

На правах рукописи

ШОЛОМОВА ВИКТОРИЯ ИГОРЕВНА

Клиническое значение избыточной массы тела и полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы, факторов эндотелиальной дисфункции, воспалительных цитокинов у больных саркоидозом

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2019

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Николай Алексеевич Мухин

кандидат медицинских наук, доцент

Лариса Михайловна Самоходская

Официальные оппоненты:

Степанян Игорь Эмильевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», советник директора по лечебной работе и издательской деятельности;

Аверьянов Александр Вячеславович – доктор медицинских наук, ФГБУ "Научно-исследовательский институт пульмонологии ФМБА России", главный научный сотрудник.

Ведущая организация: ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Защита состоится «__» _____ 20__ года в _____ на заседании диссертационного совета Д 208.040.13 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, Москва, Zubovskiy bulvar, d.37/1) и на сайте Первого МГМУ им. И.М. Сеченова www.sechenov.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 20__ года.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Саркоидоз – системное воспалительное заболевание неясной этиологии, характеризующееся образованием эпителиоидноклеточных гранул в лимфатических узлах, лёгких, других органах и разнообразием клинических проявлений (Мухин Н.А., 2009). Наблюдается как бессимптомное, саморазрешающееся течение, так и неблагоприятные прогрессирующие формы заболевания с развитием дыхательной недостаточности и/или тяжелым внелегочным поражением. Прогноз больных определяется не только патогенетически связанными с саркоидозом проявлениями, но и сопутствующей общепопуляционной патологией (Martusewicz-Boros M.M. et al., 2015) – артериальной гипертензией (АГ), хронической болезнью почек (ХБП), нарушениями обмена углеводов, мочевой кислоты и липидов, которые могут усугубляться при терапии глюкокортикостероидами (ГКС). Особое место занимает избыточная масса тела (МТ), влияние которой на течение системных заболеваний воспалительной природы, в том числе саркоидоза, в настоящее время обсуждается достаточно широко.

Изучение взаимосвязей между однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП) и клиническими проявлениями – GWAS (genome wide association study = полногеномный поиск ассоциаций) в настоящее время широко распространено в мире. С современных позиций, в сопряжении воспалительных процессов и метаболических нарушений может иметь значение полиморфизм генов:

- воспалительных цитокинов (ВЦ): интерлейкинов (IL) 1 β и 6, фактора некроза опухоли- α (TNF),
- факторов эндотелиальной дисфункции (ФЭД): синтазы монооксида азота (NOS3), метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1),
- компонентов ренин-ангиотензиновой системы (РАС): ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ), секретирующегося макрофагами саркоидных гранул; его субстрата ангиотензина (AGT) и ангиотензиновых рецепторов (AGTR) 1 и 2 типов.

Значение этих генетических маркеров при избыточной МТ широко обсуждается в мировой литературе, но при саркоидозе изучено мало.

В связи с разнообразием клинических проявлений и возможными спонтанными ремиссиями, до сих пор не определены чёткие критерии, указывающие на необходимость и объем патогенетической противовоспалительной терапии при саркоидозе.

В настоящее время важным является установление взаимосвязи между избыточной МТ и саркоидозом, поиск генетических факторов прогноза течения саркоидоза, в первую очередь, для обоснования необходимости, вида и объема терапии с целью минимизации рисков возникновения и прогрессирования сопутствующих метаболических нарушений.

Цель исследования: установить связь между избыточной массы тела, выраженностью метаболических нарушений, полиморфными вариантами генов ренин-ангиотензиновой системы, факторов эндотелиальной дисфункции, воспалительных цитокинов и особенностями клинического течения саркоидоза.

Задачи исследования:

1. Определить клинико-демографические особенности течения саркоидоза, частоту и выраженность сопутствующих метаболических нарушений, их связь с избыточной массой тела.
2. Изучить и сопоставить характер распределения аллелей полиморфных генов, кодирующих компоненты ренин-ангиотензиновой системы (ангиотензинпревращающий фермент, ангиотензин, ангиотензиновые рецепторы 1 и 2 типов), воспалительные цитокины (интерлейкин-6, интерлейкин-1 β , фактор некроза опухоли- α) и белки, участвующие в регуляции функции эндотелия (ингибитор активатора плазминогена-1, эндотелиальная синтаза оксида азота, метилентетрагидрофолатредуктаза) у больных саркоидозом и в группе контроля.
3. У больных саркоидозом выявить ассоциации изученных полиморфизмов и их комбинаций с избыточной массой тела и сопутствующими метаболическими нарушениями.
4. Установить наличие взаимосвязи между особенностями течения саркоидоза и носительством изученных полиморфных аллелей и генотипов.
5. Построить интегральную модель, позволяющую дополнительно к клиническим критериям оценить характер течения саркоидоза.

Научная новизна:

В работе на большом клиническом материале впервые показана взаимосвязь между избыточной МТ и течением саркоидоза.

Впервые выполнен комплексный анализ распределения аллелей и их комбинаций 10 однонуклеотидных полиморфизмов генов РАС, ВЦ и ФЭД у больных саркоидозом (142 пациента).

Впервые описаны клинические проявления саркоидоза и сопутствующей патологии (АГ и её тяжесть, ХБП, нарушения обмена углеводов и липидов) в зависимости от носительства полиморфных аллелей *AGT T704C*, *AGTR1 A1166C*, *AGTR2 G1675A*, *ACE I/D*, *IL1 β G(-511)A*, *IL6 G(-174)C*, *TNF G308A*, *NOS3 G894T*, *MTHFR C677T*, *PAI-1 -675 5G/4G*.

Разработана прогностическая модель оценки вероятности неблагоприятного течения саркоидоза на основании комбинации генетических параметров.

Практическая значимость:

Определены распространенность аллелей и генотипов *AGT T704C*, *AGTR1 A1166C*, *AGTR2*

G1675A, ACE I/D, IL1 β G(-511)A, IL6 G(-174)C, TNF G308A, NOS3 G894T, MTHFR C677T, PAI-1 -675 5G/4G у российских пациентов с саркоидозом и в группе контроля (n=177), а также их ассоциации с избыточной МТ, метаболическими нарушениями, благоприятным и неблагоприятным течением саркоидоза.

С использованием модели логистической регрессии разработана формула, позволяющая по сочетанию полиморфных генотипов прогнозировать вероятность неблагоприятного течения саркоидоза и обосновать раннее начало терапии заболевания или отказ от неё.

Полученные данные могут использоваться для персонализированного подхода к определению варианта течения саркоидоза, риска развития метаболических нарушений и показаний к активной терапии саркоидоза.

Полученные результаты могут служить основой для дальнейшего изучения патогенеза саркоидоза, в т.ч. участия компонентов РАС, ВЦ и ФЭД, а также вклада генетических факторов в течение саркоидоза.

Положения, выносимые на защиту:

1. У больных саркоидозом наличие избыточной массы тела ассоциировано с более поздним дебютом заболевания, лабораторными признаками воспаления, поражением кожи и печени, а также с большей частотой и выраженностью коморбидных состояний (АГ, сахарный диабет, дислипидемия, ХБП).
2. Выявлена связь между полиморфизмом *AGTR1 A1166C* и развитием саркоидоза. Носительство генотипов *AGTR2 1675 GG* и *GA*, *TNF 308 GA*, *NOS3 894 TT*, *PAI-1 -675 4G4G* ассоциировано с неблагоприятным течением саркоидоза.
3. У больных саркоидозом носительство генотипов *AGTR1 1166 AA*, *AGT 704 TT* и *TC*, *PAI-1 -675 5G4G*, *TNF 308 GA* ассоциировано с избыточной массой тела; генотипа *IL1 β -511 GG* – с выраженным ожирением (ИМТ ≥ 37 кг/м²), а генотипов *AGTR1 1166 AA*, *AGT 704 CC*, *ACE II*, *NOS3 894 GG* – с наибольшим спектром сопутствующей патологии и метаболических нарушений (АГ, ХБП, нарушения обмена углеводов, липидов и мочевой кислоты).

Внедрение результатов работы в практику. Результаты исследования используются на поликлиническом и стационарном этапах ведения больных саркоидозом врачами Университетской клинической больницы №3 (главный врач – к.м.н. В.В. Панасюк), сотрудниками кафедры внутренних, профессиональных заболеваний и ревматологии (заведующий – д.м.н., профессор С.В.Моисеев) Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и кафедры внутренних болезней ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова (и.о.заведующего – к.м.н. Краснова Т.Н.), а также при преподавании дисциплин внутренних болезней студентам ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова и Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Апробация работы состоялась 19 марта 2019 года на совместном заседании сотрудников кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ имени М.В.Ломоносова) и кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Материалы диссертации доложены на международной конференции Всемирной ассоциации саркоидоза и других гранулематозов WASOG (Крит, июнь 2018) в виде постерного доклада, на международной конференции Европейского респираторного общества ERS (Мадрид, октябрь 2019) в виде 3-х презентаций и одобрены для представления на XIV Национальном конгрессе терапевтов (Москва, ноябрь 2019) в виде устного доклада.

База проведения исследования. Работа выполнена на базе кафедры внутренних болезней ФФМ (и.о.заведующего доцент к.м.н. Краснова Т.Н.) и отдела лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова (заведующая доцент к.м.н. Л.М. Самоходская), а также клиники внутренних, профессиональных болезней и ревматологии им. Е.М. Тареева Университетской клинической больницы №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (директор профессор д.м.н. С.В. Моисеев, главный врач к.м.н. В.В. Панасюк)

Личный вклад автора. Автор принимал активное участие во всех этапах исследования: планировании исследования, постановке задач, поиске и анализе литературы, наборе и клиническом обследовании больных, формировании базы данных, статистической обработке, обобщении и анализе полученных результатов, их обсуждении в научных публикациях и внедрении в практику. Автором освоена методика выделения геномной ДНК и полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией в режиме реального времени для определения полиморфизма изучаемых генов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.04 - "внутренние болезни". Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно - пунктам 2,3,5 паспорта внутренние болезни.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 9 статей в изданиях, рекомендуемых ВАК для опубликования материалов диссертаций (из них 6 – оригинальных), 7 статей, индексируемых в RSCI (Web of Science Core Collection), 3 статьи в

изданиях, индексируемых в наукометрических базах данных Web of Science и Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на русском языке на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, трёх глав – «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждение», практических рекомендаций, выводов, 2 приложений и списка литературы (содержит 242 источников, из которых 24 работы отечественных авторов). Работа иллюстрирована 55 таблицами и 28 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

1. Группы больных. В исследование включены 142 пациента с саркоидозом, наблюдавшиеся в отделении пульмонологии клиники им. Е.М.Тареева в 2014-2015 гг. и давшие согласие на участие в исследовании (**группа С**). Все больные принадлежали к европеоидной расе, родились и проживали в различных регионах стран бывшего СССР. С целью определения варианта течения заболевания наблюдение продолжено до 2019 года с периодическим (не реже одного раза в год) проведением полного обследования. Диагноз был поставлен на основании характерной клинко-рентгенологической картины, исключения других заболеваний (инфекций, в т.ч. туберкулеза, и неоплазий, в т.ч. гематологических) и у 106 пациентов подтвержден морфологически не менее чем за 1 месяц до включения в исследование различными методами: у 50 – при трансбронхиальной биопсии легких и/или внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ), в т.ч. 2 под эндосонографическим контролем, у 43 – при видеоторакоскопической биопсии легких, у 5 – при биопсии кожи, у 4 – периферических лимфатических узлов, у 2 – печени, у 1 – слюнных желез, у 1 – мягких тканей орбиты.

Поражение легких и ВГЛУ было изолированным у 54 пациентов (38%), сочеталось с поражением периферических и внутрибрюшных лимфоузлов – у 41 (29%), органа зрения – у 24 (17%), кожи – у 21 (15%), печени – у 14 (10%), сердца – у 12 (8%), почек – у 9 (6%), селезенки – у 9 (6%), нервной системы – у 7 (5%), слюнных желез – у 6 (4%).

У 35 пациентов (25%) внутригрудные изменения выявлены при диспансеризации и не сопровождалась клиническими симптомами ("бессимптомное начало"); у 32 (23%) – заболевание началось остро с кашля и повышения температуры тела ("респираторное начало"); у 31 (22%) – заболевание развивалось постепенно с появления общей слабости, утомляемости, кашля, одышки ("медленное начало"); у 22 (15%) – остро с развитием лихорадки, артралгий и/или узловатой эритемы ("синдром Лефгрена"); у 22 (15%) – с внелегочных проявлений.

54 больных (38%) в дебюте заболевания предъявляли жалобы на кашель, 40 (28%) – на одышку, 29 (20%) – на общую слабость, 29 (20%) – на артралгии, 18 (13%) – высыпания на коже по типу "узловатой эритемы", 9 (6%) – боли в грудной клетке, 8 (6%) – потливость, 6 (4%) –

похудание, 3 (2%) – отсутствие аппетита; у 21 (15%) – регистрировался субфебрилитет, у 17 (12%) – повышение температуры тела выше 38°C.

В зависимости от варианта течения саркоидоза пациенты были разделены на 2 группы:

Группа Г1. Больные саркоидозом "благоприятного" течения (N=92) – с изолированным поражением легких и лимфатических лимфоузлов, отсутствием жалоб, связанных с саркоидозом, и признаков дыхательной недостаточности; не нуждавшиеся в проведении активной иммуносупрессивной терапии за весь период наблюдения (с момента постановки диагноза до окончания исследования).

Группа Г2. Больные саркоидозом "неблагоприятного" течения (N=50) – с внелегочными проявлениями заболевания и/или явлениями дыхательной недостаточности (1. снижение ФЖЕЛ $\leq 70\%$ и/или DLco $\leq 60\%$ от должного, 2. относительное снижение ФЖЕЛ на $> 10\%$ или DLco $> 15\%$ с момента начала заболевания, 3. снижение ФЖЕЛ или DLco на 10% в сочетании с наличием жалоб или прогрессированием поражения легких по КТ ОГК, либо 4. прогрессирование поражения легких по данным КТ ОГК в сочетании с наличием жалоб), нуждавшиеся в проведении иммуносупрессивной терапии ГКС и/или цитостатиками (метотрексат, циклофосфамид, азатиоприн, микофенолата мофетил, ингибиторы ФНО-альфа) до начала исследования и/или во время его проведения. Критерии начала терапии согласуются с рекомендациями международных обществ ATS, ERS, WASOG и Российскими клиническими рекомендациями и используются в других исследованиях (Hunninghake G.W.et al.,1999, Judson M.A.,2012, Spagnolo P.et al.,2018, West S.G.,2018, Aryal S.et al.,2019, Ungprasert P.,2019, Саркоидоз: клинические рекомендации, 2019).

В зависимости от индекса массы тела (ИМТ) пациенты были разделены на 2 группы:

Группа М1. Пациенты с нормальной массой тела – ИМТ менее 25 кг/м² (N = 58),

Группа М2. Пациенты с избыточной массой тела – ИМТ от 25 кг/м² и выше (N = 84, в том числе 49 – с ИМТ от 30 кг/м²).

Контрольную группу (**группа К**) составили 35 пациентов отделения с избыточной МТ и общесоматической патологией (артериальная гипертензия, хронический бронхит) без интерстициальных изменений в легких, сопоставимых с основной группой по полу.

Критериями исключения из исследования являлись активная инфекция, системные заболевания соединительной ткани, васкулиты.

В целях проверки генетической репрезентативности контрольной группы произведено сравнение распространенности полиморфных аллелей 4-х генов с аналогичными данными 299 здоровых доноров крови (**группа Д**), полученными в ходе предыдущих совместных работ кафедры внутренних болезней ФФМ и отдела лабораторной диагностики Медицинского

научно-образовательного центра ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова.

Клинико-демографические характеристики и частоты встречаемости исследуемых аллелей и генотипов сравнивали попарно в группах С и К, Т1 и Т2, М1 и М2, а также М2 и К. Больные группы К были сопоставимы с группой М2 по возрасту, росту, весу и ИМТ.

Клиническое обследование больных проводилось по принятому в пульмонологическом отделении плану и включало анализ жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного обследования с измерением роста, массы тела, расчетом ИМТ, стандартные лабораторные и инструментальные методы исследования, в том числе исследование активности ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ) в сыворотке крови, расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ и риска сердечно-сосудистых осложнений (ССО) по шкале SCORE (риск ССО обозначался как: 1 – низкий, 2 – средний, 3 – высокий, 4 – очень высокий), проведение спирометрии и КТ ОГК.

2. Генетические методы исследования. Всем больным проводилось определение 10 ОНП генов РАС (ангиотензиногена *AGT T704C* (rs699), ангиотензиновых рецепторов 1 типа *AGTR1 A1166C* (rs5186) и 2 типа *AGTR2 G1675A* (rs1403543), ангиотензинпревращающего фермента *ACE I/D* (rs4340)), ВЦ (интерлейкина-1 β *IL1 β G(-511)A* (rs16944), интерлейкина-6 *IL6 G(-174)C* (rs1800795), фактора некроза опухоли- α *TNF G308A* (rs1800629)) и ФЭД (эндотелиальной синтазы оксида азота *NOS3 G894T* (rs1799983), метилентетрагидрофолатредуктазы *MTHFR C677T* (rs1801133), ингибитора активатора плазминогена-1 *PAI-1 -675 5G/4G* (rs1799889)) методом ПЦР с детекцией результатов в режиме «реального» времени и анализом кривых плавления с использованием коммерческих наборов реагентов фирмы ДНК-технология на детектирующем амплификаторе DTrprime (ООО «ДНК-технология») согласно методике, описанной в инструкции по применению к наборам. Выделение геномной ДНК осуществлялось из форменных элементов периферической венозной крови, забранной в пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА, с помощью коммерческого набора QIAmp DNA Blood Mini Kit и автоматической станции QIAcube™ (QIAGEN).

3. Методы статистической обработки. Для статистического анализа полученных данных использовались программы Microsoft Excel 2016, IBM SPSS Statistics 23, KNIME 3.4.2. На основании критериев Шапиро-Вилка было оценено нормальное распределение исследуемых показателей. Для сравнения средних значений нормально распределённых величин (среднее значение \pm стандартная ошибка) использовали двухвыборочный t-критерий Стьюдента и однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При сравнении параметров, имевших ненормальное распределение (медиана (интерквартильный размах)), использовали критерий Манна-Уитни или критерий Краскела-Уоллиса. Для сравнения качественных признаков применялись таблицы сопряжённости, точный двусторонний тест Фишера с расчетом

отношения шансов (ОШ) и доверительного интервала (ДИ), а также критерий χ^2 Пирсона.

При сравнении непрерывных величин (результаты лабораторных анализов, показатели функции внешнего дыхания) учитывались относительно высокие и низкие значения в двух группах, в том числе, не выходящие за пороги референсных значений.

Вывод о статистической значимости делался при уровне значимости (p) < 0,05 и 95% ДИ ОШ не содержащим единицу.

Для построения прогностической модели неблагоприятного течения саркоидоза и определения факторов развития избыточной массы тела использовался метод логистической регрессии с построением ROC-кривой для оценки чувствительности и специфичности полученных результатов.

Результаты исследования и их обсуждение

Демографическая и клинико-лабораторная характеристика больных, распространенность изученных ОНП в основной и контрольной группах

Среди больных саркоидозом, включенных в исследование, преобладали женщины (64,1%). Возраст больных колебался от 20 до 80 лет, медиана составляла 49 (32,8;59) лет; пик заболеваемости у женщин приходился на 58 (48;63) лет, у мужчин – на 30 (28;48) лет ($p < 0,001$). Медиана ИМТ равнялась 26,7 (23,6; 31,2) кг/м² и была значимо выше у женщин – 28 (24;32) кг/м², чем у мужчин – 24 (22;28) кг/м² ($p = 0,001$).

Частоты распространенности аллелей и генотипов 10 изученных ОНП у больных саркоидозом и в группе контроля представлено в таблице 1. Группы были сопоставимы по полу (64,1% и 54,3% женщин, соответственно) и росту (166 (160; 176) и 168 (162; 179) см).

По 9 генам из 10 (*AGT*, *AGTR2*, *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6*, *TNF*, *NOS3*, *MTHFR*, *PAI-1*) характер распределения аллелей и генотипов в обеих группах достоверно не различался. У обследованных больных отмечается равная частота встречаемости обеих аллелей гена *AGT T704C*, при этом аллель *C* встречалась (47,1-51,1%) чуть реже, чем в среднем в мире (54,8%)¹, чаще, чем в европейской (42,4-43,6%) и реже, чем в африканской (84,5%), азиатской (62,3-83,8%), латиноамериканской (74,2%) популяциях. Данный факт может быть обусловлен национальным разнообразием населения России.

Также отмечено преобладание "минорных" аллелей *AGTR2 1675A* и *PAI-1 -675_4G* (что подтверждает неправомочность использования терминов "мажорный"/"минорный" и "дикий"/"мутантный" в отношении полиморфных аллелей), при этом частота встречаемости *AGTR2 1675A* оказалась выше (57,4-60,0%), чем в других исследованиях по всему миру (33,7-57,0%).

¹ Здесь и далее представлены данные *The Exome Aggregation Consortium (ExAC)* <http://exac.broadinstitute.org/> ($n=60706$) и *dbSNP The National Center for Biotechnology* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/> ($n=245052$) о распространенности аллелей в мире на 02 октября 2018 г.

Таблица 1. Распространенность аллелей и генотипов изученных ОНП в группе больных саркоидозом (С) (n=142) и в группе контроля (К) (n=35)

Ген	Аллель/ Генотип	Группа К, % (n)	Группа С, % (n)	p	ОШ	95% ДИ / 90% ДИ
AGT T704C	T	52,9% (37)	48,9% (139)	0,595	0,855	0,506-1,444
	C	47,1% (33)	51,1% (145)		1,170	0,692-1,976
	TT	20,0% (7)	23,2% (33)		1,211	0,485-3,021
	TC	65,7% (23)	51,4% (73)	0,263	0,552	0,255-1,195
	CC	14,3% (5)	25,4% (36)		2,037	0,735-5,650
	TT+TC	85,7% (30)	74,6% (106)	0,187	0,491	0,177-1,360
	TC+CC	80,0% (28)	76,8% (109)	0,823	0,826	0,331-2,062
	TT+CC	34,3% (12)	48,6% (69)	0,136	1,812	0,837-3,919
AGTR1 A1166C	A	86,8% (33)	77,4% (192)	0,210	0,519	0,193-1,393
	C	13,2% (5)	22,6% (56)		1,925	0,718-5,163
	AA	84,2% (16)	62,9% (78)	0,088	0,318	0,088-1,15 / 0,108-0,935
	AC	5,3% (1)	29,0% (36)		7,364	0,947-57,238 / 1,318-41,667
	CC	10,5% (2)	8,1% (10)		0,746	0,150-3,703
	AA+AC	89,5% (17)	91,9% (114)	0,662	1,341	0,270-6,652
	AC+CC	15,8% (3)	37,1% (46)	0,075	3,145	0,869-11,379 / 1,069-9,253
	AA+CC	94,7% (18)	71,0% (88)	0,026	0,136	0,017-1,056 / 0,024-0,759
AGTR2 G1675A	G	40,0% (12)	42,6% (75)	0,844	1,114	0,506-2,452
	A	60,0% (18)	57,4% (101)		0,897	0,407-1,976
	GG	20,0% (3)	28,4% (25)		1,587	0,413-6,098
	GA	40,0% (6)	28,4% (25)	0,626	0,595	0,192-1,845
	AA	40,0% (6)	43,2% (38)		1,140	0,374-3,484
	GG+GA	60,0% (9)	56,8% (50)	1,000	0,877	0,287-2,677
	GA+AA	80,0% (12)	71,6% (63)	0,754	0,630	0,164-2,424
	GG+AA	60,0% (9)	71,6% (63)	0,375	1,680	0,542-5,212
ACE I/D	I	56,3% (18)	58,9% (119)	0,848	1,115	0,525-2,367
	D	43,8% (14)	41,1% (83)		0,897	0,422-1,905
	II	25,0% (4)	32,7% (33)		1,456	0,436-4,854
	ID	62,5% (10)	52,5% (53)	0,753	0,663	0,224-1,961
	DD	12,5% (2)	14,9% (15)		1,221	0,252-5,917
	II+ID	87,5% (14)	85,1% (86)	1,000	0,819	0,169-3,976
	ID+DD	75,0% (12)	67,3% (68)	0,773	0,687	0,206-2,293
	II+DD	37,5% (6)	47,5% (48)	0,592	1,509	0,510-4,466
IL1β G(-511)A	G	60,4% (29)	67,0% (177)	0,409	1,333	0,708-2,510
	A	39,6% (19)	33,0% (87)		0,750	0,398-1,412
	GG	33,3% (8)	45,5% (60)	0,534	1,667	0,668-4,167
	GA	54,2% (13)	43,2% (57)		0,643	0,268-1,541
	AA	12,5% (3)	11,4% (15)		0,898	0,239-3,367
	GG+GA	87,5% (21)	88,6% (117)	1,000	1,114	0,297-4,187
	GA+AA	66,7% (16)	54,5% (72)	0,371	0,600	0,240-1,498
	GG+AA	45,8% (11)	56,8% (75)	0,375	1,555	0,649-3,725
IL6 G(-174)C	G	57,1% (40)	60,4% (168)	0,683	1,145	0,674-1,948
	C	42,9% (30)	39,6% (110)		0,873	0,513-1,438
	GG	31,4% (11)	36,0% (50)	0,844	1,667	0,668-4,167
	GC	54,3% (19)	48,9% (68)		0,643	0,268-1,541
	CC	14,3% (5)	15,1% (21)		0,898	0,239-3,367
GG+GC	82,9% (29)	84,9% (118)	0,795	1,163	0,430-3,142	

Ген	Аллель/ Генотип	Группа К, % (n)	Группа С, % (n)	p	ОШ	95% ДИ / 90% ДИ
	<i>GC+CC</i>	65,7% (23)	64,0% (89)	1,000	0,929	0,426-2,024
	<i>GG+CC</i>	45,7% (16)	51,1% (71)	0,706	1,240	0,589-2,608
<i>TNF G308A</i>	<i>G</i>	97,4% (37)	92,3% (229)	0,491	0,326	0,042-2,507
	<i>A</i>	2,6% (1)	7,7% (19)		3,067	0,399-23,810
	<i>GG</i>	94,7% (18)	84,7% (105)	0,474	3,257	0,410-25,867
	<i>GA</i>	5,3% (1)	15,3% (19)		0,307	0,039-2,439
	<i>AA</i>	0	0		-	-
<i>NOS3 G894T</i>	<i>G</i>	68,6% (48)	71,7% (195)	0,658	1,161	0,657-2,049
	<i>T</i>	31,4% (22)	28,3% (77)		0,862	0,488-1,523
	<i>GG</i>	45,7% (16)	50,7% (69)	0,865	1,222	0,580-2,577
	<i>GT</i>	45,7% (16)	41,9% (57)		0,857	0,406-1,808
	<i>TT</i>	8,6% (3)	7,4% (10)		0,847	0,220-3,257
	<i>GG+GT</i>	91,4% (32)	92,6% (126)	0,731	1,181	0,307-4,544
	<i>GT+TT</i>	54,3% (19)	49,3% (67)	0,705	0,818	0,388-1,723
	<i>GG+TT</i>	54,3% (19)	58,1% (79)	0,705	1,167	0,553-2,464
<i>MTHFR C677T</i>	<i>C</i>	72,7% (32)	67,6% (188)	0,602	0,783	0,385-1,592
	<i>T</i>	27,3% (12)	32,4% (90)		1,277	0,628-2,595
	<i>CC</i>	50,0% (11)	46,0% (64)	0,660	0,782	0,323-1,894
	<i>CT</i>	45,5% (10)	43,2% (60)		0,829	0,342-2,008
	<i>TT</i>	4,5% (1)	10,8% (15)		1,271	0,271-5,952
	<i>CC+CT</i>	95,5% (21)	89,2% (124)	1,000	0,787	0,168-3,695
	<i>CT+TT</i>	50,0% (11)	54,0% (75)	0,655	1,278	0,528-3,093
	<i>CC+TT</i>	54,5% (12)	56,8% (79)	0,821	1,207	0,498-2,922
<i>PAI-1 -675 5G/4G</i>	<i>5G</i>	34,4% (22)	43,4% (112)	0,205	1,465	0,827-2,594
	<i>4G</i>	65,6% (42)	56,6% (146)		0,683	0,386-1,209
	<i>5G5G</i>	6,3% (2)	17,8% (23)	0,262	3,257	0,726-14,493
	<i>5G4G</i>	56,3% (18)	51,2% (66)		0,815	0,374-1,776
	<i>4G4G</i>	37,5% (12)	31,0% (40)		0,749	0,334-1,678
	<i>5G5G+5G4G</i>	62,5% (20)	69,0% (89)	0,529	1,335	0,596-2,992
	<i>5G4G+4G4G</i>	93,8% (30)	82,2% (106)	0,170	0,307	0,069-1,378
	<i>5G5G+4G4G</i>	43,8% (14)	48,8% (63)	0,694	1,227	0,563-2,675

В исследуемой выборке полностью отсутствовал генотипа *AA* локуса 308 гена *TNF*, а частота аллели *A* составила 2,6-7,7%, что ниже не только среднемировых значений (16,2%), но и минимального значения в южноазиатской популяции (8,5%). Частота *IL6 -174C* в изучаемых группах оказалась достаточно высокой (39,6-42,9%), что характерно для эстонской (50,7%), британской (42,2-42,6%) и общеевропейской (41,6-46,0%) популяций, во всех остальных популяциях и в мире в целом существенно преобладает аллель *G* (68,4-99,9%). Сходные данные получены по *IL1β -511A*: 33,0-39,6% у обследованных пациентов, 33,0-35,5% в европейской и 41,9-60,0% в остальных и в мире в целом. Частота *NOS3 894T* также аналогична европейской популяции: 28,3-31,4% и 29,2-31,4% против 10,3-17,7% в остальном мире. Частота *MTHFR 677T* сопоставима (27,3-32,4%) с общемировыми, европейскими, восточноазиатскими популяциями (24,5-36,5%), значительно реже данная аллель встречалась у азиатов (19,7%), афроамериканцев (12,2%), южноазиатов (12%), африканцев (9,0-11,3%), чаще – у ашкенази (45%), американцев

(48,0-51,4%).

Выявлена достоверно большая частота встречаемости гетерозиготного состояния локуса 1166 гена ангиотензинового рецептора 1 типа (*AGTR1 1166 AC*) у пациентов с саркоидозом, чем в контрольной группе (29,0% и 5,3%, соответственно, $p=0,026$) (рис.1). Значение ОШ для данного генотипа больше 1, что свидетельствует о повышении риска развития саркоидоза у его носителей (ОШ_{AC/AA+CC} = 7,364; 90% ДИ 1,318-41,667). Вместе с тем, в группе С частота встречаемости аллели С была идентична (22,6%) мировым данным (22,3%), а в группе К – более низкая (13,2%), приближающаяся к африканской (6,1%) и азиатской (5,9-9,1%) популяциям. Несмотря на то, что эти различия не имеют статистической достоверности ($p=0,21$), они могут влиять на полученный результат. По данным Н. Biller и соавт., у пациентов с саркоидозом по сравнению со здоровыми людьми чаще встречался генотип *AA*, а гетерозиготный генотип *AC* среди больных чаще встречался у мужчин (Н. Biller и др. 2009).

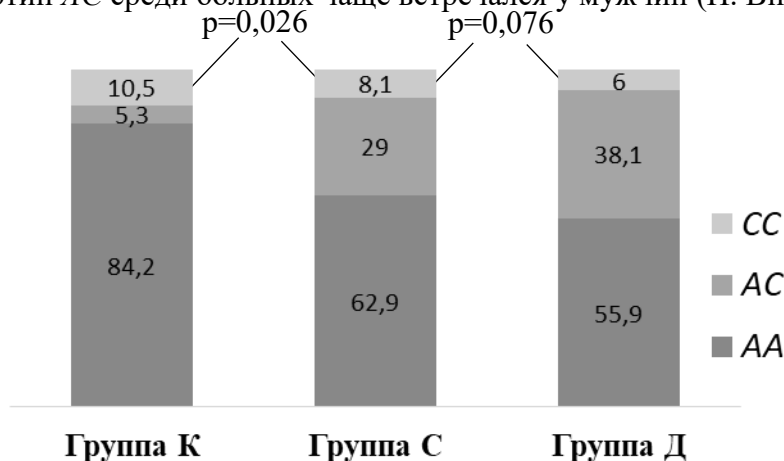


Рисунок 1. Распределение генотипов *AGTR1 1166C* у больных саркоидозом ($n=142$), в группах контроля ($n=35$) и здоровых доноров ($n=299$).

В целях проверки найденной закономерности произведено сравнение частот аллелей и генотипов *AGTR1 1166C* в группах С и Д (табл.2). Статистически достоверных различий не выявлено, однако на уровне тенденции ($p=0,076$) отмечается ассоциация саркоидоза с генотипами *AA* и *CC* (ОШ 1,506, 90% ДИ 1,030-2,202) (рис.1).

Таблица 2. Сравнение распространенности аллелей и генотипов *AGTR1 1166C* в группах здоровых доноров крови и больных саркоидозом.

Ген	Аллель/ Генотип	Группа Д, % (n)	Группа С, % (n)	p	ОШ	95% ДИ / 90% ДИ
<i>AGTR1 1166C</i>	A	74,9% (448)	77,4% (192)	0,494	1,148	0,809-1,630
	C	25,1% (150)	22,6% (56)		0,871	0,614-1,234
	AA	55,9% (167)	62,9% (78)	0,187	1,340	0,872-2,060
	AC	38,1% (114)	29,0% (36)		0,664	0,422-1,044/0,454-0,971
	CC	6,0% (18)	8,1% (10)		1,369	0,613-3,057
	AA+AC	94,0% (281)	91,9% (114)	0,443	0,730	0,327-1,631
	AC+CC	44,1% (132)	37,1% (46)	0,182	0,746	0,485-1,147
	AA+CC	61,9% (185)	71,0% (88)	0,076	1,506	0,958-2,370/1,030-2,202

При сравнении групп К и Д распространенность аллелей ОНП *AGT T704C*, *MTHFR C677T*, *NOS3 G894T* статистически не различалась (табл.3) и соответствовала описанным выше закономерностям. Различие в распространенности аллелей *AGTR1 A1166C* было наибольшим из всех проведенных сравнений ($p=0,143$), но не обладало статистической значимостью.

Таблица 3. Сравнение распространенности аллелей *AGTR1 A1166C*, *AGT T704C*, *MTHFR C677T*, *NOS3 G894* в контрольной группе и группе здоровых доноров крови.

Полиморфизм	Аллель	Группа К, % (n)	Группа Д, % (n)	p
<i>AGTR1 A1166C</i>	A	86,8% (33)	74,9% (448)	0,143
	C	13,2% (5)	25,1% (150)	
<i>AGT T704C</i>	T	52,9% (37)	52% (311)	0,993
	C	47,1% (33)	48% (287)	
<i>MTHFR C677T</i>	C	72,7% (32)	72,5% (455)	0,822
	T	27,3% (12)	27,5% (173)	
<i>NOS3 G894T</i>	G	68,6% (48)	69,9% (418)	0,927
	T	31,4% (22)	30,1% (180)	

Исходя из полученных данных, можно говорить о имеющейся связи полиморфизма *AGTR1 A1166C* с саркоидозом, для уточнения характера данной ассоциации требуется проверка на более крупных и однородных группах.

Взаимосвязь клинико-лабораторных показателей, избыточной массы тела и изученных ОНП

При сравнении пациентов с саркоидозом в зависимости от массы тела (группы М1 и М2) выявлены достоверные ассоциации наличия избыточной массы тела с:

1. Демографическими показателями:

- женским полом (77,3% (65) vs 44,8% (26), $p<0,001$, ОШ 4,202, 95%ДИ 2,033-8,696) и
- старшим возрастом на момент включения в исследование (55 (47,25;62,5) vs 34 (29;52) лет, $p<0,001$), что соответствует найденным при анализе общей группы ассоциации между женским полом, избыточной массой тела и возрастом у пациентов с саркоидозом. Этот факт требует более углубленного изучения на больших выборках, в том числе и путем выявления генетических закономерностей.

2. Клиническими проявлениями саркоидоза:

- более поздним дебютом (48,5 (41;55) vs 30 (26,75;47,25) лет, $p<0,001$),
- выявлением воспалительных изменений в анализах крови в дебюте (14,3% (12) vs 1,7% (1), $p=0,015$, ОШ 9,5, 95%ДИ 1,2-75,24),
- большей частотой поражения кожи (19% (16) vs 6,9% (4), $p=0,050$, ОШ 3,176, 95%ДИ 1,003-10,056)
- большей частотой поражения печени (22,6% (19) vs 8,6% (5), $p=0,039$, ОШ 3,098, 95%ДИ 1,084-8,852),
- медленным началом заболевания (27,3% (23) vs 13,8% (8), $p=0,064$, ОШ 2,357, 90% ДИ 1,033-

5,509) и

- меньшей частотой внелегочных проявлений в целом (10,7% (9) vs 22,4% (13), $p=0,064$, ОШ 0,415, 90%ДИ 0,172-0,994);

3. Частотой сопутствующей патологии:

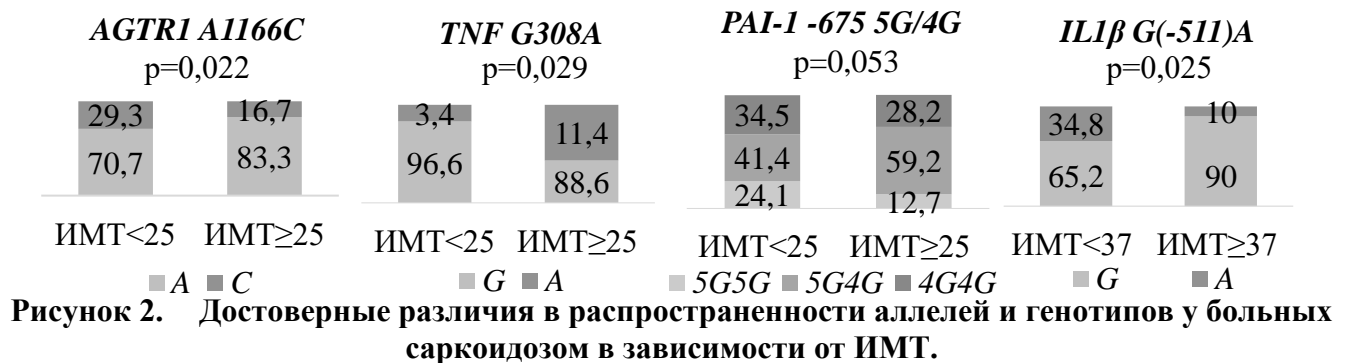
- АГ (70,2% (59) vs 22,4% (13), $p<0,001$, ОШ 8,169, 95%ДИ 3,766-17,721),
- АГ 2-3 степеней (52,4% (44) vs 12,1% (7), $p<0,001$, ОШ 8,014, 95%ДИ 3,263-19,684),
- АГ 2-3 стадий (50,0% (42) vs 13,8% (8), $p<0,001$, ОШ 6,250, 95%ДИ 2,644-14,773),
- риска ССО 2-4 (62% (52) vs 17,2% (10), $p<0,001$, ОШ 7,8, 95%ДИ 3,466-17,555),
- сахарного диабета 2 типа (22,6% (19) vs 1,7% (1), $p<0,001$, ОШ 16,662, 95%ДИ 2,162-128,406),
- ХБП 2-4 стадий (52,4% (44) vs 24,1% (14), $p=0,001$, ОШ 3,460, 95%ДИ 1,653-7,246),
- дислипидемии (72,6% (61) vs 50% (29), $p=0,051$, ОШ 2,69, 95%ДИ 1,014-7,150),
- стеатоза печени (17,9% (15) vs 3,4% (2), $p=0,009$, ОШ 6,087, 95%ДИ 1,33-527,746).

При выделении подгруппы пациентов с ожирением (ИМТ более 30 кг/м²) выявленные закономерности сохранялись.

При сравнении больных с саркоидозом с избыточной массой тела (группа М2) с группой контроля с избыточной массой тела (группа К) выявлены достоверные различия по женскому полу (77,4% (65) vs 54,3% (19), $p=0,012$, ОШ 2,882, 95%ДИ 1,245-6,667), что подтверждает утверждение о большей частоте встречаемости саркоидоза у женщин. Также отмечается бóльшая частота стеатоза печени (17,9% и 41,2%, $p=0,010$, ОШ 0,311, 96% ДИ 0,129-0,750) и более низкая СОЭ (10 (7;17) мм/ч и 16 (9,3; 25), $p=0,031$) в группе К. По остальным параметрам, в том числе возрасту, росту, весу, ИМТ и частотам перечисленной сопутствующей патологии, группа К была сопоставима с группой М2, что свидетельствует об одинаковом влиянии избыточной массы тела на развитие метаболических нарушений и ассоциированных состояний у пациентов с саркоидозом и без него.

Полученные результаты о наличии ассоциации между избыточной МТ и саркоидозом согласуются с данными литературы, однако работы о взаимосвязи МТ с клиническими проявлениями заболевания и сопутствующей патологии отсутствуют. У пациентов с избыточной МТ бóльшая частота выявления поражения печени может быть обусловлена его сочетанием с неалкогольным стеатогепатитом, а воспалительных изменений в крови – провоспалительным действием жировой ткани. Возможно, эти эффекты проявляются лишь у носителей определенных полиморфных вариантов генов воспалительных цитокинов.

При изучении распространенности аллелей и генотипов 10 изученных ОНП в группах М1 и М2 выявлена достоверная ассоциация носительства аллели *AGTR1 1166A* (83,3% vs 70,7%, $p=0,022$, ОШ 2,047, 95%ДИ 1,129-3,802), аллели *TNF 308A* (11,4% vs 3,4%, $p=0,029$, ОШ 3,584, 95%ДИ 1,156-11,111) и гетерозиготного генотипа *PAI-1 -675 5G4G* (59,2% vs 40,8%, $p=0,053$, ОШ 2,053, 95%ДИ 1,014-4,149) с избыточной массой тела, а также аллели *IL1 β -511G* с выраженным ожирением (ИМТ > 37 кг/м²) (90% vs 65,2%, $p=0,025$, ОШ 4,811, 95%ДИ 1,090-21,229) (рис.2). Других значимых различий в распространенности аллелей и генотипов у больных саркоидозом в зависимости от ИМТ не выявлено.



Методом логистической регрессии среди больных саркоидозом выявлено увеличение риска развития избыточной массы тела у пациентов женского пола и носителей генотипов *AGT 704 TT* и *TC*, *AGTR1 1166 AA* и *PAI-1 -675 5G4G*. Вес каждого фактора представлен в таблице 4. Вклад остальных изученных полиморфизмов был пренебрежимо мал (по модулю меньше 1) и не обладал статистической значимостью ($0,150 < p < 0,818$).

Таблица 4. Связь пола и носительства изученных ОНП с избыточной массой тела у больных саркоидозом.

Фактор	p	ОШ (e^B)	95%ДИ
Женский пол	0,001	8,929	2,392-33,333
Носительство генотипов <i>AGT 704 TT</i> и <i>TC</i>	0,011	9,660	1,693-55,121
Носительство генотипа <i>AGTR1 1166 AA</i>	0,006	6,098	1,661-22,222
Носительство генотипа <i>PAI-1 -675 5G4G</i>	0,046	3,175	1,024-9,901

При сопоставлении результатов точного теста Фишера и логистической регрессии несомненна связь избыточной массы тела у пациентов с саркоидозом с женским полом и носительством генотипов *AGTR1 1166 AA* и *PAI-1 -675 5G4G*. Носительство аллелей *TNF 308A*, *IL1 β -511A* и генотипов *AGT 704 TT* и *TC* показало разный уровень статистической значимости при оценке разными методами.

Проанализированы ассоциации изученных полиморфизмов с метаболическими нарушениями и частотой сопутствующей патологии. Выявленные положительные и отрицательные эффекты носительства разных генотипов схематично представлены в таблице 5, все различия достоверны ($p < 0,05$; 95% ДИ не включает единицу для дискретных величин).

Таблица 5. Связь изученных ОНП с развитием метаболических нарушений и сопутствующей патологии у больных саркоидозом ($p < 0,05$).

Полиморфизм	Негативный эффект	Позитивный эффект	
<i>AGT T704C</i>	<i>TT</i>	-	↓ ЛПОНП
	<i>TC</i>	-	↓ коэффициент атерогенности
	<i>C,CC</i>	↑АГ 3 степени	-
<i>AGTR1 A1166C</i>	<i>A, AA</i>	↑АГ 2-3 стадии, риск ССО 3-4, дислипидемия	↓ ЛПНП
	<i>AA</i>	↓ ЛПВП	-
	<i>A</i>	↑риск ССО 4, ↑ ЛПОНП	-
<i>AGTR2 G1675A</i>	<i>GA</i>	↑ холестерин, ↑ триглицериды	↓ мочевая кислота
<i>ACE I/D</i>	<i>D,DD</i>	-	↓АГ, АГ 2-3 стадия, риск ССО 3-4
	<i>DD</i>	↓ СКФ	-
	<i>I,II</i>	↑АГ 2-3 стадия, АГ 3 степень	↓ ЛПОНП, ↓ триглицериды
<i>IL1β G(-511)A</i>	<i>A,AA</i>	↑ ЛПОНП	-
	<i>AA</i>	↑ креатинин, ↓ СКФ, ↑ХБП 2-4 ст.	-
	<i>GA</i>	-	↓ креатинин, ↑ СКФ, ↓ХБП 2-4 ст.
<i>IL6 G(-174)C</i>	<i>GC</i>	-	↓ глюкоза
<i>TNF G308A</i>	<i>A,GA</i>	↑ ЛПОНП	-
<i>NOS3 G894T</i>	<i>T,TT</i>	-	↓ глюкоза
	<i>TT</i>	-	↓ХБП 2-4 ст.
	<i>G,GG</i>	↑ триглицериды, ↑ ЛПОНП	-
<i>PAI-1 -675 5G/4G</i>	<i>4G,4G4G</i>	-	↓ ЛПНП
	<i>4G4G</i>	-	↓ мочевая кислота
	<i>4G</i>	-	↓ коэффициент атерогенности
	<i>5G,5G5G</i>	-	↓ глюкоза

Наиболее значимыми у больных саркоидозом представляются связи метаболических нарушений с носительством аллелей *AGT 704C*, *AGTR1 1166A*, *ACE I*, *NOS3 894G*, а также связь генотипа *AA IL1β -511* со снижением функции почек, остальные выявленные закономерности имеют неоднозначную направленность и требуют уточнения на бóльших выборках.

Связь носительства аллели *C* гена *AGT 704* с артериальной гипертензией общеизвестна и патогенетически обоснована (увеличение плазменной концентрации ангиотензина при замене метионина на треонин в 268-й позиции белка). Связь активации РАС, дислипидемии и их синергичное влияние на развитие атеросклероза и поражения почек также хорошо описана. Имеются литературные указания на участие *IL1β* в развитии болезней почек посредством инфламмасом, однако патогенетическая связь с изучаемым полиморфизмом, расположенном в некодирующем участке пока остается нераскрытой.

Взаимосвязь вариантов течения и клинических проявлений саркоидоза и изученных ОНП

Группы с разным течением саркоидоза (Т1 и Т2) были сопоставимы по полу, возрасту на момент включения в исследование и на момент дебюта заболевания, длительности заболевания,

а также частоте и выраженности сопутствующей патологии ($p > 0,1$). Отмечены различия в частоте медленного развития заболевания (12%(6) в группе T2 vs 27,2%(25) в группе T1, $p=0,054$, ОШ 0,365, 95% ДИ 0,139-0,963) и нарушения функции почек: концентрации креатинина (0,945 (0,789; 1,023) vs 0,805 (0,730; 0,928) мг/дл, $p=0,004$); СКФ ($77,1 \pm 15,7$ vs $68,1 \pm 17,7$ vs мл/мин., $p=0,002$), ХБП 3-4 стадий (16,0%(8) vs 2,2%(2), $p=0,004$, ОШ 8,571, 95% ДИ 1,744-42,124). Уровень ФЖЕЛ и частота внелегочных проявлений (поражение органа зрения, кожи, печени, сердца, почек, нервной системы и слюнных желез) имели достоверные различия, так как являлись критериями разделения на группы T1 и T2.

Проведен анализ взаимосвязи изученных полиморфизмов с течением саркоидоза. Достоверных различий по распространенности аллелей и генов не выявлено. В группе T1 чаще встречались *NOS3 894 G* (ОШ_T 1,696; 90% ДИ 1,081 – 2,673) и генотип *GG* ОШ_{GT+TT} 2,008 (90% ДИ 1,104 – 3,657) на уровне тенденции к статистической значимости ($p=0,067$ и $0,073$, соответственно) (рис.3).

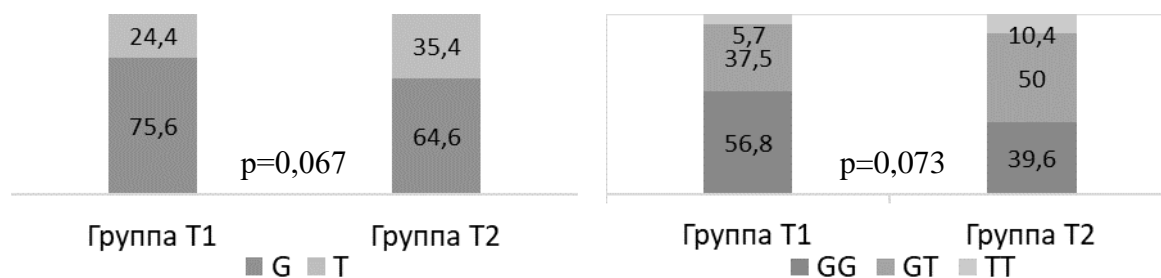


Рисунок 3. Ассоциация "благоприятного" течения саркоидоза (гр.Т1) с носительством *NOS3 894 G* и *GG*.

При более детальном рассмотрении выявлены достоверные ассоциации изучаемых полиморфизмов с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *AGT 704 TT* ассоциирован частым острым респираторным началом и редким синдромом Лефгрена, *TC* – с редким респираторным началом, редким кашлем, *CC* – с более поздней установкой диагноза, частым кашлем и синдромом Лефгрена (рис.4).

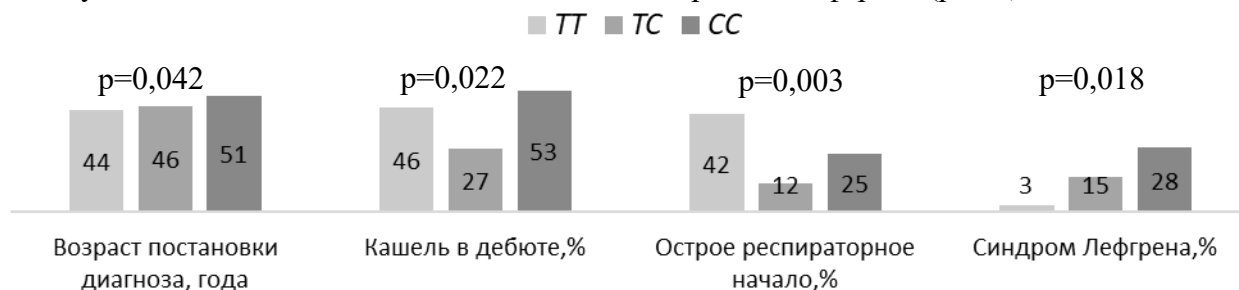


Рисунок 4. Ассоциация полиморфных генотипов *AGT T704C* с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *ACE II* ассоциирован с субфебрилитетом в дебюте, поражением органа зрения и наименьшей ФЖЕЛ, *ACE DD* – с бессимптомным течением и редким кашлем (рис.5).

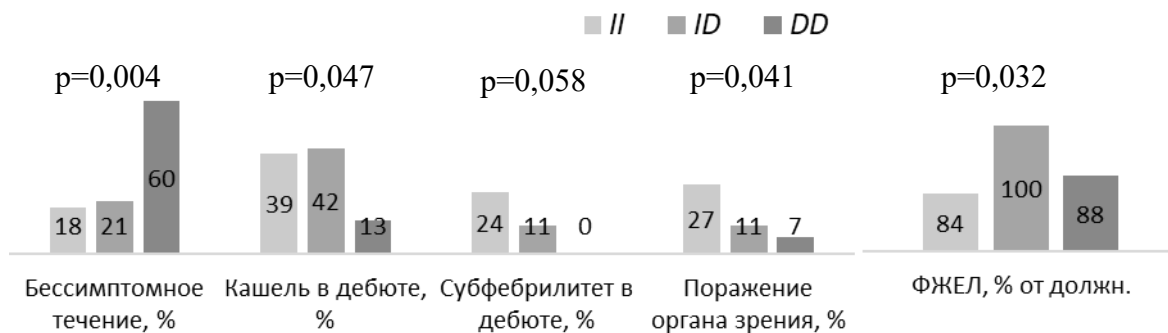


Рисунок 5. Ассоциация полиморфных генотипов ACE I/D с клиническими проявлениями саркоидоза.

Выявлены достоверные ассоциации генотипа *AGTR1 1166 AA* с одышкой, болями в грудной клетке, воспалительными изменениями в крови в дебюте, поражением печени, *AGTR1 1166 AC* – с острым респираторным началом, меньшей частотой одышки в дебюте, редким поражением кожи и высокой ФЖЕЛ; *AGTR1 1166 CC* – с большей частотой внелегочных проявлений (рис.6).

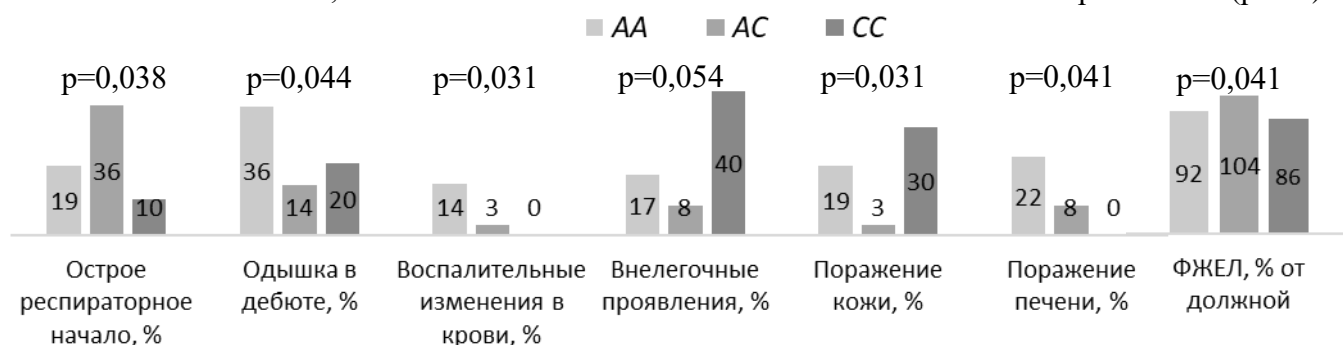


Рисунок 6. Ассоциация полиморфных генотипов AGTR1 A1166C с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *AGTR2 1675 GA* связан с женским полом (96% носителей – женщин), более поздней установкой диагноза, кашлем в дебюте и более высокими ФЖЕЛ и СОЭ, *AGTR2 1675 AA* – с мужским полом, поражением печени, меньшей СОЭ, а носительство *AGTR2 1675 A* – с поражением органа зрения (рис.7).

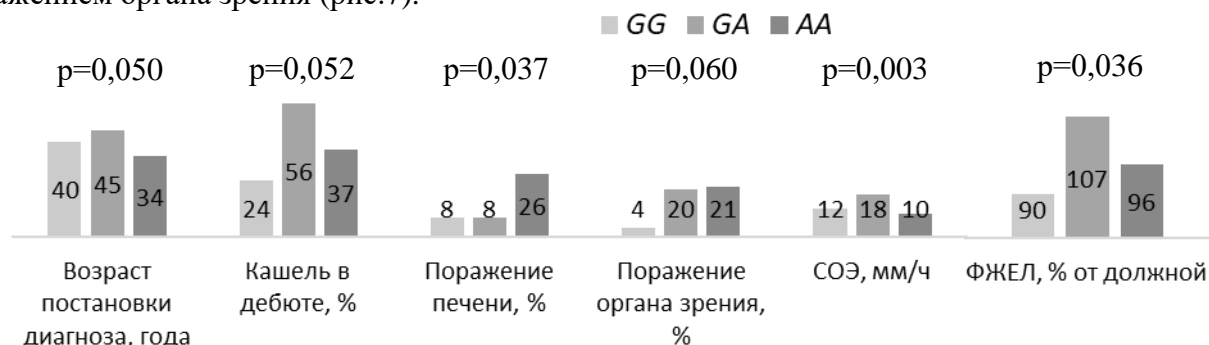


Рисунок 7. Ассоциация полиморфных генотипов AGTR2 G1675A с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *IL1β -511 GG* связан с синдромом Лефгрена, субфебрилитетом в дебюте и поражением печени, *IL1β -511 GA* – с более ранним дебютом заболевания (рис.8).

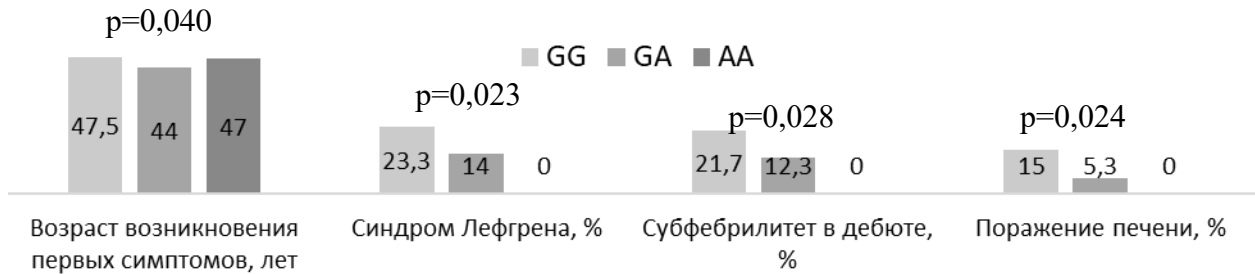


Рисунок 8. Ассоциация полиморфных генотипов *IL1β* G(-511)A с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *IL6* -174 GG связан с редким поражением печени и органа зрения (рис.9), генотип *TNF308* GA – с синдромом Лефгрена и узловой эритемой в дебюте (рис.10).

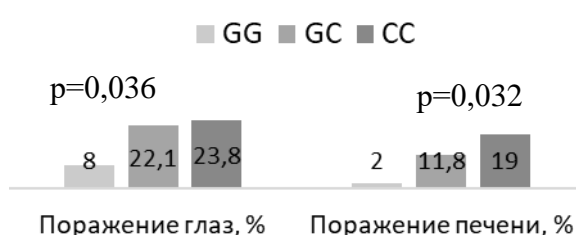


Рисунок 9. Ассоциация полиморфных генотипов *IL6* G(-174)C с клиническими проявлениями саркоидоза.

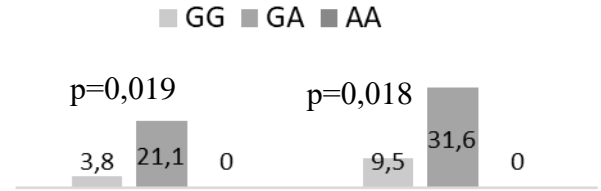


Рисунок 10. Ассоциация полиморфных генотипов *TNF* G308A с клиническими проявлениями саркоидоза.

Носительство аллели *MTHFR* 677C ассоциировано с более редким синдромом Лефгрена, артралгиями и узловой эритемой в дебюте и более частым поражением печени (рис.11).

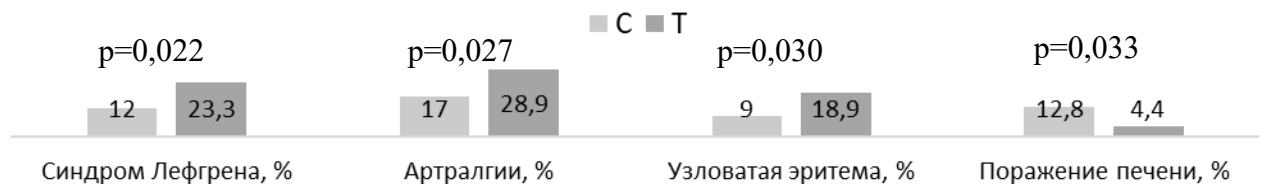


Рисунок 11. Ассоциация полиморфных аллелей *MTHFR* C677T с клиническими проявлениями саркоидоза.

Генотип *NOS3* 894 TT ассоциирован с поражением печени, *NOS3* 894 GT – с меньшей ФЖЕЛ (рис.12), генотип *PAI-1* -675 5G5G– с поражением лимфоузлов не внутригрудной локализации и меньшей ФЖЕЛ (рис.13).

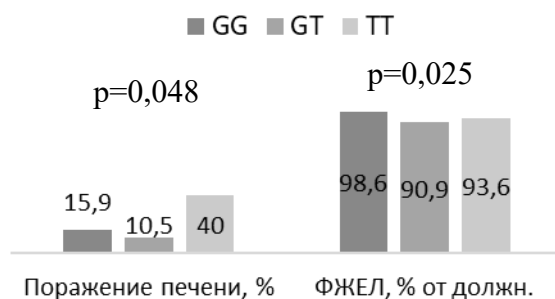


Рисунок 12. Ассоциация полиморфных генотипов *NOS3* G894T с клиническими проявлениями саркоидоза.

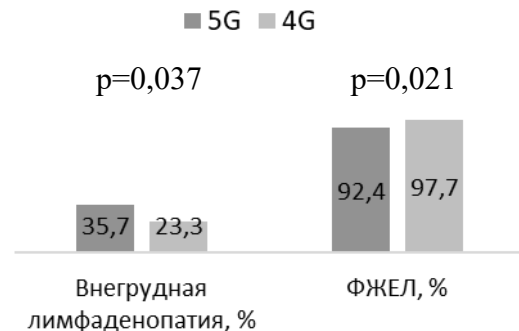


Рисунок 13. Ассоциация полиморфных аллелей *PAI-1* -675 5G/4G с клиническими проявлениями саркоидоза.

На основании полученных данных методом логистической регрессии построена прогностическая модель неблагоприятного течения саркоидоза, включающая изученные полиморфизмы с разным коэффициентом.

$$r = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \text{ где}$$

r – вероятность неблагоприятного течения саркоидоза, e – число Эйлера (2,718281828), z – уравнение регрессии:

$$z = 0,116 * ACE_II/ID + 2,457 * AGTR2_GG/GA - 0,663 * AGTR2_AA/GA + 3,512 * TNF_GA - 5,429 * NOS_GG/GT - 0,774 * MTHFR_TT/CT - 1,667 * PAI_5G5G/5G4G + 2,433.$$

Пороговое значение $r = 0,1340$, при бóльших значениях модель предсказывает неблагоприятное течение саркоидоза. Статистическая значимость итоговой модели $p = 0,001$, доля правильных предсказаний – 88%. Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,778 (95% ДИ 0,649-0,906) (рис.14). Чувствительность модели 70%, специфичность 97%.

Согласно полученной модели, наибольшим "весом" обладали генотипы *TNF 308 GA*, *AGTR2 1675 GG* и *GA*, носительство которых увеличивает риск "неблагоприятного" течения, и генотипы *NOS3 894 GG* и *GT*, *PAI-1 -675 5G5G* и *5G4G*, при носительстве которых риск уменьшается. Введение в формулу остальных изученных генотипов (*AGT T704C*, *AGTR1 A1166C*, *IL1 β G(-511)A*, *IL6 G(-174)C*) не увеличивало предсказывающую силу модели.

При включении в предсказывающую модель фактора избыточной массы тела показан его отрицательный коэффициент (т.е. риск неблагоприятного течения саркоидоза при избыточной массе тела уменьшается), но предсказывающая сила и чувствительность модели при этом снижается, так как имеется взаимосвязь между ожирением и изученными полиморфизмами, то есть независимыми факторами они не являются (табл.6).

Таблица 6. Связь носительства изученных ОНП и избыточной массой тела с вариантом течения саркоидоза.

Фактор	Вес фактора
Носительство генотипа <i>TNF 308 GA</i>	1,254
Носительство генотипов <i>AGTR2 1675 GG</i> и <i>GA</i>	1,048
Носительство генотипов <i>MTHFR 677 TT</i> и <i>CT</i>	-0,444
Носительство генотипов <i>PAI-1 -675 5G5G</i> и <i>5G4G</i>	-1,081
ИМТ ≥ 25	-2,015

Статистическая значимость модели $p=0,001$, доля правильных предсказаний 76,9% при пороговом значении 0,52. AUC = 0,731 (95% ДИ 0,610-0,852) (рис.15). Чувствительность 39,3%, специфичность 98%.

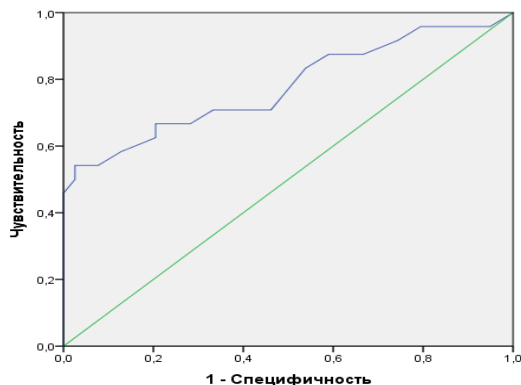


Рисунок 14. ROC-кривая для построенной модели предсказания неблагоприятного течения саркоидоза.

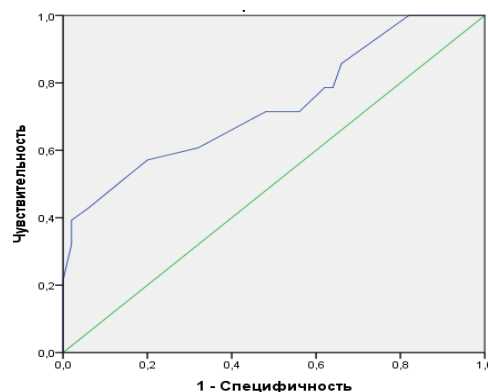


Рисунок 15. ROC-кривая для построенной модели предсказания неблагоприятного течения саркоидоза с учетом избыточной массы тела.

Отрицательный вес фактора ИМТ ≥ 25 свидетельствует, что избыточная масса тела не обладает негативным эффектом на течение саркоидоза. При прочих равных, наличие ИМТ ≥ 25 понижает вероятность неблагоприятного течения саркоидоза в 7,5 раз.

Выводы

1. Среди больных саркоидозом преобладают женщины (64,1%) среднего возраста (58 (48;63) лет) с избыточной массой тела (ИМТ 28 (24;32) кг/м²), мужчины болеют реже (35,9%) и характеризуются более молодым возрастом (30 (28;48) лет, $p<0,001$) и нормальной массой тела (ИМТ 24 (22; 28) кг/м², $p=0,001$).
2. Наличие избыточной массы тела у больных саркоидозом ассоциировано с более поздним дебютом заболевания (48,5 vs 30 лет, $p<0,001$), лабораторными признаками воспаления (14,3% vs 1,7% в дебюте, $p=0,015$; СОЭ 16 (9,25; 25) vs 9,5 (6; 18) мм/ч на момент исследования, $p=0,001$), поражением кожи и печени ($p<0,05$, ОШ >3 , 95% ДИ >1), а также с большей частотой и выраженностью коморбидных состояний (АГ, сахарный диабет, дислипидемия, ХБП) ($p<0,05$, ОШ $>2,5$, 95% ДИ >1).
3. У обследованных больных выявлена равная частота встречаемости обеих аллелей гена *AGT T704C* и преобладание так называемых "минорных" аллелей генов *AGTR2 G1675A* и *PAI-1 -675 5G/4G*, а также отсутствие варианта *TNF 308 AA*. Полиморфизм *AGTR1 A1166C* ассоциирован с развитием саркоидоза ($p=0,026$, ОШ=7,364, 90% ДИ 1,3-41,7).
4. У больных саркоидозом носительство генотипов *AGTR1 1166 AA*, *AGT 704 TT* и *TC*, *PAI-1 -675 5G/4G*, *TNF 308 GA* ассоциировано с избыточной массой тела; генотипа *IL1 β -511 GG* – с выраженным ожирением (ИМТ ≥ 37 кг/м²) ($p<0,05$, ОШ >2 , 95% ДИ >1), а генотипов *AGTR1*

1166 AA, AGT 704 CC, ACE II, NOS3 894 GG – с наибольшим спектром сопутствующей патологии и метаболических нарушений (АГ, ХБП, нарушения обмена углеводов, липидов и мочевой кислоты).

5. Установлены взаимосвязи между клиническими проявлениями саркоидоза и полиморфными вариантами изученных генов ($p < 0,05$, ОШ > 2 , 95% ДИ > 1):

- возрастом начала заболевания и *AGT T704C, AGTR2 G1675A, IL1 β G(-511)A*,

- вариантами дебюта и *AGT T704C, AGTR1 A1166C, AGTR2 G1675A, ACE I/D, IL1 β G(-511)A, TNF G308A, MTHFR C677T*,

- частотой внелегочных проявлений (поражения печени, органа зрения и кожи) и *AGTR1 A1166C, AGTR2 G1675A, ACE I/D, IL1 β G(-511)A, IL6 G(-174)C, NOS3 G894T, MTHFR C677T*.

- показателем ФЖЕЛ и *AGTR1 A1166C, AGTR2 G1675A, ACE I/D, NOS3 G894T, PAI-1 -675 5G/4G*.

6. Согласно построенной прогностической модели (предсказывающая сила 88%), наибольшим влиянием на течение саркоидоза обладают "неблагоприятные" генотипы *TNF 308 GA, AGTR2 1675 GG* и *GA* и "благоприятные" генотипы *NOS3 894 GG* и *GT, PAI-1 -675 5G5G* и *5G4G*.

Практические рекомендации

- В план обследования пациентов с саркоидозом целесообразно включать исследование липидограммы, сывороточной концентрации глюкозы, мочевой кислоты и креатинина с расчётом СКФ и оценкой риска сердечно-сосудистых осложнений для своевременного выявления метаболических нарушений.
- При принятии решения о начале терапии саркоидоза необходимо учитывать как особенности течения заболевания, так и наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия, дислипидемия, сахарный диабет), её влияние на прогноз и риск усугубления при проведении терапии.
- Разработанная модель предсказания неблагоприятного течения саркоидоза может применяться для персонифицированного подхода к терапии. У сложных коморбидных больных целесообразно дополнительно к клиническим данным исследовать полиморфизмы *TNF G308A, AGTR2 G1675A, NOS3 G894T* и *PAI-1 -675 5G/4G* с последующим расчетом вероятности неблагоприятного течения для принятия решения о начале терапии саркоидоза либо отказе от неё.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Галлямов М.Г., Сагинова Е.А., Северова М.М., Самоходская Л.М., Краснова Т.Н., **Шоломова В.И.**, Сорокин Ю.Д., Мухин Н.А. Значение факторов гипоксии и дисфункции эндотелия в поражении почек при ожирении. **Терапевтический архив.** 2013. Т. 85. № 6. С. 31-37.

2. Волель Б., Макух Е., Лебедева М., Попова Е., **Шоломова В.**, Андросова Л., Мухин Н., Бекетов В., Бровко М., Ключник Т. Клинико-лабораторные маркеры астенического синдрома у больных саркоидозом. **Врач.** 2016. № 7. С. 74-76.
3. Волель Б.А., Макух Е.А., Лебедева М.В., Попова Е.Н., Бровко М.Ю., **Шоломова В.И.** Психические расстройства при саркоидозе легких. **Психические расстройства в общей медицине.** 2016. № 1-2. С. 7-14.
4. **Шоломова В.И.**, Сагинова Е.А., Балацкий А.В., Самоходская Л.М., Бровко М.Ю., Французевич Л., Краснова Т.Н., Лебедева М.В., Краева В.В., Мухин Н.А. Дисфункция почек у больных с саркоидозом с избыточной массой тела. **Нефрология.** 2017. Т. 21. № 2. С. 41-47.
5. Попова Е.Н., Пономарев А.Б., Стрижаков Л.А., Лебедева М.В., Моисеев С.В., Казарина В.В., **Шоломова В.И.**, Русских А.В., Яценко А.В. Поражение сердца у больного с генерализованным саркоидозом. Медицинский вестник МВД. 2017. Т. LXXXVIII. № 3 (88). С. 18-22.
6. Язев Е.Е., Лебедева М.В., Стрижаков Л.А., Паша С.П., Мухин Н.А., **Шоломова В.И.**, Бровко М.Ю. Желудочковая экстрасистолия как редкий дебют саркоидоза. Клиническая медицина. 2017. Т.95. №12. с. 1137-1140.
7. **Шоломова В.И.**, Л.М. Самоходская, А.В. Балацкий, М.Ю. Бровко, Т.Н. Краснова, Е.А. Сагинова, М.Ю. Швецов, Н.А. Мухин. Формирование метаболических нарушений, артериальной гипертензии и хронической болезни почек у пациентов с избыточной массой тела: вклад полиморфизма генов ангиотензина, NO-синтазы, интерлейкинов-1 β и -6. **Технологии живых систем.** 2018. Т.15. № 1. С.20-28.
8. М.В. Лебедева, **В.И. Шоломова**, В.Д. Бекетов, Л.А. Стрижаков, М.В. Таранова, М.Ю. Бровко, А.Г. Серова. Развитие хронической болезни почек у женщин, страдающих хроническим саркоидозом. **Нефрология.** 2018. Т. 22. № 2. С. 68-73. DOI:10.24884/1561-6274-2018-22-2-68-73.
9. Попова Е.Н., Стрижаков Л.А., **Шоломова В.И.**, Пономарев А.Б., Моисеев С.В., Бровко М.Ю., Бондаренко И.Б., Пономарева Л.А., Фомин В.В. Клинические особенности поражения сердца при генерализованном саркоидозе. **Терапевтический архив.** 2018. Т. 90. № 1. С. 54-59.
10. Фомин В.В., Бровко М.Ю., Калашников М.В., **Шоломова В.И.**, Розина Т.П., Акулкина Л.А., Першина А.Е., Янакаева А.Ш., Некрасова Т.П. Поражение печени при саркоидозе. **Терапевтический архив.** 2019. Т. 91. № 4. С. 4-12.

Список сокращений

- ACE - ангиотензинпревращающий фермент, АПФ
- AGT – ангиотензин/ангиотензиноген
- AGTR1,2 – ангиотензиновые рецепторы 1, 2 типа
- ANOVA – analysis of variation, однофакторный дисперсионный анализ
- AUC – area under the curve, площадь под ROC-кривой
- CKD-EPI – Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, формула для расчета скорости клубочковой фильтрации
- DL_{co} – диффузионная способность лёгких
- GWAS – genome wide association study, полногеномный поиск ассоциаций
- IL - интерлейкин
- MTHFR - метилентетрагидрофолатредуктаза
- NOS3 - эндотелиальная синтаза монооксида азота
- PAI-1 - ингибитор активации плазминогена 1-го типа
- ROC - receiver operating characteristic, кривая ошибок
- SCORE – Systematic COronary Risk Evaluation, шкала оценки сердечно-сосудистого риска
- TNF - фактор некроза опухоли- α , ФНО- α
- АГ – артериальная гипертензия
- ВГЛУ – вентригрудные лимфатические узлы
- ВЦ – воспалительные цитокины
- ГКС - глюкокортикостероиды
- ДИ - доверительный интервал
- ДНК -дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИМТ - индекс массы тела
- КТ – компьютерная томография
- ЛПВП – холестерол липопротеинов высокой плотности
- ЛПНП – холестерол липопротеинов низкой плотности
- ЛПОНП – холестерол липопротеинов очень низкой плотности
- МТ – масса тела
- ОГК – органы грудной клетки
- ОНП – однонуклеотидный полиморфизм, SNP (single nucleotide polymorphism)
- ОШ - отношение шансов
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РАС - ренин-ангиотензиновая система
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации
- СОЭ – скорость оседания эритроцитов
- ССО – сердечно-сосудистые осложнения
- ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких
- ФЭД – факторы эндотелиальной дисфункции
- ХБП - хроническая болезнь почек
- ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота