

<https://doi.org/10.17816/ecogen17477-90>

## ПОЛИГЕННАЯ ПРИРОДА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

© Т.Д. Кужир

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Для цитирования: Кужир Т.Д. Полигенная природа ревматоидного артрита // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 4. – С. 77–90. <https://doi.org/10.17816/ecogen17477-90>.

Поступила: 16.04.2019

Одобрена: 20.09.2019

Принята: 17.12.2019

✿ В обзоре обобщены современные достижения в изучении генетических основ ревматоидного артрита. Обсуждается влияние на предрасположенность к заболеванию аллельных вариантов генов, участвующих в различных клеточных процессах, включая опосредованную цитокинами сигнальную трансдукцию, воспалительный и иммунный ответ на экзогенные стимулы. Основная роль главного комплекса гистосовместимости (МНС, Major Histocompatibility Complex) и общего эпитопа (SE, Shared Epitope), а также эффекты не относящихся к этому комплексу (non-HLA) генов проанализированы в зависимости от этнической принадлежности и серологического статуса пациентов. Систематизированы результаты полногеномных ассоциативных исследований (GWAS, Genome Wide Association Studies) для выявления генов-кандидатов, тесно связанных с риском развития заболевания, а также затронуты некоторые аспекты эпигенетики ревматоидного артрита. Представленные в обзоре данные указывают на полигенный характер предрасположенности к данному многофакторному заболеванию. Эта проблема рассмотрена с учетом новейших результатов картирования и оценки вклада локусов количественных признаков (eQTLs, expression Quantitative Trait Loci), модулирующих уровень экспрессии одного или более генов. Изложена новая «омнигенная» концепция наследуемости комплексных признаков/болезней.

✿ **Ключевые слова:** ревматоидный артрит; иммунный и воспалительный ответы; генетический полиморфизм; экспрессия генов.

## THE POLYGENIC NATURE OF RHEUMATOID ARTHRITIS

© T.D. Kuzhir

Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Cite this article as: Kuzhir TD. The polygenic nature of rheumatoid arthritis.

*Ecological genetics*. 2019;17(4):77-90. <https://doi.org/10.17816/ecogen17477-90>.

Received: 16.04.2019

Revised: 20.09.2019

Accepted: 17.12.2019

✿ Current advances in the genetic basis of rheumatoid arthritis (RA) were summarized in the review. Influence of gene polymorphisms involved in different cellular processes including cytokine-mediated signal transduction, immune and inflammatory responses to exogenous stimuli was discussed. The principal role of the major histocompatibility complex (МНС) and a shared epitope (SE), as well as contribution of non-*HLA* genes to susceptibility to RA was considered in terms of patients' ethnicity and the serological status for the disease. The GWAS results for revealing candidate genes closely associated with RA risk were systematized as well as some aspects of epigenetics were mentioned. The findings indicated the polygenic nature of this complex disease. This problem was considered taking into account the recent results of mapping traits (eQTLs) with global gene expression. The novel "omnigenic" conception of heritability of complex traits/diseases was reported.

✿ **Keywords:** rheumatoid arthritis; immune and inflammatory responses; gene polymorphism; gene expression.

### ВВЕДЕНИЕ

Ревматоидный артрит (РА) — классическое многофакторное аутоиммунное заболевание [1], преимущественно поражающее мелкие суставы и протекающее по типу эрозивно-деструктивного полиартрита. Распространенность РА среди населения планеты составляет 0,5–1 %. Заболевание развивается в среднем и пожилом возрасте преимущественно у женщин, характеризуется болевым и воспалительным синдромом и прогрессирующим течением. Его социальная значимость неоспорима, так как болезнь быстро приводит к потере трудоспособности и инвалидности вследствие деформа-

ции и анкилозирования суставов, что крайне ухудшает качество жизни пациентов. Проблема РА стоит достаточно остро, так как до сих пор лечение носит скорее симптоматический характер, не достигая своей конечной цели — излечения. Поэтому во всем мире продолжается интенсивный поиск причин РА и факторов (экзогенных и эндогенных), способствующих его развитию, биологических маркеров ранней диагностики, прогноза клинического течения и индивидуальной чувствительности к лечению.

Происхождение, распространение, некоторые аспекты этиологии и патогенеза, а также клиническая ха-

рактеристика заболевания обсуждались в предыдущих обзорах [2–4]; здесь основное внимание уделено генетике и эпигенетике РА. К настоящему времени известно о сотнях генов, полиморфизм которых вносит ощутимый вклад в развитие РА, и, по меткому выражению итальянских ученых С. Peggione et al., их открытие — «a never-ending story» (нескончаемая история) [5]. За последние 10 лет уже стало ясно, что, кроме генетического полиморфизма, на развитие и фенотипическое проявление болезни оказывает значительное влияние экспрессия тех или иных генов и их продуктов. Количественная оценка уровня экспрессии генов аутоиммунного и воспалительного ответа вместе с данными полногеномного поиска ассоциаций (GWAS, Genome Wide Association Studies) и эпигенетических исследований представляет современную научную основу комплексного изучения патогенеза РА, что, возможно, позволит индивидуализировать подход к диагностике и лечению заболевания, повышая шансы успешной терапии для каждого пациента.

### ВОСПАЛЕНИЕ И АУТОИММУНИТЕТ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Поражение суставов при РА развивается в результате хронического воспаления синовиальной оболочки при взаимодействии резидентных клеток, таких как фибробластоподобные синовиоциты, с клетками врожденного (макрофаги, дендритные клетки, тучные клетки, нейтрофилы) и адаптивного (В- и Т-лимфоциты) иммунитета [3, 5, 6]. Синовиоциты приобретают черты макрофагов, выделяют провоспалительные цитокины, становятся антиген-презентирующими клетками (АПК) и вызывают активацию Т-хелперов 1-го типа; в результате развивается аутоиммунный ответ, что, в конце концов, приводит к активации остеокластов, постепенно разрушающих хрящевую и костную ткань.

В последние годы открыта способность нейтрофилов формировать внеклеточную структуру — «ловушку» для патогенов (NET, Neutrophil Extracellular Trap). NETosis (нетоз) представляет первичный защитный механизм на ранних ступенях воспалительного каскада [2]. При РА нейтрофилы из синовиальной жидкости и периферической крови проявляют повышенный нетоз после стимуляции сывороточными антителами или провоспалительными цитокинами, тогда как спонтанное образование нейтрофильной ловушки индуцируется активными формами кислорода. Среди ее компонентов описан ряд цитоплазматических и внеклеточных цитруллиновых антигенов, которые служат мишенями для аутоантител и действуют как индукторы последующего образования таких ловушек при ревматоидном и ювенильном идиопатическом артрите [7].

Нарушение регуляции адаптивной иммунной системы также существенно влияет на развитие РА,

так как многие типы Т-лимфоцитов являются «активными игроками» на поле патологического процесса, поддерживая воспаление путем продукции ряда сигнальных молекул, в том числе цитокинов и хемокинов [2, 6].

Таким образом, в патогенезе РА участвуют различные процессы и множество компонентов врожденного и приобретенного иммунитета, которые начинают воспринимать собственные ткани организма как чужеродные. Иммунные клетки, растворимые медиаторы, адгезивные молекулы и аутоантитела вносят свой вклад в развитие воспаления, приводя к деструктивным изменениям суставов и внутренних органов. Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза РА, безусловно, содействует разработке новых более эффективных способов и средств лечения заболевания.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Основу патогенеза РА образует триада из генетической предрасположенности, воздействия окружающей среды и аутоиммунитета, которую также справедливо называют «бермудским треугольником» [8]. В этой триаде значительная доля приходится на наследственность, о чем свидетельствуют исследования на близнецах и мониторинг заболеваемости в семьях [9, 10].

Среди возможных генетических факторов, способствующих развитию заболевания, основополагающая роль принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости, или лейкоцитарного антигена человека (HLA, Human Leukocyte Antigen). Локус HLA занимает участок в 7,6 Мб на хромосоме 6 (6p21) и содержит 250 высокополиморфных генов, ответственных за продукцию гликопротеидов на клеточных мембранах [11]. HLA-белки (антигены) обеспечивают презентацию процессированных в АПК пептидов эндогенного и экзогенного происхождения Т-лимфоцитам и регулируют иммунный ответ на чужеродные и свои антигены в контексте с собственными HLA-детерминантами [12, 13]. HLA-антигены подразделяются на классы I и II. Антигены класса I необходимы для распознавания трансформированных клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами; антигены класса II обеспечивают взаимодействие между АПК и Т-лимфоцитами в процессе иммунного ответа.

Аминокислотные мотивы QKRAA, QRRAA, RRRRAA в остатках 70–74 гипервариабельного района DRβ-цепи, известные как общий эпитоп (SE, Shared Epitope) и кодируемые некоторыми членами аллельной группы HLA-DRB1\*04 либо HLA-DRB1\*01, а также аллелями HLA-DRB1\*14:02 и HLA-DRB1\*10:01 [12], не только повышают риск развития РА, но также связаны с более серьезными эрозивными изменениями кости и титрами антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) [14, 15]. Напротив, мотив 70-DERAA-74

ассоциирован с протективным эффектом [13]. Показано, что кодирующие этот мотив аллели, в частности *HLA-DRB1\*13*, снижают вероятность развития не только РА, но и других аутоиммунных заболеваний [16].

Важными диагностическими маркерами РА являются такие серологические показатели, как ревматоидный фактор (РФ) и АЦЦП. В зависимости от наличия или уровня этих антител РА относят либо к серопозитивному, либо к серонегативному артриту; в процентном отношении они составляют 75–85 и 15–25 % соответственно [17, 18]. Из-за повышенного сродства белка, содержащего общий эпитоп, к цитруллиновым антигенам увеличивается вероятность развития серопозитивного артрита. Действительно, на шведской и североамериканской популяциях продемонстрировано, что аллели *HLA-DRB1* представляют существенный фактор риска развития АЦЦП-положительного, но не АЦЦП-отрицательного артрита [19, 20]. Однако ряд работ, в том числе выполненных в европейских странах, указывал на связь SE с серонегативным РА [21, 22]. Установлен вклад DR3 аллотипа в формирование предрасположенности к серонегативному РА у европейцев [23], а DR14 и DR8 — у японцев [24]. Оценки наследуемости при обоих серологических статусах также показали, что вклад аллелей общего эпитопа локуса *HLA-DRB1* заметно различается, обуславливая 18 % наследуемости РА у АЦЦП-положительных и только 2,4 % — у АЦЦП-отрицательных пациентов [25]. Эти данные, наряду с некоторыми другими, позволяли рассматривать серопозитивный и серонегативный РА как генетически обособленные болезни [13].

При изучении этнической специфичности ассоциаций отдельных генотипов/аллелей HLA с ревматоидным артритом выявлено, что у европейцев при серопозитивном РА общий эпитоп преимущественно кодируется аллелями *HLA-DRB1\*04:01*, *\*04:04*, *01:01* и *10:01*, тогда как у восточных азиатов наиболее распространен SE-кодирующий аллель *DRB1\*04:05* [26]. У североамериканских индейцев и коренных уроженцев Аляски аллель *DRB1\*14:02* проявляет себя как фактор риска тяжелого течения заболевания [27]. У афроамериканцев частота SE-кодирующих аллелей составляет примерно одну треть по сравнению с лицами европейского происхождения, оставаясь тем не менее фактором риска РА [28]. Недавно установлено отсутствие принципиальных различий между субпопуляциями африканского и европейского происхождения в Великобритании [29]. В Латинской Америке обнаружены ассоциации РА с районом HLA класса II и некоторыми другими генами, характерные также для населения европейских и азиатских стран [30]. Азиатские этнические группы, в том числе населяющие Малайзию, также проявляли аналогично с европейцами, поскольку у них отсутствовала

связь ряда аллелей общего эпитопа с серонегативным артритом [31].

Таким образом, полиморфизм локуса HLA играет ключевую роль в развитии РА в различных популяциях, проявляя определенную этносpezifичность относительно аллелей риска заболевания. Ассоциация аллелей данного локуса с РА также имеет свои особенности в зависимости от серопозитивного либо серонегативного статуса пациента. Дальнейшее исследование этой проблемы по-прежнему актуально и с точки зрения фундаментальной науки, и для практической медицины.

Дополнительно к аллелям *HLA-DRB1*, выявлена роль так называемых «поп-HLA» генов, не относящихся к главному комплексу гистосовместимости [8, 32]. Среди них: *PTPN22*, *IL23R*, *PADI4*, *TRAF1*, *CTLA4*, *IRF5*, *STAT4*, *FCGR3A*, *IL6ST*, *IL2RA*, *IL2RB*, *CCL21*, *CCR6*, *CD40* и др., вовлеченные в сигнальную трансдукцию, регуляцию активности интерферонов и других компонентов иммунной системы, цитокинов, хемокинов и их рецепторов, инициирующих и поддерживающих воспаление.

В ряде случаев варианты поп-HLA генов повышали риск развития РА в разных популяциях, тогда как другие, наоборот, проявляли этническую специфичность. Например, обнаружена ассоциация аллеля Т гена *STAT4* (rs7574865) с РА как в европейских, так и азиатских популяциях (OR [95 % CI] = 1,3[1,195–1,414],  $p < 0,001$ ; OR [95 % CI] = 1,216[1,135–1,303],  $p < 0,001$  соответственно) [33]. Стратификация пациентов по этнической принадлежности в работе R. Elshazli и A. Settin [34] показала, что аллель Т, генотипы СТ+ТТ локуса *PTPN22* (rs2476601), аллель Т и генотипы GT+ТТ локуса *STAT4* (rs7574865) статистически значимо ассоциированы с РА у лиц европейского, азиатского и африканского происхождения, в то время как генотип ТТ локуса *PTPN22* связан с РА у европейцев, но не у азиатов и африканцев, а генотип ТТ локуса *STAT4* — с РА у европейцев и азиатов, но не у африканцев. Не найдено каких-либо доказательств в пользу ассоциаций SNPs в генах *TRAF1/C5*, *CD40* и *CCL21* с РА в корейской популяции [35]. Установлена связь полиморфизма гена *PTPN22* с РА для европейских популяций, а гена *PADI4* — для популяций азиатского происхождения [36]. Что касается локусов *FCGR*, то хотя полиморфизм *FCGR3B* не изменял чувствительность популяций к РА, *FCGR2A* и *FCGR3A* проявляли ассоциацию с заболеванием у европейцев, оставаясь нейтральными у азиатов [37]. Метаанализ 32 исследований, включающих материал от 25 059 пациентов с РА и 25 466 контрольных индивидов, выявил влияние полиморфизма 1858С/Т в локусе *PTPN22* (rs2476601) на предрасположенность к РА у европейцев (OR = 1,612, 95 % CI: 1,544–1,683,  $p < 0,001$ ), тогда как у азиатов частота минорного аллеля этого

гена была чрезвычайно мала [38, 39]. Характерно, что данный полиморфный вариант ассоциирован с серопозитивным подтипом заболевания и реже встречается у РФ- или АЦЦП-негативных пациентов. В египетской популяции вариант 1858С/Т (rs2476601) идентифицирован в гетерозиготной форме только у двух (из 100) пациентов с РА и вовсе не выявлялся в контрольной группе [40]. В отличие от этого, установлена ассоциация полиморфного варианта гена *STAT4* (rs7574865) с РА, при этом он преобладал у РФ- или АЦЦП-позитивных пациентов.

Наиболее интересны для нас результаты изучения полиморфизма локуса *HLA-DRB1* и полиморфных вариантов 11 генов *PTPN22*, *STAT4*, *CTLA4*, *TRAF1/C5*, *IRF5*, *TNFAIP3*, *AFF3*, *PADI4*, *CD28*, *CSK* и *FCGR3A* при АЦЦП-позитивном ревматоидном артрите в словацкой популяции [41]. Авторы показали тесную связь SE-кодирующих аллелей с развитием серопозитивного РА, а среди вариантов поп-HLA генов были выявлены аллели и генотипы риска в локусах *PTPN22*, *STAT4*, *IRF5* и *PADI4*. По своей значимости генотипы располагались в следующем порядке: SE 0 > *IRF5* TT > SE 1 + SE 2 > *STAT4* GG > *PADI4* CC + *PADI4* TT > *PTPN22* CC.

Следовательно, в отличие от принципиально схожих эффектов полиморфных вариантов генов HLA в этнически разнородных популяциях, многие мета-анализы демонстрируют различия между европейцами и азиатами, а также другими этническими группами по влиянию поп-HLA генов на их чувствительность к РА. Необходимо подчеркнуть, что приведенные данные в большинстве случаев указывают на ассоциацию генетических маркеров с серопозитивным (АЦЦП+, РФ+) артритом, что, возможно, связано с доминированием серопозитивного подтипа заболевания у взрослых, и большим объемом выборок этих пациентов, позволяющих сделать статистически обоснованные выводы.

В патогенезе любого аутоиммунного заболевания с выраженным воспалительным компонентом огромную роль играют *цитокины*, среди которых пальма первенства отдается фактору некроза опухолей (TNF- $\alpha$ , Tumor Necrosis Factor) и интерлейкинам (ILs, Interleukin), стимулирующим воспаление и деградацию кости и хряща; поэтому их уровень в плазме крови пациентов с РА позволяет судить о фазе болезни. Кроме того, установлено, что стадия предболезни, продолжающаяся от нескольких месяцев до нескольких лет, характеризуется наличием в крови циркулирующих аутоантител, повышенной концентрацией и расширенным диапазоном воспалительных цитокинов и хемокинов, измененным метаболизмом [3], которые могут служить биомаркерами заболевания на ранней досимптоматической стадии.

TNF- $\alpha$  проявляет свою биологическую активность при связывании со специфическими мембранными

рецепторами. Преобладает sTNF-R1 (soluble Tumor Necrosis Factor Receptor 1), известный также как CD120a, который экспрессируется клетками большинства типов тканей, принимает участие в апоптозе и обладает противовирусной активностью [42]. Рецептор TNF-RII (или CD120b), напротив, способствует пролиферации клеток [43]. Совокупность клинических и экспериментальных данных показывает, что наличие растворимых форм рецепторов TNF- $\alpha$  в крови и других биологических жидкостях является важным диагностическим и прогностическим маркером заболевания [44].

Ген *TNFA* расположен на шестой хромосоме (6p21.3) в локусе MHC [45]. Известны более 30 полиморфных вариантов гена, но только около половины из них влияют на экспрессию белка *in vitro*. Наиболее значимыми для человека считаются единичные нуклеотидные замены в положениях -308G/A (rs1800629) и -238G/A (rs361525), способные изменять скорость транскрипции и уровень продукции TNF- $\alpha$  [46, 47]. Однако изучение ассоциаций этих вариантов с РА не принесло желаемых результатов. Полиморфизм *TNFA*-308G/A (rs1800629) оказался связанным с развитием заболевания в Латинской Америке, но не в других популяциях [48, 49]. Полиморфизмы в области промоторов -609G/T и -238G/A также не были ассоциированы с РА [50]. Противоречивые данные получены относительно эффекта полиморфизма гена *TNFA* на течение заболевания: у пациентов с генотипами AA+AG в положении -308 выявлено ускоренное прогрессирование болезни с развитием эрозивного артрита [51], тогда как другие авторы не считают этот вариант предиктором деструктивного поражения суставов [52]. Несмотря на то что повышенное содержание TNF- $\alpha$  в биологических жидкостях пациентов указывает на активную фазу болезни, данные по влиянию на предрасположенность к РА перечисленных выше генетических вариантов противоречивы и в большинстве своем отрицательны. Возможно, это объясняется небольшими частотами минорных аллелей в изучаемых локусах. Например, частота аллеля А варианта *TNFA* -308G/A (rs1800629) в белорусской популяции варьирует в пределах 11,4–12,8 %, при этом гомозиготные носители этого аллеля в исследованных выборках населения вообще не встречались [53–55].

Интерлейкины представляют собой большую группу цитокинов, синтезируемых лейкоцитами, мононуклеарными фагоцитами и другими иммунными клетками, и, в свою очередь, влияют на продукцию и дифференциацию Т- и В-лимфоцитов и гемопоэтических клеток. Варианты генов, кодирующих цитокины, изучают в связи с эрозивным поражением суставов. Среди них, 511A/G (rs16944) в промоторе гена *IL-1B* положительно ассоциирован с РА, а аллель +3954T этого гена способствует более тяжелым структурным повре-

ждениям суставов [5, 32]. Метаанализ ряда исследований в зависимости от этнической принадлежности пациентов выявил статистически значимые ассоциации между РА и полиморфизмом *IL-6* -174G/C в европейских и азиатских популяциях, тогда как полиморфный вариант -572G/C этого гена проявлял ассоциацию с РА у азиатов, но не у арабов [56]. Совсем недавно выявлена ассоциация варианта -174G/C (rs1800795) гена *IL-6* с РА в Беларуси [57]. Анализ распределения частот генотипов по исследуемому локусу показал тенденцию к его изменению в группе пациентов с РА по сравнению с группой контроля ( $p = 0,08$ ) за счет повышения частоты встречаемости гомозиготного по аллелю С генотипа (OR [95 % CI] = 1,75 [1,02–3,02],  $p < 0,05$ ). Были обнаружены статистически значимые различия и в распределении частот аллелей ( $p = 0,02$ ).

Биологическое значение полиморфизма генов интерлейкинов и их рецепторов при РА рассмотрено в обзоре L. Magyari et al. [58]. Авторы проанализировали функции интерлейкинов, принадлежащих к разным классам, зависимость наблюдаемых ассоциаций от серологических вариантов РА и этнической принадлежности пациентов. Показано, что полиморфные варианты этих генов в той или иной степени модифицируют риск развития заболевания, проявляя в ряде случаев этническую специфичность и противоположные эффекты. Так, метаанализ десяти европейских, семи азиатских и одной латиноамериканской популяции выявил ассоциацию полиморфизма +3953C>T гена *IL-1B* с РА только в азиатской когорте. В китайской популяции вероятность развития РА повышалась под влиянием полиморфизма -592C>A (rs1800872) гена *IL-10* [59].

Наряду с рисковым потенциалом аллельных вариантов генов интерлейкинов, обнаружено, что некоторые из них уменьшают чувствительность популяции к развитию заболевания. Показано 25 % снижение риска развития РА у европейских носителей полиморфного варианта -1082A/G гена *IL-10* (rs1800896) [58]; таким же влиянием обладал вариант *IL-10* -3575T>A (rs1800890) у китайцев [60]. Протективный эффект установлен у аллеля G варианта -1464C>G гена *IL-1B* (rs1143623), а агрессивность заболевания ослабевала за счет *IL-27*-опосредованного подавления остеокластогенеза [58].

Таким образом, на этом этапе поиск генов-кандидатов в основном фокусировался на генах, вовлеченных в иммунный и воспалительный ответ, цитокиновые сигнальные пути и другие патогенетически важные клеточные процессы. Установлены некоторые особенности реализации рискованного потенциала полиморфных локусов HLA и не относящихся к этому комплексу генов. SE-кодирующие аллели *HLA-DRB1* проявляли более стабильную ассоциацию с РА, однако аллели риска мо-

гли варьировать в зависимости от этнического происхождения пациентов и предпочтительнее ассоциировали с серопозитивным артритом. Данные по влиянию полиморфизма HLA генов на предрасположенность к РА оказались неоднозначными для ряда популяций, предопределяя необходимость изучения этой проблемы в конкретных этногеографических условиях.

### ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК АССОЦИАЦИЙ

В отличие от методов анализа одного или нескольких конкретных участков генома, когда используется «кандидатный» подход в исследовании «случай–контроль», при полногеномных ассоциативных исследованиях анализируется последовательность ДНК целиком, что позволяет выявить связь определенных нуклеотидных замен (SNPs) с заболеванием или его признаком [61].

С помощью GWAS к настоящему времени установлены верифицированные ассоциации 14 аутоиммунных заболеваний более чем с 250 локусами [62, 63]; некоторые из них проявляли себя при различных болезнях. Метаанализ когорты, объединяющей более 100 000 лиц европейского и азиатского происхождения, генотипированных по 10 млн. SNPs, выявил 98 генов-кандидатов, принадлежащих к разным патогенетическим путям РА [64]. Среди 42 новых локусов, ассоциированных с РА в общей выборке, большая часть (27) проявляла сходную связь у европеоидов, и меньшая часть (6) — у азиатов. Большинство аллелей риска оказались вовлечены в регуляцию иммунитета, комбинированный иммунодефицит, а также относились к молекулярным путям В-, Т-клеточного иммунитета и опосредованной цитокинами сигнальной трансдукции. Подтверждена роль ряда генов в качестве мишеней для улучшенной терапии РА.

Путем метаанализа результатов 22 GWAS (18 исследований европеоидов и 4 исследования азиатов) идентифицирован 221 ген, ассоциированный с РА [65]. Этот новый перечень включал 71 общий ген для пациентов европейского и азиатского происхождения, 76 генов, характерных для европейцев, и 74 гена, наиболее типичных для азиатов. Кроме того, было обнаружено, что свойственные лицам азиатского происхождения гены образуют кластеры в пределах хромосомы 6, тогда как для «европейских» генов риска характерно относительно равномерное распределение по разным хромосомам, с чем, возможно, связана высокая генетическая гетерогенность РА у европейцев. Более половины идентифицированных у азиатов аллельных вариантов относились к семейству гистоновых (H) генов, которые составляют менее  $1/10$  всех «европейских» генов. Общеизвестно, что гистоны участвуют в регуляции транскрипции, репарации и репликации ДНК, поддерживают стабильность хромосом, что в комплексе с новыми данными проливает свет на этнические различия в этиологии и патогенезе РА.

Полногеномный поиск ассоциаций и метаанализ целого ряда таких исследований с каждым годом пополняет список генов предрасположенности к РА в различных этнических группах. Предположительно, для славянских популяций представляют интерес гены, наиболее тесно связанные с РА у европеоидов. Из ранее установленных, к таковым можно отнести: rs6910071 гена *HLA-DRB1* (OR = 2,88 [2,73–3,03]), подтвердивший ассоциацию с РА при  $p < 10^{-299}$ ; rs2476601 гена *PTPN22* (OR = 1,94 [1,81–2,08]), связь которого с РА доказана при  $p = 9,1 \cdot 10^{-74}$ ; rs6920220 и rs5029937 гена *TNFAIP3* (OR = 1,22 [1,16–1,29];  $p = 8,9 \cdot 10^{-13}$  и OR = 1,40 [1,24–1,58];  $p = 7,5 \cdot 10^{-8}$  соответственно) [66, 67]. Рискковая значимость полиморфных вариантов rs2230926 и rs5029937 гена *TNFAIP3* убедительно подтверждена путем метаанализа 18014 случаев и 20 112 контрольных образцов [67]. Обнаружена статистически значимая, но на несколько меньшем уровне, ассоциация РА с rs3761847 гена *TRAF1/C5* (OR = 1,13 [1,08–1,88];  $p = 2,1 \cdot 10^{-7}$ ). Перечисленные SNPs повышали чувствительность к заболеванию, тогда как rs3087243 гена *CTLA4* (OR = 0,87 [0,83–0,91];  $p = 1,2 \cdot 10^{-8}$ ) и rs4810485 гена *CD40* (OR = 0,85 [0,80–0,90];  $p = 2,8 \cdot 10^{-9}$ ) снижали вероятность возникновения РА. Среди вновь выделенных аллельных вариантов наиболее тесную ассоциацию с РА у европеоидов проявляли *HLA-F* (OMIM 143110) при  $p = 1,03E-31$ ; *HLA-DMA* (OMIM 142855) при  $p = 2,75E-133$ ; *HLA-G* (OMIM 142871) при  $p = 3,34E-34$ . К факторам риска относились также генетические варианты *PHTF* (Putative Homeodomain Transcription Factor 1, OMIM 604950), ассоциированный с РА при  $p = 1,74E-147$ , и *RPS18* (Ribosomal Protein S18, OMIM 180473), связанный с РА при  $p = 9,49E-37$  [65].

Однако указанные ассоциации установлены благодаря объединению выборок различных этнических и популяционных групп, общая численность которых достигала нескольких десятков тысяч, тогда как проведение исследований в конкретных популяциях сталкивается с проблемой малых выборок, как правило, не достаточных для доказательства статистической значимости наблюдаемых отклонений в распределении частот генотипов/аллелей. Другое ограничение вытекает из множества генов, контролирующих те или иные пути патогенеза РА. При столь обширном спектре вариантов риска их индивидуальный вклад в генетическую компоненту заболевания, за исключением таких, как *HLA-DRB1*, очень невелик. В большинстве своем показатель отношения шансов (OR) не превышает 1,5, поэтому желательно изучать влияние комбинированных генотипов, так как по аналогии с онкологическими заболеваниями можно ожидать значительное усиление небольших эффектов SNPs при оценке их коллективного действия [68]. Этот аспект на примере исследований, проводимых в Беларуси, будет освещен отдельно.

### РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ И ЛОКУСОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ КАК РЕГУЛЯТОРОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В ПАТОГЕНЕЗ РА

Уровень экспрессии генов может быть связан не только со структурными изменениями ДНК (например, SNPs), но и с влиянием различных механизмов регуляции активности генов, в частности, эпигенетической модификации (посттранскрипционной модификации гистонов, метилирования цитозинового основания ДНК, воздействия микроРНК и пр.) [69–72].

В большей степени изучено влияние метилирования ДНК на экспрессию генов в клеточных популяциях, затронутых патологическим процессом [72]. Среди этих работ можно выделить полногеномное исследование метилома фибробластоподобных синовиоцитов от пациентов с РА и остеоартритом (ОА) [73, 74]. Установлены вариации в метилировании множества локусов, связанных с движением и адгезией клеток; показано, что гипометилированные гены образуют кластеры в ключевых путях, имеющих отношение к этим клеточным процессам. Анализ паттерна метилирования в промоторе гена *IFNG*, кодирующего растворимый цитокин (интерферон II класса), выявил гипометилирование преимущественно в CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>Т-клетках, которое сопровождалось повышенной продукцией интерферона гамма после стимуляции Т-клеточных рецепторов [75]. Предположительно, одним из механизмов глобального гипометилирования при РА может быть избыточное потребление S-аденозилметионина (SAM) — донора метильных групп в процессе метилирования ДНК в синовиоцитах [76].

Усилия последних лет сосредоточены на интеграции эпигенетической и генетической составляющих предрасположенности к РА [71, 72]. Так, полногеномное исследование метилирования и SNPs в лейкоцитах пациентов с АЦЦП-положительным РА привело к идентификации 9 кластеров аномального метилирования в локусе МНС и одного — за его пределами на той же хромосоме, что, по мнению авторов, указывало на посредничество эпигенетических изменений в реализации повышенной чувствительности к заболеванию [77]. Y. Okada et al. также показали, что локусы генов-кандидатов, ассоциированных с риском РА, перекрываются с пиками метилирования в регуляторных Т-лимфоцитах [64].

Опубликованные в 2019 г. результаты комплексного исследования метилирования ДНК, профилей микроРНК и генетических вариаций в синовиоцитах пациентов с РА и ОА [74] подтвердили предыдущие выводы о глобальном гипометилировании при РА, так как степень метилирования ДНК вне островков CpG не превышала 0,1 %. Паттерны глобального метилирования не различались при этих заболеваниях суставов, но в то же время обнаружено более 500 специфич-

ных для РА локальных районов метилирования (LMRs) в иммунных или кровяных клетках. LMRs преимущественно локализовались в 5'-областях и перекрывались со связывающими мотивами транскрипционных факторов GLI1, RUNX2 и TFAP2 A/C. Дифференциально метилированные CpG-островки оказались включены в регуляторные сети, контролирующие организацию коллагеновых фибрилл, а также коррелировали с уровнем экспрессии микроРНК. Авторы полагают, что LMRs действуют как дистальные регуляторные элементы иммунного ответа, а наблюдаемые различия между LMRs при РА и ОА отражают функциональные изменения синовиоцитов у пациентов с РА. Полученные данные могут служить информационным ресурсом для поиска новых биомаркеров, способствующих дифференциальной диагностике РА [74].

По мнению A. Cribbs et al. более важным для клинической практики представляется изучение процесса метилирования как терапевтической мишени [78]. Существует ряд эффективных медикаментозных средств против РА, однако часть пациентов положительно реагирует на лечение, тогда как другие невосприимчивы к нему. Так, Метотрексат, используемый для базисной терапии РА, «отменяет» глобальное гипометилирование, но механизм этого явления пока неизвестен. Возможно, что и другие лекарственные препараты устраняют эпигенетические нарушения, лежащие в основе хронизации заболевания, поэтому в идеале было бы полезно заранее идентифицировать тех, кто не чувствителен к лечению, используя для этой цели паттерны метилирования [78].

Поскольку при РА в фибробластоподобных синовиоцитах усиливается экспрессия разрушающих матрикс ферментов, повышается уровень адгезивных молекул, хемокинов, цитокинов и их рецепторов, вполне оправдана тактика таргетной терапии, базирующаяся на подавлении активированного фенотипа синовиоцитов путем модуляции метилирования ДНК. Показано, что изменение метилирования промотора полиамин-модулированного фактора 1 (PMF1) благоприятствует экспрессии спермидин/спермин N1-ацетилтрансферазы 1 (SAAT1), вызывая чрезмерное потребление SAM. Вследствие ингибирования под влиянием диминазин ацетурата SAAT1, задействованной в рециклинге полиамина, снижается способность клеток к адгезии и их инвазивность, что предлагается использовать в новой стратегии борьбы с разрушением кости при РА [79].

Таким образом, эпигенетические исследования помогают понять, почему генетически предрасположенные индивиды в одном случае поражаются болезнью, а в другом нет, объясняют наблюдаемую в клинике гетерогенность симптомов РА и его ответов на лечение [78], стимулируют развитие новых подходов к терапии заболевания [79]. Подчеркнем, что разработка эффективных способов и средств лечения РА на основе индивидуаль-

ных молекулярно-генетических и эпигенетических характеристик представляет инновационное направление, которое в перспективе может улучшить выживаемость и качество жизни пациентов. Этот аспект, имеющий огромное практическое значение, привлекает все больше внимания и заслуживает самостоятельного обзора.

SNPs, кодирующие белок, не покрывают всей наследственной составляющей комплексных заболеваний, порождая «тайну пропущенной наследственности» (missing heritability) [80]. Фактически более 90 % выявленных с помощью GWAS полиморфных вариантов риска РА относятся к некодирующим областям генома [81, 82]. Параллельно с накоплением сведений о качественных ассоциациях заболевания с множеством функционально значимых SNPs, производится анализ и картирование *локусов количественных признаков* (eQTLs, expression Quantitative Trait Loci). Этот подход обеспечивает более глубокое проникновение в свойства генетических локусов, осуществляющих регуляторные функции [83, 84]. По определению, eQTLs представляют собой районы генома, содержащие варианты последовательностей ДНК, которые влияют на уровень экспрессии одного или более генов [85]. eQTLs, картируемые вблизи гена, обозначаются как cis-eQTLs, а если они обнаруживаются на расстоянии или даже на другой хромосоме, то представляют trans-eQTLs. Cis-eQTLs выявляются во многих типах тканей, тогда как trans-eQTLs тканеспецифичны. Детали картирования eQTLs и место этой процедуры в совокупности методов изучения вклада генетических факторов в предрасположенность к мультифакторным заболеваниям рассмотрены в работе W. Cookson et al. [86], по мнению которых доступность систематически генерируемой информации по eQTLs поможет идентифицировать генную сеть, вовлеченную в патогенез болезни.

Действительно, в результате анализа eQTLs в разных субпопуляциях иммунных клеток найдены cis- и транс-локусы, указывающие на роль активируемого пролифераторами пероксисом рецептора гамма (PPARG, Peroxisome Proliferator Activated Recceptor Gamma) и его сигнального пути в развитии аутоиммунной патологии [87]. Показано, что аллели HLA формируют ассоциации с экспрессией АОАН (Acylouacyl Hydrolase = ацилоксиацил гидролаза) и ARHGAP24 (RhoGTPase-activating protein — семейство клеточных сигнальных G-белков, относящихся к суперсемейству Ras) в моноцитах, но не в В-клетках. Следовательно, с помощью картирования локусов, контролирующих экспрессию генов, идентифицирована специфичная для определенного типа иммунных клеток транс-регулируемая генетическая сеть, ответственная за формирование восприимчивости к аутоиммунным болезням [87].

На датской популяции, насчитывающей около 5000 человек, изучено влияние несинонимичной замены

rs2228145 в гене *IL6R* на уровень растворимого рецептора интерлейкина 6 (sIL-6R) — важнейшего медиатора воспаления. Показано, что содержание белкового продукта и колебания этого показателя обусловлены не только функциональной нуклеотидной заменой rs2228145, но также другими вариантами в данном локусе (в частности, последовательностями на 3'-конце гена, связанными с rs60760897), которые регулируют экспрессию гена *IL6R* [88]. Позже обнаружено, что ассоциированный с РА SNP rs13330176, локализованный на 16-й хромосоме (16q24.1), влияет на транскрипт lncRNA *RP11-542M13.2* в цис-положении, который предположительно регулирует пролиферацию В-лимфоцитов. Этот же SNP умеренно ассоциирован с уровнем экспрессии более чем 10 генов в транс-положении, которые также контролируют функционирование В-клеток [63].

Сравнительно недавно на основе 39 полногеномных исследований разработан алгоритм высококачественного генетического и эпигенетического картирования для идентификации каузальных генетических вариантов, ассоциированных с 21 аутоиммунной болезнью [89]. Согласно полученным результатам, более 90 % таких вариантов располагается в некодирующих областях генома, что полностью совпадает с другими оценками [81]. Около 60 % локализованы в сайтах связывания с транскрипционными факторами. Однако, по-видимому, только 10–20 % из них могут напрямую регулировать экспрессию генов через сайты связывания с классическими транскрипционными факторами, тогда как 80–90 % функционируют, модифицируя неканонические регуляторные последовательности [89]. Для лучшего понимания, каким образом некодирующая часть генома влияет на развитие аутоиммунных заболеваний, I. Ripano-Ponce et al. предложили модель, в соответствии с которой «критические» гены регулируются сетью взаимодействующих локусов некодирующего хроматина [63].

В данном контексте большой интерес представляет работа K. Ishigaki et al., которые оценили «полигенный груз» в пяти клеточных субпопуляциях (CD4<sup>+</sup>T-, CD8<sup>+</sup>T- и В-клетках, естественных киллерах и моноцитах) при РА [90]. Изучая экспрессию генов и экзонов секвенированием РНК, а также анализируя ассоциации между уровнем экспрессии и соседствующими распространенными генетическими вариантами в каждом типе клеток, авторы идентифицировали 8204 экспрессируемых гена и 43 200 экзонов. Установлены следующие закономерности: противоположные эффекты аллелей в разных клеточных линиях, высокая конкордантность данных в сопоставимых условиях при сравнении «японских» вариантов с «европейскими» и характерное для определенного типа клеток накопление eQTLs в пределах сайтов связывания с транскрипционными факторами. Обнаружена активация

TNF-цитокинного пути в Т-лимфоцитах независимо от происхождения клеточных популяций. Полученные данные согласуются с тем, что нарушение регуляции цитокиновой сети является фундаментальным механизмом РА [91] и свидетельствуют, что груз полигенных нарушений в иммунных клетках может стимулировать воспалительные процессы, предрасполагая к развитию РА [90].

Обсуждаемые публикации демонстрируют полигенный характер предрасположенности к РА. Найдены сотни генетических вариантов, ассоциированных с многофакторными (комплексными) заболеваниями и их признаками. Для РА известно более 220 генов, полиморфизм которых влияет на чувствительность к данной патологии суставов. Однако реализация генетического потенциала во многом зависит от экспрессии генов, вовлеченных в патогенез болезни. Регуляция экспрессии генов осуществляется путем эпигенетических модификаций. В частности, для РА характерно глобальное гипометилирование ДНК и присутствие специфичных районов аномального метилирования (LMRs) в иммунных клетках. Кроме того, картировано множество eQTLs в цис- и транс-положении относительно регулируемых генов. Идентификация данных локусов служит своеобразным ключом к разгадке «тайны пропущенной наследственности» и подтверждает превалирующий вклад в генетическую компоненту аутоиммунных заболеваний некодирующих участков генома, выполняющих регуляторные функции.

#### «ОТ ПОЛИГЕННОГО К ОМНИГЕННОМУ»

Такой подзаголовок дан статье [92], опубликованной в журнале «Cell» в 2017 г. и вызвавшей мощный резонанс. Профессор Стэнфордского университета J. Pritchard и его коллеги Y. Li и E. Boyle выдвинули «омнигенную» модель генетического риска многофакторных (комплексных) заболеваний. Поскольку отдельные гены функционируют в составе разветвленных и взаимоперекрывающихся генных сетей, то эта концепция строится на предположении, что «все связано со всем» (или «every gene affects everything»), а комплексные признаки, как и болезни, находятся под влиянием всех генов, активированных в определенных тканях.

По мнению E. Boyle et al., несмотря на успехи современной молекулярной генетики, существующие концептуальные модели комплексных болезней остаются неполными. Опираясь на данные, касающиеся шизофрении, болезни Крона и ревматоидного артрита, авторы акцентировали внимание на обогащении генетических сигналов в транскрипционно активных регионах хроматина, происходящем в патогенетически значимых тканях и клетках. Согласно сформулированной ими «омнигенной» модели, комплексные

признаки определяются ограниченным числом так называемых «core» (основных) генов, уникальных для данного признака или болезни. Однако любой ген, экспрессируемый в затронутых патологическим процессом клетках, может повлиять на регуляцию и функционирование основных генов. Периферические гены количественно превосходят основные и, не отвечая непосредственно за этиологию и патогенез болезни, обеспечивают большую часть наследственной компоненты. Их индивидуальные эффекты малы, однако их коллективное действие существенно повышает риск заболевания.

С этой точки зрения можно объяснить уже упомянутые результаты. «Омнигенная» модель также получила поддержку при реконструкции генетической архитектуры системной красной волчанки (СКВ), что позволило выявить 3 новых кандидата на основные функциональные гены (*DNMT3A*, *PRKCD* и *CIQTNF4*) посредством идентификации сети (множества) редких вариантов, связанных с риском или тяжестью прогноза и разными клиническими фенотипами СКВ [93].

Однако подмечена ограниченность «омнигенной» модели относительно шизофрении [94]. Учитывая разнообразие причин, приводящих к этому психическому расстройству, включая материнские эффекты, нарушения развития плода, социальные и психоэмоциональные факторы, автор этого комментария D. Curtis полагает, что многие гены, помимо основных, влияют на развитие шизофрении, и ситуация намного сложнее. Недавно N.R. Wray et al. также высказали мнение, что комплексные болезни являются более сложными, чем подразумевает «омнигенная» модель [95]. Они считают, что термин «омнигенный» описывает ту же генетическую архитектуру, что и «бесконечно малая модель» (the infinitesimal model [96]), в то время как термин «полигенный» характеризует любую генетическую архитектуру, объединяющую от нескольких до всех вносящих вклад вариантов, и таким образом охватывает многие структуры и взаимосвязи как между, так и внутри классификаций болезней [95].

Не отстаивая позиции сторонников или критиков «омнигенной» модели, укажем только, что она не отрицает полигенную природу многофакторных заболеваний, однако постулирует, что экспрессия основных, характерных для данной болезни генов с понятной биологической функцией, регулируется через генные сети многочисленными периферическими генами, активированными в тканях и клетках, которые вовлечены в патологический процесс. Суммарный вклад вариантов, влияющих на экспрессию генов, значительно доминирует, хотя их индивидуальные эффекты могут быть минимальными. Насколько оправдана эта модель, и приживется ли само понятие «омнигенный» — покажет время.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ревматоидный артрит является распространенным и социально значимым многофакторным заболеванием с неясной этиологией, но доказанной ролью наследственных факторов. Наиболее выражена связь риска развития РА с генами главного комплекса гистосовместимости; найдены гены вне этого комплекса, ассоциированные с РА. У пациентов отсутствуют ключевые мутации, всецело определяющие риск возникновения и течение болезни, поэтому поиск ассоциаций касается SNPs и идет двумя альтернативными путями: устанавливается рискованная значимость отдельных генов, контролирующих воспалительный и иммунный ответы, а также осуществляется GWAS. Посредством GWAS обнаружены и верифицированы в независимых выборках сотни ассоциаций РА с генами, контролирующими В- и Т-клеточный иммунитет и продукцию цитокинов. Однако большинство (по некоторым оценкам более 90 %) полиморфных вариантов, ассоциированных с многофакторными заболеваниями, относятся к некодирующим областям генома и проявляют свое действие, регулируя экспрессию генов. Относительно РА данный механизм подтвержден эпигенетическими исследованиями, а также результатами анализа и картирования вариантов последовательностей ДНК (eQTLs), влияющих на уровень экспрессии генов. Показано, что благодаря этому подходу, «полигенный груз» различается в иммунных клетках разного типа и стимулирует воспалительный ответ, опосредованный, например, цитокином TNF-а преимущественно в Т-лимфоцитах, предрасполагая носителей таких вариантов к развитию РА. Представленные в обзоре данные последних лет подтверждают и конкретизируют полигенную природу заболевания. Согласно новой «омнигенной» модели комплексных признаков/болезней, включая РА, повышение чувствительности к развитию болезни обусловлено взаимодействием основных и множества периферических генов, активированных в клетках и тканях, вовлеченных в патологический процесс.

**Финансирование.** Научно-техническая программа Союзного государства, задание 6.4 С-Г

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med.* 2015;278(4):369-395. <https://doi.org/10.1111/joim.12395>.
2. Angelotti F, Parma A, Cafaro G, et al. One year in review 2017: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35(3):368-378.
3. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity.* 2017;46(2):183-196. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>.

4. Кузир Т.Д. Ревматоидный артрит: исторические и современные аспекты // Молекулярная и прикладная генетика. — 2018. — Т. 24. — С. 55–73. [Kuzhir TD. Rheumatoid arthritis: historical and current aspects. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika*. 2018;24:55-73. (In Russ.)]
5. Perricone C, Ceccarelli F, Valesini G. An overview on the genetic of rheumatoid arthritis: a never-ending story. *Autoimmun Rev*. 2011;10(10):599-608. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.04.021>.
6. Mateen S, Zafar A, Moin S, et al. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2016;455:161-171. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.02.010>.
7. Giaglis S, Hahn S, Hasler P. «The NET outcome»: are neutrophil extracellular traps of any relevance to the pathophysiology of autoimmune disorders in childhood? *Front Pediatr*. 2016;4:97. <https://doi.org/10.3389/fped.2016.00097>.
8. Kurkó J, Besenyei T, Laki J, et al. Genetics of rheumatoid arthritis — comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013;45(2):170-179. <https://doi.org/10.1007/s12016-012-8346-7>.
9. Hemminki K, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Familial associations of rheumatoid arthritis with autoimmune diseases and related conditions. *Arthritis Rheum*. 2009;60(3):661-668. <https://doi.org/10.1002/art.24328>.
10. Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, et al. Familial aggregation of rheumatoid arthritis and co-aggregation of autoimmune diseases in affected families: a nationwide population-based study. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(6):928-933. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew500>.
11. Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J*. 2007;48(1):11-23. <https://doi.org/10.3349/ymj.2007.48.1.11>.
12. Holoshitz J. The rheumatoid arthritis HLA-DRB1 shared epitope. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22(3):293-298. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e328336ba63>.
13. Van Drongelen V, Holoshitz J. Human leukocyte antigen-disease associations in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2017;43(3):363-376. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.003>.
14. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum*. 2005;52(11):3433-3438. <https://doi.org/10.1002/art.21385>.
15. Kim K, Jiang X, Cui J, et al. Interactions between amino acid-defined major histocompatibility complex class II variants and smoking in seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2015;67(10):2611-2623. <https://doi.org/10.1002/art.39228>.
16. Bettencourt A, Carvalho C, Leal B, et al. The protective role of HLA-DRB1(\*)13 in autoimmune diseases. *J Immunol Res*. 2015;2015:948723. <https://doi.org/10.1155/2015/948723>.
17. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2007;146(11):797-808. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-146-11-200706050-00008>.
18. Bovin LF, Rieneck K, Workman C, et al. Blood cell gene expression profiling in rheumatoid arthritis. Discriminative genes and effect of rheumatoid factor. *Immunol Lett*. 2004;93(2-3):217-226. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.03.018>.
19. Ding B, Padyukov L, Lundström E, et al. Different patterns of associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in the extended major histocompatibility complex region. *Arthritis Rheum*. 2009;60(1):30-38. <https://doi.org/10.1002/art.24135>.
20. Padyukov L, Seielstad M, Ong RT, et al. Epidemiological investigation of rheumatoid arthritis (EIRA) study group. A genome-wide association study suggests contrasting associations in ACPA-positive versus ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Annu Rheum Dis*. 2011;70(2):259-265. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.126821>.
21. Viatte S, Plant D, Bowes J, et al. Genetic markers of rheumatoid arthritis susceptibility in anti-citrullinated peptide antibody negative patients. *Annu Rheum Dis*. 2012;71(12):1984-1990. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201225>.
22. Mackie SL, Taylor JC, Martin SG, et al. A spectrum of susceptibility to rheumatoid arthritis within HLA-DRB1: stratification by autoantibody status in a large UK population. *Genes Immun*. 2012;13(2):120-128. <https://doi.org/10.1038/gene.2011.60>.
23. Verpoort KN, van Gaalen FA, van der Helm-van Mil AH, et al. Association of HLA-DR3 with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2005;52(10):3058-3062. <https://doi.org/10.1002/art.21302>.
24. Terao C, Ohmura K, Ikari K, et al. ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese. *PLoS One*. 2012;7(7): e40067. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040067>.
25. Van der Woude D, Houwing-Duistermaat JJ, Toes RE, et al. Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009;60(4):916-923. <https://doi.org/10.1002/art.24385>.
26. Plenge RM. Recent progress in rheumatoid arthritis genetics: one step towards improved patient care. *Curr*

- Opin Rheumatol.* 2009;21(3):262-271. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e32832a2e2d>.
27. Ferucci ED, Templin DW, Lanier AP. Rheumatoid arthritis in American Indians and Alaska Natives: a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;34(4):662-667. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2004.08.003>.
  28. Hughes LB, Morrison D, Kelley JM, et al. The HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. *Arthritis Rheum.* 2008;58(2):349-358. <https://doi.org/10.1002/art.23166>.
  29. Traylor M, Curtis C, Patel H, et al. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis in a UK African ancestry population: the GENRA case-control study. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(8):1282-1292. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex048>.
  30. López Herráez D, Martínez-Bueno M, Riba L, et al. Rheumatoid arthritis in Latin Americans enriched for Amerindian ancestry is associated with loci in chromosomes 1, 12, and 13, and the HLA class II region. *Arthritis Rheum.* 2013;65(6):1457-1467. <https://doi.org/10.1002/art.37923>.
  31. Chun-Lai T, Padyukov L, Dhaliwal JS, et al. Shared epitope alleles remain a risk factor for anti-citrullinated proteins antibody (ACPA)-positive rheumatoid arthritis in three Asian ethnic groups. *PLoS One.* 2011;6(6): e21069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021069>.
  32. Korczowska I. Rheumatoid arthritis susceptibility genes: an overview. *World J Orthop.* 2014;5(4):544-549. <https://doi.org/10.5312/wjo.v5.i4.544>.
  33. Lee YH, Woo JH, Choi SJ, et al. Association between the rs7574865 polymorphism of STAT4 and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatol Int.* 2010;30(5):661-666. <https://doi.org/10.1007/s00296-009-1051-z>.
  34. Elshazli R, Settin A. Association of PTPN22 rs2476601 and STAT4 rs7574865 polymorphisms with rheumatoid arthritis: a meta-analysis update. *Immunobiology.* 2015;220(8):1012-1024. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2015.04.003>.
  35. Lee HS, Korman BD, Le JM, et al. Genetic risk factors for rheumatoid arthritis differ in Caucasian and Korean populations. *Arthritis Rheum.* 2009;60(2):364-371. <https://doi.org/10.1002/art.24245>.
  36. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun.* 2009;32(3-4):158-162. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.02.020>.
  37. Lee YH, Bae SC, Song GG. FCGR2A, FCGR3A, FCGR3B polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol.* 2015;33(5):647-654.
  38. Tang GP, Hu L, Zhang QH. [PTPN22 1858C/T polymorphism is associated with rheumatoid arthritis susceptibility in Caucasian population: a meta-analysis. (In Chinese)]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2014;43(4):466-473.
  39. Nabi G, Akhter N, Wahid M, et al. Meta-analysis reveals PTPN22 1858C/T polymorphism confers susceptibility to rheumatoid arthritis in Caucasian but not in Asian population. *Autoimmunity.* 2016;49(3):197-210. <https://doi.org/10.3109/08916934.2015.1134514>.
  40. El-Lebedy D, Raslan H, Ibrahim A, et al. Association of STAT4 rs7574865 and PTPN22 rs2476601 polymorphisms with rheumatoid arthritis and non-systemically reacting antibodies in Egyptian patients. *Clin Rheumatol.* 2017;36(9):1981-1987. <https://doi.org/10.1007/s10067-017-3632-7>.
  41. Vernerova L, Spoutil F, Vlcek M, et al. A combination of CD28 (rs1980422) and IRF5 (rs10488631) polymorphisms is associated with seropositivity in rheumatoid arthritis: a case control study. *PLoS One.* 2016;11(4): e0153316. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153316>.
  42. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science.* 2002;296(5573):1634-1635. <https://doi.org/10.1126/science.1071924>.
  43. Chen X, Oppenheim JJ. Contrasting effects of TNF and anti-TNF on the activation of effector T cells and regulatory T cells in autoimmunity. *FEBS letters.* 2011;585(23):3611-3618. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.04.025>.
  44. Hehlhans T, Pieffer K. The intriguing biology of the tumor necrosis factor/tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005;115(1):1-20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02143.x>.
  45. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, et al. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res.* 1985;13(17):6361-6373. <https://doi.org/10.1093/nar/13.17.6361>.
  46. Udalova IA, Nedospasov SA, Webb GC, et al. Highly informative typing of the human TNF locus using six adjacent polymorphic markers. *Genomics.* 1993;16(1):180-186. <https://doi.org/10.1006/geno.1993.1156>.
  47. Рыдловская А.В., Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм гена *TNF-α* и патология // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4. — № 3. — С. 1–10. [Rydlovskaja AV, Simbirtsev AS. *TNF-α* functional gene polymorphism and pathology. *Cytokines and inflammation.* 2005;4(3):1-10. (In Russ.)]
  48. Lee YH, Ji JD, Song GG. Tumor necrosis factor-alpha promoter-308 A/G polymorphism and rheumatoid arthritis susceptibility: a meta-analysis. *J Rheumatol.* 2007;34(1):43-49.

49. Chatzikiyakidou A, Voulgari PV, Lambropoulos A, Drosos AA. Genetics in rheumatoid arthritis beyond HLA genes: what meta-analyses have shown? *Semin Arthritis Rheum.* 2013;43(1):29-38. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2012.12.003>.
50. Mitterski B, Drynda S, Böschow G, et al. Complex genetic predisposition in adult and juvenile rheumatoid arthritis. *BMC Genet.* 2004;5:2. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-5-2>.
51. Khanna D, Wu H, Park G, et al. Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism, but not the shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort. *Arthritis Rheum.* 2006;54(4):1105-1116. <https://doi.org/10.1002/art.21750>.
52. Lacki JK, Moser R, Korczowska I, et al. *TNF-α* gene polymorphism does not affect the clinical and radiological outcome of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2000;19(4):137-140. <https://doi.org/10.1007/s002960050117>.
53. Савина Н.В. Изучение аллельного полиморфизма гена *TNF-α* при раке мочевого пузыря // Молекулярная и прикладная генетика. — 2013. — Т. 15. — С. 33–38. [Savina NV. The study of the gene *TNF-α* polymorphism in the bladder cancer. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika.* 2013;15:33-38. (In Russ.)]
54. Левданский О.Д., Родькин М.С., Данилов Д.Е., и др. Полиморфизм генов *IL28B* и *TNF-α* среди коренного населения Беларуси, а также у пациентов с хроническим гепатитом С // Молекулярная и прикладная генетика. — 2016. — Т. 20. — С. 80–86. [Liaudanski AD, Rodzkin MS, Danilau DE, et al. *IL28B* and *TNF-α* gene polymorphism in native Belarusians and patients with chronic hepatitis C. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika.* 2016;20:80-86. (In Russ.)]
55. Савина Н.В., Никитченко Н.В., Кузир Т.Д., и др. Частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов генов воспалительного ответа *PTPN22*, *TNF-α* и *MIF* у детского контингента Республики Беларусь // Молекулярная и прикладная генетика. — 2017. — Т. 22. — С. 14–24. [Savina NV, Nikitchenko NV, Kuzhir TD, et al. Frequencies of genotypes and alleles of polymorphic loci of inflammatory response genes *PTPN22*, *TNF-α* and *MIF* in children and adolescents in the Republic of Belarus. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika.* 2017;22:14-24. (In Russ.)]
56. Lee YH, Bae SC, Choi SJ, et al. The association between interleukin-6 polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Inflamm Res.* 2012;61(7):665-671. <https://doi.org/10.1007/s00011-012-0459-1>.
57. Яцкив А.А., Большакова Д.В., Чичко А.М., и др. Влияние полиморфизма -174 G/C гена *IL-6* на вероятность развития ревматоидного артрита у детского и взрослого населения Республики Беларусь // Доклады Национальной академии наук Беларуси. — 2018. — Т. 62. — № 5. — С. 608–614. [Yatskiu HA, Balshakova DV, Tchitchko AM, et al. Influence of -174 G/C *IL-6* gene polymorphism on the susceptibility to rheumatoid arthritis in children and adults in the Republic of Belarus. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus.* 2018;62(5):608-614. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-608-614>.
58. Magyari L, Varszegi D, Kovessi E, et al. Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: research, diagnostics and clinical implications. *World J Orthop.* 2014;5(4):516-536. <https://doi.org/10.5312/wjo.v5.i4.516>.
59. Ge L, Huang Y, Zhang H, et al. Association between polymorphisms of interleukin 10 with inflammatory biomarkers in East Chinese Han patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2015;82(3):182-186. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2014.11.007>.
60. Zhang TP, Lv TT, Xu SZ, et al. Association of interleukin-10 gene single nucleotide polymorphisms with rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Postgrad Med J.* 2018;94(1111):284-288. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-135441>.
61. Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA.* 2008;299(11):1335-1344. <https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1335>.
62. Welter D, MacArthur J, Morales J, et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Res.* 2014;42 (Database issue): D1001-D1006. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1229>.
63. Ricaño-Ponce I, Zhermakova DV, Deelen P, et al. Refined mapping of autoimmune disease associated genetic variants with gene expression suggests an important role for non-coding RNAs. *J Autoimmun.* 2016;68:62-74. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.01.002>.
64. Okada Y, Wu D, Trynka G, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature.* 2014;506(7488):376-381. <https://doi.org/10.1038/nature12873>.
65. Zhu H, Xia W, Mo XB, et al. Gene-based genome-wide association analysis in European and Asian populations identified novel genes for rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2016;11(11): e0167212. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167212>.
66. Stahl EA, Raychaudhuri S, Remmers EF, et al. Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet.* 2010;42(6):508-514. <https://doi.org/10.1038/ng.582>.
67. Zhang L, Yuan X, Zhou Q, et al. Associations between TNFAIP3 gene polymorphisms and rheumatoid arthritis risk: a meta-analysis. *Arch Med Res.* 2017;48(4):386-392. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2017.08.003>.

68. Golka K, Selinski S, Lehmann ML, et al. Genetic variants in urinary bladder cancer: collective power of the “wimp SNPs”. *Arch Toxicol.* 2011;85(6):539-554. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0676-3>.
69. Ernst J, Kheradpour P, Mikkelsen TS, et al. Mapping and analysis of chromatin state dynamics in nine human cell types. *Nature.* 2011;473(7345):43-49. <https://doi.org/10.1038/nature09906>.
70. Viatte S, Plant D, Raychaudhuri S. Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;9(3):141-153. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.237>.
71. Klein K, Gay S. Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(1):76-82. <https://doi.org/10.1097/BOR.000000000000128>.
72. Firestein GS. Pathogenesis of rheumatoid arthritis: the intersection of genetics and epigenetics. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2018;129:171-182.
73. Nakano K, Whitaker JW, Boyle DL, et al. DNA methylation signature in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(1):110-117. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201526>.
74. Ham S, Bae JB, Lee S, et al. Epigenetic analysis in rheumatoid arthritis synoviocytes. *Exp Mol Med.* 2019;51(2):22. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0215-5>.
75. Pieper J, Johansson S, Snir O, et al. Peripheral and site-specific CD4(+) CD28(Null) T cells from rheumatoid arthritis patients show distinct characteristics. *Scand J Immunol.* 2014;79(2):149-155. <https://doi.org/10.1111/sji.12139>.
76. Karouzakis E, Gay RE, Gay S, Neidhart M. Increased recycling of polyamines is associated with global DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2012;64(6):1809-1817. <https://doi.org/10.1002/art.34340>.
77. Liu Y, Aryee MJ, Padyukov L, et al. Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nat Biotechnol.* 2013;31(2):142-147. <https://doi.org/10.1038/nbt.2487>.
78. Cribbs A, Feldmann M, Oppermann U. Towards an understanding of the role of DNA methylation in rheumatoid arthritis: therapeutic and diagnostic implications. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2015;7(5):206-219. <https://doi.org/10.1177/1759720X15598307>.
79. Neidhart M., Karouzakis E., Jüngel A., et al. Inhibition of spermidine/spermine N1-acetyltransferase activity: a new therapeutic concept in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66(7):1723-1733. <https://doi.org/10.1002/art.38574>.
80. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature.* 2009;461(7265):747-753. <https://doi.org/10.1038/nature08494>.
81. Ricaño-Ponce I, Wijmenga C. Mapping of immune-mediated disease genes. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2013;14:325-353. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091212-153450>.
82. GTEx Consortium. Human genomics. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: multitissue gene regulation in humans. *Science.* 2015;348(6235):648-660. <https://doi.org/10.1126/science.1262110>.
83. Pai AA, Pritchard JK, Gilad Y. The genetic and mechanistic basis for variation in gene regulation. *PLoS Genet.* 2015;11(1): e1004857. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004857>.
84. Joehanes R, Zhang X, Huan T, et al. Integrated genome-wide analysis of expression quantitative trait loci aids interpretation of genomic association studies. *Genome Biol.* 2017;18(1):16. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1142-6>.
85. Albert FW, Kruglyak L. The role of regulatory variation in complex traits and disease. *Nat Rev Genet.* 2015;16(4):197-212. <https://doi.org/10.1038/nrg3891>.
86. Cookson W, Liang L, Abecasis G, et al. Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nat Rev Genet.* 2009;10(3):184-94. <https://doi.org/10.1038/nrg2537>.
87. Fairfax BP, Makino S, Radhakrishnan J, et al. Genetics of gene expression in primary immune cells identifies cell type-specific master regulators and roles of HLA alleles. *Nat Genet.* 2012;44(5):502-510. <https://doi.org/10.1038/ng.2205>.
88. Van Dongen J, Jansen R, Smit D, et al. The contribution of the functional IL6R polymorphisms 228145, eQTLs and other genome-wide SNPs to the heritability of plasma sIL-6R levels. *Behav Genet.* 2014;44(4):368-382. <https://doi.org/10.1007/s10519-014-9656-8>.
89. Farh KK, Marson A, Zhu J, et al. Genetic and epigenetic fine mapping of causal autoimmune disease variants. *Nature.* 2015;518(7539):337-343. <https://doi.org/10.1038/nature13835>.
90. Ishigaki K, Kochi Y, Suzuki A, et al. Polygenic burdens on cell-specific pathways underlie the risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2017;49(7):1120-1125. <https://doi.org/10.1038/ng.3885>.
91. McInnes IB, Buckley CD, Isaacs JD. Cytokines in rheumatoid arthritis – shaping the immunological landscape. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(1):63-68. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.171>.
92. Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell.* 2017;169(7):1177-1186. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.038>.
93. Pullabhatla V, Roberts AL, Lewis MJ, et al. *De novo* mutations implicate novel genes in systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet.* 2018;27(3):421-429. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx407>.

94. Curtis D. The «omnigenic» model for schizophrenia – why it’s even worse than you think [Accessed 2019 April 14]. Available from: <http://davenomiddlename-curtis.blogspot.com/2017/06/the-omnigenic-model-for-schizophrenia.html>.
95. Wray NR, Wijmenga C, Sullivan PF, et al. Common disease is more complex than implied by the core gene omnigenic model. *Cell*. 2018;173(7):1573-1580. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.051>.
96. Barton NH, Etheridge AM, Véber A. The infinitesimal model: definition, derivation, and implications. *Theor Popul Biol*. 2017;118:50-73. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2017.06.001>.

## ✿ Информация об авторах

**Татьяна Дановна Кузир** — д-р биол. наук, главный научный сотрудник, лаборатория молекулярных основ стабильности генома. Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь. E-mail: T.Kuzhir@igc.by.

## ✿ Authors and affiliations

**Tat'yana D. Kuzhir** — Main Researcher, Doctor of Sciences in Biology, Laboratory of Molecular basis of Genomic Stability, Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. E-mail: T.Kuzhir@igc.by.