

На правах рукописи

Убшаева Юлия Борисовна

**КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНЫХ
ЦИТОКИНОВ И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ
В ПРОГНОЗЕ ТЕЧЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ
РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА**

14.01.22 Ревматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Волгоград – 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.

**Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН
Коненков Владимир Иосифович.**

**Научный консультант: кандидат медицинских наук
Королев Максим Александрович.**

Официальные оппоненты:

Зборовская Ирина Александровна, доктор медицинских наук, профессор; ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; кафедра госпитальной терапии, ВПТ с курсом клинической ревматологии ФУВ; профессор кафедры.

Дубиков Александр Иванович, доктор медицинских наук, доцент; ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России; кафедра факультетской терапии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ярославская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «30» октября 2013 г. в 11.00 на заседании диссертационного совета Д 208.008.08 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов,1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов,1.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2013 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета**

Магницкая Ольга Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень ее разработанности

Высокая социальная значимость ревматоидного артрита (РА) определяется преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, неуклонным прогрессирующим течением болезни, ранней инвалидизацией и сокращением продолжительности жизни (Насонов Е.Л., 2013). Широкая распространенность РА (частота в популяции 1%), зачастую упорное течение заболевания, связанное с недостаточной эффективностью и трудностями при подборе адекватной терапии, обеспечивают необходимость внедрения в практику новых высокотехнологичных, индивидуализированных методов диагностики и терапии пациентов с РА.

Исследования последних лет показали, что иммунокомпетентные клетки и продуцируемые ими цитокины определяют полиморфизм аутоиммунных воспалительных заболеваний, в том числе и РА (Александрова Е.Н., Насонов Е.Л., 2013; McInnes I.V. и соавт., 2007). TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF осуществляют активацию фибробластов и экспрессию молекул адгезии, что рассматривается как основной механизм поддержания воспаления и прогрессии РА, формирования системных проявлений и осложнений. В то же время реализация аутоиммунного воспаления связана с продукцией IL-4, IL-10, ингибирующей деятельность провоспалительных цитокинов (Новиков А.А. и соавт., 2010). Уровень продукции самих цитокинов определяется структурой регуляторных участков генов цитокинов, сосредоточенных, как правило, в промоторных или интронных участках генов.

В последние десятилетия произошли существенные изменения в подходах к лечению ревматологических больных, включая внедрение концепции раннего агрессивного лечения и комбинированной базисной противовоспалительной терапии, широкое применение генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) (Каратеев Д.Е., 2012; Балабанова Р.М., 2012). В настоящее время выбор терапии РА осуществляется эмпирически, не предусматривая чувствительность пациентов к лечению, что ограничивает возможности лечебного воздействия в будущем и способствует неконтролируемой прогрессии заболевания.

Проводятся работы по выявлению лабораторных, инструментальных, иммунологических и иммуногенетических маркеров прогностически неблагоприятных

форм РА и эффективности терапии, однако результаты различных исследований зачастую противоречивы (Breedveld F. C., Combe B., 2011; Romao V. C. и соавт., 2013), и поиск указанных биомаркеров остается актуальной проблемой медицины.

В настоящей работе проведено динамичное определение уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, исследован полиморфизм генов цитокинов у пациентов РА на фоне различных схем терапии. Уровень цитокинов обуславливает развитие и поддержание воспаления при РА, в связи с чем проанализирован совместно с распределением основных медиаторов воспаления. Результаты исследования направлены на разработку критериев использования сывороточного уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, полиморфизма их генов в комплексе с лабораторными показателями в качестве маркеров прогрессирующих форм РА, прогноза эффективности и нечувствительности к терапии.

Цель исследования

Оптимизация терапии ревматоидного артрита путем применения прогностической стратегии на основе оценки клинической значимости сывороточного уровня и полиморфизма генов цитокинов.

Задачи исследования

1. Провести комплексный анализ соотношения циркулирующих провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12 (p70), GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-5) у пациентов с ревматоидным артритом при различной активности воспалительного процесса.
2. Оценить зависимость эффективности базисной противовоспалительной терапии от уровня сывороточных цитокинов до начала лечения и динамику их концентраций в процессе терапии.
3. Изучить характер ассоциированности генотипов в промоторных участках генов цитокинов (TNFA в позициях C-863A, G-308A, G-238A, IL-1B T-31C, IL6 G-174C, IL4 C-590T, IL10 C-592A) с клиническим течением РА и эффективностью различных схем его лечения среди европеоидного населения Западной Сибири.
4. Провести клинический анализ прогностической значимости исследованных лабораторных признаков течения ревматоидного артрита.

Научная новизна исследования

В настоящей работе проведено комплексное исследование участия иммунологических и иммуногенетических факторов в формировании и развитии РА среди европеоидного населения Западной Сибири, имеющего определенные отличия в характере распространения некоторых аллелей различных генов от населения европейской части России.

Впервые для этой группы пациентов установлена динамичная взаимосвязь сывороточных концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12 (p70), GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-5) с активностью воспалительного процесса, характером течения РА, с эффективностью базисной противовоспалительной терапии (БПВТ).

Впервые для этой группы показано, что полиморфизмы генов TNFA C-863A, G-308A, G-238A, IL-1B T-31C, IL6 G-174C, IL4 C-590T, IL10 C-592A ассоциированы с вариантами клинического течения РА, эффективностью БПВТ и анти-TNF-терапии.

Впервые установлено, что пациенты с РА, имеющие хороший ответ при назначении БПВТ, кардинальным образом различаются по комбинациям генотипов цитокинов от больных, у которых этот ответ отсутствовал.

Впервые представлены данные по информативности комплекса лабораторных, иммунологических и иммуногенетических признаков в оценке возможности прогнозирования течения и эффективности терапии РА.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования пациентов с РА в Сибирском регионе продемонстрирована динамика изменения уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови в ходе иммуносупрессивной терапии и возможность использования комплексного анализа их уровня в качестве маркера эффективности проводимой терапии.

Верификация аллелей и генотипов генов, кодирующих продукцию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе ревматоидного артрита, позволяет прогнозировать эффективность БПВТ и терапии ингибиторами TNF- α .

На основании выделения информативных признаков разработан комплексный подход прогноза варианта течения и эффективности терапии РА. Внедрение в

клиническую практику ведения пациентов с РА выявленных иммунологических и иммуногенетических признаков позволит значительно снизить вероятность использования заведомо неэффективных лекарственных средств, проводить индивидуализированное назначение препаратов пациентам с прогнозируемой высокой эффективностью данного вида терапии, производить своевременную коррекцию лечения.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дополнительными критериями активности процесса и эффективности терапии при ревматоидном артрите является определение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови.
2. Клиническое течение РА и ответ пациентов на базисную противовоспалительную терапию ассоциированы с генотипами в промоторных участках генов ряда цитокинов.
3. Комплексный прогностический подход с исследованием сывороточных концентраций цитокинов и полиморфизма генов цитокинов позволяет выявлять неблагоприятные варианты течения РА и проводить персонализированный выбор терапии.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в работу терапевтического и консультативного отделений ФГБУ «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» СО РАМН, терапевтических отделений ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН, используются для выявления неблагоприятных вариантов течения РА, прогноза эффективности базисной терапии и мониторинга проводимого лечения.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на Международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2008, 2011 гг.), V съезде ревматологов России (Москва, 2009), Евразийском симпозиуме (Чолпон-Ата, 2009), выездной научной сессии «Актуальные вопросы клинической лимфологии» (Андижан, 2009), III Городской научно-практической конференции врачей «Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения болезней внутренних органов» (Новосибирск, 2009), I Всероссийской научной конференции молодых ученых-медиков «Инновационные технологии в медицине XXI

века» (Москва, декабрь 2012), ученых советах и семинарах ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН (Новосибирск, 2010-2013).

По материалам работы в 2009 г. получена именная стипендия администрации Новосибирской области в сфере научной деятельности. Работа заняла второе место среди лучших научных работ молодого ученого по терапии на I Всероссийской научной конференции молодых ученых-медиков «Инновационные технологии в медицине XXI века» (Москва, декабрь 2012 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 6 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК МОН РФ для публикаций основных результатов диссертационных работ, 3 тезиса в иностранной печати. 2 соавторства в монографии.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Работа изложена на 146 страницах машинописного текста, иллюстрирована 6 рисунками, содержит 27 таблиц, приложения (4 таблицы). Библиографический указатель включает 185 источников, из них 32 отечественных и 153 зарубежных.

Работа выполнена в рамках темы НИР ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН №005, госрегистрационный №01.2.00951656 «Разработка новых лимфотропных технологий диагностики, лечения и профилактики заболеваний соединительной ткани на основе идентификации транскрипционных генов и установление их связи с чувствительностью к заболеваниям, особенностям клинического течения и эффективности проводимой терапии».

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Клиническая характеристика групп пациентов

В исследование включено 148 больных РА, средний возраст $53,75 \pm 13,11$ лет, из них 135 женщин (91,2%). Средняя продолжительность заболевания $8,59 \pm 8,53$ лет. Дебют суставного синдрома в основном приходится на средний возраст. К моменту включения в исследование преобладала поздняя стадия РА (71%). Серопозитивными по ревматоидному фактору (РФ) были 84,5%, при этом средняя концентрация РФ в

сыворотке всех пациентов составила $206,22 \pm 202,01$ Ед/мл. Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) определялись в сыворотке 82,4% пациентов. По степени активности воспаления распределение пациентов составило: низкая ($DAS28 < 3,2$) - 3 пациента (2%), средняя ($3,2 \leq DAS28 \leq 5,1$) - 46 пациентов (31,1%), высокая ($DAS28 > 5,1$) - 99 пациентов (66,9%), при этом средний индекс DAS28 составил $5,6 \pm 1,22$ балла. Пациенты в состоянии ремиссии в исследование не включались. У 38,5% больных рентгенологически определялась третья стадия. 85,8% больных были ограничены в выполнении профессиональных и непрофессиональных обязанностей (II и III ФК). Среднее значение индекса HAQ составило $1,63 \pm 0,71$. Системные проявления РА имели 87 пациентов.

К моменту включения в исследование 61 пациент (41,2%) не получал базисной противовоспалительной терапии, из них 26 больных принимали пероральные глюкокортикоиды (17,6%). На неделе 0 всем пациентам была начата БПВТ в случае ее отсутствия, произведена смена, усилена или подобрана комбинированная при неэффективности предыдущего подхода лечения. 25 пациентам была назначена ГИБТ инфликсимабом 3 мг/кг массы тела по установленной схеме.

Динамическое наблюдение с исследованием сывороточного уровня цитокинов произведено у 92 пациентов. В исследование полиморфизма генов цитокинов с оценкой эффективности БПВТ (метотрексат или сульфасалазин) включено 104 пациента. Характеристики выделенных групп сопоставимы с общей группой.

В качестве контроля содержания цитокинов и иммунологического контроля использованы группы практически здоровых жителей Сибирского региона европейского происхождения (39 и 297 человек соответственно).

Методы исследования

Клиническая оценка интенсивности суставного синдрома включала стандартные методы подсчета числа болезненных и припухших суставов, оценку продолжительности утренней скованности в минутах, уровень боли по ВАШ. Для количественной оценки активности РА использовался модифицированный индекс DAS28 (Prevo M. и соавт., 1995). Функциональный статус оценивался по Стэнфордскому опроснику состояния здоровья HAQ (Fries J. и соавт., 2003). Оценка эффективности терапии проводилась по критериям EULAR (Prevo M., 1995; Fransen J., 2004).

Количественное определение С-реактивного белка в сыворотке крови, Е-селектина, РФ, АЦЦП осуществлялось методом твердофазного ИФА – ELISA.

Содержание в сыворотке 9 цитокинов TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, GM-CSF оценивали методом проточной флюориметрии на двухлучевом лазерном автоматизированном анализаторе Bio-Plex™ 2000 System (Bio-Rad, США). Измерения проводились в 25 мкл сыворотки. Диапазон измерений составлял 0,1-12000 пг/мл. При статистической обработке значения цитокинов, выходящие за нижнюю границу чувствительности метода, принимали за 0,02 пг/мл.

Исследование 7 полиморфизмов, локализованных в промоторных регионах 5 генов интерлейкинов, проведено с использованием метода рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ): TNFA C-863A - Bst BAI, TNFA G-308A - Bsp19 I, TNFA G-238A - Msp I, IL1B T-31C - Alu I, IL6 G-174C - SfaN I, IL4 C-590T - Bme 18 I, IL10 C-592A – RsaI («СибЭнзим», Новосибирск).

Для математической обработки полученных данных использовали статистические компьютерные программы «STATISTICA 6.0», включая методы параметрического и непараметрического анализа. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

При статистическом анализе результатов генотипирования оценивались частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, отношение шансов (OR), 95% доверительный интервал (CI) для OR и диагностический вес признаков (DK). Частоту аллелей генов цитокинов вычисляли методом прямого подсчета по формуле: $f = n/2N$, где n – количество раз встречаемости аллеля; $2N$ – удвоенная численность обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди—Вайнберга (Вейр Б., 1995). Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле: $f = n/N$, где n — количество раз встречаемости генотипа; N — численность обследованных. Математическую обработку связи генетических признаков с количественными лабораторными показателями проводили в соответствии с методическими подходами квартильного анализа (Гланц С., 1998).

Отбор генетических комплексов, пригодных для индивидуального прогнозирования, проводился на основе значений трех статистических критериев:

двусторонний вариант точного метода Фишера; информационная мера Кульбака (J_{kl}); диагностический (прогностический) коэффициент по формуле: $DK=10\lg(P1/P2)$, где $P1$ и $P2$ — частота прогностического признака в сравниваемых группах (Гублер Е.В., 1978).

В качестве операционных характеристик генетических комплексов как прогностических критериев использованы показатели чувствительности и специфичности (Зарецкая Ю.М., 1983). Для диагностики риска формирования того или иного состояния использована последовательная процедура Вальда, основанная на теории гипотез Бейса (Гублер Е.В., 1978).

Результаты исследования и их обсуждение

Цитокиновый профиль больных с ревматоидным артритом

У больных РА наряду с клиническими и лабораторными признаками активности воспалительного процесса в сыворотке крови отмечено повышение уровня цитокинов преимущественно с провоспалительной активностью с достоверным превышением уровней $IFN-\gamma$, $IL-2$ в сравнении со здоровыми донорами ($p<0,01$). Выявлена очень широкая вариабельность индивидуальных значений сывороточной концентрации цитокинов, особенно $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$, $IL-2$, $GM-CSF$, в результате не отражающая нормальный характер распределения в исследуемой группе.

Корреляционный анализ показал: высокие концентрации провоспалительных цитокинов ассоциированы с высокими концентрациями противовоспалительных; высокие уровни основных провоспалительных цитокинов - с повышением острофазовых показателей, тромбоцитозом, анемией; $IL-2$ и $GM-CSF$ – со степенью активности РА (по DAS28). У больных РА старшей возрастной группы (более 52 лет) достоверно определяются более высокие уровни $IL-5$, $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ ($p<0,05$). В подгруппе пациентов с большой длительностью заболевания (>9 лет) определяются достоверно более высокие титры $GM-CSF$ ($p=0,048$). В группе пациентов, не получавших ранее БПВТ, отмечена тенденция к более высоким уровням всех цитокинов с достоверной разницей по $IL-2$, $IL-13$, $GM-CSF$, $IFN-\gamma$ ($p<0,05$).

Проводился анализ динамики содержания цитокинов в сыворотке крови у пациентов на протяжении 24 недель терапии в зависимости от результата полугодового лечения БПВП (MT и CC3). Пациенты со стойким ответом на указанную терапию перед началом лечения имели более высокие уровни практически всех исследуемых цитокинов, чем в оппозитной группе (таблица 1).

Таблица 1. Концентрация сывороточных цитокинов до назначения или коррекции терапии у больных ревматоидным артритом с различными результатами лечения, Me (Q1 – Q3)

Цитокин, пг/мл	Стойкий эффект на терапию БПВП (n=45)	Отсутствие или ускользание эффекта на БПВТ (n=47)	p
IL-2	9,57 (0,02 – 99,47)	1,63 (0,02 – 18,68)	0,006
IL-4	0,24 (0,02 – 3,23)	0,05 (0,02 – 0,4)	0,023
IL-5	1,56 (0,79 – 4,32)	0,81 (0,63 – 1,46)	0,032
IL-12	2,28 (0,89 – 45,51)	1,27 (0,51 – 5,06)	0,019
GM-CSF	22,68 (0,02 – 320,8)	7,21 (0,02 – 34,28)	0,026
INF- γ	41,76 (1,55 – 605,83)	6,99 (0,02 – 50,83)	0,003
TNF- α	12,46 (1,55 – 129,19)	2,36 (1,01 – 9,57)	0,009

Соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в группе с эффектом БПВТ было в пользу первых. В группе пациентов с отсутствием ответа на иммуносупрессивное воздействие или ускользанием эффекта к исходу 24 недель преобладание провоспалительных цитокинов менее выражено (рисунок 1).

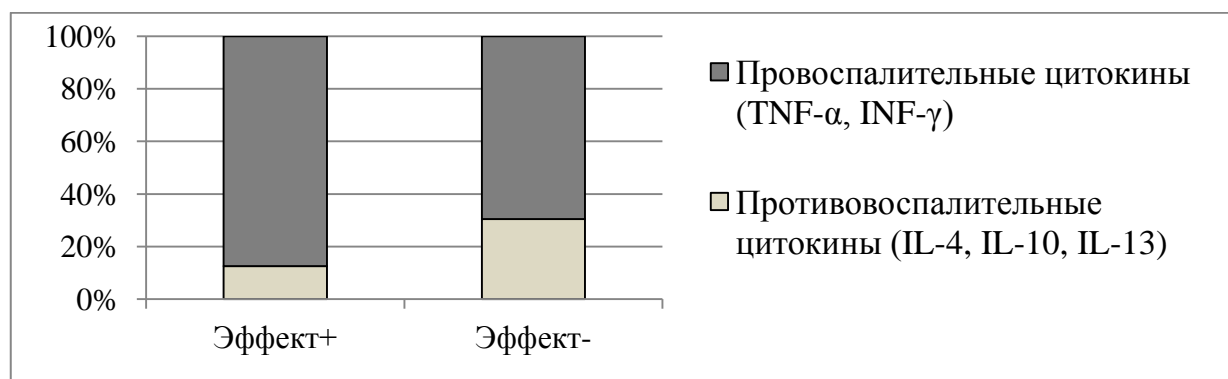


Рисунок 1 – Соотношение уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у пациентов с различным ответом на БПВТ.

Примечание – Эффект+ группа пациентов с эффективностью БПВТ;
Эффект- группа пациентов с неэффективностью БПВТ

При динамичной оценке уровня цитокинов в группе пациентов с эффективностью БПВТ отмечено снижение как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, что обусловлено отсутствием избирательности воздействия проводимой болезньюмодифицирующей терапии и формированием системной иммуносупрессии (таблица 2). В указанной группе пациентов достоверное снижение уровня цитокинов выявлено уже на 12 неделе терапии (кроме IL-4 и GM-CSF), данная тенденция сохраняется к 24 неделе. В то же время максимальный положительный ответ БПВТ по стандартным клиничко-лабораторным показателям зафиксирован на 24 неделе наблюдения, т.е. снижение уровня цитокинов предшествует клиническому ответу.

Таблица 2. Динамика уровня сывороточных цитокинов в группе пациентов с эффектом БПВТ, Ме (Q1 – Q3)

Цитокин, пг/мл	Неделя 0 (n=45)	Неделя 12 (n=37)	Неделя 24 (n=40)
	1	2	3
IL-2	9,57 (0,02 – 99,47)	1,3 (0,02 – 37,98)** ^{1/2}	0,91 (0,02 – 23,96)* ^{1/3}
IL-4	0,24 (0,02 – 3,23)	0,07 (0,02 – 2,21)	0,2 (0,02 – 1,82)
IL-5	1,56 (0,79 – 4,32)	0,78 (0,49 – 2,51)* ^{1/2}	1,17 (0,78 – 2,14)* ^{1/3}
IL-10	3,46 (1,05 – 26,67)	2,74 (0,49 – 8,33)* ^{1/2}	2,63 (1,14 – 12,94)
IL-12	2,28 (0,89 – 45,51)	1,11 (0,32 – 10,38)* ^{1/2}	2,39 (0,84 – 9,19)
IL-13	4,12 (1,31 – 35,38)	1,46 (0,33 – 21,44)** ^{1/2}	2,21 (0,48 – 20,36)* ^{1/3}
GM-CSF	22,68 (0,02 – 320,8)	17,71 (0,02 – 171,08)	0,1 (0,02 – 67,14)* ^{1/3}
INF- γ	41,76 (1,55 – 605,83)	12,63 (0,02 – 200,08)** ^{1/2}	10,67 (0,02 – 222,05)** ^{1/3}
TNF- α	12,46 (1,55 – 129,19)	4,19 (0,79 – 53,89)** ^{1/2}	5,33 (1,55 – 64,58)

Примечание – При проведении статистического анализа методом Wilcoxon указаны достоверные различия * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

При сравнительном анализе в группе пациентов с неэффективностью БПВТ достоверного снижения уровня цитокинов к 12 неделе не достигнуто, отмечена тенденция к снижению уровня противовоспалительных цитокинов, а к 24 неделе выявлен достоверный рост IL-2, GM-CSF, INF- γ и TNF- α . Последующее наблюдение за 6 пациентами, у которых отмечалось значительное увеличение концентраций TNF- α и INF- γ , выявило у них обострение, проявив себя как предшественник грядущей активизации воспалительного процесса.

Полученные результаты позволяют говорить об информативности оценки сывороточного уровня цитокинов на протяжении 12 недель терапии как маркера эффективности проводимой терапии. Значимое увеличение провоспалительных цитокинов позволяет предвидеть активацию воспалительного процесса. При этом высокая вариабельность количественных значений, зависимость уровня цитокинов от ряда факторов (возраст, длительность заболевания, предшествующая терапия) затрудняет их использование в прогностических целях, в этой связи более перспективным представляется исследование полиморфизма генов цитокинов.

Анализ прогностической значимости исследования полиморфизма генов цитокинов

Полиморфизмы генов TNFA в позициях C-863A, G-308A, G-238A, IL-1B T-31C, IL6 G-174C, IL4 C-590T, IL10 C-592A изучены у больных РА и в группе практически здоровых жителей Сибирского региона (таблица 3). Анализ полиморфизма гена TNFA в позиции -863 показал достоверное преобладание частоты гомозиготного варианта CC – 73,6% среди больных РА и 61,6% среди здоровых ($p = 0,016$), гетерозиготный вариант CA

достоверно чаще встречается в популяции здоровых ($p=0,015$). При анализе полиморфизма TNFA в позиции -308 выявлено достоверное преобладание гетерозиготного варианта GA в популяции больных РА ($p=0,018$). Группа больных РА отличалась от выборки здоровых лиц накоплением генотипа AA гена IL10 в позиции C-592A ($p=0,014$). Распределение отдельных аллельных вариантов генов IL1B, IL6, IL4 не отличалось от такового в контроле.

Таблица 3. Полиморфизм генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных ревматоидным артритом в сравнении со здоровым контролем

Полиморфизм генов цитокинов	Генотип	Частота генотипа (n, %)				OR	OR 95% CI	p
		РА (n1)		здоровые доноры (n2)				
		n	%	n	%			
TNFA C-863A n1=148 n2=297	CC	109	73,6	183	61,6	1,74	1,10-2,75	<u>0,016</u>
	CA	37	25,0	110	37,0	0,57	0,36-0,90	<u>0,015</u>
	AA	2	1,4	4	1,4	1,00	0,13-6,44	0,665
TNFA G-308A n1=148 n2=297	GG	105	70,9	242	81,5	0,72	0,43-1,21	0,239
	AG	41	27,7	52	17,5	1,81	1,10-2,96	<u>0,018</u>
	AA	2	1,4	3	1	1,34	0,16-9,97	0,876
IL-10 C-592A n1=147 n2=281	CC	73	49,6	178	63,3	0,57	0,37-0,87	<u>0,009</u>
	AC	62	42,2	96	34,2	1,41	0,91-2,16	0,127
	AA	12	8,2	7	2,5	3,48	1,24-10,03	<u>0,014</u>

Примечание – Здесь и далее в таблицах: OR -критерий отношения шансов; 95% CI-95% доверительный интервал для OR

Далее проведено сопоставление характера распределений комбинаций исследуемых полиморфизмов среди женщин с РА и здоровых женщин. Установлено наличие 312 различий комбинаций генотипов, достоверных по двустороннему критерию точного метода Фишера (ТМФ), между здоровыми и больными РА женщинами, из них 171 соответствуют достоверному доверительному интервалу для OR CI95%. Обращает внимание, что при использовании метода исследования комбинаций генотипов значения OR возрастают в десятки раз, достигая 29. Примеры результатов анализа с наиболее высоким уровнем достоверностей различий по ТМФ представлены в таблице 4. Суммируя полученные наблюдения, можно предположить участие полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии РА.

Анализ ассоциаций изучаемых полиморфизмов генов с клиническими особенностями течения воспалительного процесса и тяжестью РА в исследуемой группе пациентов показал, что лица с наличием аллели А в позиции TNFA -308GA заболевают преимущественно в возрасте старше 45 лет ($OR=0,49$; $p=0,043$). В группе пациентов с

наличием аллеля А в генотипе полиморфного участка гена IL-10 С- 592А отмечены более высокие показатели активности воспалительного процесса по индексу DAS28 (OR=0,52; p=0,023).

Таблица 4. Распределение частоты встречаемости комбинаций генотипов цитокинов среди женщин с ревматоидный артритом

Комбинации генотипов	Частота генотипа (%)		OR	OR CI 95%	P	Sp
	РА	Контр оль				
TNF-863CC/IL10-592AA	8,21	1,16	7,60	2,38-24,32	0,0003	98,84
TNF-863CC/IL1B-31TC/IL10-592AA	2,99	0,00	20,17	1,08-377,43	0,0095	100,00
TNF-863CC/IL4-590CC/IL10-592AA	4,48	0,29	16,03	1,91-134,46	0,0024	99,71
TNF-863CC/TNF-238GG/IL4-590CC/IL10-592AA	3,73	0,30	12,83	1,48-110,88	0,0086	99,70
TNF-863CA/IL1B-31TT/IL6-174GG/IL10-592CA	4,48	0,00	28,88	1,61-516,61	0,0010	100,00
TNF-863CA/TNF-308GG/IL1B-31TT/IL4-590CT/IL10-592CA	4,48	0,00	29,49	1,65-527,44	0,0009	100,00
TNF-863CA/TNF-238GG/IL1B-31TT/IL4-590CT/IL10-592CA	4,48	0,00	28,38	1,59-507,58	0,0011	100,00
TNF-863CA/TNF-238GG/IL1B-31TC/IL6-174GC/IL10-592CA	5,97	0,73	8,6	1,80-41,10	0,0028	99,27
TNF-863CA/TNF-308GG/IL1B-31TT/IL4-590CT/IL10-592CA	4,48	0,00	29,49	1,65-527,44	0,0009	100,00
TNF-863CA/TNF-308GG/TNF-38GG/IL1B-31TT/IL4-CT/IL10-592CA	4,48	0,00	28,38	1,59-507,58	0,0011	100,00

Примечание – Здесь и далее в таблицах: P(tmF2) — значения P разности частот встречаемости комбинаций генотипов в группах сравнения по двустороннему варианту точного метода Фишера; Sp – специфичность, %

Выявлены ассоциации показателей лабораторной активности с полиморфизмом гена IL-6 в позиции G-174C: в группе больных с генотипом GG отмечен более высокий уровень СРБ, чем у больных с гомозиготным генотипом CC (p=0,029); присутствие аллеля G у гетерозиготных пациентов способствует более высокой активности воспаления по уровню СОЭ (p=0,037); аллель G ассоциирован с повышенной концентрацией E-селектина (p=0,018). Гомозиготы IL1B-31TT отличаются от гомозигот -31CC более высокой активностью воспалительного процесса по индексу DAS28 (p=0,047), ассоциированы с тромбоцитозом (p=0,034). Аллель А в генотипе IL10 С-592А ассоциирован с высокими концентрации СРБ (p=0,040). Аллель С IL4 (в позиции С-590Т) ассоциирован с высокими концентрациями E-селектина (p=0,046).

Дальнейший анализ частоты распределения комбинаций генотипов цитокинов у больных РА женщин с минимальными и максимальными уровнями СРБ и РФ, определенных с использованием квартильного подхода (Реброва О.Ю., 2002), выявил более 20 достоверных по ТМФ различий комбинаций генотипов среди выделенных подгрупп. Таким образом, полиморфизмы исследуемых генов ассоциированы с основными клинико-лабораторными показателями активности воспалительного процесса, оказывают существенное влияние на течение РА и могут быть дополнительно использованы в качестве маркеров неблагоприятного прогноза.

Проведено исследование по изучению распределения аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов у пациентов РА с различной эффективностью БПВТ на 24 неделе наблюдения. Выявлено, что мутантный аллель Т гена IL4 в позиции С-590Т обеспечивает хороший и удовлетворительный эффект у пациентов, получающих БПВТ ($p=0,022$), тогда как пациенты с наличием генотипа СС не формируют ответа на иммуносупрессивную терапию в 68,8% случаев. У пациентов с наличием гомозиготного генотипа GG TNFA в позиции G-308A ответ на лечение БПВП не отличался столь высокой эффективностью как у гетерозиготных GA больных ($p=0,015$).

Проведено исследование по распределению генотипов цитокинов у больных РА, получающих инфликсимаб, с различной эффективностью через 22 недели от начала лечения. Выявлено, что гомозиготное состояние СС IL10 в позиции С-592А, возможно ассоциированное с высоким уровнем продукции самого интерлейкина, способствует хорошей эффективности терапии препаратом инфликсимаб (Sens 78,95%, Sp 83,33%, OR 18,75, $p=0,0119$). Напротив, генетически детерминированный низкий синтез IL-10 (генотипы AA и AC) ассоциирован с низким ответом на проводимую терапию анти-TNF-препаратом.

С учетом малой информативности изолированного определения влияния генотипов и аллелей генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на формирование эффекта назначаемой терапии произведен анализ встречаемости сочетания комбинаций генотипов у пациентов с различной эффективностью БПВТ. В группе пациентов с высокой эффективностью БПВТ достоверные различия ($p<0,05$) по двустороннему критерию ТМФ зафиксированы для 18 комбинаций (как пример, 10 из них представлены в таблице 5). Как правило, среди таких генетических комбинаций присутствует генотип IL6 -174 GG и генотип IL1B -31CC. Генотипы TNF- α в позициях -

308, -863 и -238 в основном представлены гомозиготными вариантами GG и CC. У пациентов данной группы в составе комбинаций в основном выявляются гетерозиготные генотипы IL4-590CT.

Таблица 5. Характеристики распределения и показатели прогностической значимости комбинаций генотипов полиморфизмов цитокинов у больных ревматоидным артритом с высокой эффективностью БПВТ

Комбинации генотипов	Частота среди больных РА (%)		DK	Sp	P
	Высокая эффективность	Отсутствие эффекта			
IL4-590CT/IL6-174GG/IL1B-31CC	12,90	0,00	9,8	100,00	0,0495
IL4-590CC/TNF-308GA/TNF-863CC	20,00	2,94	8,3	97,06	0,0444
IL4-590CT/IL6-174GG/TNF-238GG/IL1B-31CC	12,90	0,00	9,8	100,00	0,0495
IL4-590CT/IL6-174GG/TNF-863CC/IL1B-31CC	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460
IL6-174GC/TNF-238GG/TNF-308GA/TNF-863CC	20,00	3,03	8,2	96,97	0,0468
IL6-174GG/TNF-308GG/TNF-863CC/IL1B-31CC	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460
IL4-590CT/IL6-174GG/TNF-238GG/TNF-863CC/IL1B-31CC	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460
IL6-174GG/TNF-238GG/TNF-308GG/TNF-863CC/IL1B-31CC	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460
IL6-174GC/TNF-238GG/TNF-308GA/TNF-863CC/IL1B-31TT	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460
IL4-590CT/IL6-174GG/TNF-238GG/TNF-308GG/TNF-863CC/IL1B-31CC	13,33	0,00	9,9	100,00	0,0460

Примечание – DK – диагностический коэффициент

Выявлены различия по комбинациям тех же генов цитокинов пациентов с высокой эффективностью терапии и пациентов с умеренной эффективностью БПВТ, достоверные по двустороннему критерию ТМФ в 33 случаях. Среди пациентов группы с умеренной эффективностью БПВТ практически полностью отсутствовал генотип GG в позиции -174 гена IL-6, широко распространен генотип CC в полиморфном участке гена IL10 C-592A и генотип TT в точке полиморфизма IL1B T-31C.

Дальнейшее исследование показало, что у части пациентов с РА с наличием в геноме определенных комбинаций аллельных вариантов промоторных участков генов цитокинов терапия БПВП ни в одном случае не оказывает положительного эффекта, достоверные различия ($p < 0,05$) по двустороннему критерию Фишера зафиксированы для 35 комбинаций. Выделение группы пациентов с комбинациями генотипов,

ассоциированных с неэффективностью БПВТ (примеры с наиболее высоким уровнем достоверности по ТМФ представлены в таблице 6), может иметь большое прогностическое значение, учитывая данные по принадлежности пациентов – «неответчиков» на МТ к более тяжелому неблагоприятному субтипу РА, резистентному к проводимой терапии (Каратеев Д. Е. и соавт., 2013).

Таблица 6. Характеристики распределения и показатели прогностической значимости комбинаций генотипов полиморфизмов цитокинов у больных ревматоидным артритом с отсутствием эффекта БПВТ

Комбинации генотипов	Частота среди больных РА (%)		DK	Sp	P
	Отсутствие эффекта	Наличие эффекта			
IL6-174CC/TNF-863CA/IL1B-31TC	12,12	1,47	9,2	98,5	0,0381
IL4-590CC/TNF-308GA/TNF-863CA	11,76	0,00	12,5	100	0,0109
IL6-174CC/IL10-592CA/IL1B-31TC	9,09	0,00	11,7	100	0,0309
IL10-592CA/TNF-863CA/IL1B-31TC	8,82	0,00	11,4	100	0,0349
IL4-590CC/IL6-174CC/TNF-863CA/IL1B-31TC	9,09	0,00	11,6	100	0,0327
IL4-590CC/TNF-238GG/TNF-308GA/TNF-863CA	8,82	0,00	11,4	100	0,0349
IL4-590CC/TNF-308GA/TNF-863CA/IL1B-31TT	8,82	0,00	11,4	100	0,0349
IL6-174CC/IL10-592CA/TNF-238GG/IL1B-31TC	9,09	0,00	11,7	100	0,0309
IL6-174CC/IL10-592CA/TNF-863CA/IL1B-31TC	9,09	0,00	11,6	100	0,0327
IL10-592CA/TNF-238GG/TNF-863CA/ IL1B-31TC	8,82	0,00	11,4	100	0,0349
IL6-174CC/IL10-592CA/TNF-238GG/TNF-863CA /IL1B-TC	9,09	0,00	11,6	100	0,0327
IL6-174GC/IL10-592CC/TNF-238GG/TNF- 308GG/TNF-863CC/IL1B-31TT	21,21	1,47	11,6	98,5	0,0015

Цитокиновый геном индивида является конституционально стабильным базисом, поэтому в первую очередь рассматривается в качестве кандидатного прогностического маркера. В ходе проведенного исследования было дополнительно подтверждено, что эффекты отдельных полиморфизмов генов цитокинов, обнаруживаемые при анализе ассоциаций, как правило, невелики и могут быть связаны не с самим изучаемым маркером, а со сцепленным с ним функционально значимым вариантом. Исходя из этого, применен метод комплексного анализа выявления в геноме пациента одновременно целого набора аллельных вариантов генов цитокинов. Необходимо обратить внимание на высокие (доходящие до 100 %) показатели специфичности выявления ряда генетических комбинаций при сопоставлении анализируемых выборок. Столь редкие в ревматологии и в медицинской иммунологии в целом показатели специ-

фичности позволяют после проведения многоцентровых исследований рассчитывать на их высокую клиническую значимость.

Используя последовательную процедуру распознавания, определяем вероятность прогноза эффективности БПВТ по величине ДК: положительное значение ДК принимает в случае преобладания вероятности положительного эффекта БПВТ, отрицательное значение – в случае преобладания вероятности отсутствия эффекта БПВТ.

С целью повышения достоверности прогноза далее в диагностическую процедуру включены такие хорошо известные лабораторные маркеры как СРБ и РФ, высокие уровни которых ассоциируют с плохим прогнозом, быстро прогрессирующим течением РА (Breedveld F.C., 2011; Garnero P. 2003; Scott D.L., 2004). С использованием метода квартильного анализа были выделены низкие и высокие уровни СРБ, РФ и рассчитаны диагностические коэффициенты эффективности БПВТ в зависимости от полученных показателей: в.ч. СРБ >9,95 – ДК=-1,0; в.ч. СРБ<3,1 – ДК=+1,9; РФ> 433,6 – ДК=-3,2; РФ<40,07 – ДК=+3,4.

Математические преобразования в данном способе анализа позволяют суммировать логарифмированные значения величин прогностических коэффициентов и получать индивидуальные показатели с гораздо более высокими значениями, как представлено в ниже приведенном клиническом примере (таблица 7).

Таблица 7. Показатели и рассчитанные диагностические коэффициенты по наличию эффекта БПВТ (клинический пример)

Показатели	ДК
Комбинация генотипов IL6-174CC/IL10-592CA/TNF-238GG/TNF-863CA/IL1B-TC	-11,6
СРБ 10,0 мг/л	-1,0
РФ 500 Ед/мл	-3,2
Итоговый ДК = (-11,6)+(-1,0)+(-3,2)= -15,8	
Заключение: вероятность отсутствия эффекта БПВТ составляет 97%.	

Данная модель прогнозирования варианта течения РА и эффективности терапии требует дальнейшего проспективного исследования. Однако уже на современном этапе, выявление у пациента генетических комбинаций, характерных для «неответчиков», должно насторожить врача в ведении данного пациента с постановкой вопроса о необходимости комбинированного назначения БПВП или перехода на терапию ГИБП на ранних этапах. Потеря временного «окна терапевтических возможностей» может

негативно повлиять на отдаленные результаты лечения РА, поэтому комплексная оценка клинических и лабораторных показателей с исследованием уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, полиморфизма генов цитокинов должна обязательно учитываться в выборе тактики ведения пациентов с РА.

Полученные в настоящей работе результаты создают предпосылки для продолжения данного исследования как в плане увеличения объема выборок, перечня анализируемых полиморфизмов, так и в плане детализации анализа вариантов течения РА и эффективности разных схем терапии.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с РА выявлено повышение сывороточной концентрации цитокинов преимущественно с провоспалительной активностью и достоверно высокие уровни IFN- γ и IL-2. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов коррелирует с высокими концентрациями острофазовых показателей и других маркеров воспаления, активностью воспалительного процесса, оцениваемой по индексу DAS28.
2. Положительный эффект базисной терапии РА отмечен у пациентов с высокими значениями исходной концентрации TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-12(p70), GM-CSF в сыворотке крови и с преобладанием уровней провоспалительных TNF- α , IFN- γ над противовоспалительными IL-4, IL-10, IL-13. Однако высокая индивидуальная вариабельность количественных значений концентраций цитокинов у пациентов с РА, зависимость от длительности заболевания, предшествующей терапии затрудняют использование этих лабораторных признаков в прогностических целях.
3. Установлена достоверная ассоциированность развития РА у европеоидов Западной Сибири с генотипом CC гена TNFA в позиции C-863A, генотипом AG в позиции TNFA G-308A и генотипом AA гена IL-10 в позиции C-592A. Максимальные значения показателей ассоциированности OR установлены при использовании комбинаций генотипов в промоторных участках генов нескольких цитокинов.
4. Различные комбинации аллелей промоторных участков исследуемых генов цитокинов ассоциированы с клиническими и лабораторными показателями активности воспалительного процесса при РА.

5. Наибольшей диагностической значимостью при прогнозировании эффективности базисной противовоспалительной терапии РА обладают комплексные генетические признаки, включающие в себя генотипы подобные IL6-174GG/TNF-238GG/TNF-863CC/IL1B-31CC. Специфичность их выявления в группе с высокой эффективностью и отсутствием эффекта терапии метотрексатом и сульфасалазином приближается к 100%. Получены предварительные данные об ассоциированности полиморфизма гена IL10 в позиции С-592А с эффективностью анти-TNF терапии.
6. Комплексный анализ клинических, лабораторных, иммунологических и иммуногенетических признаков позволяет проводить процедуры прогнозирования клинической картины РА и эффективности его терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследование полиморфизма генов цитокинов (TNF А в позициях С-863А, G-308А, G-238А, IL-1В Т-31С, IL6 G-174С, IL4 С-590Т, IL10 С-592А) и динамичное определение уровня сывороточных цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12 (p70), GM-CSF, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) может быть рекомендовано в качестве дополнительных признаков оценки варианта течения и эффективности терапии РА.
2. С целью прогноза эффективности БПВТ (метотрексат и сульфасалазин) до назначения препаратов показано выявление комбинаций генотипов полиморфизмов цитокинов, ассоциированных с различным эффектом терапии, с определением величины диагностического коэффициента (DK) в соответствии с данными таблиц по характеристикам распределения и показателям прогностической значимости указанного признака у больных РА.
3. В комплекс прогноза эффективности терапии БПВП показано включение уровней СРБ, РФ и рассчитанных для них прогностических коэффициентов. С целью повышения достоверности прогноза эффективности БПВТ необходима суммация всех установленных показателей. При итоговой величине DK=12,8 – вероятность реализации прогноза достигает 95% и далее соответственно калибровочной кривой.
4. При выявлении комбинаций генотипов цитокинов, ассоциированных с отсутствием эффекта терапии МТ и ССЗ, при получении итогового значения DK ниже -9,5 с использованием установленных признаков (вероятность отсутствия эффекта более 90%) пациент должен быть выделен в группу неблагоприятного течения. В

подобных случаях рекомендуется назначение других БПВП, их комбинированное использование или переход на ГИБТ уже на ранних этапах лечения.

5. С целью контроля над активностью воспалительного процесса на фоне подобранной терапии РА рекомендуется проводить клинико-лабораторный мониторинг с динамичным определением уровня цитокинов 1 раз в 12 недель.
6. При многократном повышении уровня провоспалительных цитокинов TNF- α , IFN- γ , GM-CSF на фоне проводимой терапии МТ или ССЗ рекомендуется увеличение дозы препаратов, переход на комбинированную БПВТ или рассмотрение вопроса о присоединении ГИБП, не дожидаясь повышения клинико-лабораторной активности воспалительного процесса.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Зависимость эффективности терапии от уровня сывороточных цитокинов у больных ревматоидным артритом / Е. В. Зонова, О. В. Голованова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Е. А. Летягина, М. А. Королев, В. И. Коненков // Бюл. СО РАМН. – 2008. – № 5 (133). – С. 72-77.
2. Возможность использования генотипирования цитокинов с регулирующей воспалением активностью в качестве биологических маркеров прогноза эффективности терапии ревматоидного артрита / В. И. Коненков, Е. В. Зонова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, М. А. Королев, В. Ф. Прокофьев, О. В. Голованова, А. В. Шевченко // Научно-практическая ревматология. – 2010. – № 5. – С. 19-26.
3. Распределение аллельных вариантов промоторных участков генов цитокинов и гена фактора роста сосудистого эндотелия среди здоровых людей и пациентов с ревматоидным артритом в популяции европеоидного населения России / В. И. Коненков, О. В. Голованова, В. Ф. Прокофьев, А. В. Шевченко, Е. В. Зонова, М. А. Королев, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Н. А. Халайджи, С. А. Лапсина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2010. – № 9. – С. 9-14.
4. Фармакогенетические критерии эффективности базисной противовоспалительной терапии ревматоидного артрита / В. И. Коненков, Е. В. Зонова, М. А. Королев, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, А. В. Шевченко, О. В. Голованова, В. Ф. Прокофьев // Терапевт. Архив. – 2010. – № 12. – С. 56-61.
5. Комплексный анализ полиморфизма в промоторных участках генов цитокинов IL-1B T-31C, IL-6 G-174C, TNFA G-238A, TNFA G-308A, TNFA C-863A, IL-4 C-590T и IL-10 C-592 α в прогнозе эффекта от лечения ревматоидного артрита / В. Ф. Прокофьев, А. В. Шевченко, О. В. Голованова, Е. В. Зонова, М. А. Королев, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, В. И. Коненков // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 361-374.
6. Генетические факторы нарушений регуляции ангиогенеза у женщин с ревматоидным артритом / В. И. Коненков, М. А. Королев, А. В. Шевченко, В. Ф. Прокофьев, **Ю. Б. Убшаева**, О. С. Соколова, Е. А. Летягина, Г. А. Дюбанова // Терапевтический архив. – 2013. – № 5. – С. 16-23.

Другие работы, опубликованные по теме диссертации

7. Перспективы обоснования выбора терапии ревматоидного артрита (РА) на основании исследования Th1/Th2 цитокинов / Е. В. Зонова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, М. А. Королев, Е. А. Летягина, В. И. Коненков // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Том 2 (11), № 2-3. – С. 232.
8. Исследование сывороточных цитокинов в динамике иммуносупрессивной терапии у больных ревматоидным артритом / Е. В. Зонова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, М. А. Королев, Е. А. Летягина, О. В. Голованова, В. И. Коненков // Международная конференция «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии»: Тез. докл. – Новосибирск. – 2008. – Т. 1. – С. 144-145.
9. Динамика провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на фоне иммуносупрессивной терапии ревматоидного артрита, корреляция с эффективностью лечения / **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Е. В. Зонова, О. В. Голованова, В. И. Коненков // Международная конференция «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии»: Тез. докл. – Новосибирск. – 2008. – Т. 1. – С. 211 - 214.
10. Информативность комплексного определения концентраций цитокинов в прогнозе эффективности терапии ревматоидного артрита / **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Е. В. Зонова, О. В. Голованова, В. И. Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы. – М., 2009. – С. 63.
11. Динамика выработки Th1/Th2 цитокинов на фоне иммуносупрессивной терапии ревматоидного артрита. Перспективы обоснования выбора метода лечения / Е. В. Зонова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Е. А. Летягина, Н. А. Халайджи, М. А. Королев, В. И. Коненков // Евразийский симпозиум «Проблемы саногенного и патогенного эффектов эндо- и экзозоологического воздействия на внутреннюю среду организма»: Тез. докл. – Чолпон-Ата, 2009. – С. 24.
12. Регулирующая роль Th1/Th2 цитокинов в процессе гиперкоагуляции у больных ревматоидным артритом / Е. В. Зонова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, О. В. Голованова, В. И. Коненков, Е. А. Летягина // Выездная научная сессия «Актуальные вопросы клинической лимфологии»: Тез. докл. – Андижан, 2009. – С.48.
13. Полиморфизм генов цитокинов у больных ревматоидным артритом / Е. В. Зонова, О. В. Голованова, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, А. В. Шевченко, М. А. Королев, В. И. Коненков // III Городская научно-практическая конференция врачей «Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения болезней внутренних органов»: Тез. докл. – Новосибирск, 2009. – С. 178-179.
14. Роль интерлейкина 10 и его генного полиморфизма у пациентов с ревматоидным артритом / **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, Е. В. Зонова, О. В. Голованова, М. А. Королев, В. И. Коненков // III Городская научно-практическая конференция врачей «Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения болезней внутренних органов»: Тезисы. – Новосибирск, 2009. – С. 184-185.
15. The role of interleukin-10 gene promotor polymorphisms in Russian rheumatoid arthritis patients / **Y. B. Leonova (Ubshaeva)**, E. V. Zonova, V. I. Konenkov, M. A. Korolev, O. V. Golovanova, N. A. Khalaydzhii // Ann Rheum Dis. – 2009. – V. 68, Suppl. 3. – P. 735.
16. The prognosis of forming of side effects of immunosuppressive rheumatoid arthritis (RA) therapy based on complex evaluation of polymorphism in promotor sites of genes of pro- and anti-inflammatory cytokines/ V. I. Konenkov, E. V. Zonova, V. F. Prokofyev,

- A. V. Shevchenko, O. V. Golovanova, M. A. Korolev, **J. B. Leonova (Ubshaeva)** // Ann Rheum Dis. – 2010. – V. 69, Suppl. 3. – P. 509.
17. Comparative analysis of allelic variants of promoter sites of cytokine genes IL1B C-31T, IL6 G-174C, TNFA A-238G, TNFA A-308G, TNFA A-863C, IL4 C-590T, IL10 A-592C, VEGF C-2578A among healthy Caucasoids and rheumatoid arthritis patients in Russia / V. I. Konenkov, V. F. Prokofyev, O. V. Golovanova, A. V. Shevchenko, E. V. Zonova, M. A. Korolev, **J. B. Leonova (Ubshaeva)**, N. A. Khalajdzhi. // Ann Rheum Dis. – 2010. – V. 69, Suppl. 3. – P. 665.
 18. Соотношение TNF-A/IL-10 и TNF-A/IL-4 у больных ревматоидным артритом (РА) как показатель прогноза эффективности терапии метотрексатом / Е. В. Зонова, А. В. Шевченко, **Ю. Б. Леонова (Убшаева)**, В. И. Коненков // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии: Труды X Междунар. конф., 3-4 октября 2011 г. – Новосибирск, 2011. – С. 145-146.
 19. Разработка критериев прогнозирования эффективности терапии ревматоидного артрита путем применения индивидуализированных генетических критериев с использованием анализа прогностической значимости выявления аллельных вариантов генов цитокинов / **Ю. Б. Убшаева**, М. А. Королев, Е. В. Зонова, В. Ф. Прокофьев, А. В. Шевченко, В. И. Коненков // Всероссийская научная конференция молодых ученых-медиков: Материалы конференции. 6-7 декабря 2012 г. – М., 2012. – С. 62-63.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду
 БПВП – базисные противовоспалительные препараты
 БПВТ – базисная противовоспалительная терапия
 ВАШ – визуальная аналоговая шкала
 ГИБП – генно-инженерные биологические препараты
 ГИБТ – генно-инженерная биологическая терапия
 МТ – метотрексат
 РА – ревматоидный артрит
 РФ – ревматоидный фактор
 СОЭ – скорость оседания эритроцитов
 ССЗ – сульфасалазин
 СРБ – С-реактивный белок
 ТМФ – точный метод Фишера
 CI – (confidence interval), доверительный интервал
 DAS – (Disease Activity Score), индекс активности ревматоидного артрита
 DK – диагностический коэффициент
 EULAR – (European League Against Rheumatism), Европейская антиревматическая лига
 GM-CSF – (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
 HAQ – (Health Assessment Questionnaire), опросник здоровья
 IL – (interleukin), интерлейкин
 INF – (interferon), интерферон
 OR – (odds ratio), отношение шансов
 TNF – (tumor necrosis factor), фактор некроза опухоли

УБШАЕВА
Юлия Борисовна

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНЫХ
ЦИТОКИНОВ И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ В ПРОГНОЗЕ
ТЕЧЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РЕВМАТОИДНОГО
АРТРИТА

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать _____ Заказ №

Формат 60x90/16. Усл. печ. л. 1. Тираж ___ экз.