IL-17A вблизи мотивов, связывающихся с двумя ядерными факторами активированных Т-клеток. Этот участок нужен для экспрессии гена IL-17A, показано, что замена G в этом положении на A приводит к повышенной продукции цитокина. Такая мутация в гене IL-17A является достоверным маркером деструкции костной ткани у пациентов с ревматоидным артритом [74]. Наиболее изученным представителем семейства IL-17 является цитокин IL-17A. Этот цитокин играет центральную роль в воспалительных процессах, поэтому регуляция его функционирования имеет огромное значение для организма. Известны многочисленные механизмы сигнальных путей такой регуляции, предположительно, нейтрализующие побочные эффекты воспаления.

К настоящему времени имеется очень много часто противоречащих друг другу данных о полиморфизме генов цитокинов. Так, имеются данные о том, что в популяциях людей, проживающих в разных странах, одни и те же мутации могут приводить к разным последствиям. Например, показано, что полиморфизм нуклеотидов в аллели rs2275913 может быть сопряжен с риском развития рев-

матоидного артрита в Мексике [76], однако, в Польше такой корреляции не обнаружено [77]. Статистическая обработка пятнадцати различных исследований показала, что полиморфизм нуклеотидов в данном положении может быть сопряжен с пониженным риском развития ревматоидного артрита [73]. К настоящему времени совершенно непонятно, в чем причина таких противоречивых сведений, и какую роль играют различия в популяциях людей разных стран или размер выборки пациентов в каждом конкретном случае.

Среди всего многообразия воспалительных заболеваний суставов ревматоидный артрит (РА) находится в числе наиболее распространенной нозологии, которой страдает около 1% взрослого населения во всем мире [5,7]. Наряду с этим, среди различных популяций мира, крупными эпидемиологическими исследованиями установлены различия в распространенности заболевания [6,7,14]. Патогенетические аспекты развития РА остаются малоизученными [17]. Однако, известно, что в реализации патологического процесса, дающего начало заболеванию, связь замечена в отношении ряда факторов таких как воздействие окружающей среды, вредных привычек, микробных и вирусных агентов, генетических полиморфизмов и т.д. [2,8,9,16].

Воспаление, являясь основой развития РА начинается с изменений в суставной ткани. Прогрессирование воспаления в последующем переходит на костную ткань вызывая её разрушение [3]. В регуляции воспалительных процессов задействовано множество факторов, среди которых ведущая роль отводится полиморфным вариантам ряда провоспалительных цитокинов (IL17F и др.) [10,12]. Между тем, результаты исследований по оценке их участия в повышении риска развития РА неоднозначны [4,11,15, 10,12,18]. Так, исследователи С. N. Carvalho et al. (2015) не выявили ассоциации между полиморфизмом гена IL-17F (7488T/C), развитием и тяжестью

течения РА [4]. Аналогичные результаты с отсутствием различий между геном IL17F и развитием суставной, а также внесуставной форм заболевания получены А. Pawlik et al. (2016) при обследовании польских пациентов РА (n=422) [15]. S. Louahchi et al. (2016) также не обнаружили связь IL17F (rs763780, rs2397084) с восприимчивостью к РА среди алжирцев (n=343) [15]. Однако, в результаты исследований Y. H. Lee, S.C. Bae, (2017), O. S. Marwa et al. (2017), M. Shao et al. (2020) подтверждают роль гена IL17F в развитии РА [10,12,18]. Полученные разногласия возможно связаны с особенностями исследованных популяций.

Анализ результатов проведенных исследований показывает неоднозначные выводы в отношении вклада гена IL-17F в механизмы начала РА. В этой связи, проведение дополнительных исследований по оценке взаимосвязи данного гена с развитием РА представляется весьма интересным, а полученные данные помогут лучше понять и объяснить степень участия гена IL-17F в формировании этого сложного заболевания.

Цель исследования: Изучения отношении вклада гена IL-17F в механизмы начала РА.

Материал и методы

В исследование включено 106 взрослых (объединенная общая группа) неродственных пациентов, проживающих в республике Узбекистан с диагнозом РА, верифицированным с учетом критериев ACR/EULAR (2010) [1]. Все пациенты в период с 2018 по 2021 г.г. находились на обследовании и стационарном лечении в 3 клинике Ташкентской медицинской академии (Узбекистан, Ташкент), которые в зависимости от формы заболевания распределены на две подгруппы 1А (n=74) – пациенты с суставной формой РА и 1В (n=32) – пациенты с суставно-висцеральной формой РА. В качестве контроля обследованы услов-

но-здоровые лица (n=109) без аутоиммунных заболеваний в анамнезе сопоставимые по полу, возрасту и проживающие на территории республики. С целью соблюдения этических норм от всех лиц, включенных в исследование получено информированное согласие на участие.

Для проведения молекулярно-генетических исследований ДНК выделялась из лейкоцитов венозной крови с помощью набора «АмплиПрайм РИБО-преп, Россия» согласно стандартной методике [13]. Детекция полиморфизма rs763780 гена IL17F («SYNTOL», Россия) проводилось методом SNP-ПЦР («Applied Biosystems», термоциклер 2720 (США)) с проверкой специфичности и количества амплифицированных фрагментов электрофоретическим методом в агарозном геле.

Полученные данные статистически обработаны с помощью пакета программ «OpenEpi 2009, Version 9.3».

Результат и обсуждение

Распределение генотипов полиморфного варианта гена IL-17F (rs763780) в исследованных группах не отклонялось от равновесия Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). В частности, генотипы A/A, A/G и G/G в объединенной группе пациентов РА оказались равными 0.79%, 0.2% и 0.01%, а в контрольной группе их значения составили 0.88%, 0.12% и 0.0% соответственно.

Анализ распределения частот аллелей показал большую регистрацию доли носителей аллеля G среди пациентов РА общей группы по сравнению с контролем (10.8% против 6.0%). Увеличение частоты данного показателя наблюдалось за счёт увеличения их долей в обеих подгруппах больных, который в подгруппе «1А» пациентов с суставной формой РА достигал 9.5%, а в подгруппе «1В» пациентов с суставно-висцеральной формой РА - 14.1% (табл. 1).

Таблица 1.

Анализ распределения аллельных и генотипических частот полиморфизма гена IL 17F (rs763780) в исследованных группах

Группа	n	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		A		G		A/A		A/G		G/G	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1-я - объединенная группа пациентов РА	106	189	89.2	23	10.8	84	79.3	21	19.8	1	0.9
«1А» подгруппа	74	134	90.5	14	9.5	60	81.1	14	18.9	0	0.0
«1В» подгруппа	32	55	85.9	9	14.1	24	75.0	7	21.9	1	3.1
2-я контрольная группа	109	205	94.0	13	6.0	96	88.1	13	11.9	0	0.0

Если увеличение доли носительства аллеля G полиморфного варианта гена IL-17F (rs763780) в 1-й объединенной группе пациентов с РА и в «1А» подгруппе больных с суставной формой заболевания имело тенденцию к повышению риска развития РА почти в два раза ($\chi^2=3.344$; $P=0.07$; $OR=1.919$; $95\%CI:0.954-3.859$) и 1.65 раз ($\chi^2=1.57$; $P=0.211$; $OR=1.65$; $95\%CI:0.756-3.594$), то в подгруппе пациентов «1В» с суставно-висцеральной

формой РА риск развития заболевания статистически достоверно повышался в 2.58 раз ($\chi^2=4.512$; $P=0.037$; $OR=2.58$; $95\%CI:1.076-6.188$) (табл. 2).

Доля носительства генотипа A/A полиморфного варианта гена IL-17F (rs763780) во всех группах имело некоторые отличия: в объединенной группе пациентов РА она составила 79.3%, в подгруппах «1А» и «1В» - 81.1% и 75.0% соответственно, а в контроль-

ной группе – 88.1%. Наряду с этим частота гетерозиготного генотипа A/G имела явное различие в группах больных (объединенная группа РА – 19.8%; «1А» подгруппа – 18.9%, «1В» – 21.9%) по сравнению с контролем (11.9%).

Кроме того, важно отметить, что мутантный генотип G/G регистрировался только лишь среди пациентов с суставно-висцеральной формой заболевания («1В»

подгруппа), доля носительства которого составила 3.1%.

Снижение частоты дикого генотипа A/A среди пациентов по сравнению с контролем не отличалось статистической достоверностью (в объединенной группе больных РА - $\chi^2=3.073$; $P=0.084$; OR=0.517; 95% CI: 0.247-1.081; в «1А» подгруппе - $\chi^2=1.713$; $P=0.193$; OR=0.58; 95% CI: 0.257-1.311 и в подгруппе «1В» - $\chi^2=3.336$; $P=0.072$; OR=0.406; 95% CI: 0.154-1.068) (табл. 2).

Таблица 2.

Оценка связи между полиморфизмом гена IL17F (rs763780) и риском развития ревматоидного артрита

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Различие статистическое по сравнению с контролем			
		OR	95% CI:	χ^2	P
1-я группа пациентов РА (n=106)	A	3,344	0,072	0,521	0,259 - 1,048
	G	3,344	0,072	1,919	0,954 - 3,859
	A/A	3,073	0,084	0,517	0,247 - 1,081
	A/G	2,509	0,119	1,824	0,867 - 3,837
1А подгруппа, суставная форма РА (n=74)	A	1,577	0,211	0,607	0,278 - 1,323
	G	1,577	0,211	1,648	0,756 - 3,594
	A/A	1,713	0,193	0,580	0,257 - 1,311
	A/G	1,713	0,193	1,723	0,763 - 3,892
1В подгруппа, суставно-висцеральная форма РА (n=32)	A	4,512	0,037	0,388	0,162 - 0,929
	G*	4,512	0,037	2,580	1,076 - 6,186
	A/A	3,336	0,072	0,406	0,154 - 1,068
	A/G	2,011	0,165	2,068	0,758 - 5,645

Между тем, различия в доле носительства гетерозиготного генотипа A/G в группах больных РА по сравнению с контролем оказались более существенным. Так, если в 1-й объединенной группе больных РА данный генотип увеличивался в 1.8 раз ($\chi^2=2.509$; $P=0.119$; OR=1.824; 95% CI: 0.867-3.837); то в «1А» подгруппе 1.72 раза ($\chi^2=1.713$; $P=0.193$; OR=1.723; 95% CI: 0.763-3.892) и в подгруппе «1В» более чем в два раза ($\chi^2=2.011$; $P=0.165$; OR=2.068; 95% CI: 0.758-5.645). Полученные различия свидетельствуют о наличии явной тенденции к повышенному риску формирования РА у носителей генотипа A/G. Возможно,

при большем охвате исследуемой выборки различия могли бы иметь достоверно значимый характер.

Следовательно, установленные нами различия в частоте распределения аллеля G и генотипа A/G среди пациентов РА по сравнению с контролем позволяют определить их роль в повышении риска развития заболевания, в особенности суставно-висцеральной формы.

Заключение

Ревматоидный артрит является весьма сложным аутоиммунным заболеванием, в генезе которого задействованы сложные до

конца не раскрытые патологические механизмы [14]. Однако, результаты современных исследований подчеркивают особую роль генетических полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов, которые принимают участие не только в повышении риска развития РА, но и в тяжести его течения [7]. В качестве одного из таких генов рассматривается IL17F, который может служить потенциальным геном-кандидатом приводящим к развитию РА [10,12]. Между тем, в отношении данной точки зрения взгляды исследователей расходятся. Так, если C. N. Carvalho et al. (2015), S. Louahchi et al. (2016), A. Pawlik et al. (2016) [4,11,15] в своих исследованиях не обнаружили связь между геном IL17F и началом РА, то результаты более поздних работ Y. H. Lee, S.C. Bae, (2017), O. S. Marwa et al. (2017), M. Shao et al. (2020) свидетельствуют об участии гена IL17F в механизмах формирования РА [10,12,18].

С учетом существующих разногласий в этом плане, нам представилось интересным оценить степень участия полиморфизма гена IL17F (rs763780) в риске развития РА среди населения республики Узбекистан. В результате проведенных исследований нами установлено, что аллель G и гетерозиготный генотип A/G гена IL17F (rs763780) среди пациентов с РА встречаются существенно выше по сравнению с контрольной группой. В частности, наиболее значимые различия выявлены у пациентов с суставно-висцеральной формой заболевания, у которых аллель G превышал долю носительства в контроле статистически достоверно в 2.58 раз ($\chi^2=4.512$; $P=0.037$; OR=2.58; 95%CI:1.076-6.188), а со стороны гетерозиготного генотипа A/G отмечалась явная тенденция к повышению его частоты более чем в два раза ($\chi^2=2.011$; $P=0.165$; OR=2.068; 95% CI: 0.758-5.645), что в свою очередь свидетельствует о возможном участии указанного полиморфизма в патогенезе заболевания. Более того, лишь среди пациентов с этой формой РА обнаружено носительство мутантного генотипа G/G (3.1%; $\chi^2=2.011$; $P=0.165$; OR=2.068; 95% CI: 0.758-5.645).

Полученные данные подчеркивают роль полиморфного варианта гена IL17F (rs763780)

в развитии РА среди населения Узбекистана. Кроме того, эти результаты способствуют более глубокому пониманию патогенетических механизмов формирования РА, что весьма важно в прогнозировании развития РА и поиске наиболее эффективных методов лечения заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1580—8.
2. Ball, R.J., Avenell, A., Aucott, L. et al. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 17, 274 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0755-6>.
3. Boissier MC, Semerano L, Challal S, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G (2012) Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. *J Autoimmun* 39(3):222–228. doi:10.1016/j.jaut.2012.05.021.
4. Carvalho, C. N., do Carmo, R. F., Duarte, Carvalho, A. A. T., Leão, J. C., & Gueiros, L. A. (2015). IL-17A and IL-17F polymorphisms in rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Clinical Oral Investigations*, 20(3), 495–502. doi:10.1007/s00784-015-1540-2.
5. Cribbs, A. P., Kennedy, A., Penn, H., Amjadi, P., Green, P., Read, J. E., et al. Methotrexate restores regulatory T cell function through demethylation of the FoxP3 upstream enhancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015, 67, 1182–1192. doi: 10.1002/art.39031.
6. Cross M, Smith E, Hoy D, Carmona L, Wolfe F, Vos T. The global burden of rheu-

- matoid arthritis: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis.* 2014; 73:1316-22. Medline:24550173 doi:10.1136/annrheumdis-2013-204627.
7. Firestein G. S. Pathogenesis of rheumatoid arthritis: the intersection of genetics and epigenetics. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2018; 129: 171-182. PMCID: PMC6116585.
 8. Hedström, A. K., Stawiarz, L., Klareskog, L. et al. Smoking and predisposition to rheumatoid arthritis in a Swedish population-based case-control study. *Eur J* 33,415-423 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0360-5>.
 9. Kharlamova, N., Jiang, X., Sherina, N., Potempa, B., Israelsson, L., Quirke, A.-M., Lundberg, K. (2016). Antibodies to Porphyromonas gingivalis Indicate Interaction Between Oral Infection, Smoking, and Risk Genes in Rheumatoid Arthritis Etiology. *Arthritis & Rheumatology*, 68(3), 604–613. doi:10.1002/art.39491.
 10. Lee, Y. H., & Bae, S.-C. (2017). Associations between circulating IL-17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a meta-analysis. *Postgraduate Medical Journal*, 93(1102), 465–471. doi:10.1136/postgradmedj-2016-134637.
 11. Louahchi, S., Allam, I., Berkani, L., Boucharef, A., Abdesamed, A., Khaldoun, N., ... Djidjik, R. (2016). Association study of single nucleotide polymorphisms of IL23R and IL17 in rheumatoid arthritis in the Algerian population. *Acta Reumatologica Portuguesa*, 41(2), 151–157.
 12. Marwa, O. S., Kalthoum, T., Wajih, K., & Kamel, H. (2017). Association of IL17A and IL17F genes with rheumatoid arthritis disease and the impact of genetic polymorphisms on response to treatment. *Immunology Letters*, 183, 24–36. doi:10.1016/j.imlet.2017.01.013.
 13. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res.* 1988; 16:1215.
 14. Nemtsova, M. V., Zaletaev, D. V., Bure, I. V., Mikhaylenko, D. S., Kuznetsova, E. B., Alekseeva, E. A., ... Zamyatnin, A. A. (2019). Epigenetic Changes in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Genetics*, 10. doi:10.3389/fgene.2019.00570.
 15. Pawlik, A., Kotrych, D., Malinowski, D., Dzieziejko, V., Czerewaty, M., & Safranow, K. (2016). IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 17(1), 208.
 16. Potempa, J., Mydel, P., & Koziel, J. (2017). The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 13(10), 606–620. doi:10.1038/nrrheum.2017.
 17. Scherer, H. U., Häupl, T., & Burmester, G. R. (2020). The etiology of rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity*, 102400. doi:10.1016/j.jaut.2019.102400.
 18. Shao, M., Xu, S., Yang, H., Xu, W., Deng, J., Chen, Y., ... Pan, F. (2020). Association between IL-17A and IL-17F gene polymorphism and susceptibility in inflammatory arthritis: A meta-analysis. *Clinical Immunology*, 213, 108374. doi:10.1016/j.clim.2020.108374.

Поступила 29.11.2021