

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ТЕЧЕНИЯ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

БАЛИОНИС ОЛЬГА ИГОРЕВНА, ORCID: 0000-0002-8251-4050, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины ФГБУ «НИИ Пульмонологии» ФМБА России, 115682, Россия, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28, тел.: +7-906-265-15-59, e-mail: balionis@yandex.ru

НИКИТИН АЛЕКСЕЙ ГЕОРГИЕВИЧ, ORCID: 0000-0001-9762-3383, канд.биол.наук, зав.лабораторией персонализированной медицины ФГБУ «НИИ Пульмонологии» ФМБА России, 115682, Россия, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28, тел.: +7-495-395-63-93, e-mail: avialn@gmail.com

АВЕРЬЯНОВ АЛЕКСАНДР ВЯЧЕСЛАВОВИЧ, ORCID: 0000-0003-1031-6933, член-корр. РАН, докт.мед.наук, профессор, и.о. директора ФГБУ «НИИ Пульмонологии» ФМБА России, 115682, Россия, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28, тел.: +7-495-395-63-93, e-mail: averyanovav@mail.ru

Реферат: Введение. Саркоидоз – мультисистемное гранулематозное заболевание неизвестной этиологии. Исследования показывают, что саркоидоз является результатом воздействия неизвестного антигена на генетически предрасположенных лиц. Клиническая картина саркоидоза характеризуется значительной вариабельностью, а течение трудно прогнозируется. **Целью** настоящего исследования являлось выявление наиболее значимых генетических предикторов течения саркоидоза легких. **Материалы и методы.** Было проведено ретроспективное сравнительное исследование пациентов с саркоидозом легких с благоприятным и неблагоприятным течением. Всего в исследование было включено 100 пациентов (38 мужчин и 62 женщины, средний возраст 50±13 лет) с морфологически верифицированным саркоидозом с признаками поражения легких и (или) внутригрудных лимфатических узлов. **Результаты.** У 60 пациентов течение заболевания было благоприятным, у 40 – неблагоприятным (из них у 9 больных отмечалось прогрессирующее течение, у 31 – рецидивирующее). В ходе исследования нами установлено, что прогностически неблагоприятным является носительство аллелей HLA-A*24:02, HLA-C*05:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*14:54, HLA-DQA1*01:04, HLA-DQB1*05:03, HLA-DPB1*105:01 и генотипов HLA-DQB1 NM_002123.5:c.703G>A p.Val235Ile, HLA-C NM_002117.6:c.895+37A>G, HLA-B NM_005514.8:c.620-40A>G, HLA-B NM_005514.8:c.344-10C>G, HLA DRB1-HLA-DQA1 n.32628264_32628265insAGA, CCR5 NM_000579.3:c.-448G>A. **Заключение.** Установление генетических предикторов различных вариантов течения саркоидоза может помочь при выборе алгоритма персонализированной тактики ведения пациентов.

Ключевые слова: саркоидоз, генетические предикторы, течение заболевания.

Для ссылки: Генетические предикторы течения саркоидоза легких в российской популяции / О.И. Балионис, А.Г. Никитин, А.В. Аверьянов // Вестник современной клинической медицины. – 2022. – Т.15, вып. 4. – С.18-25, DOI: 10.20969/VSKM.2022.15(4).18-25.

GENETIC PREDICTORS OF SARCOIDOSIS COURSE IN RUSSIAN COHORT

BALIONIS OLGA I., ORCID: 0000-0002-8251-4050, Research fellow of the Laboratory of Personalized Medicine, Pulmonology Scientific Research Institute under Federal Medical and Biological Agency of Russia, 115682, Russia, Moscow, Orekhovy blvd., 28, tel.: +7-906-265-15-59, e-mail: balionis@yandex.ru

NIKITIN ALEXEY G., ORCID: 0000-0001-9762-3383, PhD in Biology, Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Pulmonology Scientific Research Institute under Federal Medical and Biological Agency of Russia, 115682, Russia, Moscow, Orekhovy blvd., 28, tel.: +7-495-395-63-93, e-mail: avialn@gmail.com

VERYANOV ALEXANDER V., ORCID: 0000-0003-1031-6933, SPIN-код: 2229-7100, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, MD, Professor, Acting director of Pulmonology Scientific Research Institute under Federal Medical and Biological Agency of Russia, 115682, Russia, Moscow, Orekhovy blvd., 28, tel.: +7-495-395-63-93, e-mail: averyanovav@mail.ru

Abstract. Introduction. Sarcoidosis is a multisystem granulomatous disease of unknown etiology. Studies show that sarcoidosis might be the result of exposure to unidentified antigens in genetically susceptible individuals. Clinical manifestations of sarcoidosis are highly variable, and the disease course is unpredictable. **The aim** of the study was to identify the most significant genetic predictors related to disease course. **Materials and methods.** We performed a retrospective comparative study of patients with a favorable and unfavorable course of sarcoidosis. A total 100 patients (38 men and 62 women, mean age 50±13 years) with histologically confirmed sarcoidosis were included in the study. **Results.** 60 patients developed favorable course. 9 patients developed progressive disease course. 31 patients had relapses. We found out that carriage of the HLA-A*24:02, HLA-C*05:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*14:54, HLA-DQA1*01:04, HLA-DQB1*05:03, HLA-DPB1*105:01 alleles was associated with unfavorable prognosis. We also found that HLA-DQB1 NM_002123.5:c.703G>A p.Val235Ile, HLA-C NM_002117.6:c.895+37A>G, HLA-B NM_005514.8:c.620-40A>G, HLA-B NM_005514.8:c.344-10C>G, HLA DRB1-HLA-DQA1 n.32628264_32628265insAGA, CCR5 NM_000579.3:c.-448G>A genotypes are clinical negative prognostic factors. **Conclusion.** The detection of genetic predictors related to the sarcoidosis course may be helpful in personalized approach and appropriate treatment.

Keywords: sarcoidosis, genetic predictors, course of the disease.

For reference. Balionis OI, Nikitin AG, Averyanov AV. Genetic predictors of sarcoidosis course in Russian cohort. The Bulletin of contemporary clinical medicine. 2022;15(4):18-25, DOI: 10.20969/VSKM.2022.15(4).18-25.

Саркоидоз – системное воспалительное заболевание, характеризующееся образованием неказеифицирующихся гранулём, мультисистемным поражением различных органов и активацией Т-клеток в месте гранулёматозного воспаления с высвобождением различных хемокинов и цитокинов [1]. Этиология заболевания не установлена. Основную роль в развитии заболевания играет воздействие факторов

окружающей среды на генетически предрасположенных лиц [2, 3].

Обзор литературных данных свидетельствует о росте распространенности и заболеваемости саркоидозом как на территории разных стран [4, 5], так и на территории Российской Федерации [6, 7, 8]. Заболевание проявляется различными симптомами, а течение болезни может быть разнообразным. У большинства

пациентов в течение десятилетнего периода наблюдается спонтанная ремиссия. В то же время по данным литературы в последние годы отмечается рост неблагоприятного течения саркоидоза (прогрессирующее, рецидивирующее) [9, 10], что делает актуальным поиск предикторов различных вариантов течения саркоидного процесса, в том числе генетических маркеров.

Целью настоящего исследования являлось выявление наиболее значимых генетических предикторов течения саркоидоза легких.

Материалы и методы исследования. Исследование было выполнено в период с 2018 по 2021гг. на базе пульмонологического отделения ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, являющегося клинической базой ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России. Объектом исследования являлись пациенты с морфологически верифицированным диагнозом «саркоидоз легких», в возрасте от 18 до 80 лет, подписавшие информированное согласие, наблюдающиеся в пульмонологическом отделении ФГБУ ФНКЦ ФМБА России на протяжении 3 и более лет. Критериями исключения являлись: 1. изолированные внелегочные формы саркоидоза; 2. туберкулез легких; 3. другие известные интерстициальные, диссеминированные, гранулематозные процессы в легких; 4. наличие онкопатологии в анамнезе; 5. выраженные когнитивные нарушения; 6. отказ пациента от исследования и неспособность пациента к сотрудничеству и обследованию.

На основании ретроспективного анализа анамнестических и клиничко-рентгенологических данных все пациенты были разделены на 2 группы: 1. пациенты с благоприятным течением саркоидоза легких (стабильное течение, спонтанная/медикаментозная ремиссия); 2. пациенты с неблагоприятным течением саркоидоза легких (прогрессирующее, рецидивирующее течение). Под рецидивом саркоидоза понимали возобновление проявлений саркоидоза через один год после окончания основного курса лечения, завершившегося разрешением процесса, или после спонтанной ремиссии. Течение саркоидоза считалось прогрессирующим при наличии следующих критериев: потребность в интенсификации противовоспалительной терапии (значительное увеличение суточной дозы системных глюкокортикостероидов/добавлении других групп препаратов), ухудшение компьютерно-томографической (КТ) картины, ухудшение функциональных показателей (снижение форсированной жизненной емкости легких, диффузионной способности легких (DLCO)), прогрессирование одышки. Ниже приведена методика секвенирования. Из тотальной ДНК готовили фрагментную библиотеку с помощью набора KAPA HyperPlus (Roche, Швейцария) согласно инструкции производителя. ДНК фрагментировали с помощью фрагментазы в диапазоне длин 150-220 п.н. После амплификации концентрации библиотек измеряли с помощью Qubit (ThermoFisher Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Размер готовых библиотек и возможное наличие димеров праймеров/адаптеров определяли с помощью Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent, США), оптимальная длина фрагментов с адаптерами составляла 290-330 п.н. Далее готовые библиотеки смешивали по 96 шт, после этого проводили двойную гибридацию с зондами панели SeqCap EZ Choice согласно протоколу производителя. Гибридацию проводили при 47°C в течение 16 часов. Гибридные комплексы обогащали с помощью SeqCap Capture beads и проводили отмывку от неспецифичных фрагментов и амплификацию с помощью KAPA HiFi HS MasterMix (Roche, Швейцария) в течение 5 циклов. После этого повторяли процедуру гибридизации как описано выше. Финальная амплификация обогащенных библиотек составляла 16 циклов. Секвенирование пула обогащенных библиотек проводили на MiSeq (Illumina, США) с использованием парно-концевых чтений 2x150 п.н. Панель генов: IL23R, IL10, CR1, SLC11A1, CCR2, CCR5, TLR9, CD80, CD86, TLR10, TLR1, TLR2, HSPA1L, BTNL2, HLA-DRB5, HLA-DQA1,HLA-DPB1, NOTCH4, HLA-B, HLA-DRB3, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-C, HLA-DRB4, HLA-DRB1,HLA-A, CFTR, TLR4, ANXA11, IL18, VDR, OS9, NFKBIA, TGFB3, GREM1, NOD2, XAF1, ACE, TGFB1, CD40.

GWAS-анализ выполнялся с помощью программного пакета rMVP v.1.0.0 (<https://github.com/xiaolei-lab/rMVP>). Анализ ассоциаций генотипов HLA проводился с помощью программного пакета PyHLA v1.1.1 (<https://github.com/felixfan/PyHLA>) Клиническая значимость выявленных полиморфизмов оценивалась при помощи базы данных gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), представляющей собой объединенные результаты секвенирования генома и экзозома различных крупных проектов секвенирования.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией и правилами GCP, было одобрено локальным Этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Результаты исследования и их обсуждение. Всего в исследование было включено 100 пациентов, 38 мужчин и 62 женщины в возрасте от 25 до 76 лет (средний возраст больных составлял 50±13 лет) с установленным диагнозом саркоидоза с признаками поражения легких и (или) внутригрудных лимфатических узлов. На момент включения в исследование пациенты наблюдались в клинике на протяжении минимум 4 лет. Большая часть пациентов (78%) никогда не курили. 40 пациентов указывали на наличие вредных факторов в профессиональном анамнезе или хобби. Семейный анамнез саркоидоза отмечался у 3 пациентов. У 60 пациентов течение заболевания было благоприятным, у 40 – неблагоприятным (из них у 9 больных отмечалось прогрессирующее течение, у 31 – рецидивирующее). Основные характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристики пациентов, включенных в исследование

Table 1.

Characteristics of patients enrolled in the study

Признак	Группа благоприятного течения, N=60	Группа неблагоприятного течения, N=40	P*
Возраст (годы), M±σ	48±13	52±12	0,202
Дебют заболевания (годы), M±σ	41±12	42±11	0,788
Вес (кг), M±σ	82±17	79±19	0,456

Признак	Группа благоприятного течения, N=60	Группа неблагоприятного течения, N=40	P*
Рост (м), M±σ	1,71±0,10	1,68±0,10	0,122
ИМТ (кг/м ²), M±σ	27,96±5,5	28,17±6,9	0,868
Пол (мужской), n (%)	25 (41,7%)	13 (32,5%)	0,405
Пол (женский), n (%)	35 (58,3%)	27 (67,5%)	
Наличие профессиональных вредностей в анамнезе, n (%)	25 (41,7%)	15 (31,5%)	0,15
Отсутствие курения в анамнезе, n (%)	46 (76,7%)	32 (80,0%)	0,932
Индекс курильщика (пачка/лет), Me (25-75)	6,3 (5,0-12,0)	7,5 (5,3-17,0)	0,630
Семейный анамнез саркоидоза, n (%)	1 (1,7%)	2 (5,0%)	0,562

* Для качественных зависимых переменных сравнения частот между категориями тяжести течения заболевания выполняли посредством χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. Для количественных зависимых переменных сравнения осуществлялись при помощи t-критерия для несвязанных совокупностей (в случае несоответствия распределения переменной нормальному) – критерия Манна-Уитни.

По основным демографическим и конституциональным параметрам, по наличию профессиональных вредностей в анамнезе, анамнезу курения, семейному анамнезу саркоидоза значимых различий между группами выявлено не было.

Возраст, в котором дебютировало заболевание, составлял от 19 до 64 лет (42±12 лет). У 49 пациентов начало заболевания было бессимптомным, у 21 – острым с развитием синдрома Лефгрена, у остальных 30 пациентов на момент дебюта заболевания в клинической картине доминировали респираторные симптомы (кашель, одышка). При этом на момент постановки диагноза у 82% пациентов по данным рентгенологического исследования регистрировалась II стадия по Scadding, у 16% – Scadding I, Scadding III отмечалась у 2% пациентов. По клиническим характеристикам дебюта заболевания и рентгенологической стадии саркоидоза на момент постановки диагноза

достоверных различий между группами выявлено не было ($p=0,896$ и $p=0,644$ соответственно).

Секвенирование было проведено у 96 больных. Исследование аллелей HLA не выявило статистически значимых различий между группами в распределении частот аллелей локусов HLA-A, HLA-B, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DRB2, HLA-DRB7, HLA-DRB8, HLA-DRB9, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-J, HLA-K, HLA-L, HLA-V. Статистически значимые отличия между группами были выявлены по локусам HLA DPB1 ($p=0,023$) и HLA DRB4 ($p=0,013$). Также нами была отмечена тенденция к наличию различий между группами по локусам HLA-C, HLA-DRB3, HLA-DRB5, HLA-DRB6. Статистически значимые различия между группами установлены по носительству аллелей HLA-A*24:02, HLA-B*41:02, HLA-C*05:01, HLA-C*17:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*14:54, HLA-DQA1*01:04, HLA-DQB1*05:03, HLA-DPB1*105:01, HLA-DPB1*104:01, HLA-DRB4*01:01 (таблица 2).

Таблица 2.

Ассоциации генотипов HLA с течением саркоидоза легких

Table 2.

Associations of HLA genotypes with the course of pulmonary sarcoidosis

Аллель HLA	Группа благоприятного течения	Группа неблагоприятного течения	p	ОШ (95%ДИ)
HLA-A*24:02, n (%)	4 (3,5)	9 (12,2)	0,022	3,808 (1,127 – 12,859)
HLA-B*41:02, n (%)	6 (5,3)	-	0,045	0,947 (0,907-0,989)
HLA-C*05:01, n (%)	-	3 (3,9)	0,031	1,041 (0,995-1,090)
HLA-C*17:01, n (%)	7 (6,0)	-	0,029	0,940 (0,897-0,984)
HLA-DRB1*12:01, n (%)	-	3 (4,1)	0,030	1,042 (0,995-1,092)
HLA-DRB1*14:54, n (%)	2 (1,8)	6 (8,1)	0,035	4,941 (0,970-25,179)
HLA-DQA1*01:04, n (%)	2 (1,8)	8 (10,8)	0,008	6,545 (1,349-31,761)
HLA-DQB1*05:03, n (%)	2 (1,8)	8 (10,8)	0,007	6,788 (1,399-32,924)
HLA-DPB1*104:01, n (%)	14 (12,1)	2 (2,7)	0,023	0,202 (0,045-0,918)
HLA-DPB1*105:01, n (%)	-	3 (4,1)	0,029	1,042 (0,995-1,092)
HLA-DRB4*01:01, n (%)	7 (15,2)	1 (2,6)	0,050	0,151 (0,018-1,284)

Хотя связь острого саркоидоза с HLA-B8 была установлена достаточно давно [11], локусы HLA I класса (HLA-A, -B, -C) редко упоминаются в литературе, как ассоциированные с саркоидозом, как правило, либо в контексте неравновесного сцепления с HLA II класса, либо в контексте иммунного ответа на микобактериальную инфекцию [12, 13]. В ходе нашего исследования нами выявлены новые варианты, связанные с неблагоприятным течением саркоидоза в изучаемой популяции,

такие как HLA-A*24:02, HLA-C*05:01. Носительство аллелей HLA-B*41:02, HLA-C*17:01 по нашим данным связано с благоприятным течением саркоидного процесса.

Большинство описанных в литературе вариантов HLA, ассоциированных с саркоидозом, относится ко II классу HLA. По данным Levin et al. аллель HLA-DRB1*12:01 ассоциируется с более высоким риском возникновения саркоидоза у афроамериканцев [14]. Результаты нашего исследования также позволяют

установить клинико-диагностическую ценность носительства HLA-DRB1*12:01 в отношении неблагоприятного течения заболевания. По данным ряда авторов аллели группы HLA-DRB1*14 (к которым относится HLA-DRB1*14:54) описаны как фактор риска возникновения саркоидоза [15], также носительство указанных аллелей связано с прогрессирующим течением заболевания [16]. В турецкой популяции эти аллели ассоциируются с внелегочными проявлениями саркоидоза [17]. По данным исследователей из Кореи аллель HLA-DRB1*14:54 связан с более высоким риском развития саркоидоза [18]. При изучении течения саркоидного процесса нами была выявлена прогностически неблагоприятная значимость носительства аллеля HLA-DRB1*14:54. У носителей аллеля HLA-DRB4*01:01 течение заболевания чаще было благоприятным.

Локус HLA-DQA1 практически не описан в ассоциации с саркоидозом. По литературным данным аллели HLA-DQA1*01:04 обсуждается в связи с саркоидозом внелегочной локализации у корейских пациентов [18]. По результатам нашего исследования аллель HLA-DQA1*01:04 ассоциировался с неблагоприятным течением саркоидоза. Больше литературных данных имеется по локусу HLA-DQB1. По данным Sikorova et al. носительство аллеля HLA-DQB1*05:03 рассматривается как фактор риска развития саркоидоза в корейской популяции [18]. Также носительство данного аллеля упоминается как фактор риска развития миастении гравис у населения Испании [19]. В ходе исследова-

ния нами было установлено, что у носителей аллеля HLA-DPB1*105:01 заболевание характеризуется неблагоприятным течением, что согласуется с данными литературы, где указывается на значимую роль аллеля HLA-DPB1*105:01 в развитии сочетания туберкулеза и саркоидоза у афроамериканцев [20]. Носительство аллеля HLA-DPB1*104:01 по нашим данным являлось прогностически благоприятным фактором.

Таким образом, при изучении аллелей HLA нами установлено, что в группе больных-носителей аллелей HLA-A*24:02, HLA-C*05:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*14:54, HLA-DQA1*01:04, HLA-DQB1*05:03, HLA-DPB1*105:01 чаще определялось рецидивирующее и прогрессирующее течение заболевания. В то время как у носителей аллелей HLA-B*41:02, HLA-C*17:01, HLA-DPB1*104:01, HLA-DRB4*01:01 течение заболевания чаще было благоприятным.

В ходе полногеномного исследования особое внимание уделялось распределению частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов системы HLA, генов ACE, TLR1, TLR2, TLR4, TLR9, TLR10, CFTR, CD40, CD80, CD86, CR1, TNF, HSPA1L, XAF1, CARD15/NOD2, CCR2, CCR5, VDR, NFKB1, NFKBIA, NOTCH4, SLC11A1, AGTR1, BTNL2, VEGFA, IL1A, IL10, IL18, IL23A, IL23R, TGFB1, TGFB3, ANXA11, TWF2, OS9, HNRNPUL1, LTA. На рисунке 1 представлен общий вид ассоциации изученных полиморфных маркеров с неблагоприятным течением; несколько маркеров показали превышение порогового уровня значимости.

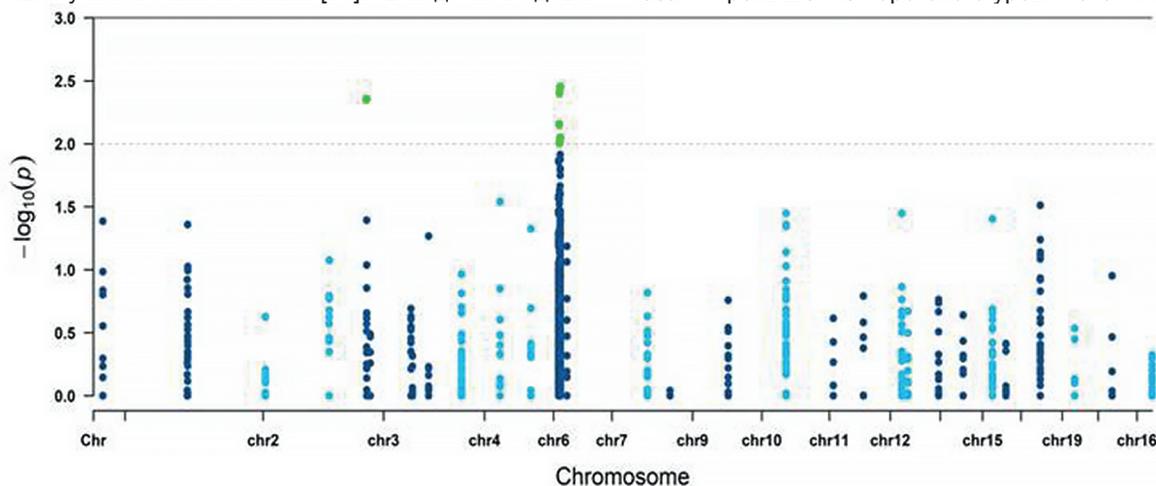


Рисунок 1. Манхэттенский график результатов GWAS
Figure 1. The Manhattan plot of GWAS results

Значимые ассоциации с неблагоприятным течением саркоидоза показаны для блоков сцепления, локализованных в 3 и 6 хромосомах: регион 6p21.32-6p21.33, что согласуется с результатами проведенных

к настоящему времени полногеномных исследований [21, 22, 23], а также регион 3p21.31. Информация о специфических генах, расположенных в описанных блоках сцепления, представлена в таблице 5.

Таблица 3.

Гены, расположенные в регионах 6p21.32-6p21.33 и 3p21.31

Table 3.

Genes located in the regions 6p21.32-6p21.33 and 3p21.31

Chr 6	HLA-DQB1 NM_002123.5:c.703G>A p.Val235Ile
Chr 6	HLA-C NM_002117.6:c.895+37A>G
Chr 6	HLA-B NM_005514.8:c.620-40A>G
Chr 6	HLA-B NM_005514.8:c.344-10C>G
Chr 6	HLA DRB1-HLA-DQA1 n.32628264_32628265insAGA
Chr 3	CCR5 NM_000579.3:c.-448G>A

Анализ распределения частот аллелей и генотипов вариантов генов HLA выявил ассоциацию с

неблагоприятным течением у носителей генотипов: HLA-DQB1 NM_002123.5:c.703G>A p.Val235Ile, HLA-C

NM_002117.6:c.895+37A>G, HLA-BNM_005514.8:c.620-40A>G, HLA-B NM_005514.8:c.344-10C>G, HLA DRB1-HLA-DQA1 n.32628264_32628265insAGA, что подтверждается изучением аллелей HLA.

Также достоверные различия между группами благоприятного и неблагоприятного течения выявлены в ходе анализа частот аллелей и генотипов варианта гена CCR5. Хемокиновый рецептор CCR5 представляет собой трансмембранный белок, размещающийся преимущественно на поверхности активированных лимфоцитов (макрофагов), дендритных клеток и Т-лимфоцитов [24]. Функция рецептора заключается в участии в активации иммунокомпетентных клеток посредством связывания хемокиновых лигандов макрофагальных воспалительных белков, моноцитарных хемотаксических белков, а также в миграции иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления. [25]. Известно о более чем 20 мутациях и полиморфизмах гена CCR5. Полиморфизм гена CCR5 хорошо изучен при ВИЧ-инфекции [26]. Есть данные по ассоциации полиморфизма гена CCR5 с раком легкого, внебольничной пневмонией, бронхиальной астмой [27]. Известно, что HNC-варианты гаплотипа CCR5 связаны с развитием синдрома Лефгрена среди больных саркоидозом немцев, особенно среди женщин [28]. Связь между однонуклеотидными полиморфизмами CCR5 и риском развития саркоидоза не была доказана. В тоже время четырехлетнее наблюдение

за больными саркоидозом в Великобритании и Голландии установило ассоциацию между гаплотипами HNC (-5663A, -3900C, -3458T, -2459G, -2135T, -2086G, -1835C, D32wt) и тяжестью поражения легких (по данным рентгенологического и функционального тестирования) в этих когортах [29]. Исследование в чешской популяции больных саркоидозом, выявило связь между тяжестью течения саркоидоза (следовательно, необходимостью в иммуносупрессивной терапии) и нулевым аллелем CCR5D32 [30]. По нашим данным у носителей генотипа CCR5 NM_000579.3:c.-448G>A отмечается низкая эффективность проводимой терапии, тенденция к рецидивированию саркоидного процесса. Ассоциаций других исследованных полиморфных вариантов генов нами выявлено не было.

В дальнейшем нами был выполнен анализ ассоциаций гаплотипов однонуклеотидных маркеров, локализованных в генах, связанных с неблагоприятным течением саркоидоза, и некоторых клинико-функциональных параметров.

Так, значимые ассоциации получены для снижения уровня DLCO в дебюте заболевания и вариантов HLA-DRB1 NM_002124.3:c.370+11C>T, HLA-DQB1 NM_002123.5:c.380-3C>T, HLA-DQB1 NM_002123.5:c.*386G>A, HLA-A NM_002116.8:c.829G>C p.Glu277Gln и HLA-A NM_002116.8:c.808G>T p.Ala270Ser (рисунок 2).

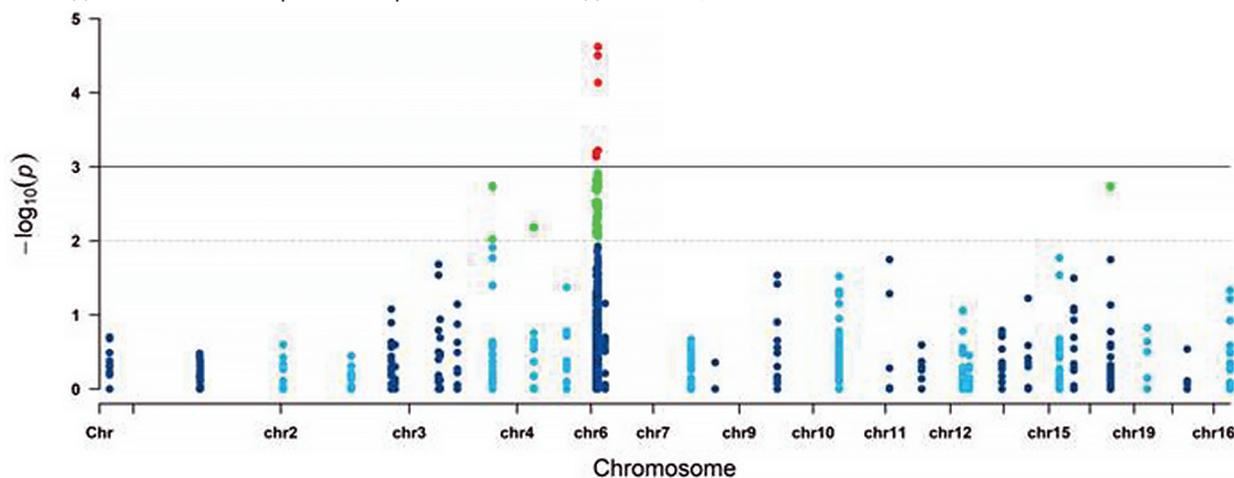


Рисунок 2. Манхэттенский график ассоциаций между генетическими вариантами и DLCO
Figure 2. Manhattan plot of genome-wide association results for DLCO

Интерес представляет наличие значимых ассоциаций между гиперкальциурией в дебюте и

вариантом гена ACE NM_000789.4:c.418-70C>G (рисунок 3).

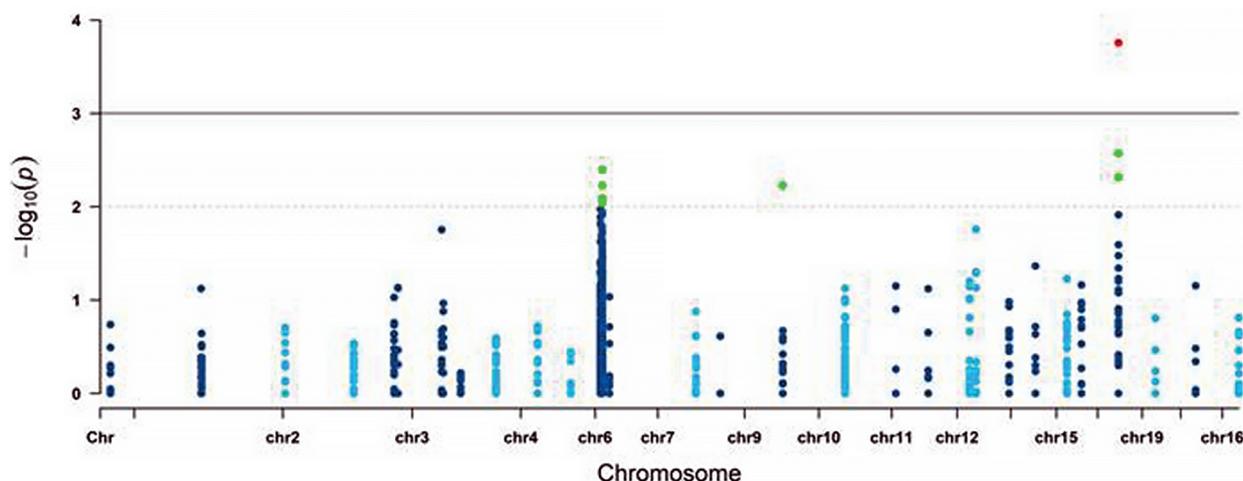


Рисунок 3. Манхэттенский график результатов GWAS-анализа для гиперкальциурии на момент постановки диагноза
Figure 3. Manhattan plot of genome-wide association results for hypercalcaemia at initial evaluation

При этом ассоциации анализируемых гаплотипов с повышением уровня АПФ выявлены не были, что может быть обусловлено небольшим объемом выборки.

Наиболее обширные ассоциации были выявлены для гиперкальциемии в дебюте заболевания и наличием семейного саркоидоза в анамнезе (рисунок 4,5 соответственно).

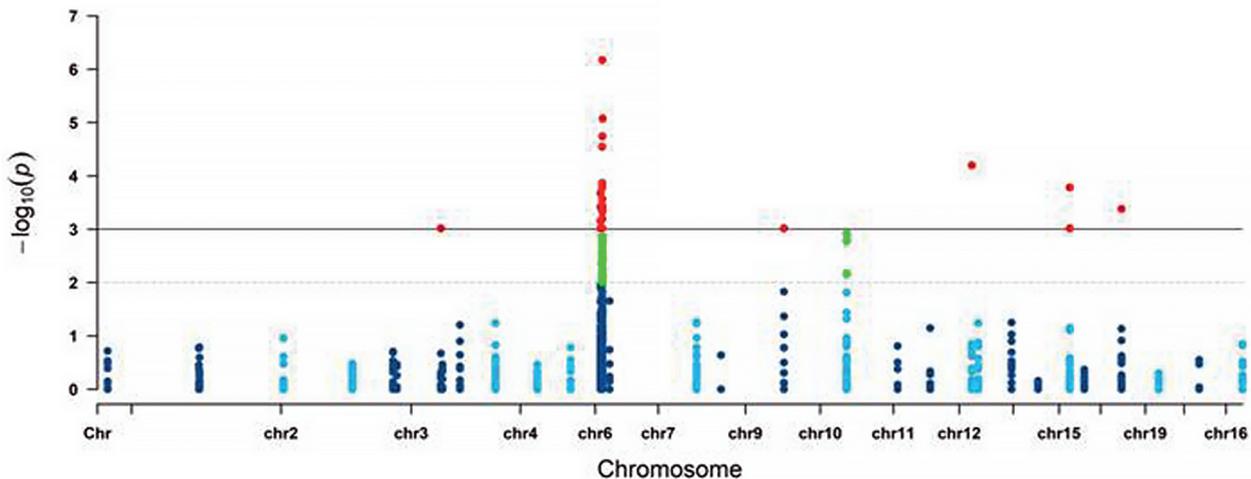


Рисунок 4. Манхэттенский график результатов GWAS-анализа для гиперкальциемии на момент постановки диагноза
Figure 4. Manhattan plot of genome-wide association results for hypercalcemia at initial evaluation

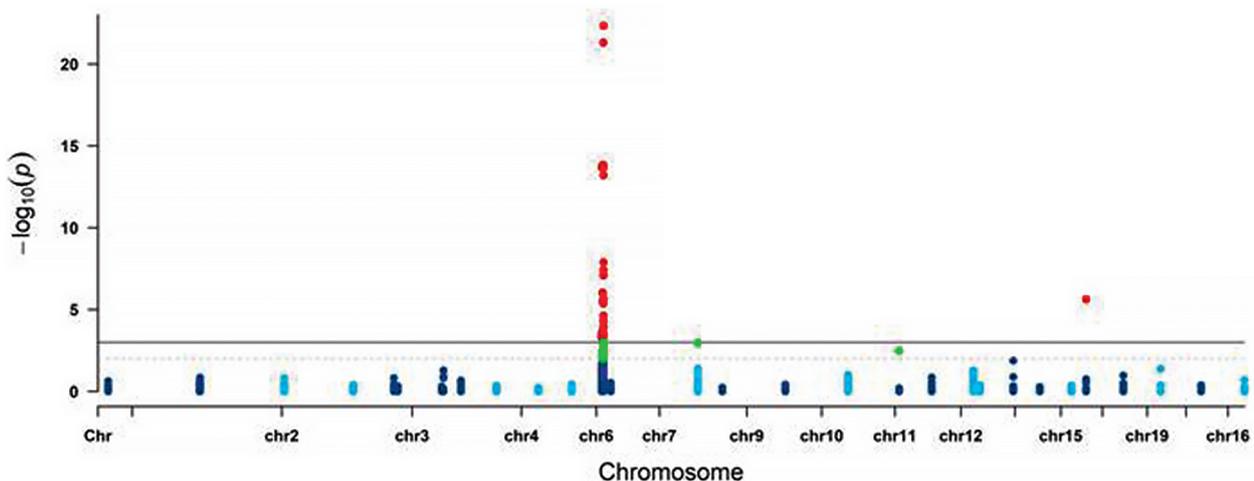


Рисунок 5. Манхэттенский график результатов GWAS-анализа для семейного саркоидоза
Figure 5. Manhattan plot of genome-wide association results for familial sarcoidosis cases

Важно отметить, что обнаруженные варианты не являются сами по себе причинами исследуемых состояний; они скорее указывают на генетические локусы, которые ассоциированы с различными фенотипами.

Заключение. Прогностически неблагоприятным является носительство аллелей генов HLA-A*24:02, HLA-C*05:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*14:54, HLA-DQA1*01:04, HLA-DQB1*05:03, HLA-DPB1*105:01 у пациентов саркоидозом в российской популяции. Прогностически благоприятным является носительство аллелей HLA-B*41:02, HLA-C*17:01, HLA-DPB1*104:01, HLA-DRB4*01:01

Анализ распределения частот аллелей и генотипов вариантов генов HLA выявил ассоциацию с неблагоприятным течением у носителей генотипов: HLA-DQB1 NM_002123.5:c.703G>A p.Val235Ile, HLA-C NM_002117.6:c.895+37A>G, HLA-BNM_005514.8:c.620-40A>G, HLA-B NM_005514.8:c.344-10C>G, HLA DRB1-HLA-DQA1 n.32628264_32628265insAGA. У носителей генотипа CCR5 NM_000579.3:c.-448G>A отмечается низкая эффективность проводимой терапии, тенденция к рецидивированию саркоидного процесса.

Таким образом, анализируя выявленные нами генетические маркеры, можно оценить риски прогрессирования или рецидивирования саркоидоза легких уже на этапе первичной постановки диагноза, что может быть особенно важным у пациентов, у которых отсутствуют другие клинические и лабораторные предикторы неблагоприятного течения болезни.

Однако, у нашего исследования имеется ряд ограничений. Во-первых, это его ретроспективный характер, вследствие чего некоторые из лабораторных или инструментальных данных, относящиеся к дебюту заболевания, были недоступны, в особенности у пациентов с благоприятным течением заболевания. Во-вторых, из-за небольшого числа пациентов, включенных в исследование, некоторые из наблюдаемых ассоциаций между аллелями HLA и различными вариантами течения саркоидоза, могли возникнуть случайно. В-третьих, использование в качестве контроля не реальной контрольной группы, а базы данных заставляет нас с осторожностью трактовать полученные результаты. Однако, несмотря на имеющиеся ограничения, представленные здесь результаты мо-

гут служить основой для будущих более масштабных проспективных исследований с целевым секвенированием генов регионов, выявленных в нашей работе.

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 и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Литература/References.

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р. и др. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по диагностике и лечению саркоидоза // М-во здравоохранения Российской Федерации, Российское респираторное общество, Общероссийское педиатрическое респираторное общество, Российское научное медицинское общество терапевтов. Москва, 2019. — 47 с. [Chuchalin AG, Avdeev SN, Ajsanov ZR i dr. Federal'nye klinicheskie rekomendacii Rossijskogo respiratornogo obshchestva po diagnostike i lecheniyu sarkoidoza [Russian respiratory society. Federal guidelines on diagnosis and treatment of sarcoidosis] // M-vo zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii, Rossijskoe respiratornoe obshchestvo, Obshcherossijskoe pediatricheskoe respiratornoe obshchestvo, Rossijskoe nauchnoe medicinskoje obshchestvo terapevtov. Moskva [Ministry of Health of the Russian Federation, Russian Respiratory Society, Russian Pediatric Respiratory Society, Russian Scientific Medical Society of Therapists. Moscow]. 2019. — 47. (in Rus)].
2. Sverrild A, Backer V, Kyvik KO, et al. Heredity in sarcoidosis: a registry-based twin study. *Thorax*. 2008; 63(10): 894–896. DOI: 10.1136/thx.2007.094060
3. Valeyre D, Prasse A, Nuns H, et al. Sarcoidosis. *Lancet*. 2014; 383: 1155–1167. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60680-7
4. Визель А.А., Визель И.Ю., Амиров Н.Б. и др. Саркоидоз в материалах Европейского (Париж) и Российского (Москва) респираторных конгрессов 2018 года. Вестник современной клинической медицины. 2019; 12 (1): 85–98. [Vizel' AA, Vizel' IYu, Amirov NB i dr. Sarkoidoz v materialah Evropejskogo (Parizh) i Rossijskogo (Moskva) respiratornyh kongressov 2018 goda [Sarcoidosis in the proceedings of European (Paris) and Russian (Moscow) respiratory congresses from 2018]. *Vestnik sovremennoj klinicheskoj mediciny [VSKM]*. 2019; 12 (1): 85–98. (in Rus)]. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(1).85-98
5. Iannuzzi MC, Rybicki BA, Teirstein AS. Sarcoidosis. *N Engl J Med*. 2007; 357(21): 2153–2165. DOI: 10.1056/NEJMr071714
6. Визель А.А., Визель И.Ю., Амиров Н.Б. Эпидемиология саркоидоза в Российской Федерации. Вестник современной клинической медицины. 2017; 10 (5): 66–73. [Vizel' AA, Vizel' IYu, Amirov NB. Epidemiologiya sarkoidoza v Rossijskoj Federacii [Epidemiology of sarcoidosis in the Russian Federation]. *Vestnik sovremennoj klinicheskoj mediciny [VSKM]*. 2017; 10 (5): 66–73. (in Rus)]. DOI: 10.20969/VSKM.2017.10(5).66-73
7. Нашатырева М.С., Трофименко И.Н., Черняк Б.С. Структура и клиническая характеристика интерстициальных заболеваний легких по данным регистра (Иркутск). *Пульмонология*. 2017; 27(6): 740–747. [Nashatyreva MC, Trofimenko IN, Chernyak BA. Struktura i klinicheskaya harakteristika intersticial'nyh zabozevanij legkih po dannym registra (Irkutsk) [Clinical features of interstitial lung diseases according to data from the Irkutsk Register]. *Pul'monologiya [Pulmonology]*. 2017; 27(6): 740–747. (In Rus.)]. DOI.org/10.18093/0869-0189-2017-27-6-740-747
8. Шакирова Г.Р., Гизатуллина Э.Д. Интерстициальные и диссеминированные заболевания в реальной клинической практике пульмонолога / XXVIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. тр. конгр. / под ред. акад. А.Г. Чучалина. — М.: ДизайнПресс, 2018. — Реф. 96. — С.8. [Shakirova GR, Gizatullina ED. Interstitial'nye i disseminirovannye zabozevaniya v real'noj klinicheskoy praktike pul'monologa / XXVIII Nacional'nyj kongress po boleznyam organov dyhaniya: sb. tr. kongr. / pod red. akad. AG Chuchalina. [Interstitial and disseminated lung diseases in the pulmonologist's real clinical practice / XXVIII National Congress on Respiratory Diseases: sat. tr. congr. / ed. akad. A.G. Chuchalin]. M.: DizajnPress [M.: DesignPress]. 2018; Ref. 96: 8. (in Rus)].
9. Belperio JA, Shaikh F, Abtin FG, et al. Diagnosis and Treatment of Pulmonary Sarcoidosis: A Review. *JAMA*. 2022; 327(9): 856–867. DOI:10.1001/jama.2022.1570
10. Chebbi D, Marzouk S, Snoussi M, et al. Pure extrathoracic sarcoidosis: about 24 cases. *Rom J Intern Med*. 2021; 59(3): 312–317. DOI: 10.2478/rjim-2021-0012
11. Brewerton DA, Cockburn C, James DC, et al. HLA antigens in sarcoidosis. *Clin Exp Immunol*. 1977; 27(2): 227–229. PMID: 849654; PMCID: PMC1540783
12. Rybicki BA, Iannuzzi MC. Sarcoidosis and human leukocyte antigen class I and II genes: It takes two to tango? *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2004; 169(6): 665–666. DOI: 10.1164/rccm.2401005
13. Tarasidis A, Arce S. Immune response biomarkers as indicators of sarcoidosis presence, prognosis, and possible treatment: An Immunopathogenic perspective. *Autoimmun Rev*. 2020; 19(3): 102462. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102462
14. Levin AM, Adrianto I, Datta I, et al. Association of HLA-DRB1 with Sarcoidosis Susceptibility and Progression in African Americans. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2015; 53(2): 206–216. DOI: 10.1165/rcmb.2014-0227OC
15. Sato H, Woodhead FA, Ahmad T, et al. Sarcoidosis HLA class II genotyping distinguishes differences of clinical phenotype across ethnic groups. *Hum Mol Genet*. 2010; 19(20): 4100–4111. DOI: 10.1093/hmg/ddq325
16. Grunewald J, Idali F, Kockum I, et al. Major histocompatibility complex class II transactivator gene polymorphism: associations with Löfgren's syndrome. *Tissue Antigens*. 2010; 76(2): 96–101. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2010.01476.x
17. Esendagli D, Ozmen F, Koksall D, et al. Association of class II human leukocyte antigen (HLA) alleles with pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2018; 35(2): 143–149. DOI: 10.36141/svdl.v35i2.6455

18. Sikorová K, Moon SJ, Yoon HY, et al. HLA class II variants defined by next generation sequencing are associated with sarcoidosis in Korean patients. *Sci Rep* 2022; 12, 9302. DOI.org/10.1038/s41598-022-13199-w
19. Salvado M, Caro JL, Garcia C, et al. HLA-DQB1*05:02, *05:03, and *03:01 alleles as risk factors for myasthenia gravis in a Spanish cohort. *Neurol Sci.* 2022 6. DOI: 10.1007/s10072-022-06102-y
20. Dawkins BA, Garman L, Cejda N, et al. Novel HLA associations with outcomes of Mycobacterium tuberculosis exposure and sarcoidosis in individuals of African ancestry using nearest-neighbor feature selection. *Genet Epidemiol.* 2022. DOI: 10.1002/gepi.22490. Epub ahead of print
21. Fischer A, Nothnagel M, Schürmann M, et al. A genome-wide linkage analysis in 181 German sarcoidosis families using clustered biallelic markers. *Chest.* 2010; 138(1): 151-157. DOI: 10.1378/chest.09-2526
22. Iannuzzi MC, Fontana JR. Sarcoidosis: clinical presentation, immunopathogenesis, and therapeutics. *JAMA.* 2011; 305(4): 391-399. DOI: 10.1001/jama.2011.10
23. Schürmann M, Reichel P, Müller-Myhsok B, et al. Results from a genome-wide search for predisposing genes in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164(5): 840-846. DOI: 10.1164/ajrccm.164.5.2007056
24. Samson M, Labbe O, Mollereau C, et al. Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. *Biochemistry.* 1996; 35(11): 3362-3367. DOI: 10.1021/bi952950g
25. Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, et al. CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science.* 1996; 272(5270): 1955-1958. DOI: 10.1126/science.272.5270.1955
26. Dean M, Carrington M, Winkler C, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study. *Science.* 1996; 273(5283): 1856-1862. DOI: 10.1126/science.273.5283.1856
27. Васильева М.В. Генетические и иммунологические параллели у больных раком легкого и бронхиальной астмой. / М.В. Васильева: дис. ... канд. мед.наук: 14.00.14: Томск, 2006 – С. 152. [Vasil'eva MV Geneticheskie i immunologicheskie paralleli u bol'nyh rakom legkogo i bronhial'noj astmoj [Genetic and immunological parallels in patients with lung cancer and asthma]. / MV Vasil'eva: dis. ... kand.med.nauk: 14.00.14: Tomsk [Tomsk], 2006 – P. 152 (In Russ.).]
28. Fischer A, Valentonyte R, Nebel A, et al. Female-specific association of C-C chemokine receptor 5 gene polymorphisms with Löfgren's syndrome. *J Mol Med (Berl).* 2008; 86(5): 553-561. DOI: 10.1007/s00109-008-0315-5
29. Spagnolo P, Renzoni EA, Wells AU, et al. C-C chemokine receptor 5 gene variants in relation to lung disease in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(6): 721-728. DOI: 10.1164/rccm.200412-1707OC
30. Petrek M, Drábek J, Kolek V, et al. CC chemokine receptor gene polymorphisms in Czech patients with pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162(3 Pt 1): 1000-1003. DOI: 10.1164/ajrccm.162.3.2001022