

На правах рукописи

ЗОНОВА Елена Владимировна

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И
ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ПРОГНОЗА
КЛИНИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА И ТЕРАПИИ
РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА**

14.01.22 – Ревматология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2010

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАМН

Коненков Владимир Иосифович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор Чичасова Наталья Владимировна
доктор медицинских наук,
профессор Балабанова Римма Михайловна
доктор медицинских наук,
профессор Шостак Надежда Александровна

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Ярославская государственная медицинская академия
Росздрава

Защита состоится «16» апреля 2010 г. в « » часов на заседании диссертационного совета Д 001.018.01 при Учреждении Российской академии медицинских наук Научно-исследовательском институте ревматологии РАМН по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34-а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждении Российской академии медицинских наук Научно-исследовательском институте ревматологии РАМН по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34-а.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Дыдыкина И.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы: Высокая социальная значимость ревматоидного артрита (РА) определяется преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, неуклонным прогрессированием болезни, ранней инвалидизацией и сокращением продолжительности жизни [Насонов Е.Л. и др., 2008]. В России ежегодно регистрируется 32 тыс. новых случаев РА, распространенность во взрослой популяции россиян составляет 2,34 на 1000 населения [Фоломеева О.М. и др., 2006]. Продолжительность жизни больных РА на 10-15 лет ниже популяционной, а пятилетняя выживаемость сравнима с таковой при ИБС с поражением трех коронарных артерий [Насонов Е.Л., 2003].

РА относится к числу наиболее дорогостоящих заболеваний. Высокие значения имеют все составляющие общих затрат на лечение и социальное обеспечение больных РА. Общая средняя стоимость одного больного в Москве к 2006 г. составила 1960 дол./год [Фоломеева О.М., Эрдес Ш., 2006]. Неудовлетворительные отдаленные результаты лечения, хронизация процесса привлекают внимание исследователей к ранней фазе суставного синдрома, когда обратимость морфологических изменений в тканях значительно выше, чем при продолжительном анамнезе [Moreland L.W., 2008; de Vries-Bouwstra J. et al., 2006].

Информативность используемых диагностических критериев в дебюте патологического процесса невелика, что связано с отсутствием четких признаков раннего РА. Среди возможных причин разнообразия вариантов дебюта и прогрессии болезни особое внимание исследователей уделяется генетическим специфичностям и факторам внешней среды, немалая роль среди которых отводится инфекционным агентам [Шубин С.В. и др., 2008; Taylor P.C., 2007]. С определенными генетическими структурами связаны особенности функционирования иммунной системы, что может во многом предопределить развитие заболевания и особенности его течения. Формирование воспаления зависит от уровня продукции медиаторов воспаления, что также генетически детерминировано [Padyukov L. et al., 2003; Hiranakarn N. et al., 2007]. Исследования в указанном направлении отражают развитие концепции патогенеза РА в настоящее время.

Достаточно интенсивно в последние годы изучаются взаимоотношения между воспалением и коагуляцией. Субклиническое течение гемостазиологических нарушений при РА способствует активации, пролиферации эндотелиальных, гладкомышечных и иммунокомпетентных клеток сосудистой стенки, а несвоевременная диагностика коагулоvasкулопатий – прогрессии заболевания, формированию деструктивных изменений в хряще и осложнений РА, среди которых ведущее место занимает атеросклероз – основная причина смертности больных РА [Насонов Е.Л., 2001].

Несмотря на наличие достаточного уровня знаний об участии иммунной системы, системы гемостаза, определенных генетических структур и факторов внешней среды в патогенезе РА, не определена специфичность указанных признаков для формирования заболевания и его прогрессии. Выявление стабильных во времени генетических профилей, влияющих на разные уровни регуляции синтеза белка и других факторов, способных участвовать в течении воспаления и обладающих значимой информативностью, может рассматриваться в качестве основы проведения последовательной диагностической процедуры патологического процесса [Коненков В.И., 1999].

Поскольку конечной задачей эффективного лечения РА является формирование ремиссии и увеличение продолжительности жизни до популяционного уровня, идентификация параметров, связанных с повышением риска неблагоприятных событий и смертности, может рассматриваться как первоочередная. Для более точного прогнозирования неблагоприятных прогрессирующих вариантов течения РА и эффективности терапии необходим анализ комплекса параметров, причастных к механизмам воспаления [Lindqvist E. et al., 2005]. Для реализации этой задачи рекомендовано определение концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [Larsson E. et al., 2002], проведение индивидуального анализа генотипа этих цитокинов и индивидуального одномоментного анализа нескольких лабораторных параметров в сочетании с генотипом пациента [Marinou I. et al., 2007].

Таким образом, клинический полиморфизм РА формируется на фоне различий в иммунопатологических механизмах болезни, обусловленных факторами внешней среды и генетической составляющей. Комплексный анализ данных, отражающий структуру болезни, позволит оценить их значимость в качестве маркеров неблаго-

приятного прогноза и рекомендовать для клинического использования.

Цель исследования: оценить эффективность симптомокомплекса информативно значимых иммуногенетических параметров, состояния цитокиновой сети, иммунной и гемостатических систем для прогноза клинического течения и эффективности терапии ревматоидного артрита

Задачи исследования

1. Провести анализ клинических особенностей дебюта суставного синдрома с реализацией в ревматоидный артрит или серонегативные артропатии среди европеоидов Сибири с учетом выраженности активности воспалительного процесса, состояния системы иммунитета, гемостаза и нарушений функции суставного аппарата.
2. Оценить характер взаимосвязи воспаления и васкулопатии, влияние активности патологического процесса, баланса про- и противовоспалительных цитокинов, специфичности урогенитальной внутриклеточной и вирусной инфекции, особенностей клинического течения и продолжительности болезни на характер и степень выраженности нарушений в системе гемостаза при ревматоидном артрите. Оценить информативность, специфичность этих признаков, их влияние на характер иммунного ответа и прогноз заболевания.
3. Провести комплексный анализ соотношения циркулирующих про- и противовоспалительных цитокинов, аллельного полиморфизма регуляторных участков генов этих цитокинов у пациентов с ревматоидным артритом с различной активностью воспалительного процесса и состоянием системы гемостаза
4. Изучить характер ассоциированности аллелей и генотипов промоторных участков генов про- и противовоспалительных цитокинов, специфичностей HLA-комплекса с развитием ревматоидного артрита и особенностями его клинического течения.
5. Оценить зависимость эффективности иммуносупрессивной болезньюмодифицирующей терапии и применения ингибитора

TNF- α от уровня сывороточных цитокинов до начала лечения и динамики их концентраций в процессе терапии.

- б. Оценить информативность и провести клиническую апробацию комплексного анализа признаков выявления специфичности иммуногенетических признаков, показателей выраженности васкулопатии и нарушений гемостаза, цитокинового профиля для характеристики вариантов течения РА

Научная новизна

В настоящей работе проведено комплексное исследование участия генетических и средовых факторов в формировании полиморфизма РА среди европеоидного населения Сибири.

Впервые выявлены особенности изменений системы гемостаза на ранней и поздней стадиях ревматоидного воспаления, что указывает на роль коагуляционных и фибринолитических процессов в эволюции РА.

Впервые установлена взаимосвязь концентраций про- и противовоспалительных цитокинов, а также факторов гемокоагуляции в поддержании аутоиммунного воспаления и в характере прогрессирования РА, что позволяет определить новые звенья его патогенеза.

Впервые установлена взаимосвязь уровня про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и аллелей полиморфных участков промоторных регионов кодирующих их генов с эффективностью проводимой иммуносупрессивной, биологической анти TNF- α терапии и прогностическая значимость динамики изменения концентрации отдельных цитокинов в процессе лечения.

Впервые показано, что аллельные варианты полиморфных участков промоторных зон генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ассоциированы с вариантами клинического течения РА и эффективностью его терапии базисными препаратами и биологическим агентом.

Впервые рассчитана специфичность и информативность комплекса признаков для оценки возможности диагностики РА на ранних стадиях, прогнозирования степени тяжести, течения и эффективности терапии.

Выявлены информативные критерии оценки предрасположенности и устойчивости дифференцируемых состояний и обосновано проведение последовательной диагностической процедуры.

Показана возможность использования комплекса показателей для объективизации контроля над эффективностью проводимой терапии.

Практическая значимость

Проведенные исследования показали, что установленная закономерность формирования ревматоидного артрита и вариантов его течения от изменений системы гемостаза позволяет прогнозировать течение патологического процесса и, соответственно, подбирать адекватные терапевтические программы.

Доказанная роль активации коагуляционных процессов на ранних стадиях аутоиммунного воспаления суставов и в динамике его развития определяет целесообразность использования коррегирующих нарушения гемостаза препаратов в лечебных схемах.

Продемонстрирована динамика изменения уровня про- и противовоспалительных цитокинов в ходе иммуносупрессивной терапии и возможность использования комплексного анализа их уровня в сыворотке крови в качестве прогноза эффективности планируемой программы терапии у больных РА.

Верификация генотипа генов, кодирующих продукцию про- и противовоспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе ревматоидного артрита, позволяет прогнозировать эффект терапии иммуносупрессивными препаратами или ингибитором TNF- α . Данный подход позволяет избежать необоснованного назначения дорогостоящей терапии биологическими агентами пациентам с генетическими признаками прогноза заведомо неэффективной терапии и проводить индивидуализированное назначение этих препаратов пациентам с генетическими признаками прогноза высокой эффективности данного вида лечения.

На основании выделения информативных признаков разработан комплексный подход верификации диагноза РА на ранних стадиях болезни, прогноза варианта течения, что позволяет целенаправленно выбирать эффективный и безопасный метод терапии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Трудности диагностики ревматоидного артрита в дебюте заболевания обусловлены полиморфизмом его клинических проявлений, специфичность которых недостаточно выражена. Выявление стабильных генетических признаков и биологических маркеров состояния иммунной системы позволяет выделить информативные признаки с высокой диагностической значимостью.
2. Взаимодействие медиаторов воспаления с различными звеньями свертывающей и противосвертывающей систем влияет на формирование клинических вариантов болезни, выраженность воспаления и степень прогрессии ревматоидного артрита.
3. Исследование уровня про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и генотипа промоторных участков генов цитокинов до начала терапии позволяет прогнозировать варианты клинического течения РА и эффективность терапии базовыми препаратами и биологическим агентом.
4. Комплексный прогностический подход с использованием последовательной диагностической процедуры позволяет выявлять трудные для верификации варианты дебюта суставного синдрома, неблагоприятные варианты течения и проводить доказательную процедуру индивидуального подбора терапии.

Внедрение в практику. Результаты исследования внедрены в практику работы терапевтического и консультативного отделений НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, МСЧ-168 г.Новосибирска, а также в работу Ревматологического центра г.Новосибирска.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на Пятом съезде ревматологов России (Москва, 2009), Международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2008), IV Сибирской межрегиональной научно-практической конференции «Рассеянный склероз: трудности диагностики и терапии» (Новосибирск, 2009), Иммунологическом форуме (Москва, 2008), Первом Сибирском конгрессе акушеров-гинекологов и дерматовенерологов (Новосибирск, 2006), городских научно-практических конференци-

ях г. Новосибирска (2002-2009гг), Конгрессе европейской противоревматической лиги (EULAR, Копенгаген, 2009), Евразийском симпозиуме (Чолпон-Ата, 2009), XXIII ЕААСI Конгрессе (Амстердам, 2004), XII международном конгрессе по иммунологии (2004), Третьем международном конгрессе по аутоиммунитету (Женева, 2002), Сессии РАМН (Москва, 2009), Семинаре НИИКЭЛ СО РАМН (Новосибирск, 26 февраля 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 62 статьи в отечественных и международных журналах и сборниках, из которых 10 статей, опубликованных в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных Высшей аттестационной комиссией МО РФ для публикаций основных результатов докторских диссертаций, три соавторства в монографиях, один патент.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 7 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя и приложения.

Диссертация изложена на 361 странице машинописного текста и иллюстрирована 58 таблицами, 9 рисунками, 1 схемой, содержит приложения. Библиографический указатель включает 486 источников, из них 60 отечественных и 426 зарубежных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика больных. В исследование было включено 486 пациентов и в качестве контроля – практически здоровые лица обоего пола европеоидной расы, проживающие в Западной Сибири, которым проведены исследования: иммунного статуса (78 чел.), системы гемостаза (112 чел.), уровня цитокинов (39 чел.), иммуногенетическое типирование (680 чел.). Среди обследованных 392 пациента, страдающих РА. Из них: 291 пациент с продолжительностью анамнеза РА от двух лет и более наблюдались в течение пяти лет; отдельно выделена группа пациентов с ранним РА из 101 пациента, у которых продолжительность суставного синдрома не превышала 18 мес от появления первых клинических признаков суставного синдрома. Средний возраст больных составил $46,19 \pm 11,73$ лет, средняя продолжительность заболевания в группе больных с ранним РА $7,57 \pm 3,9$ мес, в группе больных с продолжительным анамнезом $7,33 \pm 6,4$ лет. Критериями включения в

исследование были достоверный диагноз РА, верифицированный в соответствии с критериями ACR [Arnett F.C. et al., 1988], возраст больных от 18 лет и старше. Общая характеристика больных РА представлена в табл. 1.

Таблица 1

Общая характеристика больных ревматоидным артритом

Пол (женщины/мужчины)	326/66				
Возраст больных к началу исследования (лет)	<20-29	30-39	40-49	50-59	>60
	37	67	130	105	53
Длительность РА	До 6 мес	7-12 мес	1-5 лет	6-10 лет	>10 лет
	53	38	191	55	55
Серопозитивность по ревматоидному фактору (% больных)	76,1				
Активность РА (% больных): 1 степени 2 степени 3 степени	0				
	32,7				
	67,3				
Рентгенологическая стадия (% больных): 1, 2, 3, 4	11,2; 38,5; 31,1; 19,1				
Функциональный класс (% больных): 1, 2, 3, 4	2,3; 20,9; 52,3; 24,5				
Внесуставные проявления (% больных)	81,38				

Для оценки активности воспаления использован комбинированный индекс активности болезни DAS28 [Prevoo M.L. et al., 1995], индексы активности W.Wilke et al.[Асеева Е.А., 2002], Д.Е. Каратеева – М.М. Ивановой [Каратеев Д.Е., 1995]. Общее состояние здоровья пациента оценивалось по 100 мм визуальной аналоговой шкале (ВАШ). Для оценки качества жизни и уточнения функционального состояния пациентов РА был использован специфический опросник Health Assessment Questionnaire (HAQ)[Fries J.F. et al., 1980]. Рентгенологическую стадию РА определяли по классификации Steinbrocker [Steinbrocker O. et al., 1949]. Функциональный класс (ФК) пациентов определялся по критериям ACR [Hochberg M.C., 1992]. Внесуставные проявления болезни имели 73 пациента

(72,3%) с ранним РА и 246 больных (84,5%) с продолжительностью заболевания более двух лет.

В период наблюдения в качестве болезньюмодифицирующей терапии метотрексат принимали 197 пациентов (67,7%); аминохинолиновые препараты получали 168 больных (57,7%); 8,3% – лефлуномид; 27,8% – сульфасалазин; 1,71% – азатиоприн, 36 пациентов (12,4%) – инфликсимаб. Оценка эффективности терапии проводилась по критериям EULAR [Prevo M.L. et al., 1995, 1996], ACR [Felson D.T., 1993]. Оценка эффективности базисных препаратов осуществлялась в сроках 4 и 6 мес после начала лечения.

Оппозитную группу пациентам с ранним РА составили 94 пациента с дебютом суставного синдрома, верифицированным как недифференцированная серонегативная артропатия (НАП).

Информированное согласие получено от всех пациентов. Работа была утверждена Локальным этическим комитетом НИИКЭЛ СО РАМН.

Методы лабораторного и инструментального исследования. Исследование системы гемостаза осуществлялось с использованием коагулометра «CL-4» (Behnk Elektronik), агрегометра «Биола», тест-систем ООО «Технология-Стандарт» и НИО РЕНАМ (г.Москва). Методология определения состояния системы гемостаза выполнялась в соответствии с рекомендациями Федерального Академического центра по патологии системы гемостаза при ЦНИЛ Алтайского медицинского университета [Баркаган З.С., Момот А.П., 2001].

Определение HLA-A и -B антигенов МНС I класса проводили с использованием микролимфоцитотоксического теста [Terasaki P.I. et al., 1976]. Генотипирование HLA-DRB1 проводилось методом сиквенс-специфичных праймеров. Генотипирование цитокинов периферической крови осуществлялось при помощи набора реагентов производства ООО «Лаборатория Медиген» (г. Новосибирск). Исследовались шесть полиморфизмов, локализованных в промоторных регионах генов интерлейкинов: TNF- α в позициях C-863A, G-308A, G-238A, IL-4 C-590T, IL-6 G-174C, IL-10 C-592A. Анализ исследуемых полиморфизмов выполнялся с использованием метода рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ). Продукты амплификации подвергались рестрикции соответствующими эндонуклеазами: TNF- α C-863A - Bst BAI, TNF- α

G-308A - Bsp19 I, TNF- α G-238A - Msp I, IL-1 β T-31C – Alu I, IL-4 C-590T - Bme 18 I, IL-6 G-174C – SfaNI, IL-10 C-592A – RsaI («Сиб Энзим», Новосибирск).

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 двулучевом лазерном автоматизированном анализаторе Bio-Plex™ 200 System (Bio-Rad, США) с использованием коммерческих тест-систем "Human Cytokine Th1/Th2 Assay". Диапазон измерений составлял 0,2–4000 пкг/мл. Расчеты концентрации 9 исследуемых цитокинов производили на основании калибровочных кривых, построенных для каждого анализа, с помощью программы Bio-Plex Manager 4.1 (Bio-Rad, США). Исследование проводилось до лечения и в динамике терапии в сроках 12 и 24 нед.

Для оценки иммунного статуса исследовали общее количество лимфоцитов; относительное содержание субпопуляций CD3+, CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов, CD20+ В-лимфоцитов, CD16+ НК-клеток с использованием соответствующих отечественных моноклональных антител производства фирм «Сорбент» и «МедБио Спектр» (г. Москва). Измерения проводили с помощью проточного цитометра FACS Calibur (Becton Dickinson, USA) и программы CellQuest (Becton Dickinson, USA). Концентрацию сывороточных иммуноглобулинов М, G, А и уровень ЦИК оценивали нефелометрическим методом. Исследование эффекторных функций нейтрофилов и моноцитов проводилось с определением индекса миграции, индекса ингибиции миграции, показателя эффекторных функций [Кожевников В.С., 2001].

Количественное определение растворимой форма молекулы эндотелиально-лейкоцитарной адгезии – E-селектина (sE-селектин), количества суммарного ревматоидного фактора (РФ) классов IgG, IgA, IgM, С-реактивного протеина (СРП), антител к циклическому цитрулинированному пептиду (аССР) в сыворотке крови осуществлялось методом твердофазного ИФА – ELISA с использованием наборов производства «Biomerica», «EUROIMMUN».

Верификация УГИ включала ПЦР-диагностику ДНК возбудителей урогенитальных инфекций: *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealiticum*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Trichomonas vaginalis*, Herpes simplex viruses type I, type II, Cytomegaloviruses, Epstein–Barr viruses [Wilbrink B. et al. 1998]. Ам-

плификация проводилась с использованием терминального циклера фирмы “ДНК-технология” (Москва, Россия) и диагностических наборов фирмы “Литех” (Москва, Россия).

Для математической обработки полученных данных использовали статистические компьютерные программы Sigmaplot, Statistical Graphic System, INSTAT, STATISTICA (версия 5,0) и SPSS 10,0 for Windows. Оценку результатов проводили параметрическим методом для несвязанных выборок (t – критерий Стьюдента). Для проверки частоты вариант проводили непараметрическое сравнение рядов (Вилкоксона–Манна–Уитни). Для оценки взаимосвязи между параметрами выполнен корреляционный анализ по Спирмену с определением коэффициента ранговой корреляции.

При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, отношение шансов (OR), 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 (у гомозигот он учитывался дважды), $2N$ – удвоенная численность обследованных. Распределение HLA-антигенов, генотипов, фенотипов, гаплотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга согласно рекомендациям Вейр Б. 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 (комбинации генотипов), N – численность обследованных. Статистическую оценку силы ассоциации генов, генотипов и их комбинаций с клиническими эффектами терапии проводили по показателю OR (odds ratio - отношение шансов события в одной группе к шансам этого же события в другой группе) с расчетом 95% доверительного интервала (95% Confidence Interval – 95%CI). Достоверность (P) ассоциаций и различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц.

Отбор генетических комплексов, пригодных для индивидуального прогнозирования эффективности терапии, проводился на ос-

нове значений трех статистических критериев: двусторонний вариант точного метода Фишера; информационная мера Кульбака (J_{ku}); диагностический (прогностический) коэффициент по формуле: $DK=10\lg(P1/P2)$, где $P1$ и $P2$ – частота прогностического признака в сравниваемых группах. При достижении прогностического коэффициента величины 12,8 вероятность реализации прогноза составляет 95%. В качестве дополнительных характеристик генетических комплексов, прогностических критериев использовали также показатели чувствительности, специфичности (Sn , Sp).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования клинического полиморфизма суставного синдрома в дебюте ревматоидного артрита и недифференцированных артропатий среди европеоидного населения Сибири

Анализ клинического течения дебюта суставного синдрома показал, что в половине всех случаев верификации диагноза ревматологом диагностирован РА. Острый полиартрит с вовлечением суставов кистей и стоп, продолжительной утренней скованностью, не вызывающий сложностей в диагностике, формировался у трети больных. Суставной синдром у основной части пациентов характеризовался неспецифическими проявлениями, что удлиняло период с отсутствием болезньюмодифицирующей терапии и ухудшало прогноз заболевания. Клинические варианты дебюта РА не имели специфических изменений лабораторных параметров воспаления, а их изменения характеризовали остроту патологического процесса. Специфические лабораторные маркеры диагностики РА: а-ССР и РФ определялись на этапе верификации диагноза только у 23,7 и 48,5% пациентов (соответственно) с высокими показателями клинической и лабораторной активности. Выявлен значительный процент больных РА с экстраартикулярными проявлениями болезни (72,3%), которые преимущественно представлены конституциональным синдромом (46,5%) и клиническим выражением вовлечения в патологический процесс сосудов микроциркуляторного русла, что проявляется сетчатым ливедо и сенсорно-моторной полинейропатией.

Дифференцирование РА с серонегативным суставным синдромом показало отсутствие специфичных признаков, способных повысить эффективность диагностики. Проведенный анализ клини-

ческого полиморфизма обозначил проблемы и необходимость внедрения маркеров ранней диагностики РА.

Пациенты с дебютом суставного синдрома, верифицированным как РА в первые 18 мес от момента появления клинических симптомов болезни, наблюдались в течение десяти лет. С верификацией диагноза назначалась болезньюмодифицирующая иммуносупрессивная терапия, которая существенным образом не изменяла агрессивность течения РА в исследуемой выборке по данным различных систем оценок активности заболевания в процессе пятилетнего наблюдения (табл. 2).

Таблица 2

Динамика индексов активности у больных ревматоидным артритом в дебюте и через 5 лет наблюдения, $M \pm \sigma$

Индекс активности	Дебют РА (n=101)	Динамика наблюдения через 5 лет (n=93)	p
I_{aw}	5,53±1,45	4,69±1,91	0,0015
$I_{ак}$	1,39±0,59	1,35±0,58	0,5791
DAS28	5,27±1,0	5,05±1,28	0,2066

Полученные результаты могут свидетельствовать о необходимости индивидуализации и прогнозирования эффекта терапии на ранних этапах диагностики заболевания.

Влияние специфичности возбудителей внутриклеточной и вирусной инфекции на формирование клинического полиморфизма суставного синдрома

Общая оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета не обнаружила изменений, высокоспецифичных для заболевания и ассоциированных со скоростью деструкции костной ткани по методу A.Larsen в течение пятилетнего наблюдения. В то же время выявлены различия в течении иммунопатологического процесса в группах больных с ранним РА и серонегативной НАП.

Расчет диагностической значимости иммунологических параметров с целью исследования возможности их использования в последовательной диагностической процедуре в качестве признаков дифференцирования суставного синдрома в дебюте показал, что показатели с невысокой информативностью и чувствительностью позволяют принимать диагностическое решение при суммировании

коэффициентов до достижения порогового значения на основании метода Вальда (табл. 3).

Таблица 3

Частоты встречаемости и диагностическая значимость иммунологических признаков в дебюте суставного синдрома с верификацией диагноза раннего ревматоидного артрита и недифференцированной артропатии

Признак	Частота встречаемости признака				Jsh	OR	p	DK
	pРА (n=101)		НАП (n=55)					
	n	%	n	%				
CD3+(%)	42	41,58	10	18,18	1,19	3,20	0,001	3,6
CD4+(%)	38	37,62	11	20,00	0,91	2,41	0,011	2,7
CD16+(%)	32	31,68	11	20,00	0,66	1,86	0,045	2,0
ЕА-гран (%)	51	50,49	12	21,82	1,21	3,66	0,001	3,6
ИИМ	38	37,62	13	23,64	0,67	1,95	0,029	2,0
IgG (г/л)	15	14,85	1	1,82	3,03	9,42	0,006	9,1
ЦИК (у.е.)	26	25,74	3	5,45	2,24	6,01	0,001	6,7
ПАН	51	50,49	16	29,09	0,80	2,49	0,005	2,4
ат-ТГх100	71	70,30	32	58,18	0,27	1,70	0,044	0,8
ат-МФТх100	81	80,20	35	63,64	0,33	2,31	0,013	1,0

Наиболее высокой диагностической значимостью при проведении дифференцирования между РА с НАП обладают параметры, фиксирующие нарушения в гуморальном звене иммунного ответа – повышение концентрации IgG в сыворотке крови (DK=9,1), ЦИК (DK=6,7), что отражает основные патогенетические отличия дифференцированных заболеваний.

Таким образом, при проведении сравнительного анализа особенностей иммунного статуса в период верификации суставного синдрома установлены достоверные различия между дебютными формами заболеваний суставов, на основании которых возможно создание дифференциально-диагностического алгоритма прогнозирования РА и недифференцированных серонегативных заболеваний суставов на ранней стадии формирования патологического процесса.

В соответствии с задачами настоящего исследования проведен анализ полиморфизма урогенитальной, вирусной инфекции у па-

циентов с дебютом суставного синдрома, исходом чего являлись РА и недифференцированные серонегативные состояния. В период дифференцирования суставного синдрома на ранних стадиях его развития урогенитальная внутриклеточная и вирусная инфекции определяются у основной части пациентов. Выявлению УГИ соответствует наличие воспалительных заболеваний органов малого таза чаще в виде стертых или асимптомных форм.

Сравнительный анализ полиморфизма внутриклеточной и вирусной инфекции в группах пациентов с РеА, НАП и рРА продемонстрировал преимущественную встречаемость определенных патогенов при различных нозологиях. Помимо абсолютного преобладания *Chlamydia trachomatis* при РеА, четких ассоциаций других внутриклеточных инфекций с исследуемыми суставными заболеваниями не выявлено. Риск развития урогенного реактивного артрита при наличии активной инфекции *Chlamydia trachomatis* достигает 78,75, но при этом диагностическая значимость составляет 7,2, что определяет возможность других исходов УГИ.

Для вирусов семейства Herpes (Herpes 1,2, Epstein—Barr) прослеживается четкая связь с формированием РА (OR=10,67). В группе пациентов с реплицирующими герпес-вирусами определен более короткий период формирования РА, соответствующего критериям АСР (менее 6 мес), с высокими показателями клинической активности и выраженности суставного синдрома (табл. 4).

Таким образом, участие вирусов, внутриклеточной инфекции в инициации и поддержании аутоиммунного воспаления является очевидным и позволяет использовать их ассоциации с различными клиническими и лабораторными параметрами в последовательной процедуре Вальда для верификации диагноза. Мультифакторная теория развития РА позволяет с большей точностью в установлении диагноза опираться на параметры, ассоциированные с различными звеньями патогенеза. Учитывая роль васкулопатии в формировании осложнений воспаления, было исследовано состояние гемостаза на ранних стадиях болезни, связь отдельных видов нарушений с вирусоносительством и внутриклеточной инфекцией, специфичность изменений в связи с развитием отдельных нозологических единиц в дебюте суставного синдрома, особенностей прогноза от характера коагуляционных/тромботических нарушений.

Таблица 4

Диагностическая значимость клинических и лабораторных признаков в дебюте суставного синдрома с верификацией диагноза раннего ревматоидного артрита в зависимости от наличия вирусной инфекции

Вид вирусной инфекции	Признаки	Sn	Sp	OR	p	DK
Epstein-Barr	Продолжительность суставного синдрома < 6 мес	100	67,44	63,63	0,0001	4,9
	Лимфоциты < 1.5×10^9 кл/л	93,33	41,86	10,08	0,0059	2,1
Herpes1,2	Продолжительность суставного синдрома < 6 мес	68,97	68,06	4,73	0,0005	3,3
	VAS (боль) >45 мм	79,31	66,67	7,67	0,0001	3,8
CMV	Продолжительность суставного синдрома < 6 мес	83,33	62,92	8,48	0,0026	3,5
Герпесвирусная инфекция	ЦИК (у.е.) ≥ 25 у.е.	65,00	60,66	2,86	0,0069	2,2

Результаты исследования системы гемостаза у пациентов с различными вариантами течения ревматоидного артрита и дебютом серонегативных спондилоартропатий

Лица с дебютом РА в отсутствии болезньюмодифицирующей терапии имеют лабораторные проявления, соответствующие активации гемокоагуляционного каскада. Воспаление при активном суставном синдроме в дебюте РА характеризуется повышением агрегационной функции тромбоцитов, гиперкоагуляцией, тромбинемией и снижением резервов фибринолитической системы (табл. 5).

Из выявленных нарушений в системе гемостаза можно выделить две группы. Первая – это нарушения, которые наблюдаются независимо от продолжительности РА и степени активности – межклеточная лейкоцитарно-тромбоцитарная гиперагрегация, гиперкоагуляция, ингибция фибринолиза и тромбинемия.

Таблица 5

Состояние основных показателей системы гемостаза в дебюте и в динамике через 5 и 10 лет от начала ревматоидного артрита, М±m

Показатель	Контроль	Ранний РА	Анамнез РА,	Анамнез РА,
		(n=101)	5 лет (n=93)	10 лет (n=59)
		1	2	3
Гемолизат-агрегационный тест (ГАТ), 10 ⁻² , с	10-17	13,81±0,39	13,51±0,35	15,25±0,44** 1-3,2-3
Лейкоцитарно-тромбоцитарная агрегация (ЛТА), с	9,5-12,5	8,67±0,25	8,84±0,21	8,33±0,12 * ²⁻³
АКТ: А ² , %	4-39	61,97±1,57	66,74±1,31	66,34±1,45
T2, мин	10	6,79±0,11	6,58±0,10	6,61±0,13
Индекс инактивации тромбопластина и тромбина (ИИТ)	1,8-2,2	2,33±0,08	2,56±0,07* ¹⁻²	3,90±1,69* ^{1-3,2-3}
РКФМ, г/л	<0,026	0,089±0,01	0,096±0,01	0,093±0,01
Хагеман-зависимый фибринолиз (ХЗФ), мин	6-12	48,62±2,98	47,58±2,39	45,29±3,39
Фибриноген, г/л	2,0-4,0	4,52±0,14	4,12±1,11* ¹⁻²	3,99±0,16** ¹⁻³
Антитромбин III, %	80-120	108,03±2,78	98,1±2,6** ¹⁻²	101,27±2,65
Волчаночный антикоагулянт (ИАА)	0,91-1,09	1,02±0,01	1,04±0,01	1,05±0,01

Примечание: * — достоверность различия между группами при p<0,05;

** — достоверность различия между группами при p<0,01.

Вторая группа нарушений гемостаза динамично изменяется в связи с выраженностью воспаления (табл. 6). Гиперагрегация тромбоцитов достигает значимых значений у пациентов с максимальной активностью РА (p=0,007). Тромбинемия прогрессирует соответственно увеличению показателей СОЭ, СРП, фибриногена и уровня тромбоцитов в периферической крови. Наиболее выраженные изменения тромбоцитарного гемостаза формируются у серопозитивных пациентов (R=0,450*). У больных РА формирование

тромбинемии сопровождается и поддерживается дефицитом системы фибринолиза ($p=0,0027$, $R=0,47^*$).

Таблица 6

Динамика показателей гемостаза в зависимости от степени активности ревматоидного артрита, $M \pm m$

Показатель	Активность РА по DAS28		
	минимальная (n=51)	умеренная (n=189)	высокая (n=123)
	1	2	3
Гемолизат-агрегационный тест (ГАТ), с	15,42±0,57	14,05±0,28** ¹⁻²	13,08±0,32 ** ¹⁻³
РКФМ, г/л	0,060±0,01	0,092±0,01	0,122±0,01*** ^{1-3,2-3}
Хагеман-зависимый фибринолиз (ХЗФ), мин	27,98±2,59	45,41±2,11	63,78±3,67 ** ¹⁻² ;*** ^{1-3,2-3}
Фибриноген, г/л	3,81±0,18	4,15±0,09	5,08±0,14*** ^{1-3,2-3}
СРП, мг/л	19,85±4,78	34,49±3,08	72,26±6,97*** ^{1-2,1-3,2-3}
Тромбоциты (10^9)	228,65±7,54	248,73±4,78	279,57±8,01** ^{1-2,1-3,2-3}
СОЭ, мм/ч	23,39±1,75	32,82±0,98	51,16±1,23*** ^{1-2,1-3,2-3}

Примечание: * – достоверность различия между группами при $p < 0,05$;
** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Дефицит фибринолиза регистрируется при любой степени активности РА, но максимально выраженная активность способствует пятикратному превышению нормативных показателей. Истощение факторов естественного противодействия коагулянтной активности плазмы: системы растворимых антикоагулянтов и фибринолиза в условиях высокой воспалительной активности – приводит к реализации тромбообразования, о чем свидетельствует прогрессия накопления фибрин-мономеров и олигомеров.

Процесс сопутствующего воспалению микротромбоваскулита при серонегативных состояниях отличает минимальный синтез межклеточных агрегатов ($9,42 \pm 0,41$), нормальное количество сывороточного фибриногена ($4,14 \pm 0,20$) и высокий потенциал ингибирования тромбина ($2,74 \pm 0,15$), в отличие от РА, который характеризуется агрессивным тромбоваскулитом. Снижение активности фибринолиза не позволяет эффективно ингибировать гиперкоагуляцию, отражает злокачественность течения РА и рентгенологического прогрессирования. В противоположность низкий уровень коагуля-

ции может служить протективным признаком медленной рентгенологической прогрессии.

Изменения функций системы гемостаза при РА имеют особенности в связи с выявлением определенных видов внутриклеточной УГИ или вирусной инфекции. Наиболее неблагоприятными факторами в плане формирования микротромбоваскулита и снижения функции естественной антикоагулянтной защиты, фибринолиза определены возбудители семейства *Herpes* и рода *Mycoplasmae*.

Уровень сывороточных цитокинов и их участие в различных нарушениях системы гемостаза у больных ревматоидным артритом

В целях уточнения механизмов взаимодействия воспаления и гемокоагуляции при РА было проведено исследование содержания про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных с различными нарушениями в системе гемостаза. В общей группе пациентов с РА выявлено повышенное содержание СРП, Е-селектина, провоспалительных цитокинов TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12(p70), противовоспалительного IL-10 и фактора иммуногемопоза GM-CSF в сыворотке крови. Средние значения основных параметров приведены в табл. 7. Выявлены различия в распределении некоторых цитокинов в соответствии с нарушениями в системе гемостаза. В настоящем исследовании установлено взаимодействие коагуляционной/фибринолитической и иммунной систем организма в патогенезе воспаления при РА.

Если суммировать эффекты про- и противовоспалительных цитокинов во взаимодействии с системой гемостаза, то участие отдельных цитокинов будет выглядеть следующим образом. Провоспалительные TNF- α (R=0,50*), IFN- γ (R=0,49*), IL-2(R=0,43*), IL-12(R=0,47*) и противовоспалительный IL-10(R=0,47*) ассоциируют с гиперкоагуляцией, которая прогрессирует соответственно активности воспаления. Гиперкоагуляция максимально выражена у серопозитивных пациентов. IFN- γ способствует гиперкоагуляции только при наличии РФ. Значимым протектором коагуляционных свойств плазмы является тромбоцитоз.

Конечным этапом повышения активности гемостаза является формирование тромбинемии, которая стимулируется высокими концентрациями TNF- α (R=0,68*) в сыворотке крови.

Таблица 7

Показатели цитокинового профиля у больных ревматоидным артритом, $M \pm \sigma$

Показатель	Контроль (n=39)	Больные РА (n=82)
Е-селектин, нг/мл	До 0,5	52,00±35,43
СРП, мг/л	До 0,1	3,2±6,55
РФ, Ед/мл	До 1,0	276,09±201,4
IL-2, пг/мл	1,4±0,2	42,36±110,78
IL-4, пг/мл	1,3±0,1	2,06±5,32
IL-5, пг/мл	1,4±0,1	2,60±4,85
IL-10, пг/мл	4,3±0,4	23,20±57,24
IL-12 (p 70), пг/мл	6,3±1,0	28,95±90,40
IL-13, пг/мл	14,9±1,5	20,07±45,02
GM-CSF, пг/мл	38,8±10,0	204,34±507,80
IFN- γ , пг/мл	23,7±4,6	285,74±672,9
TNF- α , пг/мл	18,0±2,4	52,60±123,80

Уровень IL-5 в сыворотке крови больных РА с тромбинемией достоверно увеличен (4,72±7,58 в сравнении с группой без тромбинемии 1,96±2,65, $p=0,028$), что ассоциирует с нормальным содержанием фибрин-мономеров.

Исход тромбообразования во многом зависит от эффективности функционирования систем естественной антикоагулянтной и фибринолитической активности. Снижение активности фибринолиза в условиях тромбинемии ассоциирует с высоким содержанием провоспалительного IFN- γ (703,52±1214,01, $p=0,040$) и противовоспалительного IL-10 (39,80±72,81, $p=0,048$) в сыворотке крови больных РА. Дефицит фибринолитической системы, связанный с нарушением трансформации плазмينا, контролируется провоспалительными факторами.

тельными TNF- α ($R=0,45^*$), IL-12 ($R=0,47^*$) и противовоспалительными IL-10 ($R=0,47^*$), IL-4 ($R=0,48^*$), IL-10 ($R=0,47^*$). Снижению активности фибринолиза способствуют угнетение активности протеина-С ($p=0,046$) с прогрессирующей неконтролируемой гиперкоагуляцией, ассоциированное с тромбоцитозом ($R=0,71^*$) и высокой концентрацией E-селектина ($R=0,50^*$) в сыворотке крови. Вероятно, ингибирование фибринолиза является следствием неконтролируемой активации системы гемостаза. Недостаточность физиологических функций, обеспечивающих антикоагулянтное равновесие, обусловлена повышенным содержанием провоспалительных цитокинов IL-2, IFN- γ , IL-12 в сыворотке крови. Среди возможных механизмов истощения системы физиологических антикоагулянтов можно рассматривать стойкое поддержание гиперагрегации, стимулируемой данными цитокинами у серопозитивных пациентов ($R=0,72^*$; $0,67^*$; $0,91^*$ соответственно).

Пролонгирование воспаления и его хронизация во многом зависят от способности клеток к высокой продукции цитокинов, поддержанию состояния гиперкоагуляции и формирования дефицита фибринолиза, что может быть обусловлено наличием определенных генетических профилей. Участие различных цитокинов в механизмах заболевания может различаться в различных популяциях, что зависит от этнических особенностей, различий в экспрессии генов главного комплекса гистосовместимости и специфичностей генетики цитокинов в каждой популяции.

Результаты иммуногенетического обследования пациентов с различными вариантами течения ревматоидного артрита и недифференцированными серонегативными артропатиями

Среди жителей Сибири, больных РА, доминирующим вариантом полиморфного участка промоторного региона гена TNF- α G-308A является GG (72,3%) по сравнению с гетерозиготным AG (27%) и гомозиготным AA (0,7%). Гомозиготный вариант CC (52,2%) и гетерозиготный вариант AC (39,9%) полиморфного участка в позиции 592 гена IL-10 преобладают над гомозиготным AA (7,9%). Среди больных РА установлено повышенное содержание генотипа AG промоторного участка гена TNF- α G-308A (27,0%) в сравнении со здоровыми донорами (17,5%) и генотипа AA (11,0%) промоторного участка гена IL-10 C-592A (7,9%) в сравнении с кон-

тролем (2,5%), что свидетельствует об участии этих специфичностей в общем генетическом риске РА.

Для уточнения функциональной роли изучаемого полиморфизма генов TNF- α и IL-10 был исследован уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови среди пациентов, являющихся носителями аллелей TNF- α A (точка 308), связанного с его высокой продукцией и IL-10 C (точка 592), связанного с низкой продукцией указанного цитокина, что теоретически формирует неблагоприятный вариант течения РА (табл. 8).

Таблица 8

Концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ревматоидным артритом в зависимости от полиморфизма гена TNF- α в точке 308 и гена IL-10 в точке 592

Цитокины (пкг/мл)	Аллели генов цитокинов и их сочетания			
	TNF- α (308)A (n=28)	IL-10(592)A (n=49)	TNF- α A/IL-10A (n=14)	TNF- α A/IL-10C (n=13)
IFN- γ	133,31 \pm 319,55	86,33 \pm 158,40	106,81 \pm 211,48	186,40 \pm 454,32
IL-2	48,49 \pm 154,69	49,64 \pm 130,41	83,91 \pm 206,05	6,38 \pm 17,22
TNF- α	59,85 \pm 134,50	37,59 \pm 89,97	60,62 \pm 154,92	64,55 \pm 121,40
IL-12	12,75 \pm 42,02	11,31 \pm 22,93	5,65 \pm 7,74	21,78 \pm 62,33
IL-4	7,76 \pm 17,13	6,20 \pm 15,27	13,40 \pm 21,98	1,21 \pm 2,28
IL-5	12,47 \pm 32,48	12,58 \pm 39,64	19,24 \pm 43,14	4,90 \pm 8,31
IL-10	36,18 \pm 83,13	27,50 \pm 62,04	32,45 \pm 81,23	41,71 \pm 90,29
IL-13	26,86 \pm 62,43	34,26 \pm 78,60	38,36 \pm 81,73	14,49 \pm 24,21
GM-CSF	79,17 \pm 244,82	94,99 \pm 215,18	40,96 \pm 99,97	134,35 \pm 362,21

У пациентов с генетической предрасположенностью к высокой продукции TNF- α и низким концентрациям антагонистичного IL-10 отмечено наиболее высокое содержание провоспалительного IL-2, в десятки раз превышающего нормативное распределение. Повышение уровня IL-4, IL-5, IL-13 может иметь компенсаторное значение в связи с недостаточностью противовоспалительного эффекта IL-10.

При анализе клинических особенностей пациентов в зависимости от полиморфизма промоторных участков исследуемых генов выявлены следующие данные. Лица с гетерозиготным фенотипом TNF- α (в точке 308) G/A ($p=0,035$) как и с аллелью A ($p=0,042$), ассоциированными с высокой продукцией TNF- α , преимущественно

заболевают в возрасте неустойчивого гормонального фона. В группе пациентов с наличием аллели G в генотипе TNF- α G-308A отмечены более низкие показатели активности воспалительного процесса по индексу DAS28 ($p=0,0002$).

Значительная часть ассоциаций связана с наличием в фенотипе пациента аллелей гена IL-10 C-592A, связанных с продукцией высокого или низкого уровня соответствующего цитокина. Аллель A в генотипе полиморфного участка гена IL-10 C-592A сопряжен с более высокой активностью по уровню СОЭ ($p=0,04$) и DAS28 ($p=0,038$), наличию клинических и лабораторных признаков васкулопатии ($p=0,036$), тромбинемии ($p=0,03$), дефицитом в системе фибринолиза ($p=0,037$).

В условиях низкой продукции IL-4 у больных РА не формируется достаточной ингибиции провоспалительных цитокинов, в связи с чем пациенты с наличием IL-4(C-592T) -CC генотипа не формируют ответа на иммуносупрессивную терапию в 68,8% случаев ($p=0,004$). Напротив, мутантный аллель T в фенотипе больного РА, способствующий высокой продукции противовоспалительного IL-4, обеспечивает хороший и удовлетворительный эффект у пациентов, принимающих иммуносупрессивную терапию ($p=0,022$).

В соответствии с литературными данными в исследуемой группе пациентов, страдающих РА, выявлены ассоциации показателей лабораторной активности с IL-6. В группе больных с генотипом GG (-174), ответственным за высокий уровень продукции IL-6, отмечен более высокий уровень СРП, чем у больных с гомозиготным CC-фенотипом ($p=0,033$), связанным с низкой продукцией IL-6. Присутствие аллеля G у гетерозиготных по IL-6 G-174C пациентов способствует более высокой активности воспаления по уровню СОЭ ($p=0,037$). Подобная закономерность отмечена и для провоспалительного цитокина IL-1 β .

Повышенные концентрации E-селектина у пациентов с высокой продукцией IL-6, связанной с G аллелем, могут объяснить связь эндотелиальной дисфункции и прогрессии атеросклероза у пациентов с высокой степенью активности ревматоидного воспаления ($p=0,018$).

Наличие в фенотипе больного РА мутантного аллеля T IL-4 C-592 обеспечивает высокую продукцию IL-4. До назначения болезньюмодифицирующей терапии у этих пациентов активность РА по индексу DAS28 была более высокой ($p=0,031$). Оценка эффек-

тивности иммуносупрессивной терапии через 14 нед показала более значительный ответ по индексам DAS ($p=0,039$) и ARC70 ($p=0,024$) в этой группе пациентов.

У пациентов с наличием гомозиготного генотипа GG TNF- α G-308A ответ на лечение иммуносупрессивными препаратами не отличался столь высокой эффективностью, как у больных, генетически обусловленных к высокому синтезу TNF- α (генотип GA) ($p=0,015$).

Для возможного выявления наиболее благоприятных и неблагоприятных вариантов сочетания аллелей и прогнозирования эффекта проводимой иммуносупрессивной терапии были выделены группы пациентов по сочетанию аллелей высокой и низкой продукции соответствующего цитокина. Как показано на рис. 1, наиболее благоприятный исход лечения иммуносупрессивными средствами показали пациенты, фенотип которых содержал аллель высокой продукции TNF- α и IL-10, что обеспечивало необходимый уровень ингибирования Th1 воспаления (TNF- α 308A/IL-10C).

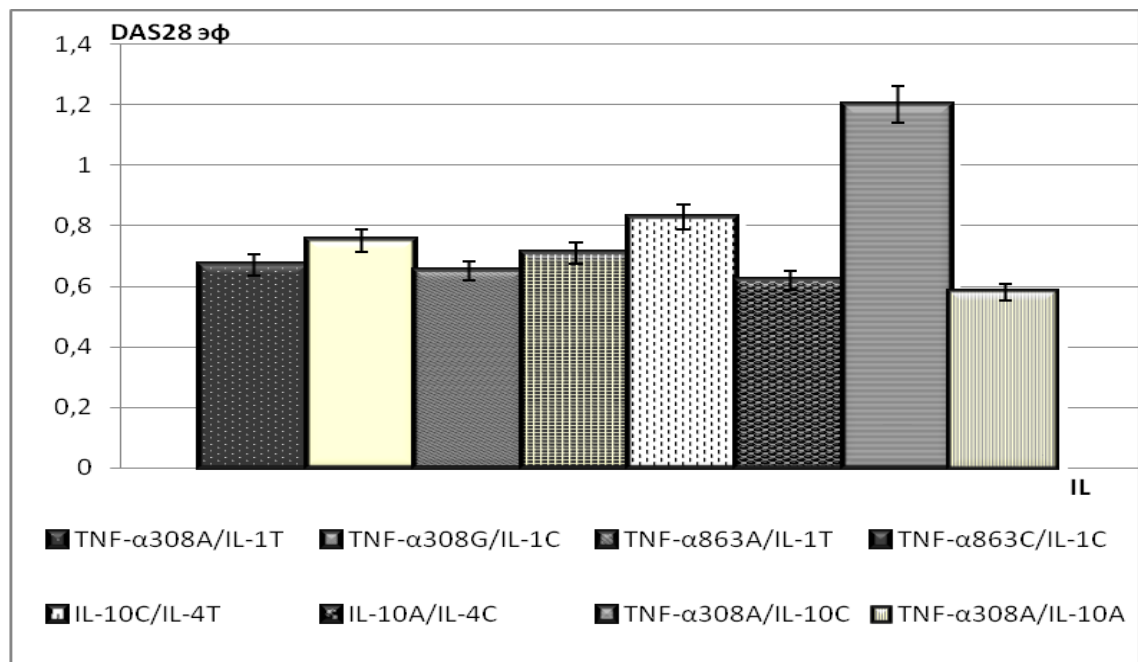


Рис. 1. Оценка эффективности терапии ревматоидного артрита иммуносупрессивными препаратами по индексу DAS в группах пациентов с сочетаниями в фенотипе аллелей с различным уровнем продукции про- и противовоспалительных цитокинов

У больных с низким уровнем продукции противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 в составе фенотипов IL-10A/IL-4C и

TNF- α 308A/IL-10A эффективность терапии была минимальной. Оценена эффективность терапии препаратом инфликсимаб у больных РА через 14 нед от начала лечения. Выявлены различия в распределении генотипа СС IL-10 (С-592А), связанного с высоким уровнем продукции IL-10, и генотипов АС+АА в выделенной группе пациентов. Аллель А указанных генотипов формирует низкий уровень продукции IL-10. Гомозиготное состояние аллели С в фенотипе больного РА, обеспечивая высокий уровень продукции IL-10, способствует хорошей эффективности терапии препаратом инфликсимаб. Напротив, генетически детерминированный низкий синтез IL-10 ассоциирует с низким ответом на проводимую терапию анти-TNF-препаратом, требующим повышения дозы биологического агента или смены терапии.

В целях дальнейшего исследования генетической составляющей в полиморфизме РА в настоящем исследовании изучались закономерности накопления некоторых генов системы HLA среди больных РА. Поскольку популяция кавказоидов Западной Сибири представляет смешанный евроазиатский тип, распределение антигенов HLA имеет свои особенности, что является актуальным для практического использования [Chen K.R. et al., 2002]. Иммуногенетический анализ позволил выделить пациентов с риском развития РА, неблагоприятными вариантами клинического течения заболевания, патогенетическими особенностями, способствующими формированию различного ответа на проводимую терапию.

Специфический генетический маркер развития РА, аллель HLA-DR4, встречался чаще у лиц с наличием вирусной инфекции (OR=3,93, $p=0,005$), выявленной в дебюте суставного синдрома, и формированием резистентности к иммуносупрессивной терапии (OR=4,84, $p=0,002$).

Коагулопатические нарушения обусловлены присутствием определенных генетических субстратов. Формирование тромбинемии можно определить как следствие Th-1 воспаления у генетически предрасположенных пациентов, в частности с наличием в фенотипе аллеля HLA-B5 (OR=4,5, $p=0,028$). Аутоиммунные аллели -A1, -B8, -DR3, -B27 и -DR5 выявляются в фенотипе пациентов с нарушениями в системе естественных антикоагулянтов, неблагоприятным прогнозом течения РА, развитием микротромбоваскулита и его осложнениями. В этой группе пациентов вирусная инфекция в дебюте

рассматривается как фактор тяжести течения и нарушений в системе гемостаза.

Оценка прогностической значимости клинических и лабораторных показателей для ранней диагностики ревматоидного артрита, прогноза вариантов течения и чувствительности к терапии

В качестве одного из алгоритмов прогноза эффективности терапии в настоящем исследовании проводился анализ динамики изменения содержания про- и противовоспалительных цитокинов на фоне болезньюмодифицирующей терапии.

Высокие концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови до начала лечения с преобладанием IFN- γ , TNF- α ассоциировали с благоприятным прогнозом эффективности иммуносупрессивной терапии (табл.9).

Таблица 9

Показатели концентрации сывороточных цитокинов, клинической и лабораторной активности до назначения болезньюмодифицирующей терапии в зависимости от ее эффективности у больных ревматоидным артритом, $M \pm m$

Показатель	Эффект на терапию DMARDs (n=21)	Отсутствие эффекта на терапию DMARDs (n=17)	p
IL-4, пкг/мл	6,2 \pm 2,7	0,1 \pm 0,06	0,009
IL-5, пкг/мл	4,5 \pm 1,7	1,6 \pm 0,7	0,048
IL-12, пкг/мл	44 \pm 23,1	2,5 \pm 1,1	0,020
INF- γ , пкг/мл	918,5 \pm 460,9	25,6 \pm 15,8	0,009
TNF- α , пкг/мл	160,8 \pm 68,8	7,2 \pm 4,3	0,004
DAS28	6,1 \pm 0,26	4,7 \pm 0,34	0,002
СОЭ, мм/ч	35,7 \pm 3,5	23,6 \pm 2,9	0,003

Примечание. Статистический анализ проведен методом Wilcoxon.

Пациенты с отсутствием эффекта на терапию имели первично неблагоприятный вариант течения РА в дебюте с низкой лабораторной активностью. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов IFN- γ (1046,2 \pm 530,2), TNF- α (214,6 \pm 115,5), GM-CSF (733,9 \pm 400,3) в сыворотке крови на фоне проводимой болезньюмодифицирующей терапии у больных РА в состоянии клинической и

лабораторной стабильности проявило себя как ранний и чувствительный параметр формирования резистентности и предшествовало обострению.

Таким образом, определение концентрации цитокинов в крови до начала лечения позволяет объективизировать выбор адекватных подходов и повысить качество терапевтического воздействия.

На основании полученных данных об ассоциациях отдельных клинических, лабораторных, иммунологических и генетических параметров с формированием РА, неблагоприятного прогноза его развития и исходов терапии нами предложена модель диагностики с использованием комплекса признаков. Проведена количественная оценка диагностической значимости отдельных показателей. В выборках пациентов с дебютом суставного синдрома и исходом в РА или НАП выделены группы специфичных признаков, существенно различающихся по частоте. В диагностический комплекс были включены следующие параметры: возраст дебюта суставного синдрома, пол пациента, уровень СОЭ, СРП, фибриногена, уровень боли по VAS, число болезненных суставов, индекс DAS28, наличие РФ и аССР, тромбоцитоза, наличие внутриклеточных и вирусных видов инфекции, показатели системы гемостаза, иммунного статуса, уровней про- и противовоспалительных цитокинов, их генотипы, HLA-антигены.

Для всех выделенных показателей на основании квантильного анализа были определены диапазоны признаков. Для каждого диапазона проанализирована частота встречаемости отдельного признака в группах больных с дебютом РА и НАП. Для оценки прогностической значимости признаков вычислялись специфичность, чувствительность, информативность по К. Шеннону J (Sh) каждого диапазона по соотношению двух вероятностей, диагностический коэффициент (DK). DK расценивался как отрицательное значение в случае преобладания вероятности состояния в группе сравнения (НАП). Положительное значение DK отмечалось в случае преобладания вероятности формирования РА. Достоверность различий частот определялась точным методом Фишера. Для прогноза использовались информативные признаки при достоверных различиях в прогнозируемых группах.

На основании выбранного принципа с включением диагностических коэффициентов, соответствующих определенным значениям информативности, разработаны прогностические таблицы с

ранжированием всех отобранных предшествующим исследованием маркеров. Непосредственная диагностика с использованием предлагаемых таблиц осуществляется путем суммирования диагностических коэффициентов всех присутствующих у конкретного индивида позитивных и негативных маркеров заболевания (табл.10). Формула принятия решения приобрела вид следующего неравенства:

$$DK \text{ пороговое (НАП)} < DK < DK \text{ пороговое (РА)}.$$

При величине сумм $DK = \pm 19,9$ вероятность развития РА или НАП составила 99%.

В диагностический поиск разработанные прогностические таблицы включаются при наличии нечеткого симптомокомплекса, не соответствующего критериям дифференцируемых патологических состояний.

Последовательный анализ Вальда, выполненный с целью прогнозирования развития РА, на дополнительной выборке пациентов дал правильный ответ в 76% случаев, в 18% случаев не удалось принять диагностическое решение (неопределенный ответ). Отсутствие прогноза РА при сформированном заболевании составило 3%, гипердиагностика –3%. Таким образом, представляемый прогностический алгоритм позволяет у 76% больных с дебютом суставного синдрома достоверно прогнозировать развитие ревматоидного артрита по клиническим и лабораторным признакам.

Таблица 10

Диагностическая таблица для выявления групп риска
и ранней диагностики ревматоидного артрита

Диагностический критерий	OR	DK
Женский пол	3,70	2,1
Мужской пол	0,27	-3,6
Возраст 41-60 лет	3,08	2,9
Число болезненных суставов ≥ 4	10,44	8,1
VAS (боль) ≥ 45 мм	2,55	1,4
VAS (боль) < 45 мм	0,39	-1,4
СОЭ ≥ 25 мм/ч	1,54	1,6
≥ 40 мм/ч	4,0	5,1
СОЭ < 25 мм/ч	0,65	-1,6
СРП ≥ 15 мг/л	13,72	8,5
Фибриноген $\geq 4,5$ г/л	4,00	3,6

А-ССР, ед/мл	15,13	10,7
РФ положительный	8,90	7,0
Тромбоциты $>300 \times 10^9$ /л	1,54	1,6
Herpes 1,2	9,06	8,3
Epstein-Barr	5,29	6,7
Лимфоциты $<1,5 \times 10^{12}$ кл/л	12,0	5,7
IgG (г/л) $>11,5$	9,42	9,1
ЦИК (у.е.) ≥ 25 у.е.	6,01	6,7
TNF- α 863 -СС	1,5	0,6
-СА	0,61	-1,5
TNF- α 308 -GG	0,59	-0,5
TNF- α 308 -GG, возраст пациента в момент дебюта РА < 45 лет	2,59	1,3
TNF- α 308 -GA	1,74	1,9
TNF- α -308 -GA, возраст пациента в момент дебюта РА ≥ 45 лет	2,59	2,8
TNF- α 308 -GG, СОЭ <25 мм/час	2,33	0,32
TNF- α 308 -GA, СОЭ ≥ 25 мм/час	2,33	2,7
-GA, СОЭ <25 мм/час	0,43	-2,7
Уровень в сыворотке крови TNF- α 308 -GG $\geq 3,3$ пкг/мл	2,63	1,2
Уровень в сыворотке крови TNF- α 308 -GA $< 3,3$ пкг/мл	0,38	-3,0
Уровень в сыворотке крови IL-4 590 -СС $< 0,11$ пкг/мл	1,65	1,1
Уровень в сыворотке крови IL-4 590 -СТ $\geq 0,11$ пкг/мл	0,55	-1,4
IL-10 592 -СС	0,63	-0,8
IL-10 592 -СС, СОЭ ≥ 25 мм/ч	2,13	1,5
IL-10 592 -АС, СОЭ ≥ 25 мм/ч	2,59	2,4
IL-10 592 - АС, СОЭ <25 мм/ч	0,50	-2,4
IL-10 592 -АА	3,39	5,1
-АА, лабораторные признаки тромбинемии	9,83	9,4
IL-1 β 31 -ТТ	1,65	1,1
-DR1	1,44	1,2
-DR4	2,72	3,1
-DR5, ВА+	0,44	-2,72
-DR6	0,35	-4,5
-DR7	0,61	-1,7
-DR2/DR4	3,17	4,6
-DR2/DR4, РФ+	4,40	5,84
-A2/A10, фибриноген $>4,0$ г/л	9,95	9,41
-A3/B35, лабораторные признаки тромбинемии	0,11	-9,11

-A1/DR3, АтIII < 80%	8,00	7,88
-A2/DR4	2,46	2,45
-A2/DR5, BA+	0,14	-7,74
-A2/DR7, тромбоциты >300x10 ⁹ /л	15,14	10,80
-A3/DR4	2,18	3,1
-A10/DR4	2,19	3,2
-B8/DR3, АтIII < 80%	8,00	7,88
-B8/DR4	2,34	3,6
-B12/DR5	0,45	-3,2
-B35/DR2, антитела DNA+	0,12	-8,39
-B35/DR2, лабораторные признаки тромбинемии	0,07	-10,70
-B35/DR2, фибриноген >4,0 г/л	0,25	-5,44
-B35/DR2, АтIII >120%	0,16	-7,09
-B35/DR4	2,63	4,0

На следующем этапе построения дифференциально-диагностической модели прогнозирования формирования РА на стадии ранних клинических проявлений была предпринята попытка создания процедуры прогноза, позволяющая оценить риск развития прогрессирующих неблагоприятных вариантов течения заболевания и эффективности планируемой к назначению терапии (табл.11).

Таблица 11

Прогностическая таблица для выявления больных ревматоидным артритом с различной эффективностью болезньюмодифицирующей терапии

Диагностический критерий	OR	ДК
Эффективность терапии метотрексатом и сульфасалазином		
Наличие эффекта (удовлетворительный и хороший результат по DAS28):		
концентрация IL-4 в сыворотке крови >3,5 пкг/мл	18,10	10,9
концентрация IL-5 в сыворотке крови >2,5 пкг/мл	3,75	4,5
концентрация IL-12 в сыворотке крови >22,9 пкг/мл	14,86	10,2
концентрация IFN-γ в сыворотке крови >447,6 пкг/мл	18,10	10,9
концентрация TNF-α в сыворотке крови >92,0 пкг/мл	22,04	11,4
IL-4 592 -СТ	4,76	3,9
HLA-DR4	4,84	4,92
-A1	0,42	-2,8
B8/B15	13,41	10,90
A1/DR1	0,06	-11,16
A9/DR4	8,00	8,51

A10/DR4	12,96	10,30
B17/DR4	18,16	12,00
B35/DR1	0,09	-9,84
Отсутствие эффекта:		
концентрация IL-4 в сыворотке крови >3,5 пкг/мл	0,06	-10,9
концентрация IL-5 в сыворотке крови >2,5 пкг/мл	0,27	-4,5
концентрация IL-12 в сыворотке крови >22,9 пкг/мл	0,07	-10,2
концентрация IFN- γ в сыворотке крови >447,6 пкг/мл	0,06	-10,9
концентрация TNF- α в сыворотке крови >92,0 пкг/мл	0,05	-11,4
IL-4 590 -CC	3,85	2,8
IL-10 592-A/ IL-4 590-C	2,37	2,4
IL-10 592-C/ IL-4 590-C	2,24	2,2
TNF- α 308-A/ IL-1 β 31-T	6,00	4,3
HLA-DR4	0,21	-4,92
-A1	2,41	2,8
Эффективность терапии препаратом Инфликсимаб		
Наличие эффекта (удовлетворительный и хороший результат по DAS28):		
IL-10 592 -CC	16,25	5,5
Отсутствие эффекта:		
IL-10 592 -AC,-AA	16,25	6,6

Нежелательные реакции на фоне использования иммуносупрессивных препаратов затрудняют дальнейшее ведение пациента в связи с резким ограничением выбора лекарственного средства и включения в схему лечения дополнительных методов терапии, непосредственно направленных на купирование осложнений.

В табл. 12 представлены результаты анализа распределения генотипов про- и противовоспалительных цитокинов в группах больных с отсутствием и формированием осложнений терапии иммуносупрессивными препаратами, требующими отмены проводимой терапии. Среди осложнений представлены лейкопения, тромбоцитопения и развитие генерализованной грибковой инфекции.

Присутствие гетерозиготных генотипов с включением аллелей генов, определяющих высокую и низкую продукцию цитокинов IL-10, TNF- α , способствует формированию нежелательных реакций. С высокой достоверностью побочные реакции формируются у пациентов с агрессивным РА, обусловленным высокой продукцией TNF- α и низкой IL-10.

Таблица 12.

Прогностическая таблица для выявления больных ревматоидным артритом с различной переносимостью болезньюмодифицирующей терапии

Диагностический критерий	OR	ДК
Отсутствие побочных эффектов:		
TNF- α 308-GG	1,99	0,8
Формирование побочных эффектов в процессе терапии:		
TNF- α 308-GA	1,99	2,2
IL-10 592 –AC	1,44	0,8
TNF- α 863 A/ IL-1 β 31-C	3,02	2,7

Примечание. OR– относительный риск; ДК– диагностический коэффициент. Приведены только достоверные данные.

Не менее важным является принятие решения о возможности назначения глюкокортикоидной терапии больным РА [Чичасова Н.В. и др., 2007]. Формирование осложнений глюкокортикоидной терапии, среди которых наиболее существенным является усугубление системного остеопороза, послужило основой анализа генетических параметров с риском формирования снижения минеральной плотности костной ткани. Риск развития системного остеопороза увеличивается у пациентов с высокой лабораторной активностью в дебюте заболевания (OR=2,57), выраженным дефицитом фибринолиза (OR=2,55).

Выявление клинических и лабораторных изменений, обладающих высокой специфичностью для отдельных вариантов течения болезни, позволяет характеризовать их как факторы риска или защиты формирования побочных эффектов используемой болезньюмодифицирующей терапии, а также ее эффективности. Применение прогностического поиска с использованием расчетных таблиц дает возможность выбирать метод лечения с учетом расчета эффективности планируемой к назначению терапии.

Выводы

1. Комплексная оценка клинической характеристики суставного синдрома, лабораторного исследования про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, аллельных вариантов генов цитокинов, типирования иммуногенетических признаков, показателей выраженности васкулопатии позволяет повысить

качество ранней диагностики ревматоидного артрита и вариантов его течения, оптимизировать терапевтическую тактику и улучшить прогноз качества жизни пациента на основании целенаправленного назначения индивидуализированных схем терапии.

2. Клиническая картина раннего ревматоидного артрита у жителей Сибирского региона характеризуется клиническим полиморфизмом суставного синдрома в дебюте. Типичный симметричный полиартрит с преимущественным вовлечением суставов кистей и стоп развивается у трети пациентов, которым в течение первого полугодия болезни устанавливается диагноз и назначается адекватная терапия. Лица с нетипичным суставным синдромом имеют продолжительный анамнез неуточненного диагноза, что приводит к позднему назначению болезньюмодифицирующей терапии, отсроченной в среднем на 1,5 года.
3. В период дифференцирования суставного синдрома, на ранних стадиях его развития, урогенитальная внутриклеточная и вирусная инфекции определяются у основной части пациентов. Выявлению УГИ при впервые возникшем суставном синдроме соответствует наличие воспалительных заболеваний органов малого таза в виде стертых асимптомных форм или изолированное лабораторное выявление инфекции.
4. Преимущественными патогенами в группе пациентов с впервые верифицированным диагнозом РА были возбудители внутриклеточных инфекций в сочетании с вирусами семейства *Herpes*, которые способствовали активации гемокоагуляции и формированию деструктивных вариантов заболевания в динамике наблюдения.
5. Воспаление при активном суставном синдроме в дебюте характеризуется повышением агрегационных свойств тромбоцитов, гиперкоагуляцией, тромбинемией и снижением резервов фибринолитической системы. Процесс сопутствующего воспалению микротромбоваскулита при серонегативных состояниях отличается минимальный синтез межклеточных агрегатов, нормальное количество сывороточного фибриногена и высокий потенциал ингибирования тромбина, в отличие от ревматоидного артрита, характеризующегося агрессивным тромбоваскулитом.
6. Наиболее прогностически важным лабораторным признаком, ассоциированным с выраженностью воспаления при ревматоид-

ном артрите, является тромбинемия, которая стимулируется высокими концентрациями TNF- α в сыворотке крови. С продолжительностью анамнеза, выраженностью клинической и лабораторной активности прогрессирует дефицит фибринолиза, снижение уровня физиологических антикоагулянтов, поддержание тромбоваскулита, чему способствует тромбоцитоз и высокий уровень СРП.

7. Снижение фибринолитической функции не позволяет эффективно ингибировать гиперкоагуляцию, отражает злокачественность течения ревматоидного артрита и рентгенологического прогрессирования. В противоположность низкий уровень коагуляции может служить протективным признаком медленной рентгенологической прогрессии.
8. Концентрации сывороточных провоспалительных цитокинов IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-12 и противовоспалительных IL-10, IL-13 ассоциированы с активностью воспалительного процесса и клиническим течением ревматоидного артрита, а также с гиперкоагуляцией, которая прогрессирует соответственно активности воспаления. Гиперкоагуляция максимально выражена у серопозитивных пациентов. Уровень IL-5 в сыворотке больных ревматоидным артритом с тромбинемией достоверно увеличен, что способствует низкому уровню формирования фибринмономеров.
9. Снижение эффективности фибринолиза сопровождается угнетением активности протеина С с последующей прогрессирующей гиперкоагуляцией, ассоциированной с тромбоцитозом и высоким уровнем E-селектина в сыворотке крови. Провоспалительные цитокины IL-2, IFN- γ , IL-12 в высоких концентрациях ассоциируют с недостаточностью физиологических функций, обеспечивающих антикоагулянтное равновесие.
10. Выявленные нарушения в системе гемостаза на разных стадиях заболевания позволяют обосновать необходимость раннего начала иммуносупрессивной терапии в сочетании с направленной коррекцией гиперкоагуляции у больных ревматоидным артритом.
11. Аллели генов HLA-комплекса I и II классов, часто встречающиеся при аутоиммунных болезнях – HLA-A1,-B8,-DR3, -B27 и -DR5 закономерно выявляются в фенотипе пациентов с прогрессирующими рентгенологическими изменениями, васкулопатией.

12. Аллельный варианты генов цитокинов ассоциированы с клиническим течением РА и эффективностью его терапии. В группе пациентов с наличием аллеля G в генотипе TNF- α G-308A отмечены более низкие показатели активности воспалительного процесса по индексу DAS28. Аллель A в генотипе полиморфного участка гена IL-10 C-592A ассоциирован с более высокой активностью процесса. Наличие в геноме пациента с РА IL-4 C-592T генотипа CC и генотипа GG гена TNF- α G-308A, комбинаций IL-10A/IL-4-C и TNF- α 308A/IL-10A ассоциировано с отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии, тогда как наличие минорного аллеля T гена IL-4, генотипа GA гена TNF- α и комбинации TNF- α 308A/IL-10C приводит к хорошему и удовлетворительному ответу. Наличие гомозиготной комбинации CC гена IL-10 (C-592A) у больного РА ассоциировано с хорошей эффективностью терапии препаратом инфликсимаб. Напротив, комбинации аллелей AC+AA этого гена ассоциированы с низким ответом на проводимую терапию анти-TNF препаратом.
13. Комплексный анализ информативности иммуногенетических параметров, лабораторных признаков состояния систем иммунитета и гемостаза позволяет на ранних этапах более достоверно диагностировать атипичные формы РА и прогнозировать развитие быстро прогрессирующих форм его течения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Иммуногенетические методы прогноза эффективности применения метода переливания экстракорпорально облученной крови для лечения больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, В.Ф.Прокофьев, Р.Л.Иванова, В.И.Коненков // Гем. и трансф.-1993.-№2.-С.33-36.
2. Способ оценки эффективности лечения ревматоидного артрита / В.Ф.Прокофьев, **Е.В.Зонова**, В.И.Коненков, Р.Л.Иванова // Патент на изобретение №2052201. М.,1996.
3. Иммунодиагностика и иммунотерапия реактивных артритов. Некоторые вопросы теории и практики / Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, М.Л.Сартакова, О.В.Голованова, В.И.Коненков // Межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы клинической иммунологии СПИДа, иммунодефицитассоциированных заболеваний»: Тез. докл.-Кемерово,1997.-С.20-22.

4. Современная иммунологическая диагностика урогенитальных внутриклеточных инфекций / В.И.Коненков, М.Л.Сартакова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, Л.П.Коненкова // Вторая Сибирская конференция «Дерматовенерология Сибири. Наука и практика»: Тез. докл.-Новосибирск, 1997.-С.126-127.
5. Эта многоликая болезнь Рейтера / **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова, М.А.Королев, М.Л.Сартакова, О.В.Голованова, В.И.Коненков //Межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы клинической иммунологии СПИДа, иммунодефицитассоциированных заболеваний»: Тез. докл.-Кемерово, 1997.-С.43-44.
6. Инфекции и иммунитет. Новый виток доказательств / Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, В.С.Кожевников, В.И.Коненков //Вторая национальная конференция РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии»:Сб. трудов.-М., 1998.- С.375.
7. Полимеразная цепная реакция— самый эффективный метод диагностики триггерных артритогенных инфекций / Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, М.Л.Сартакова, В.И.Коненков // VIII научно-практическая конференция врачей «Актуальные вопросы современной медицины»:Тез. докл.-Новосибирск, 1998.-С.398.
8. Роль триггерных инфекций в поддержании местного и системного аутоиммунного воспаления / М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова** // Научно-практическая конференция «Клиническая иммунология и современная медицина»: Тез. докл.-Барнаул, 1998.-С.132-134.
9. Топическая ПЦР-диагностика генетического материала возбудителя при экстрагенитальных проявлениях урогенитальной инфекции / В.И.Коненков, М.Л.Сартакова, **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова // Int. J. Immunorehabilitation.-1998.-№8.-С.52.
10. Ассоциированность полиморфизма генов TAP1/TAP2 с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, сочетающимися с поражением суставов / М.Л.Сартакова, В.И.Коненков, А.В.Шевченко, О.В.Голованова, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев // Тер. арх.-1999.-№11.-С.41-45.
11. Вирусные инфекции как фактор риска тяжелого течения аутоиммунных синдромов / **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова,

- М.А.Королев, М.Л.Сартакова, В.И.Коненков // IX научно-практическая конференция врачей «Актуальные вопросы современной медицины. Новосибирск на рубеже XXI века»: Тез. докл.-Новосибирск, 1999.-С.312.
12. Иммуногенетические аспекты урогенитальных артропатий/ М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, А.Э.Сизиков, В.Ф.Прокофьев, В.И.Коненков // Rus. J. Immunology.- 1999.- №4.- С.136.
 13. Иммуногенетическая гетерогенность артропатий, ассоциированных с урогенитальной инфекцией / М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, А.Э.Сизиков, В.Ф.Прокофьев, В.И.Коненков // IX научно-практическая конференция врачей «Актуальные вопросы современной медицины. Новосибирск на рубеже XXI века»: Тез. докл.-Новосибирск, 1999.-С.311.
 14. Противовирусная терапия у больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова, М.А.Королев, В.И.Коненков // Второй съезд иммунологов России: Тезисы докладов. - Сочи, 1999.-№1.-С.142.
 15. Целесообразность оценки иммунного статуса при системных аутоиммунных заболеваниях /А.Э.Сизиков, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, Л.П.Коненкова, Ф.Ф.Петрунько, В.С.Кожевников // IX научно-практическая конференция врачей «Актуальные вопросы современной медицины. Новосибирск на рубеже XXI века»: Тез. докл.-Новосибирск, 1999.-С.311.
 16. Иммуногенетическая гетерогенность артропатий, ассоциированных с хронической урогенитальной инфекцией / М.А.Королев, В.И.Коненков, А.В.Шевченко, Н.Б.Орлов, В.Ф.Прокофьев, **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова // Мед. иммунология.-2000.- №1.-С.83-88.
 17. Исследование синовиальной жидкости пациентов ревматическими заболеваниями методом полимеразной цепной реакции/ М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, Н.Б.Орлов, В.И.Коненков // Иммунная система: функционирование в норме, при экстремальных экологических воздействиях, при иммунопатологии /Под ред. В.И.Коненкова.-Новосибирск,- 2000.-С.45-47.
 18. Оценка иммунного статуса при системных аутоиммунных заболеваниях / А.Э.Сизиков, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев,

- Л.П.Коненкова // Актуальные вопросы медицины: Сб. трудов.- Новосибирск, 2000.-С.122-124.
19. Оценка показателей иммунитета при системных аутоиммунных заболеваниях / А.Э.Сизиков, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, Л.П.Коненкова, В.С.Кожевников // Новые методы диагностики, лечения заболеваний и управления в медицине: Сб. трудов.-Новосибирск,2000.-С.39-41.
 20. Семейство Herpesviridae при ревматических заболеваниях. Вопросы терапии / **Е.В. Зонова**, Л.П.Коненкова, М.А.Королев // Иммунная система: функционирование в норме, при экстремальных экологических воздействиях, при иммунопатологии / Под ред. В.И.Коненкова.- Новосибирск,2000.-С.33-34.
 21. Опыт использования высокодозной иммуносупрессивной терапии с аутотрансплантацией стволовых кроветворных клеток при тяжелых аутоиммунных заболеваниях / И.А.Лисуков, С.А.Сизикова, А.Д.Кулагин, И.В.Крючкова, А.В.Гилевич, Е.Р.Черных, О.Ю.Леплина, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, О.А.Малышева, Т.Н.Сентякова, А.А.Демин, В.А.Козлов // Клиническая онкология и гематология.-2001. -№4. -С.2-9.
 22. Участие генов белков теплового шока (HSP70-2, HSP70-НОМ) в развитии ревматоидного артрита и болезни Рейтера / Шевченко А.В., Зонова Е.В., Королев М.А., Коненкова Л.П., Коненков В.И. // Мед.иммунология.-2001.-№4.-С.551-556.
 23. Способ лечения часто рецидивирующих синовитов коленных суставов / Л.П.Коненкова, М.А.Королев, **Е.В.Зонова**, Л.Ф.Слухай, М.Л.Сартакова, С.И.Баранов, В.И.Коненков // Патент на изобретение.-2001.-№2175232.
 24. Тестирование синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом и реактивным артритом методом ПЦР / М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, А.Э.Сизиков, Н.Б.Орлов, В.И.Коненков // Науч.-практ. ревматология.-2001.-№3.-С.58.
 25. Высокодозная иммуносупрессивная терапия с аутологичной трансплантацией стволовых кроветворных клеток при аутоиммунных заболеваниях / С.А.Сизикова, И.А.Лисуков, А.Д.Кулагин, И.В.Крючкова, А.В.Гилевич, Е.Р.Черных, О.Ю.Леплина, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, В.С.Ширинский, Т.Н.Сентякова, А.А.Демин, В.А.Козлов // Тер. арх.- 2002. - Т. 74,№7. - С. 22-26.

26. Interaction erythroid and lymphoid lineages in dependent of AID / A.Sizikov, L.Konenkova, **E.Zonova**, M.Korolev, S.Kiselev, V.Kozlov //3rd International Congress on Autoimmunity: Abstract Book. - Geneva, 2002.-P.146
27. Улучшение качества жизни у больных ревматоидным артритом на фоне терапии препаратом антител к ФНО-альфа (инфликсимабом) / **Е.В.Зонова**, Л.П. Коненкова, М.А. Королев, А.Э.Сизиков, О.А.Герцог, Н.И.Фролов // Науч.-практ. ревматология.-2003.-№2.-С.140.
28. Взаимодействие эритроидного и лимфоидного ростков кроветворения в патогенезе ревматоидного артрита / А.Э.Сизиков, **Е.В.Зонова**, Л.П.Коненкова, М.А.Королев, С.В.Киселев, В.С.Кожевников, В.А.Козлов // Науч.-практич. ревматология.-2003.-№2.-С.364.
29. Резервные механизмы контроля ревматоидного воспаления / Л.П.Коненкова, А.Э.Сизиков, М.А.Королев, **Е.В.Зонова**, В.С.Кожевников, С.В.Труфакин, Н.И.Фролов // Отчетная конференция ГУ НИИ КИ СО РАМН: Сб. тез.- Новосибирск, 2003.-С.69.
30. Изучение механизмов взаимодействия эритроидного и лимфоидного ростков кроветворения в патогенезе аутоиммунных заболеваний / А.Э.Сизиков, М.А.Королев, **Е.В.Зонова**, С.В.Киселев, Л.П.Коненкова, В.С.Кожевников, В.А.Козлов // Отчетная конференция ГУ НИИ КИ СО РАМН: Сб. тез.- Новосибирск,2003.-С.184.
31. High inflammatory activity and increase of interferon gamma and interleukin-12 levels in anaemic patients with debut of rheumatoid arthritis / О.А.Herzog, S.V.Sennikov, L.P.Konenkova, E.V.Zonova, M.A.Korolev, A.E.Sizikov, V.A.Kozlov // In "Immunology 2004. Autoimmunity, Genetic and Degenerative disorders" 2004, Medimond, International proceedings, p.75-78
32. High inflammatory activity and increase interferon gamma and interleukin-12 levels in anaemic patients with debut of rheumatoid arthritis /О.А.Herzog, S.V.Sennikov, I.N.Rakova, L.P.Konenkova, **E.V.Zonova**, M.A.Korolev, A.E.Sizikov, V.A.Kozlov // 12th International Congress of Immunologist and 4th Annual Conference of FOCIS. Clinical and Investigative Medicine.-2004.-N4.-С.217.
33. Закономерности развития анемии у больных ревматоидным артритом/О.А.Герцог, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**,

- М.А.Королев, А.Э.Сизиков, С.В.Сенников, В.А.Козлов // Мед. иммунология.-2004.- №3-5.-С.281.
34. Высокая воспалительная активность и уровень IL-12 и IFN- γ у больных с анемией при дебюте ревматоидного артрита / О.А.Герцог, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, А.Э.Сизиков, С.В.Сенников, В.А.Козлов // Rus. J. immunology.-2004.-№9.- С.137.
35. High inflammatory activity and increase interferon gamma and interleukin-12 levels in anaemic patients with debut of rheumatoid arthritis / О.А.Herzog, S.V.Sennikov, I.N.Rakova, L.P.Konenkova, **E.V.Zonova**, М.А.Korolev, А.Е.Sizikov, V.A.Kozlov // International Proceedings «Autoimmunity, Genetic and Degenerative disorders»:Abstract Book. –Medimond, 2004.- P.75-78.
36. Иммуномодулирующая терапия ревматоидного артрита/ А.Э.Сизиков, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, О.А.Герцог, В.А.Козлов // Иммуноterapia аллергических, аутоиммунных и других заболеваний: Метод. рук. / Под ред. акад. РАМН проф. В.А.Козлова.-Новосибирск, 2004.- С.-79-90.
37. Реактивные артриты: иммунопатогенез, место иммуномодулирующей терапии / М.А.Королев, Л.П.Коненкова, **Е.В. Зонова**, А.Э.Сизиков, О.А.Герцог // Иммуноterapia аллергических, аутоиммунных и других заболеваний: Метод. рук. / Под ред. акад. РАМН проф. В.А.Козлова.- Новосибирск, 2004.-С.-97-107.
38. IL1-beta (+3953) and TNF-alpha (-308) genes polymorphisms in patient with debut of rheumatoid arthritis / О.А.Herzog, S.V.Sennikov, I.N.Rakova, L.P.Konenkova, **E.V.Zonova**, М.А.Korolev, А.Е.Sizikov, V.A.Kozlov // XXIII EAACI Congress: Abstract Book.-Amsterdam, 2004. –С. 1159.
39. Оценка иммуномодулирующего эффекта терапии с применением эритропоэтина у больных ревматоидным артритом / В.С.Кожевников, Л.П.Коненкова, А.Э.Сизиков, Е.В.Зонова, М.А.Королев, Н.В.Пронкина, Е.В.Евсюкова, Е.В.Меняева, Н.И.Фролов, В.А.Козлов // Мед.иммунология.-2004.-№6.- С.557-562.
40. Полиморфизм генов ИЛ-1 β (+3953) и ФНО α (-308) в патогенезе ревматоидного артрита/ О.А.Герцог, С.В.Сенников, Л.П.Коненкова, **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, А.Э.Сизиков, В.А.Козлов //Цитокины и воспаление. -2005.-Т.4.-№1.-С.52-57.

41. Клинико-иммунологическая характеристика больных ревматоидным артритом с анемией / А.Э.Сизиков, В.В.Сенюков, В.С.Кожевников, Л.П.Коненкова, Е.В.Зонова, М.А.Коненков, Н.В.Пронкина, О.А.Герцог, Е.В.Меняева, Е.В.Евсюкова, В.А.Козлов // Мед. иммунология.-2005.-№5-6.-С.593-600.
42. Характеристика иммунного статуса пациентов с урогенитальными реактивными артритами и локальными формами урогенитальной инфекции / М.А.Королев, **Е.В.Зонова**, В.И.Коненков //Материалы I Сибирского конгресса акушеров-гинекологов и дерматовенерологов «Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и дерматовенерологии».- Новосибирск, 2006.- С. 32-34.
43. Анализ взаимозависимости уровней антител к ДНК и другим аутоантигенам с биохимическими и клиническими показателями больных системной красной волчанкой /Е.С.Коровкина, Е.В.Зонова, В.Н.Бунева, Л.П.Коненкова, Г.А.Невинский // Аллергология и иммунология.-2006.-№4.-С.498-507.
44. Клинические исследования применения препаратов, блокирующих функции лимфоидных клеток, в лечении заболеваний соединительной ткани / **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, В.И.Коненков // Функциональные свойства лимфоидных клеток. – Новосибирск, 2008.-С. 243-283.
45. Зависимость эффективности терапии от уровня сывороточных цитокинов у больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, О.В.Голованова, Ю.Б.Леонова, Е.А.Летягина, М.А.Королев, В.И.Коненков // Бюл. СО РАМН, 2008.-№5(133).-С.72-77.
46. Клеточная, сосудистая и экстрацеллюлярная составляющие лимфотической системы / В.И.Коненков, В.Ф.Прокофьев, А.В.Шевченко, Е.В.Зонова // Бюл. СО РАМН, 2008.-№5(133).- С.7-13.
47. Аллельный полиморфизм генов HLA I и II классов в формировании типологических особенностей лимфатической системы человека / В.И.Коненков, В.Ф.Прокофьев, Е.В.Зонова, М.А.Королев, Г.А.Хмельницкий // Функциональные свойства лимфоидных клеток. – Новосибирск, 2008.-С.53-96.
48. Перспективы обоснования выбора терапии ревматоидного артрита (РА) на основании исследования Th1/Th2 цитокинов / **Е.В.Зонова**, Ю.Б.Леонова, М.А.Королев, Е.А.Летягина,

- В.И.Коненков // Российский иммунологический журнал.- 2008.-Том 2(11).-№2-3.-С.243.
49. Исследование сывороточных цитокинов в динамике иммуносупрессивной терапии у больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, Ю.Б.Леонова, 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.
50. Динамика провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на фоне иммуносупрессивной терапии ревматоидного артрита, корреляция с эффективностью лечения / Ю.Б.Леонова, **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.
51. Клинические особенности раннего ревматоидного артрита как основа отдаленного прогноза болезни / **Е.В.Зонова** // II городская научно-практическая конференция «Актуальные проблемы медицины. Клиника, диагностика и лечение воспалительных заболеваний в терапевтической практике».- Новосибирск, 2008.- С.8-10.
52. Цитокиновая регуляция активности коагуляционного гемостаза и воспаления при ревматоидном артрите / **Е.В.Зонова**, Ю.Б.Леонова, О.В.Голованова, Е.А.Летягина, В.И.Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы. – М., 2009.-С.46.
53. Взаимоотношения Th1/Th2 цитокинов с системой гемостаза у больных ревматоидным артритом высокой степени активности / **Е.В.Зонова**, М.А.Королев, Н.Б.Орлов, О.В.Голованова, В.И.Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы.- М.,2009.-С.47.
54. Нарушения в системе гемостаза в дебюте ревматоидного артрита / **Е.В.Зонова**, Е.А.Летягина, С.Г.Егорова, В.И.Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы. – М.,2009.-С.47.
55. Алгоритм раннего прогноза вариантов течения урогенного реактивного артрита на основании иммуногенетического анализа / М.А.Королев, В.Ф.Прокофьев, **Е.В.Зонова**, Е.А.Летягина, В.И.Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы. – М.,2009.-С.56.

56. Информативность комплексного определения концентраций цитокинов в прогнозе эффективности терапии ревматоидного артрита / Ю.Б.Леонова, **Е.В.Зонова**, О.В.Голованова, В.И.Коненков // V съезд ревматологов России: Тезисы.- М.,2009.-С. 63.
57. Динамика выработки Th1/Th2 цитокинов на фоне иммуносупрессивной терапии ревматоидного артрита. Перспективы обоснования выбора метода лечения / **Е.В.Зонова**, Ю.Б.Леонова, 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.
58. Регулирующая роль Th1/Th2 цитокинов в процессе гиперкоагуляции у больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, Ю.Б.Леонова, О.В.Голованова, В.И.Коненков, Е.А.Летягина // Выездная научная сессия «Актуальные вопросы клинической лимфологии»: Тез. Докл.-Андижан, 2009.-С.48.
59. Полиморфизм генов цитокинов у больных ревматоидным артритом / **Е.В.Зонова**, О.В.Голованова, Ю.Б.Леонова, 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.
60. Роль интерлейкина 10 и его генного полиморфизма у пациентов с ревматоидным артритом / Ю.Б.Леонова, **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»: Тез. докл.- Новосибирск, 2009.-С.184-185.
61. The role of interleukin-10 gene promoter polymorphisms in Russian rheumatoid arthritis patients / Y.B.Leonova, **E.V.Zonova**, V.I.Konenkov, M.A.Korolev, O.V.Golovanova, N.A.Khalaydzhii // Ann Rheum Dis.- 2009.-№68(Suppl3).-P.735.
62. Can immunogenetic factors be used to predict development sexually acquired reactive arthritis in patients with urogenital infection? / M.A.Korolev, **E.V.Zonova**, O.V.Golovanova, A.V.Shevchenko, E.A.Letyagina, V.I.Konenkov // Ann Rheum Dis.- 2009.-№68(Suppl3).-P.683.

ЗОНОВА

Елена Владимировна

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛИНИКО-
ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ
КРИТЕРИЕВ ПРОГНОЗА КЛИНИЧЕСКОГО
ПОЛИМОРФИЗМА И ТЕРАПИИ РЕВМАТОИДНОГО
АРТРИТА**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук