

PREVENTION OF VENOUS THROMBOEMBOLIC EVENTS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND OSTEOARTHRITIS IN TOTAL JOINT ARTHROPLASTY OF THE LOWER EXTREMITIES (PROSPECTIVE STUDY)

Rybnikov A.V., Byalik E.I., Reshetnyak T.M., Makarov S.A., Makarov M.A., Pavlov V.P., Khramov A.E.

V.A.Nasonova Scientific and Research Institute of Rheumatology (FSBSI "V.A.Nasonova SRI R"), Moscow, Russian Federation

Introduction/objective. In this study, we analyzed incidences of VTE in patients with rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) after total large knee or hip arthroplasty, compared regimens of drug prevention of these complications and evaluated their efficiency.

Materials and methods. We studied 370 patients. Of these, 131 patients with RA (35.4%) and 239 patients with OA (64.6%). For a comparative analysis of the effectiveness of anticoagulant therapy, each patient group was divided into 4 subgroups by type of drug therapy (Subgroup 1 – nadroparin calcium, Subgroup 2 – dabigatran etexilate; Subgroup 3 – nadroparin calcium with transfer to dabigatran etexilate; Subgroup 4 – without medication).

Results/discussion. VTEs were reported in 16 (4.3%) patients, of these 2 (0.5%) with RA and 14

(3.8%) with OA. In both RA patients, distal deep vein thrombosis developed. The first patient with RA received dabigatran etexilate. DVT of the lower limbs developed on Day 15 after total hip joint endoprosthesis replacement. The second patient with RA from Subgroup 4 of DVT patients was diagnosed 3 months after surgery. Of 16 cases of VTE, 10 (62.5%) were asymptomatic and 6 (37.5%) with development of clinical and laboratory symptomatic pattern. Both cases of thrombosis in the group with RA were asymptomatic. No-one had lethal bleeding which confirmed AK effectiveness. Major bleeding was documented in 6 (1.6%) patients with OA and 2 (0.5%) patients with RA.

Conclusions. Incidence of VTE in patients with RA, despite the large number of risk factors, under the comparable conditions, is significantly lower as compared to those with OA. The number of asymptomatic deep vein thrombosis prevails over the development of clinical and laboratory complex of symptoms in both groups. In patients with RA and OA who received monotherapy with nadroparin calcium or dabigatran etexilate, cases of VTE were reported. Combined drug VTE prevention in patients with RA and OA was more effective and safe, no cases of VTE were registered.

Keywords: venous thromboembolic complications, rheumatoid arthritis, endoprosthesis replacement.

ПОЛИМОРФНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНА $TNF\alpha$ У ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

¹Н.В.Савина, ¹Н.В.Никитченко, ²Т.А.Глушкова, ²Е.В.Сечко, ²А.М.Чичко, ²А.В.Сукало, ¹Р.И.Гончарова

¹ Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г.Минск, Республика Беларусь

² УО «Белорусский государственный медицинский университет», г.Минск, Республика Беларусь

Частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов -308G>A и -238G>A гена $TNF\alpha$ у белорусских детей близки распределению частот в европейских популяциях. Для группы детей, страдающих ювенильным идиопатическим артритом (80 пациентов), не показано ассоциаций между частотой встречаемости рискованных аллелей -308A и -238A и этим заболеванием.

Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), ген фактора некроза опухолей $TNF\alpha$, полиморфный локус -238G>A, полиморфный локус -308G>A.

Введение. Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) является многофакторным заболеванием, возникающим под воздействием генетических и средовых факторов, этиология и патогенез которого во многом не выяснены [1]. В литературе приводится большое количество сведений об ассоциации различных генов с ЮИА, при этом вклад генов HLA-комплекса (Human Leucocyte Antigen) в генетическую природу этого заболевания многими авторами оценивается на уровне 13–17% [2] и, следовательно, основная часть генетических факторов риска ЮИА определяется вариациями других генов.

Увеличенная продукция провоспалительного цитокина фактора некроза опухолей α (ФНО- α) в крови и синовиальной жидкости пациентов с ЮИА, корреляция тяжести заболевания с его уровнем, а также положительные результаты лечения детей с ЮИА антицитокиновой терапией убедительно свидетельствуют о сильной вовлеченности гена *TNF α* в патогенез ЮИА. С другой стороны, известно, что различные типы изменчивости гена *TNF α* могут изменять структуру или экспрессию цитокина ФНО- α и оказывать влияние на риск возникновения и клиническое течение заболевания, а также на эффективность медикаментозного лечения [3].

Рядом авторов доказана рискованная значимость полиморфных аллелей -308A и -238A с возникновением и развитием заболевания, в том числе и с некоторыми его подтипами [3–6], в других работах таких эффектов не выявлено [3, 7].

Нами проводится исследование молекулярно-генетической компоненты ЮИА на выборке бело-

русских пациентов. Целью данной работы является изучение частоты распространения полиморфизмов -308G>A и -238G>A гена *TNF α* в детской популяции Беларуси, а также выяснение ассоциаций между изученными полиморфизмами и заболеванием.

Материалы и методы исследования. На базе кардиологического отделения УО «2-я ГДКБ» г.Минска сформированы три группы детей в возрасте от 1-16 лет: 1) группа детей с диагнозом ЮИА согласно критериям Международной лиги ревматологических ассоциаций, ILAR (80 пациентов), 2) группа детей с суставным синдромом (СС) – с поражением суставов, не ассоциированным с аутоиммунной патологией (80 пациентов), 3) контрольную группу составили дети без суставного синдрома, аутоиммунных и воспалительных заболеваний (159 человек). Получено одобрение этического комитета по проведению данного исследования, от всех пациентов также получено информированное согласие. ДНК из периферической крови детей выделена методом фенол-хлороформной экстракции. В качестве стандартного метода выявления аллельных полиморфизмов гена *TNF α* -308G>A и -238G>A применяли ПЦР-ПДФ. Для статистической обработки данных использован пакет стандартных программ Excel 2000. Данные по распределению частот генотипов проверены на соответствие закону Харди-Вайнберга. Для выявления различий в частотах генотипов/аллелей пациентов с ЮИА по сравнению с другими группами использовали точный критерий Фишера.

Распределение генотипов и аллелей гена *TNF α* -308 и -238G>A в группах обследования

Генотип/ аллель	ЮИА (n =80)		Суставной синдром (n =80)		Контроль (n =159)	
	n	частота, %	n	частота, %	n	частота, %
rs1800629 (-308G>A)						
-308 GG	67	84	64	80	125	79
-308 GA	13	16	15	19	34	21
-308 AA	0	0	1	1	0	0
-308 G	147	92	143	89	284	89
-308 A	13	8	17	11	34	11
rs361525 (-238G>A)						
-238 GG	78	98	70	88	145	92
-238 GA	2	2*	9	11*	13	8
-238 AA	0	0	1	1	0	0
-238 G	158	99	149	93	303	96
-238 A	2	1*	11	7*	13	4

* – статистически значимые различия между частотами распределения генотипов и аллелей при сравнении в группах ЮИА и СС (точный критерий Фишера при сравнении генотипов равен 0.032 при P<0,05; точный критерий Фишера при сравнении аллелей равен 0.019 при P<0,05).

Результаты и обсуждение. Среди обследованных пациентов с диагнозом ЮИА преобладали девочки (69%), средний возраст пациентов составил $8,69 \pm 5,06$ лет. Средний возраст, половое соотношение в группе детей с СС соответствовали группе детей с ЮИА. В контрольной группе средний возраст был выше - $14,08 \pm 2,65$ лет.

Результаты генотипирования ДНК всех пациентов по полиморфизмам -308G>A и -238G>A гена *TNFA* представлены в таблице. Отклонения частот генотипов изученных полиморфизмов от равновесия Харди-Вайнберга не выявлено.

Во всех группах частота встречаемости «дикого» гомозиготного генотипа -308 GG находилась в диапазоне 79–84%; частота встречаемости -308 GA составила 16% в группе ЮИА, 19% у детей с суставным синдромом и 21% в группе контроля. Гомозиготный мутантный генотип -308 AA на данном этапе исследований выявлен только в одном случае в группе детей с суставным синдромом. При сравнении частот генотипов -308G>A и частот встречаемости полиморфных аллелей -308G и -308A между исследованными группами статистических различий не выявлено. Обращает на себя внимание низкая частота аллеля -308A в общей когорте белорусских детей (8–11%) и, соответственно, низкая частота его гетерозиготного носительства.

Полученные результаты согласуются с данными о распределении частот этих полиморфизмов в европейских популяциях: по данным National Center for Biotechnology Information (NCBI) частота мутантного аллеля -308A находится в диапазоне 11–21% и, соответственно, аллеля -308G в пределах 79–89%, на долю гетерозигот -308 GA приходится 11–24% [8].

Характер распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -238G>A близок распределению -308G>A: преобладание «дикого» гомозиготного генотипа -238 GG (88–92%) в трех изученных выборках пациентов и низкая частота предполагаемого рискованного аллеля -238A (1–7%). Гомозиготный мутантный генотип -238 AA на данном этапе исследований также выявлен только в одном случае в группе детей с суставным синдромом.

Как видно из таблицы, распределение генотипов (-238 GG и -238 GA) в группе пациентов с ЮИА статистически значимо отличается от такового в группе СС ($p < 0,05$). Для частот встречаемости полиморфных аллелей -238G и -238A в этих группах также доказаны статистически достоверные отличия ($p < 0,05$). При сравнении частот распределения генотипов/аллелей локуса -238G>A

гена *TNFA* в группах ЮИА и контрольной группе статистических различий не выявлено (точный критерий Фишера равен 0,097 и 0,103 при $p > 0,05$, соответственно).

В литературе имеются противоречивые сведения о роли однонуклеотидных полиморфизмов -308G>A и -238G>A в риске возникновения и клиническом течении заболевания ЮИА. Так, метаанализ Lee Y.H. и соавт. не показал ассоциаций этих двух полиморфизмов с риском возникновения ЮИА для объединенной когорты, но продемонстрировал связь частоты встречаемости -308A аллеля с риском возникновения ЮИА в мексиканской популяции [7]. В работе Kaala M.J. и соавт. не была подтверждена ассоциация между полиморфизмом -308G>A и ЮИА в целом, но показана слабая связь рискованного аллеля A с системным вариантом ЮИА и артритом, сочетающимся с энтезитом [4]. В этой же работе, объединяющей исследования восьми европейских и одного американского автора, для полиморфного аллеля -238A показана ассоциация с ЮИА в целом, причем наиболее сильная связь была продемонстрирована с олигоартикулярным ЮИА.

Таким образом, общая картина относительно роли аллельной изменчивости гена *TNFA* для ЮИА указывает на имеющееся несоответствие между установленным вкладом провоспалительных цитокинов, в том числе цитокина *TNFA*, в патогенез заболевания и неоднозначными результатами оценки полиморфизма гена в качестве генетических маркеров.

Для объяснения этого несоответствия можно привлечь известную генетическую закономерность о дифференциальной экспрессии генов в различных генофондах. В этом случае логичным объяснением такого несоответствия может быть гипотеза Гончаровой Р.И. о том, что экспрессия гена *TNFA* и функциональная значимость образующегося протеина в значительной степени зависит не только от состояния рецепторов гена, но прежде всего от его взаимодействия с аллелями *HLA*-комплекса и другими генами цитокиновой сети. Так, известно, что аллель -308A гена *TNFA* строго ассоциирован с гаплотипом *HLA*-A1-B8 и DR3, который, в свою очередь, сам связан с высокой продукцией цитокина фактора некроза опухолей и развитием аутоиммунного заболевания [3]. Известно также, что наличие у пациентов большего количества аллелей риска *HLA*-комплекса обуславливает более ранний дебют ЮИА по сравнению с пациентами с уменьшенным количеством рискованных аллелей [3]. Результатом такого взаимодействия гена *TNFA* с рискованными аллелями

HLA-комплекса и генов цитокиновой сети будет очень большая гетерогенность генофондов пациентов с ЮИА и, соответственно, функциональной активности цитокина в одних и тех же этнических группах, которая и находит свое отражение в разнонаправленных результатах, полученных разными авторами.

Клинические аспекты проведенного исследования очевидны уже сейчас, поскольку для носителей аллеля -308A (дети с генотипами -308 GA/AA) установлены ассоциации с более высокой активностью заболевания и неблагоприятным прогнозом, а также с плохим ответом на терапию ингибиторами фактора некроза опухолей и лекарствами других классов, используемых для лечения ЮИА [3].

Заключение. Характер распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов гена *TNF α* (-308G>A и -238G>A) у белорусских пациентов, страдающих ЮИА и суставным синдромом, а также в контрольной группе детей аналогичен: 1) преобладание «диких» гомозиготных генотипов (-308 GG/-238 GG); 2) низкие частоты предполагаемых рисков аллелей (8-11% для аллеля -308A и 1-7% для аллеля -238A). Гетерозиготное носительство рисков аллеля -308A зарегистрировано у 16 % пациентов, страдающих ЮИА, а аллеля -238A – у 2% пациентов. Полученные результаты находятся в хорошем согласии с известными данными о распределении частот этих полиморфизмов в европейских популяциях. Частоты генотипов и аллелей локуса -308G>A в общей группе пациентов, страдающих ЮИА (80 детей), статистически значимо не отличались от частот генотипов и аллелей, зарегистрированных в группе детей с суставным синдромом и в группе госпитального контроля. Частоты встречаемости гетерозиготного генотипа 238 GA и рисков аллеля -238A статистически значимо отличались в группах пациентов с ЮИА и СС, при сравнении группы пациентов с ЮИА и контрольной группой таких различий выявлено не было.

ЛИТЕРАТУРА

1. Moncrieffe H. Genetics of JIA: New tools bring new approaches / H. Moncrieffe, S. Prahalad, S.D. Thompson // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2014. – Vol.26. – P. 579–584. doi:10.1097/BOR.0000000000000094.
2. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile

- idiopathic arthritis / A. Hinks [et al.]. // *Nature Genetics.* – 2013. – Vol. 45. – P. 664–669. doi:10.1038/ng.2614.
3. TNF- α Polymorphisms in Juvenile Idiopathic Arthritis: Which Potential Clinical Implications? / A. Scardapane [et al.]. // *Int. J. Rheumatol.* – 2012. – doi: 10.1155/2012/756291.
4. Meta-analysis confirms association between TNFA-G238A variant and JIA, and between PTPN22-C1858T variant and oligoarticular, RF-polyarticular and RF-positive polyarticular JIA / M.J. Kaalla [et al.]. // *Pediatr. Rheumatol. Online J.* – 2013. – Vol. 11:40. doi: 10.1186/1546-0096-11-40.
5. Tumour necrosis factor alpha G→A -238 and G→A -308 polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis / S. Ozen [et al.]. // *Rheumatology (Oxford).* – 2002. – Vol.41. – P.223-227.
6. TNF-a promoter gene polymorphisms in Spanish children with persistent oligoarticular and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis / C. Modesto [et al.]. // *Scand. J. Rheumatol.* – 2005. – Vol.34. – P.451–454.
7. Lee Y.H. TNF promoter -308 A/G and -238 A/G polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: a meta-analysis / Y.H. Lee, S.C. Bae, G.G. Song // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39. – P.8497–8503. doi: 10.1007/s11033-012-1704-y.
8. dbSNP Short Genetic Variation NCBI [Electronic resource] // NCBI, National Center for Biotechnology Information. – Mode of access: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800629. – Date of access: 04.04.2015.

POLYMORPHIC LOCI OF TNF α GENE IN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Savina N.V.¹, Nikitchenko N.V.¹, Glushkova T.A.², Sechko Ye.V.², Chichko A.M.², Sukalo A.V.², Goncharova R.I.¹

¹ Genetics and Cytology Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

² Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

The frequencies of genotypes and alleles of -308G>A and -238G>A polymorphic loci of TNF α gene in Belarusian children are similar to those in European populations. For children suffering from juvenile idiopathic arthritis (80 patients), associations between frequencies of -308A and -238A risk alleles and this disease were not found.

Keywords: juvenile idiopathic arthritis (JIA), TNF α tumor necrosis gene factor, polymorphic locus -238G>A, polymorphic locus -308G>A.