

На правах рукописи

Павлова Анастасия Александровна

**Особенности аллельного полиморфизма генов цитокинов у больных
множественной миеломой**

14.01.21 – гематология и переливание крови

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата биологических наук

Санкт-Петербург

2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России)

Научные руководители:

Бессмельцев Станислав Семенович доктор медицинских наук, профессор

Павлова Ирина Евгеньевна доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Калинина Наталья Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лабораторного отдела ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Зубаровская Людмила Степановна - доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела детской онкологии, гематологии и трансплантологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой, ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Новосибирск)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2016 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.074.01 при ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д.16)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института и на сайте ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России

Автореферат диссертации разослан «_____» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Татьяна Валентиновна Глазанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Множественная миелома (ММ) – наиболее часто встречающаяся форма парапротеинемических гемобластозов. Это заболевание отличается вариабельностью клинических проявлений, форм и вариантов течения, что обусловлено как особенностями клеток опухолевого клона, так и резистентностью организма индивидуума к развитию неоплазии [Черныш Н.Ю. и др., 2009]. В развитии множественной миеломы наряду с генетическими поломками и нарушениями нормального функционирования костно-мозгового микроокружения существенную роль играет и недостаточная эффективность противоопухолевой иммунной защиты организма [Alexander D.D. et al., 2007].

Выживание миеломных клеток увеличивается при действии ростовых факторов, к которым относится, в том числе, целый ряд интерлейкинов (IL-6, IL-10, IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-12). Главным цитокином, стимулирующим пролиферацию опухолевых лимфоцитов при этом заболевании является IL-6. Он активирует путь JAK2/STAT3 в миеломных клетках и способствует их выживаемости, вызывая гиперэкспрессию Bcl-XL и ингибицию CD95 [Бессмельцев С.С., 2013]. Интерлейкин-1 β синтезируется миеломными клетками и играет ведущую роль в процессах межклеточного взаимодействия, стимулируя, в частности, продукцию молекул эндотелиально-лейкоцитарной адгезии, а также активирует продукцию IL-6. Показано, что повышенная продукция IL-1 β влияет на диссеминацию опухолевых клеток при ММ [Гельцер Б.И. и др., 2011; Dinarello С., 2011]. Цитокины также играют значительную роль в развитии остеолитических поражений при ММ, причиной которых может быть как существенное увеличение активности остеокластов, так и ингибирование остеобластов [Бессмельцев С.С., 2013]. К остеокластактивирующим факторам относятся такие цитокины и их рецепторы, как IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, TNF- α , IL-6 [Axmann R. et al., 2009; Roodman G.D., 2001].

Гены цитокинов обладают чрезвычайно высокой степенью аллельного полиморфизма. Частота аллельных вариантов и соответствующих генотипов варьирует в различных популяциях. Количество вариабельных участков в одном гене может достигать нескольких десятков и располагаться они могут в кодирующих областях (экзонах), а также в интронах и промоторных регуляторных зонах. Известно, что одиночные нуклеотидные замены (single nucleotide polymorphisms – SNP) в промоторной области генов цитокинов в наибольшей степени влияют на скорость секреции и биологическую активность этих факторов [Коненков В.И. и др., 2003; Коненков В.И. и др., 2012]. Поэтому изучение аллельных вариантов генов, определяющих базовый уровень продукции цитокинов, позволит установить новые иммуногенетические факторы, ассоциированные с высоким риском развития заболеваний, в патогенезе которых цитокины играют важную роль.

Степень разработанности темы

Несмотря на значительное число работ, посвященных изучению роли непосредственно самих цитокинов в развитии ММ, данные о значении аллельного полиморфизма соответствующих генов в патогенезе этого заболевания практически отсутствуют. При этом гендерные, расовые, возрастные отличия частоты возникновения ММ в популяции, а также наличие семейных случаев данного заболевания свидетельствуют о

существенном вкладе генетической предрасположенности в его развитие [Kekik C. et al., 2007]. Более того, индивидуальные особенности генотипа пациента могут играть значительную роль в определении характера течения и, в частности, прогноза заболевания.

В этой связи, принципиально новым направлением является изучение полиморфизма генов цитокинов у здоровых лиц, проживающих в Северо-Западном регионе России и исследование влияния однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов на развитие и клиническое течение множественной миеломы. Данные об особенностях генотипов и аллельных вариантов генов цитокинов в этой группе больных позволят установить новые иммуногенетические критерии, ассоциированные с высоким риском развития ММ, а также с клиническими особенностями заболевания. Полученные сведения позволят расширить представления об этиопатогенезе ММ, определить новые факторы прогноза течения заболевания и ответа на терапию.

Цель исследования:

Определение особенностей полиморфизма генов цитокинов у больных множественной миеломой и оценка его значимости в развитии и прогнозировании течения заболевания.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Определить частоту аллелей и генотипов регуляторных (IL-2, IL-4, IL-4R α , IL-10, IL-12, IFN- γ , TGF- β 1) и провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, TNF- α , IL-6) в здоровой популяции Северо-Западного региона России и провести сравнительный анализ с популяциями европейских и других стран.
2. Провести молекулярно-генетический анализ полиморфизма указанных генов цитокинов у больных ММ, установить новые иммуногенетические факторы риска развития ММ, в том числе и в зависимости от иммунохимического варианта заболевания (IgG, IgA, Бенс-Джонса).
3. Изучить влияние однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов на клинические особенности течения ММ и оценить вклад сочетаний генотипов ряда регуляторных и провоспалительных цитокинов в патогенез заболевания.
4. Оценить роль полиморфизма генов цитокинов в развитии костной болезни у больных ММ.
5. Установить значимость клинико-генетических ассоциаций в прогнозировании течения множественной миеломы.

Научная новизна

Впервые получены новые научные данные о частоте аллелей и генотипов цитокинов, ответственных за характер иммунного ответа в здоровой популяции Северо-Западного региона России.

Впервые на основании комплексной оценки результатов исследования однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов определены новые иммуногенетические факторы, предрасполагающие к развитию множественной миеломы (IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG) в популяции из Северо-Западного региона России, а

также определяющие устойчивость индивидуумов к данному заболеванию (IL-4 -33 CC, TGF- β 1 codon 25 GG, IL-6 -174 GC и IL-6 nt565 GA).

Впервые выделены генотипы цитокинов (сочетание IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG), ассоциированные с неблагоприятными прогностическими факторами ММ - с низким уровнем альбумина (<3,5 г/дл) и высокими показателями β 2-микроглобулина (>5,5 мг/л), которые могут служить дополнительными критериями стратификации больных на группы риска.

Впервые установлены новые данные об ассоциации генотипов цитокинов с иммунохимическими вариантами множественной миеломы (для миеломы G характерен генотип IL-4R α +1902 AA; для миеломы Бенс-Джонса – IL-4 -590 CC, TNF- α -308 AA, TNF- α -238 AA и IL-6 -174 CC; при миеломе А чаще встречается генотип TGF- β 1 codon 25 GC).

Впервые получены данные о частоте генотипов некоторых цитокинов (IL-4 -33 TC, IL-1 α -889 TC, IL-1 β +3962 TC), которые расширяют представление о роли цитокинов в патогенезе костной болезни у пациентов с ММ.

Теоретическая и практическая значимость

Получены новые данные, которые способствуют расширению знаний о популяционной генетике жителей Северо-Западного региона России. Несмотря на схожесть в распределении частот генов цитокинов (IL-1, IL-12, TGF- β 1) у жителей Северо-Западного региона России с жителями европейских стран и стран Южной и Северной Америки, установлены различия, касающиеся генотипов IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ и TNF- α , а с жителями Саудовской Аравии, Сингапура и Африки, помимо перечисленных выше цитокинов, отличия наблюдались и в генотипах IL-2. Эти данные отражают этнические различия между популяциями и могут служить для дальнейших иммуногенетических популяционных исследований.

Совокупность полученных результатов по изучению клинически значимых однонуклеотидных полиморфных вариантов у больных ММ свидетельствует об участии отдельных генотипов цитокинов в патогенезе множественной миеломы и доказывает необходимость продолжения изучения роли иммуногенетических факторов в развитии злокачественных заболеваний системы крови. Получены новые данные о генотипах, предрасполагающих к развитию ММ (IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG) и определяющих устойчивость организма (IL-4 -33 CC, TGF- β 1 codon 25 GG, IL-6 -174 GC и IL-6 nt565 GA) к этому заболеванию.

Обоснована важность и необходимость исследования однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов (IL-1, IL-6, IL-4, IL-4R α , TGF- β 1, TNF- α) у больных ММ. Установлено, что гетерозиготы IL-1 α -889 TC, IL-1 β +3962 TC и IL-4 -33 TC ассоциированы с развитием более тяжелых поражений костной ткани при ММ. Полученные данные об ассоциации генов цитокинов с ММ открывают дополнительные возможности в прогнозировании течения множественной миеломы и могут быть использованы для формирования групп риска.

Методология и методы исследования

Работа основана на сравнении частот аллелей и генотипов 22 клинически значимых полиморфных вариантов генов цитокинов у здоровых жителей Северо-Западного региона

России и больных ММ. Геномное типирование проводили методом, основанном на полимеразой цепной реакции с применением аллелеспецифических праймеров (PCR-SSP).

Положения, выносимые на защиту:

1. Частоты аллелей и генотипов, исследованных цитокинов сопоставимы с таковыми в других здоровых популяциях Восточной и Южной Европы.
2. Однонуклеотидный полиморфизм генов цитокинов играет значимую роль в патогенезе множественной миеломы: генотипы IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG увеличивают шанс развития заболевания в 2-4 раза ($p < 0,05$). В совокупности с другими клиническими и биологическими параметрами эти маркеры могут быть использованы в качестве критериев прогноза развития заболевания.
3. Характер клинических проявлений и особенности течения множественной миеломы взаимосвязаны с аллельными полиморфными вариантами генов цитокинов: генотипы IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG ассоциированы с риском более агрессивного течения множественной миеломы; увеличение риска тяжелых остеолитических поражений - с генотипами IL-1 α -889 TC, IL-1 β +3962 TC и IL-4 -33 TC.
4. Однонуклеотидные полиморфные варианты генов цитокинов участвуют в молекулярно-генетическом контроле возникновения определенного иммунохимического типа множественной миеломы.

Степень достоверности и апробации результатов исследования

Результаты получены современными молекулярно-генетическими методами. Основные выводы работы и выносимые на защиту положения являются обоснованными и соответствуют полученным результатам. Достоверность подтверждается статистической обработкой данных.

Данные, полученные в процессе выполнения работы, были представлены на Всероссийских научно-практических конференциях: «Молекулярно-генетические и иммуногенетические методы диагностики в практике врача гематолога» (Санкт-Петербург, 2013), «Объединенный иммунологический форум» (Нижний Новгород, 2013), VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика – 2014» (Москва, 2014), «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и службе крови» (Санкт-Петербург, 2014), Юбилейная научно-практическая конференция «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции», посвященной 40-летию ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России (Санкт-Петербург, 2014), научный форум «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2015» (Санкт-Петербург, 2015), «Актуальные вопросы иммуногенетики и тканевого типирования» (Санкт-Петербург, 2015), IX Международный симпозиум памяти Р.М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, генная и клеточная терапия» (Сочи, 2015), IV Евразийском гематологическом форуме (Санкт-Петербург, 2016), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2016), III Конгрессе гематологов России (Москва, 2016), II Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2016). А также, на международных конференциях: 7th East-West Immunogenetics Conference (Прага, 2013), 27th European Immunogenetics and Hsocompatibility Conference (Маастрихт, 2013), 39th Annual

Meeting of the American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (Чикаго, 2013), 8th East-West immunogenetics Conference (Вена, 2014), 28th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (Стокгольм, 2014), 29th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (Женева, 2015), 9th East-West Immunogenetics conference (Любляна, 2015), 20th Congress of European Hematology Association (Вена, 2015), 10th East-West Immunogenetics conference (Вроцлав, 2016), 30th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (Кос, 2016), 21st Congress of European Hematology Association (Копенгаген, 2016).

Внедрение результатов работы

Разработан, освоен и внедрен в практику работы лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России молекулярно-генетический метод типирования (PCR-SSP) аллельных однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP) генов цитокинов. Апробация разработанного метода была произведена в лаборатории иммуногематологии и гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, а также в гематологическом отделении СПб ГБУЗ «Городская больница № 15» города Санкт-Петербурга.

Итоги работы освещались на семинарских занятиях с клиническими ординаторами в ФГБУ «Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии» ФМБА России. Материалы исследования используются в учебном процессе на циклах дополнительного профессионального образования по повышению квалификации врачей клинической лабораторной диагностики в ФГБОУ ВО «Северо-Западном государственном медицинском университете им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 28 научных работ, в том числе 2 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав (обзор литературы; объект, материалы и методы исследования; собственные результаты исследования; обсуждение), выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 31 таблицы и 45 рисунков. Указатель литературы представлен 164 источниками, из которых 38 работ отечественных авторов и 126 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора

Автором лично выполнено исследование аллельного полиморфизма изучаемых генов цитокинов у пациентов с ММ, которое включало в себя выделение ДНК, проведение геномного типирования аллельных полиморфных вариантов (SNP) генов цитокинов методом, основанном на полимеразой цепной реакции с использованием аллелеспецифических праймеров (PCR-SSP), учет результатов генетического анализа.

Проведен отбор проб периферической крови пациентов с ММ и здоровых лиц для данных исследований. Произведен сбор клиничко-анамнестических данных на основании анализа историй болезни, регистрация, статистическая обработка, анализ полученных данных и обобщение результатов исследований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объект, материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись больные множественной миеломой - 80 человек (средний возраст - $69,6 \pm 8,6$, из них 26 мужчин и 54 женщины) и здоровые лица - 100 человек (средний возраст - $51,2 \pm 6,9$ лет, из них 49 мужчин и 51 женщина). Исследованные в обеих когортах были жителями Северо-Западного региона России и считали себя русскими.

Пациенты с ММ проходили обследование и лечение в клиническом отделе химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и в отделении гематологии СПб ГБУЗ «Городская больница №15». Диагноз симптоматической ММ был верифицирован на основании критериев, разработанных EBMT/IBMTR/ABMTR.

Для получения ДНК из ядродержащих клеток периферической крови необходимой чистоты применяли метод выделения ДНК на микроцентрифужных колонках с силикагелевой мембраной. Геномное типирование проводили методом, основанном на полимеразой цепной реакции с применением аллелеспецифических праймеров (PCR-SSP). Изучен полиморфизм генов регуляторных цитокинов, ответственных за характер иммунного ответа (IL-2, IL-4, IL-4R α , IL-10, IL-12, IFN- γ , TGF- β 1), а также провоспалительных цитокинов, входящих в состав остеокластактивирующих факторов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, TNF- α , IL-6), данные об однонуклеотидных полиморфных вариантах (SNP) изученных генов цитокинов представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика исследованных однонуклеотидных полиморфных вариантов

Цитокин	SNP ¹	Аллель 1	Аллель 2	Ref. SNP ²	Цитокин	SNP ¹	Аллель 1	Аллель 2	Ref. SNP ²
IL-1 α	- 889	C	T	rs1800587	IL-2	-330	T	G	rs2069762
IL-1 β	-511	C	T	rs3087258	IL-2	+166	G	T	rs2069763
IL-1 β	+3962	C	T	rs1143634	IL-4	-1098	T	G	rs2243248
IL1R	pst1 1970	C	T	rs2234650	IL-4	-590	C	T	rs2243250
IL1RA	mspa1 11100	T	C	rs315952	IL-4	-33	C	T	rs2070874
IL-4R α	+1902	A	G	rs1801275	IL-10	-1082	A	G	rs1800896
TNF- α	-308	G	A	rs1800629	IL-10	-819	C	T	rs1800871
TNF- α	-238	G	A	rs361525	IL-10	-592	C	A	rs1800872
IL-6	-174	G	C	rs1800795	IL-12	-1188	C	A	rs3212227
IL-6	nt 565	G	A	rs1800797	TGF- β 1	codon 10	T	C	rs1800470
IFN- γ	+874	A	T	rs2430561	TGF- β 1	codon 25	G	C	rs1800471

Примечание:

¹- обозначение SNP в наборе Cytokine Genotyping Kit («Invitrogen», США);

²- rs - это уникальный номер, показывающий положение и вариант полиморфизма, который используется в базе данных NCBI (The National Center for Biotechnology Information)

Сравнение частот аллелей и генотипов больных ММ и контрольной группы оценивали методом χ^2 с поправкой Йетса с использованием онлайн-версий программ GraphPad, OpenEpi и оригинального ПО SPSS 16.0. Статистически значимым считали различие сравниваемых величин при $p < 0,05$. Для статистической оценки связи между определенным генотипом и заболеванием ММ использовали показатель отношения шансов заболевания (OR) с 95% доверительным интервалом (CI). Если показатель относительного риска заболевания был больше 1, то вычисляли и этиологическую фракцию (EF).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полиморфизм генов цитокинов в популяции здоровых жителей Северо-Западного региона России и сравнительный анализ с другими популяциями

Для решения первой задачи, нами были определены частоты аллелей и генотипов 22 полиморфных варианта 13 цитокинов в популяции здоровых славянских доноров из Северо-Западного региона России. Результаты сравнили с данными, представленными в литературе, полученными при обследовании жителей других европейских стран, а также стран Африки, Азии, Южной и Северной Америк.

Наряду со сходством в распределении аллелей и генотипов между данными популяциями были выявлены некоторые отличия. Они касались генотипов как регуляторных (IL-4, IL-10), так и провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α). Наибольшее число различий по сравнению с популяцией из Северо-Западного региона России установлено с чехами (IL-4 -590 T/C, IL-4 -33 T/C, IL-10 -1082 G/A, IL-6 -174 G/C, IL-6 nt565 G/A и TNF- α -308 G/A), тогда как по сравнению с итальянцами и ирландцами - меньше (IL-10 -1082 G/A, IL-10 -819 T/C, IL-10 -592 T/C, IL-6 -174 G/C и TNF- α -308 G/A), рис. 1.

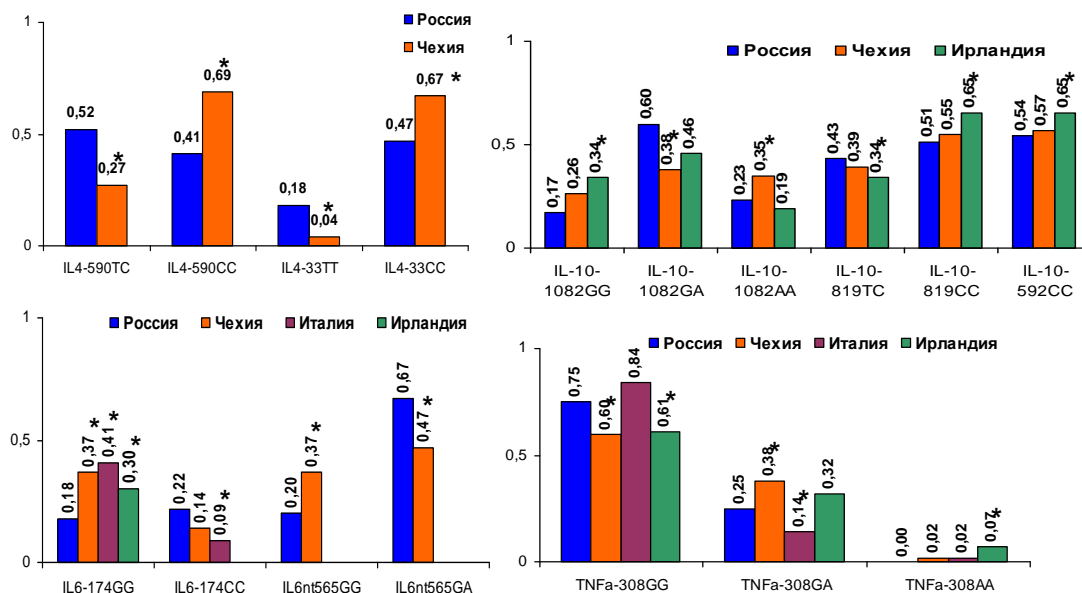


Рисунок 1 - Частоты генотипов IL-4 -590 T/C, IL-4 -33 T/C, IL-10 -1082G/A, IL-10 -819 T/C, IL-10 -592 C/A, IL-6 -174 G/C, IL-6 nt565 G/A, TNF- α -308 G/A в различных здоровых европейских популяциях в сравнении с популяцией из Северо-Западного региона России

Сравнение частот генотипов цитокинов в популяции из Северо-Западного региона России и у народов Южной и Северной Америк, а именно – Бразилии, Мексики и США, а также жителей Африки, Саудовской Аравии и Сингапура показало существенную разницу в генотипах IL-6 -174 G/C и IL-2 -330 T/G (рис. 2).

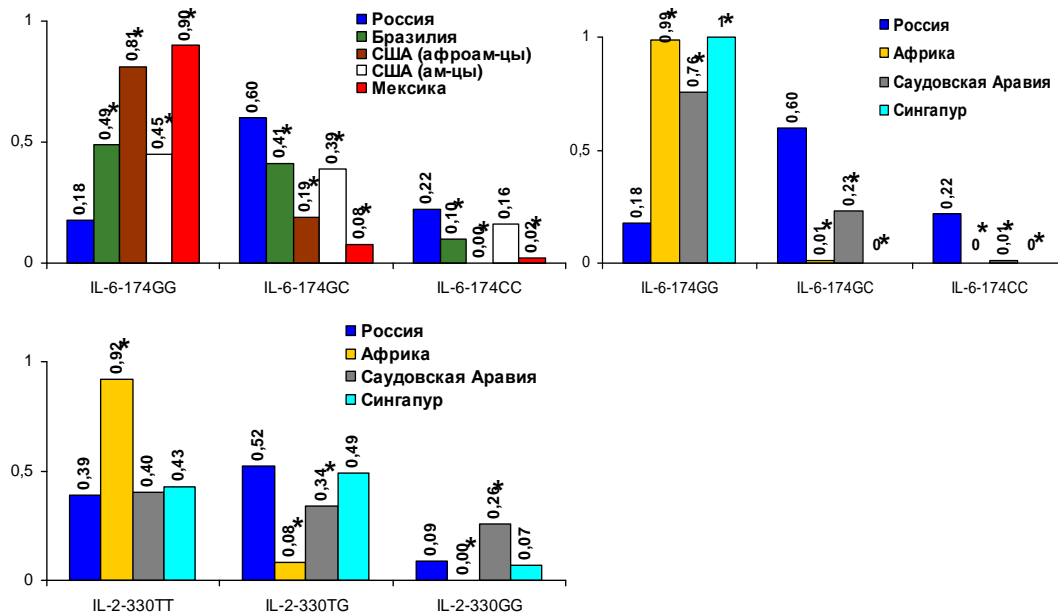


Рисунок 2 - Частоты генотипов IL-6 -174 G/C и IL-2 -330 T/G в различных здоровых американских популяциях в сравнении с популяцией из Северо-Западного региона России

Также отличия были выявлены и в кластере гена IL-10 (IL-10 -1082 G/A, IL-10 -819 T/C, IL-10 -592 C/A), табл. 2.

Таблица 2 - Частоты генотипов в кластере гена IL-10 в различных здоровых популяциях других стран в сравнении с популяцией из Северо-Западного региона России

Цитокин	Генотип	Россия	Бразилия	США (афро-амер-цы)	США (амер-цы)	Мексика	Африка	Саудовская Аравия	Сингапур
IL-10 -1082	GG	0,17	0,17	0,02*	0,17	0,18	0,09	0,14	0*
	GA	0,60	0,44*	0,61	0,55	0,36*	0,57	0,42*	0,05*
	AA	0,23	0,39*	0,37	0,28	0,46*	0,34	0,44*	0,95*
IL-10 -819	TT	0,06	0,10	0,10	0,06	0,18	0,06	0,06	0,46*
	TC	0,43	0,44	0,63*	0,42	0,46	0,56	0,37	0,43*
	CC	0,51	0,46	0,27*	0,52	0,36	0,38	0,57	0,11*
IL-10 -592	CC	0,54	0,46	0,27*	0,52	0,36	0,38*	0,57	0,11*
	CA	0,39	0,44	0,63*	0,42	0,46	0,56*	0,37	0,43
	AA	0,07	0,10	0,10	0,06	0,18	0,06	0,06	0,46*

Примечание: * - достоверные отличия, p<0,05

Полученные впервые данные о распределении частот генотипов цитокинов у жителей Северо-Западного региона России и установленные различия по сравнению с народами других стран, отражают этнические различия (генетический фон) между нашими популяциями и могут служить для дальнейших иммуногенетических популяционных исследований; а также для работ, посвященных изучению ассоциаций генотипов и заболеваний, в патогенезе которых цитокины играют существенную роль.

Полиморфизм генов цитокинов у больных множественной миеломой

Изучение распределения частот аллелей генов цитокинов у больных ММ (славянского происхождения) по сравнению со здоровыми жителями Северо-Западного региона России показало минимальные различия, что может говорить о единообразии популяции больных и здоровых лиц, проживающих на одной территории. Тем не менее, в работе было установлено, что аллель С гена цитокина TGF- β 1 codon 25 G/C значительно чаще встречается у больных ММ по сравнению со здоровыми лицами 0,12 к 0,09 соответственно ($p < 0,05$).

Наибольшие различия между группой больных ММ и здоровыми лицами установлены при сравнительном анализе частот генотипов цитокинов. У больных ММ гомозиготы IL-1 α -889 TT и IL-1 β +3962 TT встречаются значительно чаще, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$): для IL-1 α -889 TT - 0,23 (пациенты) к 0,02 (доноры); для IL-1 β +3962 TT - 0,21 (больные ММ) к 0,04 (здоровые лица). Значения отношения шансов (OR) также показали, что вероятность того, что у пациента с ММ обнаружатся генотипы IL-1 α -889 TT и IL-1 β +3962 TT равны 14,2 и 6,5 соответственно ($p < 0,05$).

Изучение аллельного полиморфизма гена IL-6 позволило установить, что частота гомозигот у пациентов была выше, чем у доноров: 0,36 к 0,18 для IL-6 -174 GG и 0,39 к 0,20 для IL-6 nt565 GG соответственно ($p < 0,05$). Однако гетерозиготы IL-6 определялись чаще у здоровых лиц: 0,40 к 0,60 для IL-6 -174 GC и 0,40 к 0,67 для IL-6 nt565 GA соответственно ($p < 0,05$). Хотя шанс наличия (OR) генотипов IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG у заболевших ММ будет выше всего в 2,5 раза, чем у не заболевших ($p < 0,05$).

Интересно, что исследование регуляторных генов IL-4 и TGF- β 1 показало, что у пациентов с ММ достоверно реже встречаются гомозиготы IL-4 -33 CC и TGF- β 1 codon 25 GG по сравнению со здоровыми лицами: 0,24 к 0,47 для IL-4 и 0,65 к 0,84 для TGF- β 1 соответственно ($p < 0,05$). Значения отношения шансов (OR) генотипов IL-4 -33 CC и TGF- β 1 codon 25 GG у пациентов равные 0,35 указывают на то, что они будут выявляться чаще у здоровых лиц из Северо-Западного региона России ($p < 0,05$).

Взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов и клинико-лабораторных показателей у больных множественной миеломой

Для определения наличия или отсутствия взаимосвязи установленных предрасполагающих и протективных иммуногенетических факторов с ММ использовали Международную систему стадирования 2005г. (International staging system – ISS), которая в настоящее время чаще применяется для классификации данного заболевания и базируется на определении сывороточных концентраций двух показателей: альбумина и β 2-микроглобулина.

Поскольку в работе установлено, что у пациентов с ММ повышена частота IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG, что может рассматриваться как иммуногенетический фактор, ассоциированный с развитием заболевания, были проанализированы уровни альбумина, β 2-микроглобулина и гемоглобина у больных ММ с наличием выявленных иммуногенетических факторов и без таковых в генотипе. Больные ММ были разделены на 4 группы (табл.3):

Таблица 3 – Группы больных ММ в зависимости от наличия «предрасполагающих» генотипов

1 гр. пациентов (11% от всех больных), n=9	2 гр. пациентов (18% от всех больных), n=14	3 гр. пациентов (30% от всех больных), n=24	4 гр. пациентов (19% от всех больных), n=15
С наличием в генотипе IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG	С наличием в генотипе IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT	С наличием в генотипе IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG	Без иммуногенетических факторов, ассоциированных с развитием ММ

Как видно из данных, представленных в таблице 4, средние величины уровня альбумина в 1-3 группах больных с различным сочетанием «негативных» генотипов были достоверно ниже, чем в 4-ой группе ($p < 0,05$).

Таблица 4 – Средние уровни альбумина, β 2-микроглобулина и гемоглобина у пациентов с «предрасполагающими» факторами в генотипе

Показатель	1 гр. пациентов	2 гр. пациентов	3 гр. пациентов	4 гр. пациентов
Альбумин, г/дл	3,34 \pm 0,08 *	3,49 \pm 0,14 *	3,53 \pm 0,07 *	3,87 \pm 0,09
β 2-микроглобулин, мг/л	5,54 \pm 0,56	5,21 \pm 0,40	5,34 \pm 0,41	4,88 \pm 0,30
Гемоглобин, г/л	112 \pm 4,47	120 \pm 5,78	120 \pm 3,61	121 \pm 3,6
Примечание: * - достоверные отличия, $p < 0,05$				

Наиболее высокий уровень β 2-микроглобулина регистрировался в 1 группе (5,5 мг/л), но достоверных различий с остальными пациентами выявлено не было ($p > 0,05$). Значимых отличий по уровню гемоглобина между выделенными группами больных нами также не было обнаружено.

У больных ММ с наличием «неблагоприятных» вариантов генотипа, доля пациентов с низкими уровнями альбумина (до 3,5 г/дл) была существенно выше, чем в четвертой. Наиболее низкий уровень альбумина регистрировался у пациентов с наличием в генотипе всех четырех гомозигот, а высокий (более 3,5 г/дл) чаще выявлялся у пациентов с генотипом, где отсутствовали иммуногенетические факторы, ассоциированные с развитием ММ ($p < 0,05$). У больных ММ как с наличием всех «неблагоприятных» гомозигот, так и с IL-1 α -889 TT и IL-1 β +3962 TT в генотипе низкий уровень β 2-микроглобулина не регистрировался. Средний уровень β 2-микроглобулина (3,5-5,5 мг/л) чаще всего (0,70) определялся в 4-ой группе больных, а реже всего встречался у пациентов с наличием IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG

в генотипе (0,42; $p < 0,05$). Высокий уровень данного белка наиболее редко встречался у пациентов без факторов, ассоциированных с развитием ММ (0,26). Доли пациентов с высоким и низким уровнем гемоглобина в выделенных нами группах больных статистически не отличались.

Определение отношения шансов (OR) показало, что шанс наличия низкого уровня альбумина увеличивается при большем сочетании «негативных» генотипов (табл. 5).

Таблица 5 – Риск развития «патологических» уровней альбумина, β 2-микροглобулина и гемоглобина в группах больных с наличием «предрасполагающих» генотипов

АЛЬБУМИН (низкий уровень, менее 3,5 г/дл)				
Генотип	OR	95% CI	S	EF,%
IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 174 GG, IL-6 nt565 GG	5,67*	1,07/30,09	0,85	82
IL-6 174 GG, IL-6 nt565 GG	3,97*	1,15/13,64	0,63	75
β2-МИКРОГЛОБУЛИН (высокий уровень, более 5,5 мг/л)				
IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 174 GG, IL-6 nt565 GG	2,27	0,45/11,35	0,82	56
IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT	2,83	0,70/11,51	0,72	65
IL-6 174 GG, IL-6 nt565 GG	2,40	0,70/8,20	0,63	58
ГЕМОГЛОБИН (низкий уровень, менее 100 г/л)				
IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 174 GG, IL-6 nt565 GG	1,50	0,22/10,04	0,97	33
Примечание: * - достоверные различия, $p < 0,05$; OR- отношение шансов; CI – доверительный интервал; S – стандартная ошибка; EF – этиологическая доля				

Так шанс, что альбумин у пациента будет ниже 3,5 г/дл при сочетании гомозигот IL-6 -174 GG и IL-6 nt565 GG в одном генотипе увеличивается почти в 4 раза ($p < 0,05$). А если у больного ММ обнаруживается сочетание всех 4 гомозигот ассоциированных с ММ, то шанс снижения альбумина увеличивается практически в 6 раз ($p < 0,05$). Наличие сочетания IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 174 GG и IL-6 nt565 GG или IL-1 α -889 TT и IL-1 β +3962 TT или IL-6 174 GG и IL-6 nt565 GG у пациентов с ММ указывает на то, что шанс значительного повышения уровня β 2-микροглобулина ($>5,5$ мг/л) увеличивается более чем в 2 раза. Шансы снижения уровня гемоглобина (менее 100 г/л) у больных, в генотипе которых сочетаются IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG, в 1,5 раза выше, чем у остальных пациентов.

Поскольку в работе установлено, что генотипы TGF- β 1 codon 25 GG и IL-4 -33 CC у больных ММ могут рассматриваться как «протективные» иммуногенетические факторы, то нами были проанализированы уровни альбумина, β 2-микροглобулина и гемоглобина у больных ММ с наличием этих иммуногенетических факторов и без таковых в генотипе. Больные ММ были разделены на 3 группы (табл. 6).

Таблица 6 - Группы больных ММ в зависимости от наличия «протективных» генотипов

1 гр. пациентов (8% от всех пациентов с ММ), n = 6	2 гр. пациентов (2% от всех пациентов с ММ), n = 2	3 гр. пациентов (12% от всех пациентов с ММ), n = 10
С наличием в генотипе TGF- β 1 codon 25 GG	С наличием в генотипе TGF- β 1 codon 25 GG, IL-4 -33 CC	Без «протективных» иммуногенетических факторов

Как видно из данных, представленных в таблице 7, достоверные различия в показателях альбумина были обнаружены только для 1-ой и 3-ей групп пациентов с ММ ($p < 0,05$).

Таблица 7 – средние уровни альбумина, $\beta 2$ -микроглобулина и гемоглобина у пациентов с «протективными» факторами в генотипе

Показатель	1 гр. пациентов	2 гр. пациентов	3 гр. пациентов
Альбумин, г/дл	3,37 \pm 0,17 *	3,60 \pm 0,28	3,87 \pm 0,09
$\beta 2$ -микроглобулин, мг/л	5,17 \pm 0,18 *	2,70 \pm 0,14	4,88 \pm 0,30
Гемоглобин, г/л	110 \pm 8,5	146,5 \pm 0,71 *	121 \pm 3,6
Примечание: * - достоверные отличия, $p < 0,05$			

Средний уровень $\beta 2$ -микроглобулина в первой группе составлял 5,2 мг/л и был достоверно выше, чем во второй, где он равнялся 2,7 мг/л ($p < 0,05$). У пациентов с сочетанием TGF- $\beta 1$ codon 25 GG и IL-4 -33 CC уровень гемоглобина был достоверно выше, чем в двух других группах ($p < 0,05$).

Установлено, что доля пациентов с низким и высоким уровнем альбумина во всех трех группах была практически одинаковой, достоверных различий между группами не выявлено. У всех пациентов с наличием в генотипе TGF- $\beta 1$ codon 25 GG и IL-4 -33 CC выявлялся низкий уровень $\beta 2$ -микроглобулина ($p < 0,05$). У пациентов с наличием в генотипе только TGF- $\beta 1$ codon 25 GG и у больных без «протективных» иммуногенетических факторов доля больных ММ со средним уровнем $\beta 2$ -микроглобулина (3,5-5,5 мг/л) была достоверно выше (0,67 и 0,68 соответственно), чем во второй группе ($p < 0,05$). Высокий уровень $\beta 2$ -микроглобулина (более 5,5 мг/л) не выявлялся у пациентов с TGF- $\beta 1$ codon 25 GG и IL-4 -33 CC. Доля больных с уровнем гемоглобина ниже 100 г/л в 1-ой группе равнялась 0,33, у остальных пациентов гемоглобин с уровнем ниже 100 г/л встречался всего с частотой 0,16.

Роль однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов в развитии костной болезни у больных множественной миеломой

Для определения значимости полиморфизма генов цитокинов в развитии костной болезни у больных ММ мы проанализировали результаты иммуногенетического обследования в двух группах пациентов: 1-ая группа – пациенты с II стадией заболевания по классификации Durie-Salmon Plus (38 пациентов; ср. возраст 70,1 \pm 8,0) с проявлениями остеопороза и единичными очагами остеолизиса (не более 20 фокальных очагов лизиса или умеренные диффузные поражения позвоночника); 2-ая группа – больные с III стадией по классификации Durie-Salmon Plus (42 пациента; ср. возраст 69,2 \pm 9,2) с тяжелыми остеолитическими поражениями (более 20 фокальных очагов лизиса или тяжелые диффузные поражения позвоночника).

Анализ SNP генов цитокинов в этих группах больных показал, что в 1-ой (0,21) и 2-ой (0,24) группах с приблизительно равной частотой, значительно превышающей таковую в контрольной (0,02), выявляется гомозигота IL-1 α -889 TT ($p < 0,05$), рисунок 3.

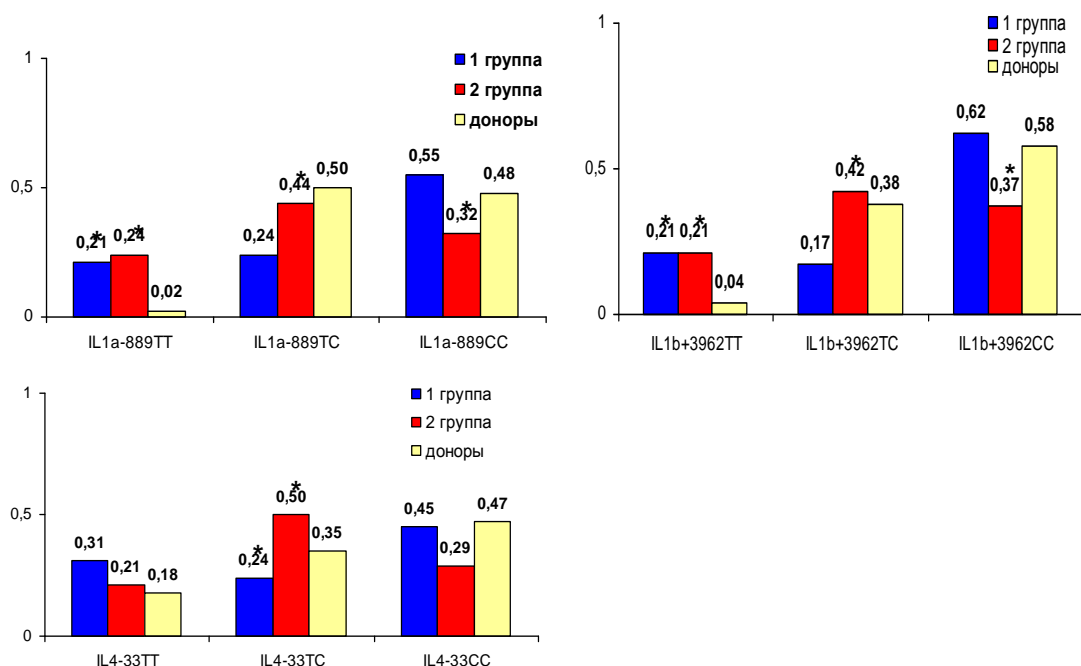


Рисунок 3 – Частоты генотипов IL-1α -889 Т/С, IL-1β +3962 Т/С, IL-4 -33 Т/С у больных ММ с разными стадиями заболевания по классификации Durie-Salmon Plus

У больных с тяжелыми остеолитическими поражениями (0,44) по сравнению с пациентами с проявлениями остеопороза и единичными очагами лизиса в костях (0,24) достоверно чаще выявляется генотип IL-1α -889 ТС ($p < 0,05$). У пациентов в 1-ой группе чаще (0,55), чем во 2-ой (0,32) выявляется гомозигота IL-1α -889 СС ($p < 0,05$). У больных обеих групп с равной частотой (0,21), значительно превышающей таковую в контрольной группе (0,04), выявляется гомозигота IL-1β +3962 ТТ ($p < 0,05$). У больных с тяжелыми остеолитическими поражениями (0,42) по сравнению с пациентами, у которых наблюдается остеопороз и единичные очаги лизиса в костях (0,17), достоверно чаще выявляется генотип IL-1β +3962 ТС ($p < 0,05$). У больных в 1-ой группе (0,62) чаще, чем во 2-ой (0,37) определялась гомозигота IL-1β +3962 СС ($p < 0,05$). Гетерозигота IL-4 -33 ТС почти в два раза чаще выявлялась у пациентов с III стадией ММ (0,50) по сравнению с пациентами с II стадией (0,24), $p < 0,05$ (рис.3).

Взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов и иммунохимического варианта множественной миеломы

В работе проведено сравнение результатов иммуногенетического обследования пациентов с различными иммунохимическими вариантами ММ: Ig G (52 пациента), Ig A (17 пациентов) и миеломой Бенс-Джонса (11 пациентов).

Анализ результатов изучения полиморфизма генов цитокинов у больных множественной миеломой в зависимости от иммунохимического варианта заболевания (G, A, Бенс-Джонса) показал, что наибольшие различия наблюдаются у больных миеломой Бенс-Джонса по сравнению с другими группами пациентов. Так у пациентов с миеломой Бенс-Джонса достоверно чаще выявляется целый ряд гомозигот: TNF-α -308 AA, TNF-α -238 GG и TNF-α -238 AA по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,05$; рис.4).

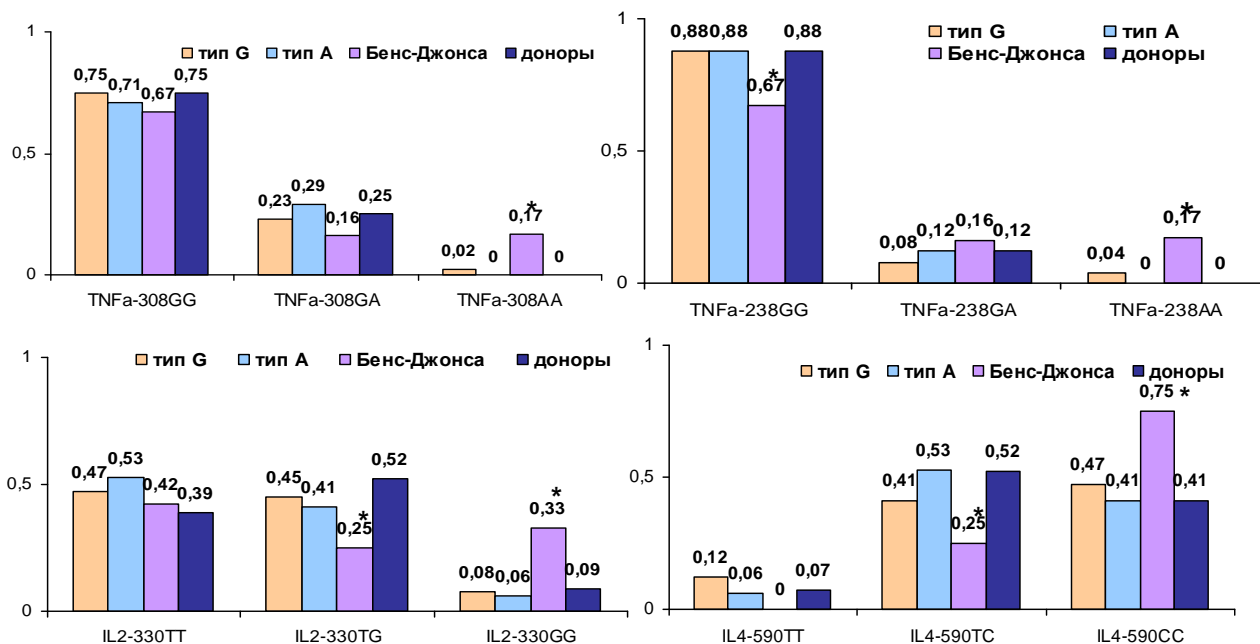


Рисунок 4 – Полиморфизм цитокинов TNF-α -308 G/A, TNF-α -238 G/A, IL-2 -330 T/G и IL-4 -590 T/C у пациентов с различными иммунохимическими вариантами множественной миеломы

У больных миеломой Бенс-Джонса реже, чем у пациентов с другими типами заболевания и у доноров, выявлялась гетерозигота IL-2 -330 TG ($p < 0,05$), но существенно чаще обнаруживалась гомозигота IL-2 -330 GG в сравнении со здоровыми лицами (0,33 к 0,09 соответственно, $p < 0,05$), рисунок 4.

Отличались от доноров пациенты с миеломой Бенс-Джонса и по генотипу IL-4: гетерозигота IL-4 -590 TC у больных выявлялась реже (0,25), чем у здоровых (0,52), а гомозигота IL-4 -590 CC, наоборот чаще (0,75 к 0,41 соответственно, $p < 0,05$).

Различия у больных миеломой Бенс-Джонса также были выявлены и в гомозиготе IL-6 -174 GG: у пациентов она встречалась чаще (0,42), чем у доноров (0,18), $p < 0,05$, а гетерозигота IL-6 -174 GC у таких больных обнаруживалась гораздо реже, чем у остальных пациентов и доноров (рис. 5). Однако гомозигота IL-6 nt565 GG у здоровых лиц выявлялась реже, чем у больных ММ, тогда как IL-6 nt565 GA, наоборот, значительно чаще ($p < 0,05$). Гомозигота IL-6 nt565 AA у пациентов с миеломой А и Бенс-Джонса, в отличие от доноров, регистрировалась намного чаще ($p < 0,05$), рисунок 5.

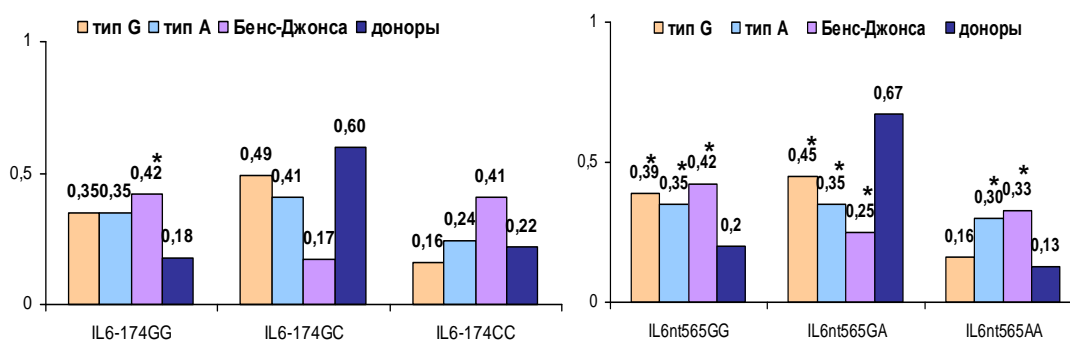


Рисунок 5 – Полиморфизм цитокинов IL-6 -174 G/C и IL-6 nt565 G/A у пациентов с различными иммунохимическими вариантами множественной миеломы

У пациентов с миеломой А отличия от здоровых лиц обнаружены только в генотипах TGF- β 1 codon 25 GG и TGF- β 1 codon 25 GC ($p < 0,05$).

Тогда как в IL-4R α +1902 у пациентов с миеломой А и Бенс-Джонса гетерозигота GA встречалась чаще, чем у здоровых лиц, а гомозигота AA – реже ($p < 0,05$).

В группе больных ММ с вариантом G частота всех генотипов IL-4R α +1902 G/A отличалась от таковой в группах пациентов с миеломой А и Бенс-Джонса ($p < 0,05$), рисунок 6.

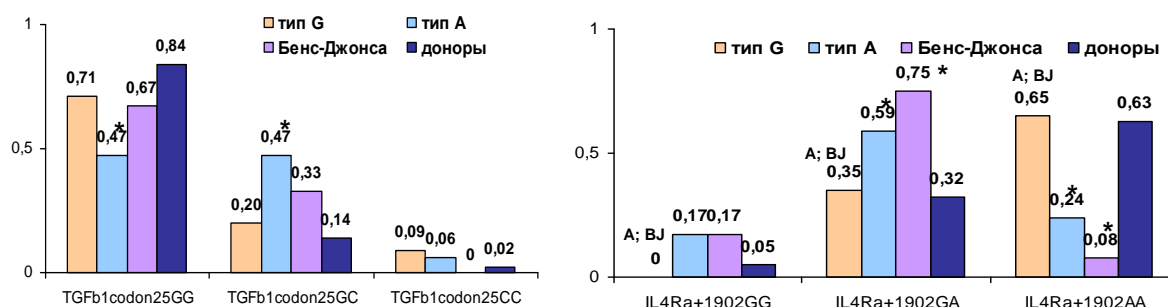


Рисунок 6 – Полиморфизм цитокинов TGF- β 1 codon 25 G/C и IL-4R α +1902 G/A у пациентов с различными иммунохимическими вариантами множественной миеломы

В работе также выявлено, что частота гомозиготы IL-1 α -889 TT достоверно выше во всех группах пациентов с различными иммунохимическими типами миеломы по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,05$). У больных с миеломой G гетерозигота IL-1 α -889 TC выявлялась почти в 2 раза реже (0,29), чем у остальных обследованных лиц ($p < 0,05$).

Гомозигота IL-1 β +3962 TT у пациентов с вариантом G обнаруживалась существенно чаще (0,28), чем у здоровых лиц (0,04) и пациентов с другими типами миеломы: 0,08 - для Бенс-Джонса; 0,12 - для А; $p < 0,05$ (рисунок 7).

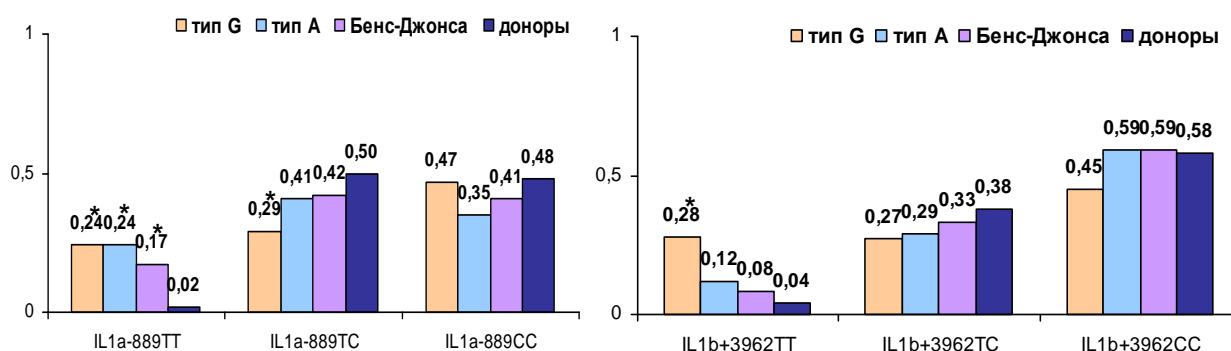


Рисунок 7 – Полиморфизм цитокинов IL-1 α -889 T/C и IL-1 β +3962 T/C у пациентов с различными иммунохимическими типами множественной миеломы

Итак, нами на основании комплексного изучения полиморфизма генов цитокинов у здоровых лиц и больных множественной миеломой и проведения клинико-лабораторного анализа полученных результатов определены новые иммуногенетические факторы, предрасполагающие к развитию ММ, а также определяющие устойчивость организма к

развитию этого заболевания. Установлены генотипы цитокинов, ассоциированные с неблагоприятными прогностическими факторами ММ, а также с отдельными иммунохимическими вариантами этого заболевания и степенью тяжести поражения костной ткани.

ВЫВОДЫ

1. Распределение частот аллелей и генотипов регуляторных и провоспалительных цитокинов у здоровых жителей Северо-Западного региона России имеет как выраженные черты сходства (для IL-1, IL-12, TGF- β 1) по сравнению с жителями ряда европейских стран (Чехия, Италия, Северная Ирландия), так и отличия, касающиеся кластеров IL-4 (IL-4 -590 T/C и IL-4 -33 T/C), IL-6 (IL-6 -174 G/C и IL-6 nt565 G/A), IL-10 (IL-10 -1082 G/A, IL-10 -819 T/C, IL-10 -592 C/A) и TNF- α -308 G/A.
2. У больных ММ из Северо-Западного региона России по сравнению со здоровыми жителями чаще встречается аллель С гена цитокина TGF- β 1 codon 25 G/C ($p < 0,05$) и генотипы IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG, что позволяет отнести эти генотипы к предрасполагающим иммуногенетическим факторам развития ММ.
3. Сочетание IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG, в генотипе больных ММ ассоциировано с низким уровнем альбумина ($< 3,5$ г/дл) и высоким уровнем β 2-микроглобулина ($> 5,5$ мг/л), что позволяет отнести эти генотипы к дополнительным негативным прогностическим факторам развития ММ.
4. Больные ММ с гомозиготами IL-4 -33 TC, IL-1 α -889 TC, а также IL-1 β +3962 TC в генотипе характеризуются наличием тяжелых остеолитических поражений, тогда как у пациентов с генотипом IL-1 α -889 CC и IL-1 β +3962 CC чаще регистрируются только единичные очаги остеолизиса.
5. Для миеломы G характерен генотип IL-4R α +1902 AA; для миеломы Бенс-Джонса - IL-4 -590 CC, TNF- α -308 AA, TNF- α -238 AA и IL-6 -174 CC; при миеломе А чаще встречается генотип TGF- β 1 codon 25 GC, что свидетельствует о наличии молекулярно-генетических факторов возникновения определенного иммунохимического типа данного заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение полиморфизма генов цитокинов у больных ММ рекомендуется ограничить исследованием следующих генов цитокинов: IL-1 α -889 T/C, IL-1 β +3962 T/C, IL-6 -174 G/C, IL-6 nt565 G/A и TGF- β 1 codon 25 G/C.
2. Для уточнения прогноза заболевания ММ при снижении уровня альбумина в сыворотке крови (до 3,5 г/дл и менее) и увеличении β 2-микроглобулина (до 5,5 мг/л и выше) целесообразно выявить наличие или отсутствие сочетания гомозигот IL-1 α -889 TT, IL-1 β +3962 TT, IL-6 -174 GG, IL-6 nt565 GG в генотипе пациентов.
3. Генотипы цитокинов IL-1 α -889 TC, IL-1 β +3962 TC и IL-4 -33 TC могут быть использованы в качестве неблагоприятных факторов развития костной болезни у больных ММ.
4. Данные об особенностях распределения аллелей, генотипов, а также гаплотипов в генах цитокинов IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-4R α , IL-6, IL-10, IL-12, IFN- γ , TNF- α и

TGF- β 1 в популяции Северо-Запада России, могут быть использованы в качестве группы сравнения при проведении дальнейших иммуногенетических популяционных исследований.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Pavlova, A. IL-1 gene cluster polymorphisms: IL-1 alpha (-889C/T), IL-1 beta (-511C/T), IL-1 beta (+3962 C/T), IL-1R (pst 1 +1970 C/T), IL-1RA (mspa1 11100 C/T) in healthy European cohorts / A. Pavlova, I. Sokolova, I. Pavlova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // materials of 7th East-West immunogenetics conference [Prague, 2013].- 2013.- P. 18
2. **Павлова, А.А. Цитокины и их роль в патогенезе множественной миеломы / А.А. Павлова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев // MEDLINE.RU. - 2013. - Т. 14, №2. - С. 313-335.**
3. Павлова, А.А. Сравнительная характеристика полиморфизма кластера генов интерлейкина-1 у жителей Северо-Западного региона России / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, И.Е. Павлова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев // Академический журнал Западной Сибири. - 2013.-Т.9, № 2. - С. 46-47
4. Павлова, А.А. Полиморфизм генов цитокинов у жителей Северо-Западного региона России / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, И.Е. Павлова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев // Вестник гематологии. - 2013. - Т.9, № 2.- С.61-62
5. Pavlova, A. Polymorphism of cytokine genes in the healthy population from North-West Region of Russia / A. Pavlova, I. Pavlova, J. Sokolova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // Tissue Antigens. - 2013. - № 81. - P. 322-323
6. Pavlova, A. IL-4 gene cluster polymorphisms: IL-4 (-1098 G/T), IL-4 (-590 C/T), IL-4 (-33 C/T), IL-4R α (+1902 G/A) in the healthy population from the North-West Region of Russia / A. Pavlova, I. Sokolova, I. Pavlova // Human Immunology.- 2013.- V.74.- P.117
7. Pavlova, A. IL-1 β and IL-6 gene polymorphisms in patients with multiple myeloma from the North-West Region of Russia / A. Pavlova, I. Sokolova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev, I. Pavlova // Materials of 8th East-West immunogenetics conference [Vienna, 2014]. - 2014.- P. 25
8. Павлова, А.А. Полиморфизм генов цитокинов, оказывающих остеокластактивирующее воздействие, у больных множественной миеломой / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, Е.В. Карягина, И.Е. Павлова // Вестник гематологии. - 2014.- Т.10, № 1.- С. 81
9. Павлова, А.А. Полиморфизм генов цитокинов IL-1 β и IL-6 у больных множественной миеломой в Северо-Западном регионе России / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Гематология и Трансфузиология.- 2014.- Т. 1.- С. 57
10. Павлова, А.А. Генотип IL-1 β и IL-6 у больных множественной миеломой, как фактор прогноза развития поражения костной ткани / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Молекулярная диагностика. - 2014.- Т.2. - С. 84
11. Павлова, А.А. Полиморфизм кластера генов IL-6 у больных множественной миеломой / А.А. Павлова, Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Цитокины и воспаление.- 2014.- Т.13, № 1.- С. 115
12. Павлова, А.А. Полиморфизм генов цитокинов TGF- β 1 и TNF- α у больных множественной миеломой, проживающих в Северо-Западном регионе России / А.А. Павлова,

Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Вестник гематологии. - 2014.- Т.10, № 2.- С. 53-54

13. Pavlova, I. IL-6 gene cluster polymorphisms in healthy residents and patients with multiple myeloma from the North-West Region of Russia / I. Pavlova, A. Pavlova, I. Sokolova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // Tissue Antigens.- 2014.- V.84, № 1.- P. 157

14. Pavlova, I. TGF- β 1 gene polymorphisms in patients with multiple myeloma from the North-West Region of Russia/ I. Pavlova, A. Pavlova, I. Sokolova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // Tissue Antigens. – 2015. - V. 85, № 1. - P. 332-333

15. Pavlova, A. IL-4 and IL-6 gene polymorphisms in patients with multiple myeloma from the Northwest Federal District of Russia/ A. Pavlova, I. Sokolova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev, I. Pavlova // Haematologica. - 2015.- V.100.- P. 732

16. Pavlova, A. TNF- α gene polymorphism in patients with multiple myeloma/ A. Pavlova, L. Bubnova, I. Sokolova, S. Bessmeltsev, I. Pavlova // Materials of 9th East-West Immunogenetics conference [Ljubljana, 2015]. – 2015.- P. 43

17. Павлова, А.А. Роль полиморфизма генов IL-4 и IL-6 в развитии множественной миеломы / А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Медицинская Иммунология. - 2015.- Т.17.- С. 167

18. Павлова, А.А. Роль полиморфизма гена TNF- α в развитии множественной миеломы/ А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Академический журнал Западной Сибири. - 2015.- Т.11, №1 (56). – С. 29-30

19. **Павлова, А.А. Роль полиморфизма гена *TGF- β 1* в развитии множественной миеломы /А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, Е.В. Карягина, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Клиническая Онкогематология. – 2015. – Т.8, № 3. - С. 274-280**

20. Павлова, А.А. Иммуногенетические факторы, определяющие развитие тяжелых остеолитических поражений костной ткани у больных множественной миеломой / А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Клиническая лабораторная диагностика.- 2015.- Т. 60, № 9. – С. 30

21. Павлова, А.А. Полиморфизм генов IL-1 α и IL-1 β у больных множественной миеломой / А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Вестник Гематологии. - 2015.- Т.11, № 2.- С. 22-23

22. Павлова, А.А. Роль полиморфизма генов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в развитии множественной миеломы/ А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, Ю.В. Соколова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Материалы IX международного симпозиума памяти Р.М. Горбачевой [Сочи, 2015]. - 2015

23. Павлова, А.А. Полиморфизм гена IL-4 у больных множественной миеломой/ А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Материалы VI международной научно-практической конференции «Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований» [North Charleston, 2015].- 2015.- Т.1.- С. 49-51

24. Pavlova, A. Interleukine-10 gene polymorphism in patients with multiple myeloma / A. Pavlova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev, I. Pavlova // Materials of 10th East-West Immunogenetics Conference [Wroclaw, 2016]. – 2016. – P. 81

25. Павлова, А.А. Роль полиморфизма генов IL-1R и IL-1RA в развитии множественной миеломы / А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Клиническая Онкогематология. – 2016. – Т. 9, №3. – С. 357-358
26. Pavlova, A. Cytokine gene polymorphisms in patients with multiple myeloma from the North-West region of Russia / A. Pavlova, I. Pavlova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // HLA. – 2016. – V. 87. – P. 314
27. Павлова, А.А. Полиморфизм генов интерлейкина-4, интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли-α у пациентов с множественной миеломой / А.А. Павлова, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев, И.Е. Павлова // Вестник гематологии. – 2016. – Т. 12, №2. - С.45-46
28. Pavlova, A. IL-1R and IL-1RA in the development of multiple myeloma / A. Pavlova, I. Pavlova, L. Bubnova, S. Bessmeltsev // Haematologica. – 2016. – V. 101. – P. 781

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ММ – множественная миелома
 IL – интерлейкин
 IFN – интерферон
 TGF - трансформирующий ростовой фактор
 TNF - фактор некроза опухоли
 R – рецептор
 RA – антагонист рецептора
 SNP – однонуклеотидный полиморфный вариант
 PCR-SSP – полимеразная цепная реакция с применением аллелеспецифических праймеров
 JAK2 – янус-киназа 2
 STAT 3 -сигнальный белок и активатор транскрипции 3
 Bcl-XL – белок ингибитор апоптоза
 Ig – иммуноглобулин
 ISS - международная система стадирования
 OR – отношения шансов заболевания
 CI - доверительный интервал
 EF - этиологическая фракция
 EBMT – европейская группа по крови и трансплантации костного мозга
 IBMTR - международная база данных по трансплантации костного мозга
 ABMTR – американская база данных по трансплантации костного мозга