

Исследование полиморфизмов генов-кандидатов иммунного ответа как маркеров риска развития ревматоидного артрита и продукции аутоантител

Гусева И.А.¹, Демидова Н.В.¹, Сорока Н.Е.², Лучихина Е.Л.¹,
Новиков А.А.¹, Александрова Е.Н.¹, Лукина Г.В.¹, Федоренко Е.В.¹,
Аронова Е.С.¹, Самаркина Е.Ю.¹, Трофимов Д.Ю.², Каратеев Д.Е.¹, Насонов Е.Л.^{1,3}

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия; ²ЗАО «Научно-производственная фирма ДНК-Технология»; ³ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия
¹115522 Москва, Каширское шоссе, 34А;
²109383 Москва, ул. Гурьянова, 83, корп. 1; ³119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

¹V.A. Nasonova
Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia; ²ЗАО «DNA Technology Research-and-Production Firm»; Moscow, Russia;
³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
¹34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522; ²83, Guryanov St., Build. 1, Moscow 109383; ³8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

Контакты: Ирина Анатольевна Гусева;
irrgus@yandex.ru

Contact: Irina Guseva;
irrgus@yandex.ru

Поступила 10.07.15

Цель исследования — изучить распределение генотипов и аллелей генов *PTPN22*, *TNFAIP3*, *CTLA4*, *TNFA*, *IL6*, *IL6R*, *IL10*, *MCPI*, *ICAM1* у больных ревматоидным артритом (РА) и в контрольной группе здоровых лиц и оценить их значимость в качестве молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к развитию РА. Проанализировать корреляцию включенных в исследование полиморфизмов генов с продукцией антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и IgM ревматоидного фактора (РФ).

Материал и методы. Исследование проведено в рамках программы «Ранний артрит: диагностика, исход, критерии, активное лечение (РАДИКАЛ)». В проспективное наблюдение включены 122 пациента с достоверным диагнозом РА согласно критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) 1987 г., с длительностью заболевания ≤2 лет, причем 73 (59,8%) пациента взяты под наблюдение в первые 6 мес после появления признаков заболевания. Позитивность по АЦЦП и IgM РФ выявлена у 74 (60,7%) и 81 (66,5%) пациентов соответственно. Контролем служили 314 здоровых доноров крови. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени у больных и лиц контрольной группы изучено распределение полиморфных вариантов генов *PTPN22* (+1858 С >Т, rs2476601), *TNFAIP3* (rs675520, rs6920220, rs10499194), *CTLA4* (+49А >G, rs231775), *TNFA* (-308А >G, rs1800629), *IL6* (-174G >C, rs1800795), *IL6R* (+358А >C, rs18192284), *IL10* (-592А >C, rs1800872, -1082 А >G, rs1800896), *MCPI/CCL2* (+2518А >G, rs1024611), *ICAM1* (721G >А, rs1799969).

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ выявил ассоциативную связь полиморфизмов генов *PTPN22* (+1858 С >Т, rs2476601) и *TNFAIP3* (rs675520, rs10499194) с риском развития РА: отношение шансов (ОШ) 1,5; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,0–2,3, p=0,05; ОШ=1,5 (95% ДИ 1,1–2,0), p=0,02; ОШ=0,5 (95% ДИ 0,4–0,8), p=0,01, соответственно. Кроме того, была выявлена тенденция к положительной ассоциативной связи полиморфизма rs6920220 гена *TNFAIP3* и полиморфизма rs18192284 гена *IL6R* с предрасположенностью к развитию РА (p=0,056). Полиморфизмы генов *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), *ICAM1* (rs1799969) не были ассоциированы с риском развития РА. Анализ данных после стратификации больных по АЦЦП- и РФ-статусу (бинарная переменная) показал, что ни один из изученных полиморфизмов не был ассоциирован со статусом по РФ. В то же время для полиморфизмов rs2476601 гена *PTPN22*, rs675520 гена *TNFAIP3*, rs10499194 гена *TNFAIP3* и rs1800629 гена *TNFA* была выявлена статистически достоверная ассоциативная взаимосвязь со статусом по АЦЦП (бинарная переменная). Уровень АЦЦП как количественная переменная был статистически значимо ассоциирован с полиморфизмами генов *CTLA4* (rs231775), *TNFA* (rs1800629) в дозозависимой манере (p=0,025 и p=0,015 соответственно). Была выявлена выраженная тенденция к взаимосвязи уровня АЦЦП и полиморфизма гена *IL6R* (p=0,07). Полиморфизмы генов *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), *ICAM1* (rs1799969) не коррелировали со статусом по АЦЦП (бинарная и количественная переменные).

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о вкладе ряда генов в патогенез РА в целом как нозологической единицы, а также об их участии в развитии двух субтипов РА: АЦЦП-позитивного и АЦЦП-негативного. Взаимосвязь продукции IgM РФ с полиморфизмами изученных генов не была выявлена. Полученные данные свидетельствуют, по-видимому, о различных механизмах образования аутоантител (АЦЦП и IgM РФ) при РА.

Ключевые слова: ранний ревматоидный артрит; полиморфизмы генов; однонуклеотидный полиморфизм; антитела к циклическому цитруллинированному пептиду; ревматоидный фактор.

Для ссылки: Гусева ИА, Демидова НВ, Сорока НЕ и др. Исследование полиморфизмов генов-кандидатов иммунного ответа как маркеров риска развития ревматоидного артрита и продукции аутоантител. Научно-практическая ревматология. 2016;54(1):21–30.

INVESTIGATION OF CANDIDATE GENE POLYMORPHISMS IN AN IMMUNE RESPONSE AS MARKERS FOR THE RISK OF DEVELOPING RHEUMATOID ARTHRITIS AND PRODUCING AUTOANTIBODIES

Guseva I.A.¹, Demidova N.V.¹, Soroka N.E.², Luchikhina E.L.¹, Novikov A.A.¹, Aleksandrova E.N.¹, Lukina G.V.¹, Fedorenko E.V.¹, Aronova E.S.¹, Samarkina E.Yu.¹, Trofimov D.Yu.², Karateev D.E.¹, Nasonov E.L.^{1,3}

Objective: to investigate the distribution of the genotypes and alleles of the *PTPN22*, *TNFAIP3*, *CTLA4*, *TNFA*, *IL6*, *IL6R*, *IL10*, *MCPI*, and *ICAM1* genes in patients with rheumatoid arthritis (RA) and in the control group of healthy individuals, to estimate their significance as molecular genetic markers for predisposition to RA; and to analyze the correlation between the gene polymorphisms included in the study and the production of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (ACCPA) and IgM rheumatoid factor (RF).

Subjects and methods. The investigation was conducted within the framework of the «Early arthritis: Diagnosis, outcome, criteria, active treatment program». The prospective follow-up study included 122 patients with RA fulfilling the 1987 American College of Rheumatology (ACR) criteria; with disease duration of ≤ 2 years. 73 (59.8%) patients were included during the first 6 months after the onset of the disease. 74 (60.7%) and 81 (66.5%) patients were found to be

positive for ACCPA and IgM RF, respectively. 314 healthy blood donors served as a control group. A real-time polymerase chain reaction was used in the patients and control individuals to study the distribution of the polymorphic variants of *PTPN22* (+1858 C>T, rs2476601), *TNFAIP3* (rs675520, rs6920220, rs10499194), *CTLA4* (+49A>G, rs231775), *TNFA* (-308A>G, rs1800629), *IL6* (-174G>C, rs1800795), *IL6R* (+358A>C, rs8192284), *IL10* (-592A>C, rs1800872, -1082 A>G, rs1800896), *MCPI/CCL2* (+2518A>G, rs1024611), and *ICAM1* (721G>A, rs1799969) genes.

Results and discussion. This analysis revealed an association of *PTPN22* (+1858 C>T, rs2476601) and *TNFAIP3* (rs675520, rs10499194) polymorphisms with the risk of RA (odds ratio (OR), 1.5; 95% confidence interval (CI), 1.0–2.3; $p = 0.05$; OR, 1.5; 95% CI, 1.1–2.0; $p = 0.02$; OR, 0.5; 95% CI, 0.4–0.8; $p = 0.01$, respectively). Further, there was a tendency towards a positive association of *TNFAIP3* (rs6920220) and *IL6R* (rs8192284) polymorphisms with a predisposition to RA ($p = 0.056$). *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), and *ICAM1* (rs1799969) polymorphisms were not associated with the risk of RA. An analysis of the findings after patient stratification by ACCPA and IgM RF (a binary variable) showed that none of the polymorphisms in question was associated with RF state. At the same time, *PTPN22* (rs2476601), *TNFAIP3* (rs675520), *TNFAIP3* (rs10499194), and *TNFA* (rs1800629) polymorphisms were found to be significantly related to ACCPA state (a binary variable). The level of ACCPA as a quantitative variable was statistically significantly associated with *CTLA4* (rs231775) and *TNFA* (rs1800629) polymorphisms in a dose-dependent fashion ($p = 0.025$ and $p = 0.015$, respectively). There was a marked tendency towards an association of ACCPA levels and *IL6R* gene polymorphism ($p = 0.07$). *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), and *ICAM1* (rs1799969) polymorphisms were not correlated with ACCPA state (binary and quantitative variables).

Conclusion. The findings suggest that a number of genes are implicated in the pathogenesis of RA and that they are involved in the development of ACCPA-positive and ACCPA-negative RA subtypes. No relationship was found between the production of IgM RF and the polymorphisms of the genes under study. The findings suggest that there appears to be different mechanisms for the formation of autoantibodies (ACCPA and IgM RF) in RA.

Keywords: early rheumatoid arthritis; gene polymorphisms; single-nucleotide polymorphism; anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, rheumatoid factor.

For reference: Guseva IA, Demidova NV, Soroka NE, et al. Investigation of candidate gene polymorphisms in an immune response as markers for the risk of developing rheumatoid arthritis and producing autoantibodies. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2016;54(1):21–30 (In Russ.).

doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2016-21-30>

Ревматоидный артрит (РА) — комплексное хроническое аутоиммунное заболевание, поражающее приблизительно 0,5–1% населения во всем мире. РА характеризуется воспалением, прогрессивным деструктивным поражением суставов, сопровождающимся артралгиями и функциональной недостаточностью [1]. Выявление предикторов течения заболевания на ранних стадиях, знание механизмов его развития являются базой для оптимального терапевтического воздействия на специфические мишени имеющимися лекарственными средствами и разработки в будущем новых терапевтических препаратов [2].

Этиология РА остается во многом неясной, однако он относится к большой группе мультифакторных заболеваний, при которых клинический фенотип чрезвычайно полиморфен и является результатом взаимодействия полигенной составляющей и факторов внешней среды. Почти 20 лет назад С.В. Weyand и соавт. [3] предположили, что такой выраженный клинический полиморфизм может быть ассоциирован с генетической гетерогенностью. В настоящее время РА подразделяют на два подтипа болезни на основании наличия или отсутствия антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), причем получены доказательства детерминации двух субтипов РА генетическими факторами [4, 5].

Для идентификации генов/локусов чувствительности к заболеванию используют три основные стратегии: анализ ассоциаций генов-кандидатов, анализ сцепления в семьях и, с 2007 г., полногеномное исследование ассоциаций (GWAS — genome wide association studies), причем последняя стратегия оказалась наиболее плодотворной. Действительно, за 30 лет многочисленных исследований, начиная с 1978 г., когда была выявлена ассоциативная связь РА с антигенами *HLA-DR*, и до 2007 г. было выявлено еще лишь 4 гена, ассоциированных с РА: *PTPN22* и *CTLA4* — у лиц белой расы [6, 7], *PADI4* и *FCRL3* — у японцев [8, 9]. Результаты исследований по выявлению сцепления или ассоциативной связи РА с другими локусами генома человека, полученные в разных работах, носили противоречивый характер, что могло быть связано

с расхождениями по типу исследований и анализа, включением больных с разными формами болезни, различной длительностью заболевания, недостаточной мощностью исследования и т. д.

Проведенные за рубежом GWAS на материале десятков тысяч больных РА и здоровых лиц выявили десятки генных локусов предрасположенности к развитию РА, каждый из которых имеет незначительный эффект в общем риске заболевания (за исключением локуса *HLA-DRB1*, вклад которого составляет 30–40%) [GWAS catalogue, <http://www.genome.gov/GWASStudies>]. Среди выявленных в GWAS генов/локусов наиболее выраженная ассоциативная связь, кроме локуса *HLA-DRB1*, выявлена для генов *PTPN22* и *TNFAIP3*, функциональные полиморфизмы которых мы включили в наше исследование. Также выбраны для молекулярно-генетического тестирования полиморфизмы генов, кодирующих синтез ключевых белков иммунновоспалительных процессов. Характеристика включенных в исследование генов и их функция представлены в табл. 1.

Цель нашего исследования заключалась в изучении распределения аллелей и генотипов генов *PTPN22*, *TNFAIP3*, *CTLA4*, *TNFA*, *IL6*, *IL6R*, *IL10*, *MCPI*, *ICAM1* у больных РА и в контрольной группе здоровых лиц и оценке их значимости в качестве молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к развитию РА. Также проанализирована корреляция включенных в исследование полиморфизмов генов с продукцией АЦЦП и IgM ревматоидного фактора (РФ).

Материал и методы

Исследование проведено в рамках программы «Ранний Артрит: Диагностика, Исход, Критерии, Активное Лечение (РАДИКАЛ)». В проспективное наблюдение включены 122 пациента с достоверным диагнозом РА согласно критериям ACR 1987 г., с длительностью заболевания ≤ 2 лет. К моменту включения в исследование пациенты не получали базисные противовоспалительные препараты и глюкокортикоиды.

Таблица 1 Характеристика исследуемых генов и их функция

Ген/локализация на хромосоме	Название гена (англо- и русскоязычное)	SNP rs number*	Полиморфизм	Функция молекул
<i>PTPN22</i> /1p13.2	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type, 22; белок тирозин-фосфатаза, нерецепторный тип, 22	rs2476601	+1858 C>T	Белок лимфоид-специфическая фосфатаза (lymphoid-specific phosphatase – Lyp) экспрессируется на Т- и В-лимфоцитах, моноцитах, нейтрофилах, дендритных клетках и натуральных (естественных) клетках-киллерах и опосредует негативную регуляцию Т-клеточного сигнального пути
<i>TNFAIP3</i> /6q23.3	Tumor necrosis factor-alpha-induced protein 3; протеин 3, индуцированный ФНО α	rs675520 rs6920220 rs10499194	Интрон T>C A>G T>C	Белок A20 (протеин 3) – негативный регулятор NF- κ B сигнального пути, контролирующего процесс транскрипции провоспалительных цитокинов
<i>CTLA-4</i> /2q33.2	Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4	rs231775	+49A>G	Белок на клеточной мембране Т-клеток, который негативно регулирует костимулирующий процесс между антиген-презентирующими клетками и Т-клетками
<i>TNFA</i> /6q21.33	Tumor necrosis factor alfa; ФНО α	rs1800629	-308A>G	Цитокин с провоспалительной активностью, один из главных активаторов канонического NF- κ B-сигнального пути
<i>IL6</i> /7p21	Interleukin 6; ИЛ6	rs1800795	-174G>C	Плейотропный цитокин с про- и противовоспалительной активностью
<i>IL6R</i> /1q21.3	Interleukin-6 receptor; рецептор для ИЛ6	rs8192284	+358A>C	Рецептор-альфа для цитокина ИЛ6
<i>IL10</i> /1q31-q32	Interleukin 10; ИЛ10	rs 1800872 rs 1800896	-592A>C -1082 A>G	Цитокин с противовоспалительной активностью
<i>MCP1</i> /17q12	Monocyte chemotactic protein 1; моноцитарный хемоаттрактантный белок 1	rs1024611	-2518 A>G	Белок, рекрутирующий моноциты, дендритные клетки и Т-клетки памяти к месту воспаления
<i>ICAM</i> /19p13.2	Intercellular adhesion molecule 1; молекула межклеточной адгезии 1	rs1799969	721G>A	Гликопротеин – медиатор воспаления, обеспечивает адгезию иммунных клеток к сосудистому эндотелию с последующей их миграцией в очаг воспаления

Примечание. * – reference SNP ID number (rs) – идентификационный номер искомого SNP в базе данных NCBI (National Center for Biotechnology information). ФНО α – фактор некроза опухоли α , ИЛ – интерлейкин.

Контролем служили 314 здоровых доноров крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных.

Подавляющее большинство больных и здоровых лиц проживали в Москве и Московской области и идентифицировали себя как русских.

Определение концентрации АЦЦП проводилось иммуноферментным методом с использованием коммерческого набора фирмы Axis-Shield Diagnostic Ltd. (Великобритания) согласно инструкции фирмы-производителя, верхняя граница нормы (ВГН) – 5 Ед/мл. Больные с уровнем продукции АЦЦП >5 Ед/мл были отнесены в группу АЦЦП-позитивных лиц, с уровнем продукции $\leq$ 5 Ед/мл – в группу АЦЦП-негативных.

Определение IgM РФ проводилось методом иммунонефелометрии на автоматическом анализаторе BN-100 (Dade Behring, Германия), ВГН – 15 МЕ/л. Больные с уровнем продукции IgM РФ >15 МЕ/л были отнесены в группу РФ-позитивных лиц, с уровнем продукции $\leq$ 15 МЕ/л – в группу РФ-негативных лиц.

Геномная ДНК была выделена методом солевой экстракции с использованием натрия хлорида.

У больных и лиц контрольной группы изучено распределение полиморфных вариантов генов *PTPN22* (+1858 C>T, rs2476601), *TNFAIP3* (rs675520, rs6920220, rs10499194), *CTLA4* (+49A>G, rs231775), *TNFA* (-308A>G, rs1800629), *IL6* (-174G>C, rs1800795), *IL6R* (+358A>C, rs8192284), *IL10* (-592A>C, rs1800872, -1082 A>G, rs1800896), *MCP1/CCL2* (+2518A>G, rs1024611), *ICAM1* (721G>A, rs1799969).

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ, PCR-RT) в различных модификациях с использованием оригинальных сиквенса-специфических праймеров и проб, меченных различными флюоресцент-

ными метками (НПФ «ДНК-Технология», Россия), автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов проводились на отечественном инновационном детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология», Россия) [10]. При проверке работоспособности созданных тест-систем в качестве референсного метода определения генотипа образцов использовали автоматическое секвенирование ДНК по Сэнгеру с применением секвенатора ABI PRISM®310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Статистический анализ проводился с использованием версии 17.0 статистической программы SPSS и версии 7 программы Epi Info. Различия в распределении аллелей и генотипов между группами и подгруппами оценивали по величине критерия независимости χ^2 . Для оценки меры риска развития болезни вычисляли показатель отношение шансов (ОШ; odds ratio) с подсчетом 95% доверительных интервалов (ДИ; Confidence Intervals, CI). Продукция аутоантител при статистической обработке результатов рассматривалась либо как бинарная переменная (позитивность и негативность), либо как непрерывная количественная переменная с асимметричным распределением вариаций. Взаимосвязь бинарных переменных продукции аутоантител с полиморфизмами генов оценивали в логистическом регрессионном анализе. Учитывая ненормальное распределение значений уровней АЦЦП и РФ, данные были представлены как медиана и межквартильный размах (Ме [25-й; 75-й перцентили]). Для сравнения двух независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни, при сравнении трех и более независимых выборок – критерий Краскела–Уоллеса. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты

Обследовано 122 пациента (21 мужчина, 101 женщина). Возраст больных варьировал от 18 до 72 лет и в среднем составил $48,9 \pm 13,4$ года. Средняя продолжительность заболевания на момент включения в исследование составляла $7,5 \pm 6,1$ мес (от 1,5 до 24 мес), причем 73 (59,8%) пациента взяты под наблюдение в первые 6 мес после появления признаков заболевания. Позитивность по АЦЦП

и IgM РФ выявлена у 74 (60,7%) и 81 (66,5%) пациентов соответственно.

Ассоциация полиморфизмов генов с риском развития ревматоидного артрита. Распределение генотипов и аллелей включенных в исследование полиморфных вариантов генов в группе больных РРА и контрольной группе представлено в табл. 2. Выявлена ассоциативная связь полиморфизмов генов *PTPN22* (+1858C >T, rs2476601)

Таблица 2 Частоты генотипов и аллелей включенных в исследование полиморфных вариантов генов в группе больных ранним РА в целом, стратифицированной по АЦЦП-статусу, а также контрольной группе

Генотипы и аллели	Контроль, n (%)	РРА, n (%)	РРА АЦЦП+, n (%)	РРА АЦЦП-, n (%)	ОШ (95% ДИ) РРА vs контроль	ОШ (95% ДИ) РРА (АЦЦП+) vs контроль	ОШ (95% ДИ) РРА(АЦЦП-) vs контроль	РРА (АЦЦП+) vs РРА (АЦЦП-)
<i>PTPN22</i> rs2476601	n=314	n=122	n=74	n=48				
C/C	246 (78,3)	87 (71,3)	51 (68,9)	36 (75,0)	p=0,1	p=0,04	p=0,6	p=0,6
C/T	64 (20,3)	30 (24,6)	19 (25,7)	11 (22,9)				
T/T	4 (1,4)	5 (4,1)	4 (5,4)	1 (2,1)				
	2n=628	2n=244	2n=148	2n=96				
C	556 (88,5)	204 (83,6)	121 (81,8)	83 (86,5)	1,5 (1,0-2,3) p=0,05	1,7 (1,1-2,8) p=0,03	p=0,6	p=0,4
T	72 (11,5)	40 (19,4)	27 (18,2)	13 (13,5)				
<i>TNFAIP3</i> rs675520	n=308	n=122	n=74	n=48				
G/G	75 (24,3)	20 (16,4)	13 (17,5)	7 (14,6)	p=0,04	p=0,2	p=0,06	p=0,7
G/A	162 (52,6)	61 (50,0)	38 (51,4)	23 (47,9)				
A/A	71 (23,1)	41 (33,6)	23 (31,1)	18 (37,5)				
	2n=616	2n=244	2n=148	2n=96				
G	312 (50,6)	101 (41,4)	64 (43,2)	37 (38,5)	1,5 (1,1-2,0) p=0,02	1,3 (0,9-2,0) p=0,1	1,6 (1,1-2,5) p=0,03	p=0,5
A	304 (49,4)	143 (58,6)	84 (56,8)	59 (61,5)				
<i>TNFAIP3</i> rs6920220	n=309	n=122	n=74	n=48				
G/G	209 (67,6)	74 (60,7)	43 (58,1)	31 (64,6)	p=0,4	p=0,2	p=0,9	p=0,6
G/A	86 (27,9)	40 (32,8)	25 (33,8)	15 (31,3)				
A/A	14 (4,5)	8 (6,5)	6 (8,1)	2 (4,1)				
	2n=618	2n=244	2n=148	2n=96				
G	504 (81,6)	188 (77,0)	111 (75,0)	77 (80,2)	1,3 (0,9-1,9) p=0,1	1,4 (0,9-2,3) p=0,07	1,1 (0,6-1,9) p=0,7	p=0,4
A	114 (18,4)	56 (23,0)	37 (25,0)	19 (19,8)				
<i>TNFAIP3</i> rs10499194	n=309	n=122	n=74	n=48				
C/C	150 (48,5)	77 (63,1)	46 (62,2)	31 (64,6)	p=0,03	p=0,1	p=0,08	p=0,3
C/T	128 (41,5)	39 (32,0)	26 (35,1)	13 (27,1)				
T/T	31 (10,0)	6 (4,9)	2 (2,7)	4 (8,3)				
	2n=618	2n=244	2n=148	2n=96				
C	428 (69,3)	193 (79,1)	118 (79,7)	75 (78,1)	0,6 (0,4-0,8) p=0,004	0,6 (0,4-0,9) p=0,01	0,6 (0,4-1,1) p=0,07	p=0,4
T	190 (30,7)	51 (20,9)	30 (20,3)	21 (21,9)				
<i>CTLA4</i> rs231775	n=301	n=122	n=74	n=48				
A/A	105 (34,9)	40 (32,8)	20 (27,1)	20 (41,7)	p=0,3	p=0,2	p=0,1	p=0,2
A/G	143 (47,5)	66 (54,1)	41 (58,6)	25 (52,1)				
G/G	53 (17,8)	16 (13,1)	13 (14,3)	3 (6,2)				
	2n=602	2n=244	2n=148	2n=96				
A	353 (58,6)	146 (59,6)	81 (54,7)	65 (67,7)	0,9 (0,7-1,3) p=0,7	1,2 (0,8-1,7) p=0,3	0,6 (0,4-1,1) p=0,09	p=0,04
G	249 (41,4)	98 (40,2)	67 (45,3)	31 (32,3)				
<i>TNFA</i> rs1800629	n=301	n=122	n=74	n=48				
G/G	220 (73,1)	89 (73,0)	55 (74,3)	34 (70,8)	p=0,5	p=0,7	p=0,03	p=0,09
G/A	78 (25,9)	30 (24,6)	19 (25,7)	11 (22,9)				
A/A	3 (1,0)	3 (2,5)	0	3 (6,3)				
	n=602	2n=244	2n=148	2n=96				
G	518 (86,0)	208 (85,2)	129 (87,2)	79 (82,3)	p=0,7	p=0,7	p=0,3	p=0,2
A	84 (14,0)	36 (14,8)	19 (12,8)	17 (17,7)				

Генотипы и аллели	Контроль, n (%)	РРА, n (%)	РРА АЦЦП+, n (%)	РРА АЦЦП-, n (%)	ОШ (95%ДИ) РРА vs контроль	ОШ (95%ДИ) РРА (АЦЦП+) vs контроль	ОШ (95%ДИ) РРА(АЦЦП-) vs контроль	РРА (АЦЦП+) vs РРА (АЦЦП-)
IL6	n=301	n=122	n=74	n=48				
rs1800795								
G/G	85 (28,3)	40 (32,8)	23 (31,1)	17 (35,4)	p=0,9	p=0,6	p=0,4	p=0,4
G/C	162 (53,8)	62 (50,8)	41 (55,4)	21 (43,8)				
C/C	54 (17,9)	20 (16,4)	10 (13,5)	10 (20,8)				
	n=602	2n=244	2n=148	2n=96				
G	332 (55,1)	142 (58,2)	87 (58,9)	55 (57,3)	p=0,4	p=0,4	p=0,7	p=0,8
C	270 (44,9)	102 (41,8)	61 (41,2)	41 (42,7)				
IL6R	n=187	n=122	n=74	n=48				
rs8192284								
A/A	89 (47,7)	45 (36,9)	26 (35,1)	19 (39,5)	p=0,056	p=0,06	p=0,2	p=0,7
A/C	65 (34,8)	59 (48,4)	36 (48,6)	23 (48,0)				
C/C	33 (17,5)	18 (14,8)	12 (16,3)	6 (12,5)				
	2n=374	2n=244	2n=148	2n=96				
A	243 (65,0)	149 (61,1)	88 (59,5)	61 (63,5)	p=0,3	p=0,2	p=0,7	p=0,5
C	131 (35,0)	95 (38,9)	60 (40,5)	35 (36,5)				
IL10	n=301	n=122	n=74	n=48				
rs1800872								
C/C	178 (59,1)	69 (56,6)	41 (55,4)	28 (58,3)	p=0,7	p=0,7	p=0,9	p=0,8
C/A	109 (36,2)	49 (40,2)	30 (40,5)	19 (39,6)				
A/A	14 (4,7)	4 (3,3)	3 (4,1)	1 (2,1)				
	2n=602	2n=244	2n=148	2n=96				
C	465 (77,2)	187 (76,6)	112 (75,7)	75 (78,1)	p=0,8	p=0,8	p=0,8	p=0,7
A	137 (22,8)	57 (23,4)	36 (24,3)	21 (21,9)				
IL10	n=300	n=122	n=74	n=48				
rs1800896								
A/A	94 (31,3)	37 (30,3)	21 (28,3)	16 (33,3)	p=0,3	p=0,5	p=0,5	p=0,8
G/A	153 (51,0)	69 (56,6)	42 (56,8)	27 (56,3)				
G/G	53 (17,7)	16 (13,1)	11 (14,9)	5 (10,4)				
	2n=600	2n=244	2n=148	2n=96				
G	341 (56,8)	143 (58,6)	84 (56,8)	59 (61,5)	p=0,5	p=0,8	p=0,4	p=0,6
A	259 (43,2)	101 (41,4)	64 (43,2)	37 (38,5)				
MCP1	n=207	n=122	n=74	n=48				
rs1024611								
A/A	112 (54,1)	66 (54,1)	41 (55,4)	25 (52,1)	p=0,9	p=1,0	p=0,8	p=0,8
A/G	78 (37,7)	47 (38,5)	27 (36,5)	20 (41,7)				
G/G	17 (8,2)	9 (7,4)	6 (8,1)	3 (6,2)				
	2n=414	2n=244	2n=148	2n=96				
A	302 (72,9)	179 (73,4)	109 (73,6)	70 (72,9)	p=0,9	p=0,9	p=1,0	p=0,9
G	112 (27,1)	65 (26,6)	39 (26,3)	26 (27,1)				
ICAM1	n=184	n=122	n=74	n=48				
rs1799969								
G/G	133 (72,3)	83 (68,0)	52 (70,3)	31 (64,6)	p=0,5	p=0,3	p=0,5	p=0,6
G/A	50 (27,2)	37 (30,3)	20 (27,0)	17 (35,4)				
A/A	1 (0,5)	2 (1,6)	2 (2,7)	0				
	2n=374	2n=244	2n=148	2n=96				
G	316 (85,7)	203 (83,2)	124 (83,8)	79 (82,3)	p=0,4	p=0,5	p=0,4	p=0,9
A	52 (14,1)	41 (16,8)	24 (16,2)	17 (17,7)				

Примечание. РРА – ранний РА; n – число исследованных лиц, 2n – число хромосом у исследованных лиц.

и *TNFAIP3* (rs675520, rs10499194) с чувствительностью к развитию РА.

Риск развития РА у носителей гомозиготного генотипа ТТ гена *PTPN22* был в 3,3 раза выше по сравнению с носителями генотипов СС и СТ, хотя различия не достигали статистически значимого уровня [ОШ=3,3 (95% ДИ 0,9–12,5); p=0,1]. Аллель Т значительно чаще встречалась в группе больных РА, чем в контроле [ОШ=1,5 (95% ДИ 1,0–2,3); p=0,05].

Полиморфизм rs675520 гена *TNFAIP3* был статистически значимо ассоциирован с риском развития РА. Генотип АА и аллель А статистически достоверно чаще встречались в группе РА, чем в контрольной группе [ОШ=1,7 (95%

ДИ 1,1–2,7); p=0,04 и ОШ=1,5 (95% ДИ 1,1–2,0); p=0,02 соответственно]. Напротив, полиморфизм rs10499194 гена *TNFAIP3* был ассоциирован со сниженным риском развития РА. Носители хотя бы одной мутантной аллели Т (генотипы С/Т и ТТ) статистически значимо реже выявлялись среди больных РА (36,9%), чем в контрольной группе (51,5%) [ОШ=0,5 (95% ДИ 0,4–0,8); p=0,01]. Аллель Т с еще более высоким уровнем статистической значимости была ассоциирована со сниженным риском развития РА [ОШ=0,6 (95% ДИ 0,4–0,8); p=0,004].

Кроме того, была выявлена тенденция к положительной ассоциативной связи полиморфизма rs6920220 гена

TNFAIP3 и полиморфизма rs8192284 гена *IL6R* с предрасположенностью к развитию РА.

Полиморфизмы генов *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), *ICAM1* (rs1799969) не были ассоциированы с риском развития РА.

Ассоциация полиморфизмов генов с продукцией аутоантител у больных ревматоидным артритом. Все больные были стратифицированы по АЦЦП- и РФ-статусу (бинарная переменная; см. табл. 2).

Проведенный анализ показал, что ни один из изученных полиморфизмов не был ассоциирован с серопозитивностью по РФ.

В то же время для полиморфизмов rs2476601 гена *PTPN22*, rs675520 гена *TNFAIP3*, rs10499194 гена *TNFAIP3* и rs1800629 гена *TNFA* была выявлена статистически достоверная ассоциативная взаимосвязь со статусом по АЦЦП. Так, полиморфизмы rs2476601 гена *PTPN22* и rs10499194 гена *TNFAIP3* были ассоциированы с АЦЦП-позитивным РА, а полиморфизмы rs675520 гена *TNFAIP3* и rs1800629 гена *TNFA* — с АЦЦП-негативным РА. Для полиморфизмов rs6920220 гена *TNFAIP3* и rs8192284 гена *IL6R* была выявлена выраженная тенденция к ассоциативной взаимосвязи с риском развития АЦЦП-позитивного РА.

Кроме того, было выявлено выраженное статистически значимое различие в распределении аллелей А и G гена *CTLA4* в подгруппах АЦЦП-позитивных и АЦЦП-негативных пациентов ($p=0,04$). Самый высокий уровень АЦЦП был выявлен у 16 носителей гомозиготного мутантного генотипа GG (100,0 [19,1; 100,0] Ед/мл), более низкие значения — у 66 носителей генотипа AG (32,6 [0,5; 100,0] Ед/мл) и самые низкие значения — у 40 носителей гомозиготного генотипа «дикого» типа AA (2,9 [0,4; 97,5] Ед/мл; $p=0,025$; см. рисунок, а).

Носители гомозиготного «мутантного» генотипа AA гена *TNFA* достоверно чаще выявлялись в группе АЦЦП-негативного, чем АЦЦП-позитивного РА ($p=0,03$). Влияние генотипов на АЦЦП носило дозозависимый эффект: самый высокий уровень АЦЦП был выявлен у 89 носителей гомозиготного генотипа «дикого» типа GG (35,7 [1,0; 100,0] Ед/мл), более низкие значения — у 30 носителей генотипа GA (16,4 [0,4; 100,0] Ед/мл) и самые низкие значения — у трех носителей гомозиготного «мутантного» генотипа AA (0,1 Ед/мл; $p=0,015$; см. рисунок, б).

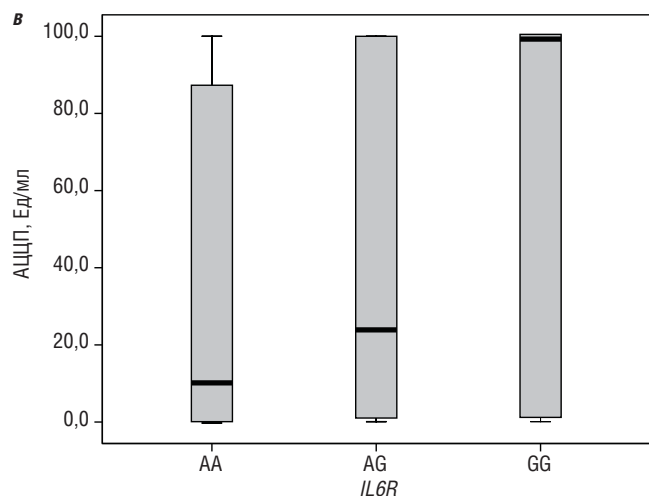
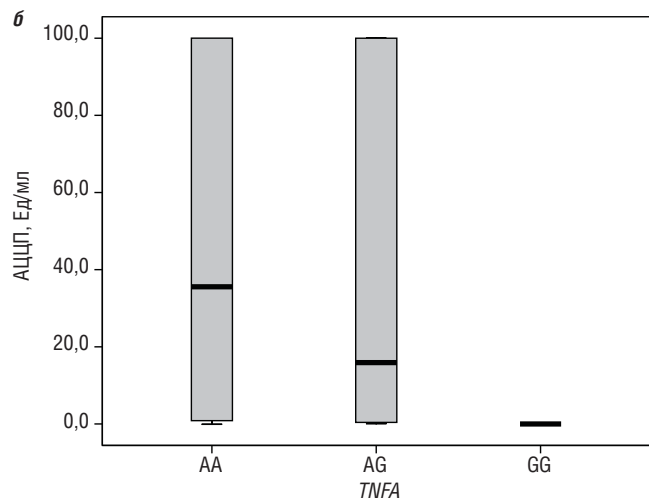
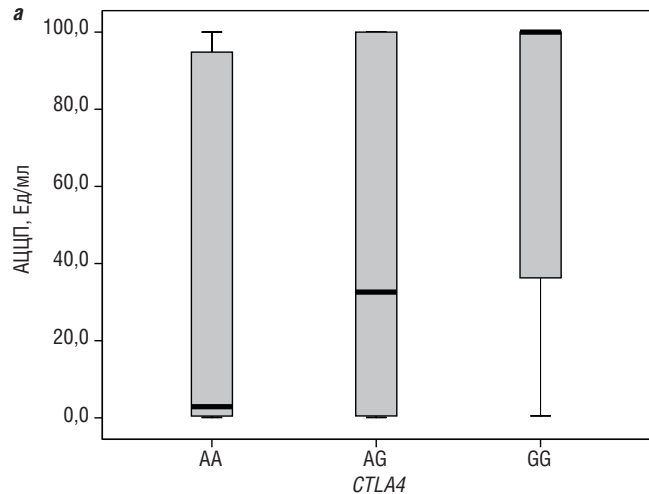
Была выявлена выраженная тенденция к взаимосвязи уровня АЦЦП и полиморфизма гена *IL6R*: у 18 носителей гомозиготного «мутантного» генотипа CC был выявлен самый высокий уровень АЦЦП (98,8 [1,1; 100,0] Ед/мл), у носителей генотипов AA и AC — более низкие значения (10,5 [0,3; 100,0] и 23,9 [1,1; 100,0] Ед/мл, соответственно; $p=0,07$; см. рисунок, в).

Полиморфизмы генов *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800896), *MCPI/CCL2* (rs1024611), *ICAM1* (rs1799969) не коррелировали со статусом по АЦЦП (бинарная и количественная переменные).

Обсуждение

В рамках проблемы изучения генома человека особое место занимают вопросы идентификации генов, принимающих участие в формировании подверженности мультифакторным заболеваниям.

Для изучения молекулярно-генетических аспектов патогенеза РА мы использовали классический подход тестирования генов-кандидатов, участвующих в процессах запуска иммунных/аутоиммунных Т- и В-звеньев иммунитета (*PTPN22*, *CTLA4*), а также генов, кодирующих синтез ключевых белков, детерминирующих иммуновоспалительные процессы (*TNFAIP3*, *TNFA*, *IL6*, *IL6R*, *IL10*,



Зависимость уровней АЦЦП, Ед/мл (Ме [25-й; 75-й перцентили]) от полиморфизмов генов: а) *CTLA4*; б) *TNFA*; в) *IL6R*

MCPI/CCL2, ICAM1). В нашем исследовании также проверена гипотеза о наличии двух субтипов РА (АЦЦП-позитивный и АЦЦП-негативный), детерминируемых генетическими факторами.

Анализ распределения аллелей включенных в исследование генов в группе больных РРА в целом и в контрольной группе выявил полиморфизмы генов *PTPN22* (rs2476601) и *TNFAIP3* (rs675520, rs10499194), ассоциированные с чувствительностью к развитию РА.

Полиморфизм гена *PTPN22* (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22) 1858C>T является вторым по значимости генетическим маркером, помимо региона HLA, который ассоциирован и сцеплен с РА в большинстве этнических и популяционных групп (белое население Америки, голландцы, канадцы, англичане, немцы, финны, норвежцы, французы, испанцы, итальянцы и др.) [6, 7, 11–20]. Величина риска развития РА у носителей хотя бы одной аллели Т (генотипы ТТ и СТ) колеблется от 1,06 до 2,47 с тенденцией к повышению величины ОШ с юга на север, однако этот показатель также зависит от исследуемой когорты пациентов (длительность заболевания на момент включения в исследование, семейные случаи РА и т. д.). Так, в российской популяции при наличии аллели Т риск развития РА у больных с недавним началом был в 1,5 раза выше, чем в контрольной группе здоровых доноров крови, а в семьях с повторными случаями заболевания «аллель риска» Т повышала предрасположенность к РА в 3,4 раза (данные не опубликованы).

Метаанализ, в котором была исследована значимость гена *PTPN22* в качестве маркера чувствительности к РА, позволил подтвердить ассоциативную связь минорного аллеля Т с заболеванием в различных этнических и популяционных группах, причем такая взаимосвязь была выявлена также для других аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка, болезнь Грейвса, сахарный диабет 1-го типа и ювенильный идиопатический артрит [21–23].

Ген *PTPN22* картируется на хромосоме 1p13.3-p13.1 и кодирует 110-kD белок лимфоид-специфическую фосфатазу (lymphoid-specific phosphatase – Lyp), который экспрессируется на Т- и В-лимфоцитах, моноцитах, нейтрофилах, дендритных клетках и натуральных (естественных) клетках-киллерах. Лур соединяется с СНЗ-доменом киназы Csk, являющейся важнейшим супрессором киназ, которые, в свою очередь, опосредуют Т-клеточную активацию. Способность Лур и Csk ингибировать Т-клеточно-рецепторный сигнальный путь требует их физического взаимодействия. Полиморфизм 1858C>T обуславливает замену аминокислоты аргинина (R) в позиции 620 на триптофан (W), что ведет к повышению фосфатазной активности Лур. В экспериментах *in vitro* было показано, что протеин Лур Т-клеток, кодируемый аллелью Т, менее эффективно связывается с Csk по сравнению с белком, детерминируемым аллелью С, что может обуславливать гиперфункционирование Т-клеток у носителей аллели Т в связи нарушением (подавлением) фазы супрессии Т-клеточного сигнального пути. Это может приводить к предрасположенности к аутоиммунитету [24, 25]. Недавние экспериментальные исследования подтвердили потенциальную роль минорной аллели Т в развитии аутоиммунной патологии, в частности РА [26–28].

К настоящему времени установлено, что в гене *PTPN22* лишь один полиморфизм 1858C>T (или R620W,

или rs2476601) ассоциирован с РА [29–31], в то время как незначительная ассоциативная связь других трех полиморфизмов, выявленная V. Carlton и соавт. [32], обусловлена неравновесным сцеплением с известным функциональным полиморфизмом.

Ген *TNFAIP3* также был ассоциирован с развитием РА. Мы включили в наше исследование три полиморфных варианта этого гена (rs675520, rs6920220, rs10499194), как наиболее информативные и валидированные в большом числе исследований. Как и в подавляющем большинстве исследований, ассоциативная взаимосвязь с полиморфизмами имеет разнонаправленный вектор: минорные аллели полиморфизмов rs675520 и rs6920220 – положительно, а rs10499194 – отрицательно ассоциированы с РА. Необходимо отметить, что в GWAS и других крупномасштабных исследованиях пик ассоциативной связи приходится на межгенный регион хромосомы 6q23, между генами *OLIG3* и *TNFAIP3* (известен также как A20) [33–37]. Данный участок хромосомы не содержит последовательностей, кодирующих какие-либо известные к настоящему времени белки.

Ген *OLIG3* (Oligodendrocyte lineage transcription factor 3) играет важную роль в развитии и дифференцировке нервных клеток, поэтому он не вписывается (по крайней мере, в настоящее время) в предполагаемую патогенетическую систему межгенных сетей при РА. В то же время ген *TNFAIP3* является весьма привлекательным в качестве гена-кандидата чувствительности и/или гена-модификатора течения РА. Продукт этого гена, протеин A20, является негативным регулятором активности плейотропного транскрипционного фактора NF-κB в ответ на сигнальное воздействие ФНОα, Toll-подобного рецептора и др. [38–40]. У мышей с нокаутированным геном *tnfaip3* развивалось тяжелое мультиорганное воспаление, в том числе синовиальных суставов [41]. У мышей специфическая абляция гена *tnfaip3* из миелоидных клеток приводила к развитию тяжелого полиартрита, подобного РА у человека [42]. Недавно на этой же мышиной модели также было показано, что белок A20 является негативным регулятором Nlrp3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3) инфламмасомной активации [43]. В последние годы выявлено, что система NLRP3 играет значительную роль в патогенезе иммуновоспалительных, в том числе аутовоспалительных, заболеваний человека [44–46].

Ген *TNFAIP3* ассоциирован не только с РА, но и с другими иммуновоспалительными и аутоиммунными заболеваниями, а также с различными лимфомами, что свидетельствует о значительном вкладе этого гена в общие механизмы развития разных заболеваний [47–54].

Несмотря на проведенные исследования по изучению взаимосвязи полиморфизмов с их функциональными свойствами, получены противоречивые данные [55, 56]; следовательно, важный аспект молекулярно-генетических исследований остается нерешенным и требует дальнейших научно-методических разработок.

Важно отметить, что полиморфизм гена *TNFAIP3* или уровень экспрессии этого гена ассоциированы с лечением метотрексатом [57] или генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП) [58–61].

Особого внимания заслуживает обнаружение в нашем исследовании тенденции к взаимосвязи РА с полиморфизмом rs8192284 гена *IL6R* как в группе больных в целом, так и в группе АЦЦП-позитивных больных.

По данным литературы, аллель «дикого» типа С ассоциирована с протективным эффектом [62], особенно в группе АЦЦП-позитивных больных [63]. Этот полиморфизм коррелирует с уровнем сыровоточного рецептора ИЛ6 и ассоциирован со сниженным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [64, 65]. В нашем исследовании не было обнаружено выраженной негативной ассоциации РРА с минорной аллелью С и гомозиготным генотипом СС, но в наших предыдущих исследованиях [59, 60] у больных с высокой воспалительной активностью, леченных тоцилизумабом и ритуксимабом, частоты генотипа СС были существенно снижены по сравнению с контролем (9,3; 1,5 и 17,5% соответственно). Следовательно, можно предположить, что полиморфизм rs8192284 гена *IL6R* может служить генетическим маркером прогноза течения заболевания, а именно — генотип СС может детерминировать течение заболевания с низкой воспалительной активностью и сниженным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний. В то же время, забегая вперед, необходимо отметить, что в настоящем исследовании у больных с «благоприятным» генотипом СС был выявлен самый высокий уровень АЦЦП по сравнению с носителями генотипов АА и АС. Таким образом, полученные нами данные и данные литературы дают материал для дальнейшего углубленного изучения серологических и генетических маркеров для прогноза течения РА и ответа на проводимую терапию.

Второй этап нашего исследования был посвящен изучению взаимосвязи полиморфизмов изученных генов со статусом по АЦЦП и IgM РФ.

Проведенный анализ не выявил ни одной статистически достоверной ассоциации полиморфизмов генов со статусом по IgM РФ как бинарной переменной.

В то же время для полиморфизмов rs2476601 гена *PTPN22*, rs675520 гена *TNFAIP3*, rs10499194 гена *TNFAIP3* и rs1800629 гена *TNFA* была выявлена статистически достоверная ассоциативная взаимосвязь с продукцией АЦЦП, что подтверждает даже на нашем небольшом по численности материале больных гипотезу о генетической детерминированности двух субтипов РА: АЦЦП-позитивного и АЦЦП-негативного [4, 66]. Корреляция полиморфизмов генов *PTPN22*, *TNFAIP3* с позитивностью по АЦЦП подтверждена во многих исследованиях. Однако найденная нами ассоциативная связь полиморфизма rs1800629 гена *TNFA* со статусом по АЦЦП, а именно — выявленная высокая частота «мутантного», «неблагоприятного» (высокий уровень ФНОα) генотипа АА только у АЦЦП-негативных больных была неожиданной. В доступных литературных источниках информация по данному вопросу отсутствует. Если действительно у больных с ранним РА генотип «дикого», «благоприятного» генотипа GG детерминирует, с одной стороны, самый высокий уровень АЦЦП (по нашим данным), а с другой — низкий уровень ФНОα (по данным литературы), и, напротив, мутантный «неблагоприятный» генотип АА ассоциирован с самым низким уровнем АЦЦП

(по нашим данным) и, наоборот, с высокой концентрацией ФНОα (по данным литературы), то это может быть одной из причин неоднозначности результатов фармакогенетических и фармакопротеомных исследований при терапии ГИБП, в частности, ингибиторами ФНОα.

Также интересные, на наш взгляд, данные были получены по взаимосвязи полиморфизма гена *CTLA4* с уровнем АЦЦП: самый высокий уровень аутоантител был выявлен, как и в случае с геном *IL6R*, у носителей мутантного «неблагоприятного» генотипа.

Проведенное исследование, по нашему мнению, имеет ряд достоинств. Во-первых, тестирование функциональных полиморфизмов генов выполнено на материале больных с ранним РА. Следовательно, мы имеем «базовую» молекулярно-генетическую характеристику РА, которая послужит в дальнейшем для сравнения с таковой выборки больных, характеризующихся либо высокой активностью заболевания, либо быстрым прогрессированием суставного процесса и т. д. Во-вторых, проспективный характер нашего исследования с 4-летней констатацией клинических, лабораторных и рентгенологических параметров позволит проследить эволюционирование болезни в различные формы. Перечисленные подходы к анализу данных позволяют выделить генетические маркеры — предикторы заболевания, а возможно, и сделать первые шаги к персонализированному подходу при подборе или прогнозировании исходов терапии.

В то же время недостатком нашего исследования является небольшая по численности выборка больных РА. Однако проведенный анализ показал, что даже такая незначительная по объему выборка больных оказалась достаточной для обнаружения ассоциативных взаимосвязей между заболеванием и уже выявленными в других исследованиях значимыми функциональными полиморфизмами генов.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о значимом вкладе ряда генов в патогенез РА в целом как нозологической единицы, а также об их участии в развитии двух субтипов РА: АЦЦП-позитивного и АЦЦП-негативного. Взаимосвязь продукции IgM РФ с полиморфизмами изученных генов не была выявлена. Полученные данные свидетельствуют, по-видимому, о различных механизмах образования аутоантител (АЦЦП и IgM РФ) при РА.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов ЕЛ, Насонова ВА, редакторы. Ревматология: Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008 [Nasonov EL, Nasonova VA, editors. *Revmatologiya: Natsional'noe rukovodstvo* [Rheumatology: National guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008].
- Насонов ЕЛ, Гусева ИА, Александрова ЕН. Проблемы персонализированной терапии ревматоидного артрита генно-инженерными биологическими препаратами. В кн.: Насонов ЕЛ, редактор. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Москва: ИМА-

- ПРЕСС; 2013. С. 489-509 [Nasonov EL, Guseva IA, Aleksandrova EN. Problems of personalized therapy of rheumatoid arthritis with genetically engineered biological agents. In.: Nasonov EL, editor. *Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita* [Genetically engineered biological agents in the treatment of rheumatoid arthritis]. Moscow: IMA-PRESS; 2013. P. 489-509].
3. Weyand CM, Klimiuk PA, Goronzy JJ. Heterogeneity of rheumatoid arthritis : from phenotypes to genotypes. *Springer Semin Immunopathol.* 1998;20:5-22. doi: 10.1007/BF00831996
 4. Van der Helm-van Mil AH, Huizinga TW. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(2):205. doi: 10.1186/ar2384
 5. Padyukov L, Seielstad M, Ong RT, et al. A genome-wide association study suggests contrasting associations in ACPA-positive versus ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(2):259-65. doi: 10.1136/ard.2009.126821
 6. Begovich A, Carlton VE, Honigberg LA, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2004;75:330-7. doi: 10.1086/422827
 7. Plenge RM, Padyukov L, Remmers EF, et al. Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in >4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4. *Am J Hum Genet.* 2005;77(6):1044-60. doi: 10.1086/498651
 8. Barton A, Bowes J, Eyre S, et al. A functional haplotype of the PADI4 gene associated with rheumatoid arthritis in a Japanese population is not associated in a United Kingdom population. *Arthritis Rheum.* 2004;50(4):1117-21. doi: 10.1002/art.20169
 9. Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, et al. A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nat Genet.* 2005;37(5):478-85. doi: 10.1038/ng1540
 10. Кюфиади ИА, Ребриков ДВ. Методы детекции однонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфическая ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой. *Генетика.* 2006;42:22-32 [Kofidi IA, Rebrikov DV. Methods of detection of single nucleotide polymorphisms: allele-specific PCR and hybridization with the oligonucleotide probe. *Genetika.* 2006;42:22-32 (In Russ.)].
 11. Van Oene M, Wintle RF, Liu X, et al. Association of the lymphoid tyrosine phosphatase R620W variant with rheumatoid arthritis, but not with Crohn's disease, in Canadian populations. *Arthritis Rheum.* 2005;52:1993-8. doi: 10.1002/art.21123
 12. Wesely J, van der Helm-van Mil AH, Toes RE, et al. Association of the PTPN22 C1858T single-nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis phenotypes in an inception cohort. *Arthritis Rheum.* 2005;52:2948-50. doi: 10.1002/art.21294
 13. Dieude P, Garnier S, Michou L, et al. Rheumatoid arthritis seropositive for the rheumatoid factor is linked to the protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22-620W allele. *Arthritis Res Ther.* 2005;7:R1200-7. doi: 10.1186/ar1812
 14. Orozco G, Sanchez E, Gonzalez-Gay MA, et al. Association of a functional single-nucleotide polymorphism of PTPN22, encoding lymphoid protein phosphatase, with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;52:219-24. doi: 10.1002/art.20771
 15. Simkins HM, Merriman ME, Highton J, et al. Association of the PTPN22 locus with rheumatoid arthritis in a New Zealand Caucasian cohort. *Arthritis Rheum.* 2005;52(7):2222-5. doi: 10.1002/art.21126
 16. Seldin MF, Shigeta R, Laiho K, et al. Finnish case-control and family studies support PTPN22 R620W polymorphism as a risk factor in rheumatoid arthritis, but suggest only minimal or no effect in juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun.* 2005;6:720-2. doi: 10.1038/sj.gene.6364255
 17. Hinks A, Barton A, John S, et al. Association between the PTPN22 gene and rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis in a UK population: furthers support that PTPN22 is an autoimmunity gene. *Arthritis Rheum.* 2005;52:1694-9. doi: 10.1002/art.21049
 18. Steer S, Lad B, Grumley JA, et al. Association of R602W in a protein tyrosine phosphatase gene with a high risk of rheumatoid arthritis in a British population: evidence for an early onset/disease severity effect. *Arthritis Rheum.* 2005;52:358-60. doi: 10.1002/art.20737
 19. Harrison P, Pointon JJ, Farrar C, et al. Effects of PTPN22 C1858T polymorphism on susceptibility and clinical characteristics of British Caucasian rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(8):1009-11. doi: 10.1093/rheumatology/kei250
 20. Pierer M, Kaltenhauser S, Arnold S, et al. Association of PTPN22 1858 single nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis in a German cohort: higher frequency of the risk allele in male compared to female patients. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R75. doi: 10.1186/ar1945
 21. Totaro MC, Tolusso B, Napolioni V, et al. PTPN22 1858C>T polymorphism distribution in Europe and association with rheumatoid arthritis: case-control study and meta-analysis. *PLoS One.* 2011;6(9):e24292. doi: 10.1371/journal.pone.0024292
 22. Lee YH, Bae SC, Choi SJ, et al. The association between the PTPN22 C1858T polymorphism and rheumatoid arthritis: a meta-analysis update. *Mol Biol Rep.* 2012;39(4):3453-60. doi: 10.1007/s11033-011-1117-3
 23. Lee YH, Rho YH, Choi SJ, et al. The PTPN22 C1858T functional polymorphism and autoimmune diseases – a meta-analysis. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(1):49-56. doi: 10.1093/rheumatology/kei170
 24. Vang T, Congia M, Macis MD, et al. Autoimmune-associated lymphoid tyrosine phosphatase is a gain-of-function variant. *Nat Genet.* 2005;37:1317-19. doi: 10.1038/ng1673
 25. Yu X, Sun JP, He Y, et al. Structure, inhibitor, and regulatory mechanism of Lyp, a lymphoid-specific tyrosine phosphatase implicated in autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(50):19767-72.
 26. Menard L, Saadoun D, Isnardi I, et al. The PTPN22 allele encoding an R620W variant interferes with the removal of developing autoreactive B cells in humans. *J Clin Invest.* 2011;121(9):3635-44. doi: 10.1172/JCI45790
 27. Ronninger M, Guo Y, Shchetynsky K, et al. The balance of expression of PTPN22 splice forms is significantly different in rheumatoid arthritis patients compared with controls. *Genome Med.* 2012;4(1):2. doi: 10.1186/gm301
 28. Chang HH, Tai TS, Lu B, et al. PTPN22.6, a dominant negative isoform of PTPN22 and potential biomarker of rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2012;7(3):e33067. doi: 10.1371/journal.pone.0033067
 29. Hinks A, Eyre S, Barton A, et al. Investigation of genetic variation across the protein tyrosine phosphatase gene in patients with rheumatoid arthritis in the UK. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(5):683-6. doi: 10.1136/ard.2006.060459
 30. Wan Taib WR, Smyth DJ, Merriman ME, et al. The PTPN22 locus and rheumatoid arthritis: no evidence for an effect on risk independent of Arg620Trp. *PLoS One.* 2010;5(10):e13544. doi: 10.1371/journal.pone.0013544
 31. Martin JE, Alizadeh BZ, Gonzalez-Gay MA, et al. Evidence for PTPN22 R620W polymorphism as the sole common risk variant for rheumatoid arthritis in the 1p13.2 region. *J Rheumatol.* 2011;38(1):2290-6. doi: 10.3899/jrheum.110361
 32. Carlton VE, Hu X, Chokkalingam AP, et al. PTPN22 genetic variation: evidence for multiple variants associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2005;77:567-81. doi: 10.1086/468189
 33. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007;447(7145):661-78. doi: 10.1038/nature05911

34. Plenge RM, Cotsapas C, Davies L, et al. Two independent alleles at 6q23 associated with risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2007;39(12):1477-82. doi: 10.1038/ng.2007.27
35. Thomson W, Barton A, Ke X, et al. Rheumatoid arthritis association at 6q23. *Nat Genet.* 2007 Dec;39(12):1431-3. doi: 10.1038/ng.2007.32
36. Orozco G, Hinks A, Eyre S, et al. Combined effects of three independent SNPs greatly increase the risk estimate for RA at 6q23. *Hum Mol Genet.* 2009;18(14):2693-9. doi: 10.1093/hmg/ddp193
37. Dieguez-Gonzalez R, Calaza M, Perez-Pampin E, et al. Analysis of TNFAIP3, a feedback inhibitor of nuclear factor-kappaB and the neighbor intergenic 6q23 region in rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(2):R42. doi: 10.1186/ar2650
38. Li L, Hailey DW, Soetandyo N, et al. Localization of A20 to a lysosome-associated compartment and its role in NF- κ B signaling. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1783:1140-9. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.01.029
39. Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. The ubiquitin-editing enzyme A20 (TNFAIP3) is a central regulator of immunopathology. *Trends Immunol.* 2009;30:383-91. doi: 10.1016/j.it.2009.05.007
40. Van Loo G, Beyaert R. Negative regulation of NF- κ B and its involvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R221. doi: 10.1186/ar3324
41. Lee EG, Boone DL, Chai S, et al. Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science.* 2000;289(5488):2350-4. doi: 10.1126/science.289.5488.2350
42. Matmati M, Jacques P, Maelfait J, et al. A20 (TNFAIP3) deficiency in myeloid cells triggers erosive polyarthritis resembling rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2011;43(9):908-12. doi: 10.1038/ng.874
43. Vande Walle L, van Opdenbosch N, Jacques P, et al. Negative regulation of the NLRP3 inflammasome by A20 protects against arthritis. *Nature.* 2014;512(7512):69-73. doi: 10.1038/nature13322
44. Bakele M, Joos M, Burdi S, et al. Localization and functionality of the inflammasome in neutrophils. *J Biol Chem.* 2014;289(8):5320-9. doi: 10.1074/jbc.M113.505636
45. Sode J, Vogel U, Bank S, et al. Anti-TNF treatment response in rheumatoid arthritis patients is associated with genetic variation in the NLRP3-inflammasome. *PLoS One.* 2014;9(6):e100361. doi: 10.1371/journal.pone.0100361
46. Wang T, Zhu CL, Wang S, et al. Role of NLRP3 and NLRP1 inflammasomes signaling pathways in pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Asian Pac J Trop Med.* 2014;7(10):827-31. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60145-0
47. Maxwell JR, Gowers IR, Wilson AG. Complex genetic association of 6q23 with autoimmune rheumatic conditions. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(2):107. doi: 10.1186/ar2663
48. Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. Genetic relationships between A20/TNFAIP3, chronic inflammation and autoimmune disease. *Biochem Soc Trans.* 2011;39:1086-91. doi: 10.1042/BST0391086
49. Musone SL, Taylor KE, Nititham J, et al. Sequencing of TNFAIP3 and association of variants with multiple autoimmune diseases. *Genes Immun.* 2011 Apr;12(3):176-82. doi: 10.1038/gene.2010.64
50. Nomoto J, Hiramoto N, Kato M, et al. Deletion of the TNFAIP3/A20 gene detected by FICTION analysis in classical Hodgkin lymphoma. *BMC Cancer.* 2012;12:457. doi: 10.1186/1471-2407-12-457
51. Zhang J, Grubor V, Love CL, et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(4):1398-403. doi: 10.1073/pnas.1205299110
52. Ando M, Sato Y, Takata K, et al. A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas. *PLoS One.* 2013;8(2):e56741. doi: 10.1371/journal.pone.0056741
53. Nocturne G, Boudaoud S, Miceli-Richard C, et al. Germline and somatic genetic variations of TNFAIP3 in lymphoma complicating primary Sjogren's syndrome. *Blood.* 2013 Dec 12;122(25):4068-76. doi: 10.1182/blood-2013-05-503383
54. Wang X, Xu Y, Liang L, et al. Abnormal expression of A20 and its regulated genes in peripheral blood from patients with lymphomas. *Cancer Cell Int.* 2014;14:36. doi: 10.1186/1475-2867-14-36
55. Boonyasrisawat W, Eberle D, Bacci S, et al. Tag polymorphisms at the A20 (TNFAIP3) locus are associated with lower gene expression and increased risk of coronary artery disease in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2007;56(2):499-505. doi: 10.2337/db06-0946
56. Elsbey LM, Orozco G, Denton J, et al. Functional evaluation of TNFAIP3 (A20) in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28:708-14.
57. Plant D, Farragher T, Flynn E, et al. A genetic marker at the OLIG3/TNFAIP3 locus associates with methotrexate continuation in early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register. *Pharmacogenomics J.* 2012;12:128-33. doi: 10.1038/tpj.2010.80
58. Guseva IA, Soroka NE, Panasyuk EY, et al. The influence of the genetic polymorphisms on the response to treatment of active rheumatoid arthritis with tocilizumab. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(Suppl 3):465.
59. Guseva I, Soroka N, Devyataykina A. TNFAIP3 rs675520 variant may predict response to rituximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(Suppl 3):669. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-eular.538
60. Гусева ИА, Панасюк ЕЮ, Сорока НЕ и др. Ассоциативная взаимосвязь генетических маркеров с эффективностью лечения ревматоидного артрита тоцилизумабом. Научно-практическая ревматология. 2013;51(4):377-82 [Guseva IA, Panasyuk EY, Soroka NE, et al. Association of genetic markers with the efficiency of tocilizumab treatment for rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2013;51(4):377-82 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1247
61. Koczan D, Drynda S, Hecker M, et al. Molecular discrimination of responders and nonresponders to anti-TNF alpha therapy in rheumatoid arthritis by etanercept. *Arthritis Res Ther.* 2008;10:R50. doi: 10.1186/ar2419
62. Marinou I, Walters K, Winfield J, et al. A gain of function polymorphism in the interleukin 6 receptor influences RA susceptibility. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(6):1191-4. doi: 10.1136/ard.2008.100644
63. Eyre S, Bowes J, Diogo D, et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2012;44(12):1336-40. doi: 10.1038/ng.2462
64. Hingorani AD, Casas JP. Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet.* 2012;379(9822):1214-24. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60110-X
65. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF. IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet.* 2012;379(9822):1205-13. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61931-4
66. Kurreeman F, Liao K, Chibnik L, et al. Genetic basis of autoantibody positive and negative rheumatoid arthritis risk in a multi-ethnic cohort derived from electronic health records. *Am J Hum Genet.* 2011;88(1):57-69. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.12.007