

РАСШИРЕННЫЕ ГАПЛОТИПЫ НА ОСНОВЕ РЕДКИХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ *TNFA* И *HLA DRB1* В АССОЦИИ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Сташкевич Д.С.¹, Хромова Е.Б.¹, Девальд И.В.^{1,2}, Ходус Е.А.³,
Бурмистрова А.Л.¹

¹ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

³ Клиника профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) является мультифакторным сложно-наследуемым заболеванием, в основе генетического компонента которого лежат межгенные взаимодействия, приводящие к формированию генных сетей, и актуальным направлением изучения полигенной природы РА является оценка взаимодействий «ген – ген».

Среди возможных генетических факторов, способствующих развитию заболевания, основополагающая роль принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости, а именно HLA II класса. К другой группе рассматриваемых в литературе генетических факторов восприимчивости или устойчивости к РА относят полиморфные варианты генов цитокинов. Одним из возможных генов кандидатов, обеспечивающих восприимчивость к данной патологии и вклад в иммунопатогенез, по литературным данным, является ген *TNFA*. Особое расположение данного гена позволяет предположить формирование расширенных гаплотипов *TNFA – HLA*.

Исходя из вышеизложенного данной работе был проведен анализ особенностей распределения двухлокусных гаплотипов SNPs *TNFA – HLA DRB1* в ассоциации с ревматоидным артритом в популяции русских Челябинской области.

В исследовании использовались следующие методы: выделение образцов ДНК из цельной крови, проведение генотипирования исследуемых полиморфизмов генов с помощью ПЦР, ПДРФ с электрофоретической детекцией. Расчет частот двухлокусных гаплотипов, образованных SNPs в точках *-1031T/C*, *-863C/A* промоторной области гена *TNFA*, расширенных гаплотипов *TNFA – HLA DRB1* проводился с использованием EM-алгоритма и оценки неравновесного сцепления (D' ; χ^2 ; p) с помощью программы Arlequin ver. 3.5. Сравнение двух выборок с целью поиска ассоциации с предрасположенностью к РА проводилось с использованием стандартных иммуногенетических критериев. Значимость различий при $p \leq 0,05$.

Анализ данных показал, что двухлокусные гаплотипы *-1031T/C* и *-863C/A TNFA* не ассоциированы с предрасположенностью к ревматоидному артритом в популяции русских.

Установлены гаплотипы, ассоциированные с предрасположенностью к ревматоидному артритом: *TNFA -863*a – HLA DRB1*03*, *TNFA -1031*t – HLA DRB1*04*, *TNFA -1031*t – HLA DRB1*04*.

Адрес для переписки:

Сташкевич Дарья Сергеевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454021, Россия, г. Челябинск, ул. Молдавская, 25, кв. 15.
Тел.: 8 (351) 799-71-54.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Address for correspondence:

Stashkevich Daria S.
Chelyabinsk State University
454021, Russian Federation, Chelyabinsk,
Moldavskaya str., 25, apt 15.
Phone: 7 (351) 799-71-54.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Образец цитирования:

Д.С. Сташкевич, Е.Б. Хромова, И.В. Девальд, Е.А. Ходус, А.Л. Бурмистрова «Расширенные гаплотипы на основе редких однонуклеотидных полиморфизмов *TNFA* и *HLA DRB1* в ассоциации с ревматоидным артритом» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 555-562.
doi: 10.46235/1028-7221-1053-EHB
© Сташкевич Д.С. и соавт., 2021

For citation:

D.S. Stashkevich, E.B. Khromova, I.V. Devald, E.A. Khodus, A.L. Burmistrova "Extended haplotypes based on rare single nucleotide polymorphisms of *TNFA* and *HLA DRB1* associated with rheumatoid arthritis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 555-562.
doi: 10.46235/1028-7221-1053-EHB
DOI: 10.46235/1028-7221-1053-EHB

В исследовании выявлены следующие гаплотипы-протекторы: *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15; *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11.

Таким образом, наше исследование показывает, что кроме отдельных генных семейств HLA II класса в предрасположенность/устойчивость к ревматоидному артриту вносят вклад гаплотипические сочетания редких однонуклеотидных полиморфизмов в точках -1031, -863 C/A гена *TNFA* и *HLA DRB1*.

Ключевые слова: гаплотипы, неравновесное сцепление, однонуклеотидные полиморфизмы, HLA, TNFA, ревматоидный артрит

EXTENDED HAPLOTYPES BASED ON RARE SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF *TNFA* AND *HLA DRB1* ASSOCIATED WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Stashkevich D.S.^a, Khromova E.B.^a, Devald I.V.^{a, b}, Khodus E.A.^c,
Burmistrova A.L.^a

^a Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Professor Kinzersky Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a multifactorial disease, with genetic component based on intergenic interactions leading to the formation of gene networks. The current trend in RA immunogenetic studies is to assess the gene-to-gene interactions. Among possible genetic factors contributing to RA development, the genes of main histocompatibility complex (HLA class II) play a fundamental role. *TNFA* gene is among possible candidate genes providing susceptibility to this disorder and contributing to its immune pathogenesis. The special location of this gene suggests arrangement of extended *TNFA* – *HLA* haplotypes. This work analyzed the distribution features of two-locus SNP haplotypes (*TNFA* and *HLA DRB1*) for their association with rheumatoid arthritis in Russians. The following methods were used: DNA isolation, PCR-based genotyping, RFLP analysis with electrophoretic detection. Calculation of two-locus haplotypes frequencies and linkage disequilibrium (D' ; χ^2 ; p) was carried out using the EM algorithm in the Arlequin ver 3.5 program. Comparison of paired samples was carried out using standard immunogenetic criteria. The significance level was < 0.05 . Analysis of the data showed that the two-locus haplotypes -1031T/C and -863C/A *TNFA* were not associated with predisposal for rheumatoid arthritis in Russian population sample. The haplotypes associated with predisposition for RA were *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04. Meanwhile, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15; *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11 proved to be protective haplotypes. Our study showed that, in addition to individual HLA II alleles, the predisposal or resistance to rheumatoid arthritis may be promoted by haplotypes of rare SNPs at positions -1031, -863 C/A of *TNFA* gene, and *HLA DRB1*.

Keywords: haplotypes, linkage disequilibrium, HLA, TNFA, rheumatoid arthritis

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740013.

Введение

В свете литературных данных хорошо известно, что ревматоидный артрит (РА) является иммуновоспалительным (аутоиммунным) ревматическим заболеванием, характеризующимся тяжелым про-

грессирующим поражением суставов и внутренних органов, его развитие определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды и генетической предрасположенности, ведущих к глобальным нарушениям в системе гуморального и клеточного иммунитета [2]. Ключевую роль в иммунопатогенезе играют биологически активные молекулы – цитокины, способствующие индукции и генерализации воспаления [8, 10]. Данные многочисленных ис-

следований, проводимых на протяжении большого количества времени, позволяют предположить, что ключевым цитокином, определяющим активность воспалительного процесса, является фактор некроза опухолей α (TNF α) [9, 10]. Согласно литературным данным, TNF α повышает продукцию белков острой фазы воспаления, является хемоаттрактаном макрофагов и клеток Лангерганса, стимулятором ангиогенеза, потенциальным активатором моноцитов, а также фагоцитоза и продукции свободных радикалов. TNF α может выступать и как паракринный индуктор для синтеза других провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-8 и GM-CSF, матриксных металлопротеиназ и коллагеназы – основных эффекторов деградации хряща при данной патологии [2, 9, 10].

В связи с тем, что ревматоидный артрит является мультифакторным сложно-наследуемым заболеванием, в основе генетического компонента которого лежат межгенные взаимодействия, приводящие к формированию генных сетей, то актуальным направлением изучения полигенной природы РА является оценка взаимодействий «ген – ген» [1]. Среди возможных генетических факторов, способствующих развитию заболевания, основополагающая роль принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости, а именно HLA II класса. Система HLA представляет собой мультигенное семейство, включающее около 230 локусов. Гены HLA располагаются на 6-й хромосоме и делятся на регионы I, II и III классов [8]. По современным представлениям, система HLA обеспечивает регуляцию иммунного ответа за счет взаимодействия всех иммунокомпетентных клеток организма, распознавание своих и чужеродных, в том числе измененных собственных, клеток, запуск и реализацию иммунного ответа [1, 8].

Однако гены HLA обеспечивают только часть общего генетического риска, примерно у 25% больных не обнаружено генов предрасположенности к РА в пределах главного комплекса гистосовместимости [1, 7].

К другой группе рассматриваемых в литературе генетических факторов восприимчивости или устойчивости к РА относят полиморфные варианты генов цитокинов. Одним из возможных генов кандидатов, обеспечивающих восприимчивость к данной патологии и вклад в иммунопатогенез, по литературным данным, является ген TNFA [1, 2, 3, 8, 9, 10].

Ген фактора некроза опухолей α (TNFA) локализован в третьем классе генов главного комплекса гистосовместимости между локусами HLA-B и HLA-DR [1, 2, 3]. Такое расположение

«внутри» блока, для которого доказано наличие неравновесного сцепления, позволяет предположить формирование расширенных гаплотипов TNFA – HLA.

Анализ литературных данных, посвященных генетической составляющей ревматоидного артрита, показал, что большая часть работ включает только монолокусный анализ отдельных генов-кандидатов. Кроме того, обращает внимание тот факт, что при оценке вклада полиморфных сайтов гена TNFA и генных семейств HLA II класса различные исследования показывают спорные данные, что, вероятно, связано с наличием межэтнических различий. В более ранних наших исследованиях были установлены HLA-биомаркеры ассоциированные с предрасположенностью к ревматоидному артриту: в популяции русских аллельные варианты гена HLA DRB1*04: 0401, 0404, 0408 [4], в популяции башкир – HLA DRB1*04 и HLA DRB1*01 [3], аллели TNFA [3].

Цель исследования – анализ особенностей распределения двухлокусных гаплотипов SNPs TNFA – HLA DRB1 в ассоциации с ревматоидным артритом в популяции русских Челябинской области.

Задачи исследования:

1. Оценка параметров неравновесного сцепления и частот гаплотипов, образованных SNPs в точках -1031T/C, -863C/A промоторной области гена TNFA в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции.

2. Определение параметров неравновесного сцепления и частот гаплотипов, образованных SNPs в точках -1031T/C, -863C/A и генных семейств HLA DRB1 в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции.

Материалы и методы

Работа относится к ретроспективному типу исследований «Случай – контроль». В качестве контрольной группы (132 человека: мужчин – 73, женщин – 59, средний возраст – 34,6±0,75 лет) использовали популяционную выборку, сформированную случайным образом на основе ДНК-банка потенциальных доноров костного мозга ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», проживающих в г. Челябинске и Челябинской области. Популяционная принадлежность определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного Симпозиума в 1980 г., Лос-Анджелес, США). Выборка больных ревматоидным артритом составлялась ведущими ревматологами города Челябинска вне зависимости от возраста и клинического вариан-

та РА: (98 человек: мужчин – 17, женщин – 81, средний возраст – $51,7 \pm 1,3$ лет).

Выделение тотальной ДНК из мононуклеаров венозной крови проводили с использованием реагентов Protrans DNA Box 500 (Германия) согласно инструкции производителя. Исследование полиморфизма генов *HLA* II класса проводилось методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction, PCR-SSP) с использованием наборов Protrans [13]. Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов промоторной области гена *TNFA* осуществлялось методом ПДРФ (PCR-RFLP-анализ). Детекция результатов – горизонтальный электрофорез в 8% полиакриамидном и 3% агарозном гелях [3].

Статистическая обработка

Расчет частот двухлокусных гаплотипов образованных SNPs в точках *-1031T/C*, *-863C/A* промоторной области гена *TNFA* и расширенных гаплотипов *TNFA – HLA DRB1* с использованием EM-алгоритма и расчет неравновесного сцепления (D' ; χ^2 ; r) проводился с помощью программы Arlequin ver 3.5. [5]. Сравнение двух выборок с целью поиска ассоциации с предрасположенностью к РА проводилось с использованием следующих критериев: Критерий Пирсона (χ^2), Критерий χ^2 с поправкой Йетса, точный двусторонний критерий Фишера, критерий отношения шансов с 95%-ным доверительным интервалом. Значимость различий при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Работа состояла из двух этапов. На первом этапе была проведена оценка параметров сцепления и частот двухлокусных гаплотипов, образованных аллельными вариантами SNPs *-1031*, *-863 TNFA*. Расчет параметров неравновесного сцепления показал, что однонуклеотидные полиморфизмы в точках *-1031T/C* и *-863C/A* характеризуются высокой степенью неравновесного сцепления, а именно предковые формы аллелей *-1031*T* и *-863*C* сцеплены друг с другом и аллели с заменами *-1031*C* и *-863*A* наследуются сцепленно (параметры сцепления $D' = 0,86$; $\chi^2 = 132,8$; $p < 0,001$). В результате формируются двухлокусные гаплотипы, частоты которых не различались в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции. Для обеих групп характерна высокая частота гаплотипа, содержащего предковые формы аллелей. Анализ данных показал, что двухлокусные гаплотипы *-1031T/C* и *-863C/A TNFA* не ассоциированы с предрасположенностью к ревматоидному артриту в популяции русских. Результаты представлены в таблице 1.

На втором этапе были определены частоты двухлокусных гаплотипов SNPs *TNFA – HLA DRB1* (данные представлены в таблице 2).

В группе условно здоровых лиц русской популяции установлено четыре двухлокусных гаплотипа SNPs *-863 TNFA* и *HLA DRB1*, частоты встречаемости которых и параметры сцепления представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ДВУХЛОКУСНЫХ ГАПЛОТИПОВ, ОБРАЗОВАННЫХ АЛЛЕЛЬНЫМИ ВАРИАНТАМИ SNPs *-863C/A* И *-1031 T/C TNFA*, В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 1. FREQUENCY OF TWO-LOCUS SNPs *-863C/A* AND *-1031 T/C TNFA* HAPLOTYPES IN GROUPS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND HEALTHY INDIVIDUALS OF THE RUSSIAN POPULATION

Гаплотип <i>-863C/A -1031 T/C</i> Haplotype <i>-863C/A -1031 T/C</i>	Группа больных РА, частота гаплотипа Group of RA patients, haplotype frequency (Hf), %	Контрольная группа, частота гаплотипа Control group, haplotype frequency (Hf), %	Уровень значимости, p Level of significance, p
<i>-863*c -1031*t</i>	77,6	79,9	0,8
<i>-863*a -1031*c</i>	16,8	15,0	0,5
<i>-863*a -1031*t</i>	2,0	4,0	0,7
<i>-863*c -1031*c</i>	4,0	1,0	0,9

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ И ПАРАМЕТРЫ НЕРАВНОВЕСНОГО СЦЕПЛЕНИЯ ДВУХЛОКУСНЫХ ГАПЛОТИПОВ TNFA -863C/A – HLA DRB1, TNFA -1031T/C – HLA DRB1 В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 2. FREQUENCIES AND PARAMETERS OF LINKAGE DISEQUILIBRIUM OF TWO-LOCUS HAPLOTYPES TNFA -863C/A – HLA DRB1, TNFA -1031T/C – HLA DRB1 IN GROUPS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND HEALTHY INDIVIDUALS OF THE RUSSIAN POPULATION

Гаплотип Haplotype	Группа больных РА Group of patients with RA		Контрольная группа Control group		p
	Частота гаплотипа Haplotype frequency (Hf), %	Параметры неравновесного сцепления Parameters of linkage disequilibrium	Частота гаплотипа Haplotype frequency (Hf), %	Параметры неравновесного сцепления Parameters of linkage disequilibrium	
-863*c – DRB1*07	9,2	D' = 1,0 $\chi^2 = 4,6$ p = 0,03	13,2	D' = 0,8 $\chi^2 = 5,4$ p = 0,02	0,18
-863*a – DRB1*03	6,1	D' = 0,4 $\chi^2 = 15,9$ p << 0,001	0,4	D' = -0,71 $\chi^2 = 2,3$ p = 0,13	<< 0,001
-863*c – DRB1*13	4,0	D' = 1 $\chi^2 = 5,7$ p = 0,017	8,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 2,8$ p = 0,09	0,09
-863*c – DRB1*15	6,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,2$ p = 0,07	14,0	D' = 0,68 $\chi^2 = 3,97$ p = 0,04	0,012
-1031*c – DRB1*03	8,0	D' = 0,5 $\chi^2 = 27,7$ p << 0,001	1,5	D' = -0,04 $\chi^2 = 1,4$ p = 0,23	0,014
-1031*t – DRB1*04	30,0	D' = 0,7 $\chi^2 = 12,2$ p << 0,001	6,0	D' = -0,4 $\chi^2 = 19,8$ p << 0,001	<< 0,001
-1031*c – DRB1*13	3,0	D' = 0,28 $\chi^2 = 4,7$ p = 0,03	5,0	D' = 0,24 $\chi^2 = 9,5$ p = 0,002	0,321
-1031*t – DRB1*15	7,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,6$ p = 0,06	14,0	D' = 0,86 $\chi^2 = 7,9$ p = 0,005	0,009
-1031*t – DRB1*11	5,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 2,7$ p = 0,1	10,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 7,6$ p = 0,005	0,04
-1031*c – DRB1*12	0	D' = -1,0 $\chi^2 = 0,78$ p = 0,37	1,5	D' = 0,75 $\chi^2 = 12,4$ p = 0,0004	0,2
-1031*c – DRB1*16	0	D' = -1,0 $\chi^2 = 1,05$ p = 0,3	1,5	D' = 0,6 $\chi^2 = 9,1$ p = 0,003	0,2
-1031*c – DRB1*04	2,0	D' = -0,7 $\chi^2 = 12,0$ p << 0,001	6,0	D' = 0,4 $\chi^2 = 19,8$ p << 0,001	0,089
-1031*t – DRB1*01	13,0	D' = -0,07 $\chi^2 = 0,7$ p = 0,4	13,0	D' = 0,57 $\chi^2 = 3,3$ p = 0,07	0,9
-1031*t – DRB1*08	1,5	D' = 1,0 $\chi^2 = 0,78$ p = 0,4	5,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,5$ p = 0,06	0,06

Группа больных ревматоидным артритом характеризовалась достоверными значениями параметров неравновесного сцепления для следующих двухлокусных гаплотипов: *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**07 ($D' = 1,0; \chi^2 = 4,6; p = 0,03$), *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03 ($D' = 0,4; \chi^2 = 15,9; p < 0,001$), *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**13 ($D' = 1,0; \chi^2 = 5,7; p = 0,017$), *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 ($D' = 1,0; \chi^2 = 3,2; p = 0,007$). Оценка особенностей распределения данных гаплотипов у больных РА в сравнении с группой условно здоровых лиц показала, что частота *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**07 была практически одинаковой в обеих выборках.

У больных РА в два раза снижена частота встречаемости гаплотипа *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**13, но по критерию отношения шансов данное изменение не имеет прогностической значимости (тенденция, OR = 0,5; 95% CI 0,2-1,2).

Частота *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 составила 6,0% против 14,0% в группе сравнения. Носительство данного гаплотипа снижает вероятность развития РА (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,8).

Гаплотип *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03 встречался в группе больных с частотой 6,0%. Тогда как в выборке условно здоровых лиц частота его составила всего 0,4%, а показатели неравновесного сцепления не достигали статистической значимости ($D' = -0,71; \chi^2 = 2,3; p = 0,13$). Следует отметить, что в более ранних наших работах ген *HLA DRB1**03 для этой популяции русских Челябинской области не был определен как предрасполагающий, несмотря на достаточно высокую частоту встречаемости в группе больных РА – 30,38% против 21,33% в контрольной группе [4].

Таким образом, именно в такой комбинации данный гаплотип может рассматриваться в качестве биомаркера предрасположенности к ревматоидному артриту в русской популяции (OR = 17,2; 95% CI 2,2-133,1).

Точка -1031 *TNFA* формирует следующие гаплотипические сочетания с *HLA DRB1* общие для обеих выборок: -1031**t* – *DRB1**15; -1031**c* – *DRB1**13, -1031**t* – *DRB1**11 (табл. 2).

Тогда как гаплотипы -1031**t* – *DRB1**04; -1031**c* – *DRB1**03 обладали достоверными параметрами сцепления только у больных РА, а в группе условно здоровых лиц дополнительно сформированы следующие гаплотипы: -1031**t* – *DRB1**11; -1031**c* – *DRB1**12; -1031**c* – *DRB1**16; -1031**c* – *DRB1**04; -1031**t* – *DRB1**01; -1031**t* – *DRB1**08.

Установлено, что частота встречаемости гаплотипа *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 составляет 30% в группе больных, тогда как в контроле – 6,0%.

Носительство *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 повышает вероятность развития ревматоидного

артрита согласно критерию отношения шансов (OR = 7,0; 95% CI 3,9-12,6).

Кроме того, в выборке условно здоровых лиц, вероятнее всего аллель *TNFA* и ген *HLA DRB1**04 наследуются независимо. Подобный результат был получен для гаплотипа *TNFA* -1031**c* – *DRB1**03, характеризующегося положительным D' и частотой встречаемости 8,0% в группе больных, а в группе сравнения аллель *TNFA* -1031**c* не сцеплен с *HLA DRB1**03. Носительство *TNFA* -1031**c* – *HLA DRB1**03 повышает вероятность развития ревматоидного артрита согласно критерию отношения шансов (OR = 5,4; 95% CI 1,8-16,5).

Было показано, что *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15 (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,8) и *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11 (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,9) могут рассматриваться как факторы, снижающие риск развития РА.

Заключение

В нашем исследовании показано, что полиморфные сайты -1031 и -863 C/A промоторной области гена *TNFA* реализуют свой вклад в предрасположенность к ревматоидному артриту через гаплотипические сочетания с *HLA DRB1*.

Гаплотипы ассоциированные с предрасположенностью к РА: *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03; *TNFA* -1031**c* – *HLA DRB1**03; включают аллели с заменами, располагающиеся в потенциальных сайтах связывания регуляторных транскрипционных факторов NF-κB и OCT-1 и влияющие на экспрессию *TNFA* [6, 11, 12]

В паре *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 вероятнее всего, ведущее значение для формирования предрасположенности принадлежит генным специфичностям *HLA DRB1**04.

При этом *HLA DRB1**04 – однозначный маркер предрасположенности к РА среди генов *HLA*, устойчивых гаплотипических сочетаний с точковым полиморфизмом *TNFA* -863 не формирует.

Кроме того, двухлокусные гаплотипы *TNFA* -1031**t* – *DRB1**15 и *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 наряду с общим *HLA DRB1**15, определенным как ген устойчивости к РА в русской популяции, содержат «среднепродуктивные» аллельные варианты -1031**t* и -863**c* *TNFA*, что, вероятнее всего, вносит вклад в формирование такого протекторного комплекса.

Данная работа является продолжением комплексного исследования и показывает, что кроме отдельных генных семейств *HLA* II класса в предрасположенность/устойчивость к ревматоидному артриту вносят вклад гаплотипические сочетания редких однонуклеотидных полиморфизмов в точках -1031, -863 C/A гена *TNFA* и *HLA DRB1*.

Список литературы / References

1. Кузир Т.Д. Полигенная природа ревматоидного артрита // Экологическая генетика, 2019. Т. 17, № 4. С. 77-90. [Kuzhir T.D. Polygenic nature of rheumatoid arthritis. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*, 2019, Vol. 17, no. 4, pp. 77-90. (In Russ.)]
2. Насонов Е.Л. Проблемы иммунопатологии ревматоидного артрита: эволюция болезни // Научно-практическая ревматология, 2017. Т. 55, № 3. С. 277-294. [Nasonov E.L. Problems of rheumatoid arthritis immunopathology: evolution of the disease. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2017, Vol. 55, no. 3, pp. 277-294. (In Russ.)]
3. Сташкевич Д.С., Девальд И.В. Анализ двухлокусных гаплотипов HLA и TNFA у больных ревматоидным артритом башкирской популяции // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2011. № 2-2 (35). С. 116-117. [Stashkevich D.S., Devald I.V. Analysis of two-locus haplotypes HLA and TNFA in patients with rheumatoid arthritis of the Bashkir population. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2011, no. 2-2 (35), pp. 116-117. (In Russ.)]
4. Сулова Т.А., Бурмистрова А.Л., Хромова Е.Б., Сташкевич Д.С., Девальд И.В., Исаканова А.О., Болдырева М.Н., Алексеев Л.П. Генетическая предрасположенность к ревматоидному артриту: роль генов и гаплотипов HLA класса II // Иммунология, 2008. Т. 29, № 3. С. 137-140. [Suslova T.A., Burmistrova A.L., Khromova E.B., Stashkevich D.S., Devald I.V., Isakanova A.O., Boldyreva M.N., Alekseev L.P. Genetic predisposition to rheumatoid arthritis: the role of HLA class II genes and haplotypes. *Immunologiya = Immunologiya*, 2008, Vol. 29, no. 3, pp. 137-140. (In Russ.)]
5. Excoffier L., Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol. Biol. Evol.*, 1995, Vol. 12, no. 5, pp. 921-927.
6. Gabriel M.L., Braga F.B., Cardoso M.R., Lopes A.C., Piatto V.B., Souza A.S. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J. Inflamm. Res.*, 2016, Vol. 9, pp. 59-67.
7. Karami J., Aslani S., Jamshidi A., Garshasbi M., Mahmoudi M. Genetic implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis; an updated review. *Gene*, 2019, Vol. 702, pp. 8-16.
8. Mikhaylenko D.S., Nemtsova M.V., Bure I.V. Genetic polymorphisms associated with rheumatoid arthritis development and antirheumatic therapy response. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 14, 4911. doi:10.3390/ijms21144911.
9. Noack M., Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Semin. Immunopathol.*, 2017, Vol. 39, no. 4, pp. 365-383.
10. Ridgley L.A., Anderson A.E., Pratt A.G. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2018, Vol. 30, no. 2, pp. 207-214.
11. Sadaf T., John P., Bhatti A., Malik J.M. Lack of association of -863C/A (rs1800630) polymorphism of tumor necrosis factor- α gene with rheumatoid arthritis. *Arch. Med. Sci.*, 2019, Vol. 15, no. 2, pp. 531-536.
12. Sandoval-Pinto E., Padilla-Gutiérrez J.R., Valdés-Alvarado E., García-González I.J., Valdez-Haro A., Francisco Muñoz-Valle J., Flores-Salinas H. E., Brennan-Bourdon L.M., Valle Y. Association of the -1031T>C polymorphism and soluble TNF- α levels with Acute Coronary Syndrome. *Cytokine*, 2016, Vol. 78, pp. 37-43.
13. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Vavilov M.N., Chernova M.S., Khromova E.B., Belyaeva S.V., Zaripova O.N., Stashkevich D.S., Galkin A.S., Darke C. HLA gene and haplotype frequencies in a nagaybaks population from the Chelyabinsk region (Russian South Urals). *Hum. Immunol.*, 2017, Vol. 78, no. 10, pp. 595-601.

Авторы:

Сташкевич Д.С. – к.б.н., доцент, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Хромова Е.Б. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Authors:

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khromova E.B., PhD (Biology), Assistant Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Девальд И.В. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; доцент кафедры терапии ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

Ходус Е.А. — к.м.н., врач-ревматолог клиники профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

Бурмистрова А.Л. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University; Associate Professor, Department of Therapy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khodus E.A., PhD (Medicine), Clinical Rheumatologist, Professor Kinzersky Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

Burmistrova A.L., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 15.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 15.07.2021
Accepted 20.08.2021