ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ МХИТАРА ГЕРАЦИ

СТЕПАН АРМЕНОВИЧ АТОЯН

АССОЦИАЦИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ С МУТАЦИЯМИ ГЕНОВ MEFV И SAA1 СРЕДИ АРМЯНСКИХ ПАЦИЕНТОВ С СЕМЕЙНОЙ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности
14.00.03 “Внутренние болезни”

Научные руководители:
Назаретян Эдуард Егишевич
Саркисян Тамара Фадеевна

Ереван– 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 4

ВВЕДЕНИЕ 6

Актуальность проблемы 6

Новизна результатов исследования 9

Практическая значимость 10

Объем и структура диссертации 11

ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 12

1.1. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ЛИХОРАДКИ 12

КЛАССИФИКАЦИЯ АУТОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЛИХОРАДОК 14

Менделирующие рецидивирующие аутовоспалительные заболевания 14

Криопирин-ассоциированные периодические синдромы CAPS 14

Мультифакториальные аутовоспалительные синдромы 15

Мутации гена MEFV 16

Патогенез ССЛ 19

Клинические проявления ССЛ 23

Принципы диагностики ССЛ 27

Лечение ССЛ 33

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 37

2.1. ОРГАНИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ 37

2.2. КЛИНИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ КОНТИНГЕНТ 37

2.3. МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ 40

2.4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ССЛ .. 41

2.4. АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОННЫХ ДАННЫХ С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММЫ

“NEW BUILDER” 41
2.5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ 42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ 44
3.1. ДНК-ДИАГНОСТИКА И ВЕРИФИКАЦИЯ ТИПОВ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ У БОЛЬНЫХ ССЛ. 45
3.2. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЕНОТИПОВ С ГЕНОТИПАМИ У ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ ГЕНА MEFV С ГОМОЗИГОТАМИ ПО ТЕМ ЖЕ МУТАЦИЯМ 52
3.3. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ССЛ У ЛИЦ С ОДНОЙ И ДВУМЯ МУТАЦИЯМИ ГЕНА MEFV 64
3.4 НАСЛЕДОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПОВ НАСЛЕДОВАНИЯ 67
3.5. РОЛЬ ГЕНА-МОДИФИКАТОРА SAA1 В РАЗВИТИИ ССЛ 71
ГЛАВА 4: ОБСУЖДЕНИЕ 79
ВЫВОДЫ 85
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 86
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 87

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЦМГ	-	Центр медицинской генетикии первичной охраны здоровья
НПЛ	-	Наследственные периодические лихорадки
ССЛ	-	Семейная Средиземноморская лихорадка
АП	-	Амилоидоз почек
ДНК	-	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР	-	Полимеразная цепная реакция
СОЭ	-	Скорость оседания эритроцитов
ОР	-	Относительный риск
ДИ	-	Доверительный интервал
НПВС	-	Нестероидные противовосполительные средства
FMF	-	Familial Mediterranean fever
HRF	-	Hereditary Recurrent fevers
CINCA	-	Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome
NOMID	-	Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease
CAPS	-	Cryopyrin Associated Periodic syndromes
MAPS	-	Mevalonate Kinase Associated Periodic syndrome
TRAPS	-	Tumor Necrosis Factor-R-associated Periodic syndrome
HIDS	-	Hyper-IgD with periodic fever syndrome
FCAS	-	Familial Cold Autoinflammatory syndrome
MWS	-	Muckle-Wells syndrome
PAPA	-	Pyogenic Sterile Arthritis, Pyoderma, Gangrenosum and Acne
DIRA	-	Deficiency of Interleukin-1 Receptor Antagonist
MEFV	-	Mediterranean fever
SAA	-	Serum Amyloid A

EDTA	-	Ethylendiaminetetraacetic acid
ASC	-	Apoptosis-Associated Speck-like protein
CARD	-	Caspase Recruitment Domain
TNF	-	Tumor Necrosis Facotor
IFN	-	Interferon (интерферон)
IL	-	Interleukin (интерлейкин)
ANA	-	Anti Nuclear Antibodies
RF	-	Rheumatoid Factor
ASL-O	-	Antistreptolisin-O
HLA	-	Human Leucocytes Antibodies
BMI	-	Body Mass Index (индекс массы тела)
CI	-	Confidence Interval
RR	-	Relative Risk
OR	-	Odds Ratio
OMIM	-	Online Mendelian Inheritance in Man

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Семейная средиземноморская лихорадка (ССЛ) относится к гетерогенной группе редких наследственных периодических лихорадок, сложность диагностики которых обусловлена отсутствием специфических факторов манифестации и меж- и внутрисемейной клинической гетерогенностью. Современные представления о патогенезе определяют ССЛ как генетическое аутовоспалительное заболевание с периодическими приступами лихорадки, абдоминальным болевым синдромом (асептическим перитонитом), длительность которых обычно составляет от 1 до 3 дней, реже до 1–2 недель. Суставной синдром характеризуется артралгиями, воспалением крупных суставов; торакальный вариант с плевральным синдромом наблюдается реже; во время приступов встречаются кожные изменения (рожеподобная сыпь, пурпурные высыпания, везикулы, ангионевротические отеки), головная боль, асептический менингит, перикардит, миалгия, гепатолиенальный синдром, острый орхит.

ССЛ лидирует по частоте среди наследственных патологий в Армении, в связи с чем решение теоретических и практических вопросов крайне актуально для оказания медико-генетической помощи населению. При отсутствии своевременной диагностики и соответвующего лечения ССЛ может осложниться развитием амилоидоза почек (АП), являющегося самым грозным осложнением заболевания.

До описания конкретного гена, ответственного за развитие ССЛ, предлагались разные теории этиопатогенеза, и диагноз ставился после развития типичных клинических симптомов. Новая эра в диагностике ССЛ наступила в 1997 г., после описания мутаций гена MEFV. Молекулярно-генетические исследования обладают несомненными преимуществами в оказании помощи пациентам, а именно: ранней, пресимптоматической диагностикой заболевания,

что важно для профилактики и эффективного лечения; выявлением генетической предрасположенности к болезни и определением носительства генных мутаций, что существенно для принятия решений относительно выбора образа жизни, прогноза развития симптомов и осложнений, уточнения стратегии своевременного лечения ССЛ.

В Армении молекулярно-генетическая диагностика ССЛ проводится в Центре медицинской генетики и первичной охраны здоровья (ЦМГ). С 1997 г. по настоящее время результаты комплексного клинического и генетического исследования более 28000 человек, составивших наиболее обширную выборку в мире, позволили определить распространенные мутации гена MEFV у армян, установить зависимость фенотипических особенностей от генотипа с одной или двумя мутациями, правильно интерпретировать полученные результаты и определить прогноз развития заболевания. Однако пока недостаточно раскрыто влияние некоторых генетических и модифицирующих факторов на развитие заболевания и его осложнений.

Аутосомно-рецессивный тип наследования ССЛ подразумевает наличие двух гомозиготных или компаунд-гетерозиготных мутаций. Вопросом для обсуждения является диагностика гетерозиготных носителей одной из мутаций гена MEFV с клиническими симптомами заболевания, который детально исследован в настоящей работе.

Для ранней диагностики и своевременного лечения ССЛ актуально исследование влияния генетических и модифицирующих факторов на развитие заболевания и его осложнений. Саркисян Т.Ф., Айрапетян А.С. совместно с французскими коллегами в Парижской клинике Armand-Trousseau (S.Amselem et al.) впервые в 2000 г. было показано влияние комбинации предрасполагающих генов на развитие АП с определением высокого риска у гомозигот по мутациям генов MEFV (M694V/M694V) и SAA1 (α/α). Влияние генетических модифицирующих факторов на проявление воспалительных процессов при ССЛ и осложнениях заболевания исследовано в данной работе.

Популяционно-генетические аспекты данного чрезвычайно распространенного заболевания изучены лишь в отдельных регионах Армении. Генетическая эпидемиология также принципиально важна как с теоретической, так и с практической точек зрения с целью профилактики ССЛ и других аутовоспалительных заболеваний.

Цель исследования - разработать комплексные клинико-генетические и методические принципы исследования клинических особенностей ССЛ в зависимости от спектра генных мутаций, позволяющих осуществлять эффективную помощь населению.

Задачи исследования:

1. Провести ДНК-диагностику и верифицировать типы генных мутаций, выявленных при клиническом обследовании пациентов.
2. Изучить клинические особенности заболевания с детальным генетическим анализом у гетерозиготных носителей одной мутации в сравнении с гомо- и компаунд-гетерозиготами, с учетом клинических, генетических и лабораторных данных.
3. Разработать компьютерную программу и оценить ее эффективность при сопоставлении молекулярно-генетических характеристик с клиническими проявлениями ССЛ.
4. Установить тип наследования заболевания у гетерозиготных носителей с подтвержденным диагнозом ССЛ с последующей оценкой генетического риска в семьях при медико-генетическом консультировании.
5. Оценить влияние гена-модификатора SAA1 на течение патологического процесса.
6. Создать генетический регистр ССЛ и иных аутовоспалительных болезней.

Новизна результатов исследования

Впервые проведен комплексный анализ клинических и генетических параметров обширной выборки армянских больных с ССЛ за 1997-2016 гг. Показана фенотипическая вариабельность симптомов, обусловленная эффектом спектра разных мутаций гена MEFV, а в некоторых случаях - экспрессией гена-модификатора с развитием сложного фенотипа и осложнений. Очевидно, что генные мутации являются причиной развития хронического субклинического воспаления между приступами.

Впервые показан патогенный эффект определенных мутаций гена MEFV, считающихся в некоторых популяциях наиболее “слабыми” или полиморфизмами.

Впервые в армянской популяции определен псевдо-доминантный тип наследования ССЛ в 18.9% случаев (OMIM 134610) у носителей мутаций с высокой пенетрантностью. Аутосомно-рецессивный тип наследования (OMIM 249100) отмечен у 81.1% пациентов.

Впервые отмечен протекторный эффект гомозиготного генотипа β/β гена SAA1 в сравнении с генотипом α/α, среди 1017 пациентов с разным спектром мутаций гена MEFV.

Впервые определена частота комплексных аллелей у 0.4% пациентов с ССЛ с 3-4 мутациями гена MEFV в основном 2 и 3 экзонов, что свидетельствует об эффекте мутаций в положении cis.

Впервые создан генетический и клинический регистр учета и сбора информации пациентов, их этнического происхождения, лабораторных данных, семейных случаев. Совместно с Институтом информатики НАН РА разработана специальная компьютерная программа с анализом клинико-лабораторных и генетических данных всех 28000 обследованных в ЦМГ лиц с дополнениями по мере поступления пациентов. В программу введена также группа здоровых лиц (контроль), включая бессимптомных носителей мутаций гена MEFV, семейные случаи с анализом родословных пациентов и членов их семей.

Практическая значимость

В настоящем исследовании выявлены значительные межпопуляционные и межсемейные различия в структуре и спектре генных мутаций, обусловливающие клиническую гетерогенность и фенотипические особенности ССЛ. Генетико-эпидемиологические исследования данного заболевания приобретают большое значение для организации их эффективной и целенаправленной профилактики.

На основании полученных результатов проведенного исследования определен фактор риска хронического воспаления при ССЛ, которым является генотип: две мутации (гомо-/компаунд-гетерозиготы) в сравнении с одной мутацией.

Полученные нами результаты полностью согласуются с литературным данными относительно статистически достоверной корреляции между спектром мутаций и повышением уровней реактантов острой фазы воспаления в периоды между приступами. Практическим врачам следует учитывать также и факт наличия порядка 35% бессимптомных носителей мутаций гена MEFV (1:3) среди армян. Гетерозиготные носители одной мутации MEFV также подвергнуты субклиническому, бессимптомному хроническому воспалению: врачам следует обратить серьезное внимание на высокий провоспалительный фон в армянской популяции, который может стать причиной развития неконтагиозных заболеваний. Здоровье населения должно быть обеспечено эффективной профилактикой, прогнозированием и лечением генетических болезней с высоким “воспалительным фоном”.

Показана высокая прогностическая значимость некоторых генотипов: мутаций основного гена и гена-модификатора, которые меняют течение заболевания.

Клиницистам для прогноза развития симптомов и осложнений важны данные о корреляции клинических симптомов с генотипом. При генетическом консультировании семей врачам следует информировать о риске передачи

заболевания детям, оценивать риск развития заболевания для следующих поколений, учитывая манифестацию ССЛ также среди гетерозигот.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 4 рисунка, 22 таблиц и 6 графика. Библиографический указатель включает 157 наименований литературных источников.

ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ЛИХОРАДКИ

Термин «аутовоспаление» был предложен D. Kastner и J. O'Shea в конце XX в. при описании гетерогенной группы редких, генетически детерминированных аутовоспалительных болезней или наследственных периодических лихорадок (НПЛ) со схожими генетическими и патогенетическими признаками[1] и клинической симптоматикой, схожей с ревматическими проявлениями, но при отсутствии аутоиммунных показателей или инфекционных агентов. Периодически повторяющиеся спонтанные приступы лихорадки и воспаление серозных оболочек разной локализации при НПЛ в основном обусловлены генетическими нарушениями регуляторных систем врожденной иммунной системы[2]. При НПЛ не отмечаются высокие титры аутоантител или антиген-специфичных Т-клеток, свойственных аутоиммунным заболеваниям[3], в чем заключается основное различие между ними. Патогенез и этиология данных заболеваний стали проясняться после подтверждения генетической природы ССЛ (1997 г.) и TNF - периодического синдрома, связанного с рецепторами фактора некроза опухоли (1999 г.)[4].

Очевидные генотипические различия аутовоспалительных заболеваний не отражают их клиническую схожесть в развитии периодической лихорадки, воспаления серозных оболочек, болевого синдрома, артритов и при некоторыхиз них - развития амилоидоза почек как тяжелого осложнения. Регулярные приступы воспаления сопровождаются острофазовым ответом, нейтрофилией, массивной миграцией эффекторных клеток в очаг воспаления и изменением интерлейкинового статуса[5]. Основными клиническими признаками рецидивирующих аутовоспалительных лихорадок являются регулярные приступы лихорадки, между которыми бывают периоды ремиссии. Болевой синдром обусловлен асептическим серозитом, с риском осложнения в виде вторичного амилоидоза с преимущественным поражением почек.

Большинство известных аутовоспалительных заболеваний являются моногенными, то есть обусловленными определенными мутациями одного гена. К данной группе фенотипически схожих и патофизиологически тесно взаимосвязанных с моногенными относится болезнь Адамантиадиса-Бехчета, в патогенезе которой существенную роль играют мутации гена MEFV в гетерозиготном состоянии[6].

Сложность постановки своевременного диагноза НПЛ обусловлена отсутствием четких диагностических критериев, и почти половина людей с данными генетическими нарушениями остается недиагностированной[7]. К тому же трудности диагностики данной группы заболеваний обусловленых редкой встречаемостью среди многих популяций, и своевременное распознавание этих болезней зависит также от высокой квалификации и обширных знаний лечащего врача[8].

При всех типах НПЛ с переменной частотой встречаются следующие клинические симптомы: повторные эпизоды необъяснимой лихорадки (по крайней мере, 3 или 6 эпизодов у детей), которые длятся 1-7 дней и дольше, поражение серозных оболочек: артриты или артралгии, боли в брюшной области с возможным перитонитом, боли в грудной области, которые могут быть результатом поражения плевры или перикарда, общие или локализованные мышечные боли из-за воспалительного процесса в мышечной ткани, разные кожные поражения (сыпь, напоминающая крапивницу при CINCA и CAPS; пятнисто-папуллезная, пурпурозная сыпь при дефиците мевалонаткиназы (MAPS); эризипелоидная сыпь при ССЛ; псевдоцеллюлитная сыпь при TRAPS: кожа становится ярко-красной и формируются небольшие отеки и т.д.

КЛАССИФИКАЦИЯ АУТОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЛИХОРАДОК

Менделирующие рецидивирующие аутовоспалительные заболевания

Наследственные периодические лихорадки (НПЛ): Hereditary recurrent fevers (HRF):

- Семейная средиземноморская лихорадка (ССЛ) (Familial Mediterranean fever (OMIM 249100, FMF).
- Синдром TRAPS (OMIM 142680, Tumor Necrosis Factor-R-associated periodic syndrome), наследуемый аутосомно-доминантно, ассоциированный с мутациями гена TNFRSF1A, локализованного на хромосоме 12p13.
- Синдром HIDS (OMIM 260920, Hyper-IgD with periodic fever syndrome) – гипериммуноглобулинемия D/синдром дефицита мевалонаткиназы, наследуемый аутосомно-рецессивно, ассоциированный с мутациями гена MVK, локализованного на хромосоме 12q24.

Криопирин-ассоциированные периодические синдромы CAPS

(наследуемые аутосомно-доминантно, ассоциированные с мутациями гена NLRP/*(*CIAS1/NALP3*)*, локализованного на хромосоме 1q44):

- FCAS (OMIM 120100, Familial Cold Autoinflammatory syndrome) – семейный холодовой аутовоспалительний синдром.
- MWS (OMIM 191900; Muckle-Wells syndrome).
- CINCA (OMIM 607115; Chronic Infantile Neurologic Cutaneous and Articular syndrome или NOMID: Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease).

Пиогенные заболевания

PAPA (OMIM 604416, Pyogenic Sterile Arthritis, Pyoderma, Gangrenosum and Acne), ассоциированный с мутациями гена PSTPIP1.

- Синдром Majeed (OMIM 609628, Chronic recurrent multifocal osteomyelitis): аутосомно-рецессивная наследственная дизэритропоэтическая анемия с воспалительным дерматитом, ассоциированный с мутациями гена LPIN2, локализованного на хромосоме 18p.
- Синдром Ghosal (OMIM 231095, Hematodiaphyseal dysplasia), аутосомно-

рецессивная анемия, сопровождаемая фиброзом клеток костного мозга, повреждением костной ткани; ассоциирован с мутациями гена TBXAS1.

- Синдром DIRA (OMIM 612852, Deficiency of the Interleukin-1 receptor antagonist), наследуемый аутосомно-рецессивно, сопровождаемый серьезными кожными и костными проявлениями, ассоциированный с мутациями гена IL1RN локализованного на хромосоме 2q.

Гранулематозное заболевание

- Синдром Blau (OMIM 186580, Granulomatous arthritis, uveitis, skin rash), наследуемый аутосомно-доминантно, ассоциированный с мутациями гена NOD2 (CARD15/NOD2), локализованного на хромосоме 16q12.

Мультифакториальные аутовоспалительные синдромы

- Болезнь Крона (Crohn's disease) – связана с гиперактивацией NF-κβ
- Воспалительные заболевания кишечника
- Подагра
- Саркоидоз

Заболевания смешанной аутоиммунной и аутовоспалительной природы

- Болезнь Бехчета (Behçet disease): системный васкулит аутовоспалительной природы, ассоциированный с антигеном HLA B51.
- Анкилозирующий спондилит

Системные воспалительные заболевания

- Системный ювенильный идиопатический артрит (Systemic juvenile idiopathic arthritis)/ Болезнь Стилла (Still disease)

- Синдром Schnitzler: хронический периодический синдром с кожными проявлениями, лихорадкой, артралгией, изменениями в костной ткани, лимфоаденопатией, гепато/спленомегалией.

1.2 СЕМЕЙНАЯ СРЕДИЗЕМНОМОРСКАЯ ЛИХОРАДКА (ССЛ)

ССЛ является наиболее распространенным заболеванием среди НПЛ и встречается с разной частотой среди определенных этнических групп[9], исторически обитающих в регионах Средиземноморья (армяне, евреи сефарды, арабы, турки, реже – греки, итальянцы, испанцы). По распространенности мутаций среди вышеуказанных наций первое место занимают турки (частота 1:400 – 1:1000)[10], второе - армяне (частота 1:500)[11], третье – евреи-сефарды (частота 1:1000)[12]. В последнее время болезнь регистрируется в отдаленных от Средиземноморья регионах, в связи с непрерывными миграционными процессами[13].

Впервые ССЛ была описана в виде отдельной нозологической формы в 1945 г. во Франции в семьях армян, а также среди евреев, арабов, турок[14]–[16]. Теории, объясняющие этиопатогенез заболевания, связывали с нарушениями метаболизма катехоламинов, иммунной системы, врожденной энзимопатией и др.[17].

Мутации гена MEFV

Двумя консорциумами (French FMF Consortium и International FMF Consortium)[18] в 1997г. была определена генетическая природа заболевания после клонирования гена MEFV (**ME**diterranean **F**e**V**er), мутации которого ответственны за развитие ССЛ. Данное открытие послужило началом изучения ССЛ-ассоциированных мутаций, их распространенности и генотип-фенотипических корреляций. Молекулярно-генетическое иследование гена крайне важна для разработки новых подходов к ранней диагностике, лечению и прогнозу болезни.

Ген MEFV (pyrin innate immunity regulator) локализован на коротком плече хромосомы 16p13.3, между последовательностями от 3,292,027 до 3,306,626 (18 kbp). Ген состоит из 10 экзонов. Описано более 350 сиквенс-вариантов/мутаций и полиморфизмов [19]: 78% миссенс (замена нуклеотида с

заменой аминокислоты в составе белка); остальные: нонсенс (замена нуклеотида с замещением информационно-значимого кодона на стоп-кодон); 39 нейтральных мутаций (без фенотипических изменений), 17 интронных мутаций, 1 дупликация, 2 инсерции, 2 делеции. Наиболее частые мутации происходят в 10 экзоне, реже - в 2, 3, 5, 9 экзонах (рис. 1)[10].

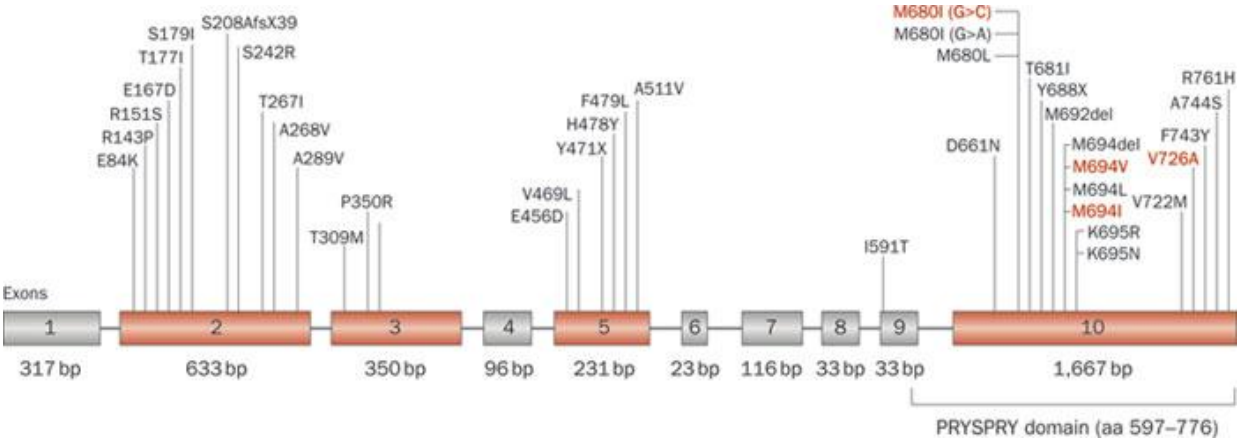


Рис. 1: Распределение мутаций гена MEFV по экзонам

Ген MEFV кодирует белок пирин[20] (греческое pyros – огонь, лихорадка) или мареностри́н[21] (латинское marenostrum – Средиземное море), который состоит из 781 аминокислот и является важнейшим фактором регуляции воспалительных процессов[18]. Ген экспрессируется в нейтрофилах и макрофагах и контролирует синтез провоспалительного цитокина IL-1β[22].

Среди разных популяций наиболее распространенными являются мутации V726A, M694V, M694I, M680I, E148Q, которые обусловливают около 74% всех типичных случаев ССЛ[10] и встречаются с разными популяционными частотами. На Ближнем Востоке более распространены мутации M694V, V726A и E148Q[13], в Сирии - мутация E148Q, а самые тяжелые случаи болезни связаны с мутацией M694V[23]. В популяциях арабов самые тяжелые случаи болезни в основном связаны с генотипами M694V/M694V и M694V/V726A, а более легкие - с генотипом

M694I/M694I[24]. В Ливане ССЛ в основном встречается у армян и арабов (в основном среди шиитов с юга страны), а амилоидоз, как осложнение ССЛ, чаще всего встречается у арабского населения[25]. Распространенность мутаций гена MEFV различна среди этнических групп евреев: мутация E148Q отмечена у иракских евреев и ашкенази, а мутация M694V – у северо-африканских евреев[26]. В регионах, далеких от Средиземноморья, часто обнаруживаются другие мутации гена MEFV: у японцев часто встречаются мутации E148Q, M694I, L110P, P369S, R408Q, а более тяжелые случаи ССЛ регистрируются среди носителей мутации M694I, у которых колхицинотерапия была очень эффективной [27]. Совместные исследования ЦМГ с коллегами из Грузии выявили мутации гена MEFV у грузин, к наиболее распространенным из которых относятся E148Q, M680I, M694V а к более редким - V726A, A744S, R761H, P369S, F479L[28]. Обобщенные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Наиболее частые мутации гена MEFV у больных ССЛ в разных этнических группах

Мутации	Распределение в популяциях
M694V	Армяне, евреи-сефарды, турки, сирийцы
M680I	Армяне, арабы Северной Африки (египтяне)
M694I	Арабы
E148Q	Армяне, турки, Европейские популяции
V726A	Армяне, евреи-ашкенази, иракские евреи, друзы

Некоторыми авторами приводятся данные о влиянии внешнесредовых факторов (климат, географическая местность и т.д.), стресса и т.д. на клиническое проявление болезни[29]–[33].

Патогенез ССЛ

Моногенные аутовоспалительные заболевания характеризуются непровоцированными повторяющимися эпизодами воспалительного процесса, связанного с активацией неспецифической иммунной системы организма[34]–[37].

Патогенез аутовоспалительных заболеваний обусловлен неконтролируемой гиперпродукцией провоспалительного цитокина IL-1β, причиной чего являются мутации в генах - регуляторах гомеостаза неспецифической иммунной системы[38].

При ССЛ описано снижение уровня экспрессии некоторых генов процессов регуляции транскрипции, апоптоза, воспаления и структурного развития мышечных клеток[39], а также регуляторных генов, в норме обладающих защитной функцией иммунного ответа[40].

Ключевую роль в патогенезе ССЛ играет П/М, который как и криопирин, гомологичен антигену Ro52, относится к семейству ядерных факторов транскрипции. П/М является регулятором ответа на воспаление на уровне организации цитоскелета лейкоцитов[41], экспрессируется в основном в гранулоцитах, в цитокин–активированных моноцитах, дендрических клетках и фибробластах кожи, клетках перитонеальной и синовиальной оболочек[42]–[44]. В моноцитах П/М в основном находится в цитоплазме, а в гранулоцитах, дендритических клетках и синовиальных фибробластах имеет ядерную локализацию[43]. П/М состоит из N-концевого домена PYRIN (который также обозначается как PYD[45], PAAD [46] или DAPIN[47]), состоящего из 92 аминокислотных последовательностей[48], B-блока, спиральной катушки (α-Helix) и C-концевого B30.2SPRY домена[49]–[51].

П/М способен взаимодействовать с некоторыми другими белками путем связывания N-концевыми частями PYD с двудольным белком-адаптором ASC (Apoptosis-Associated Speck-like Protein) с CARD (Caspase Recruitment Domain)[52], [53]. ASC тоже содержит домен CARD и может связывать

каспазу-1 (энзим-активатор IL-1β) с помощью гомотипных взаимосвязей CARD-CARD.

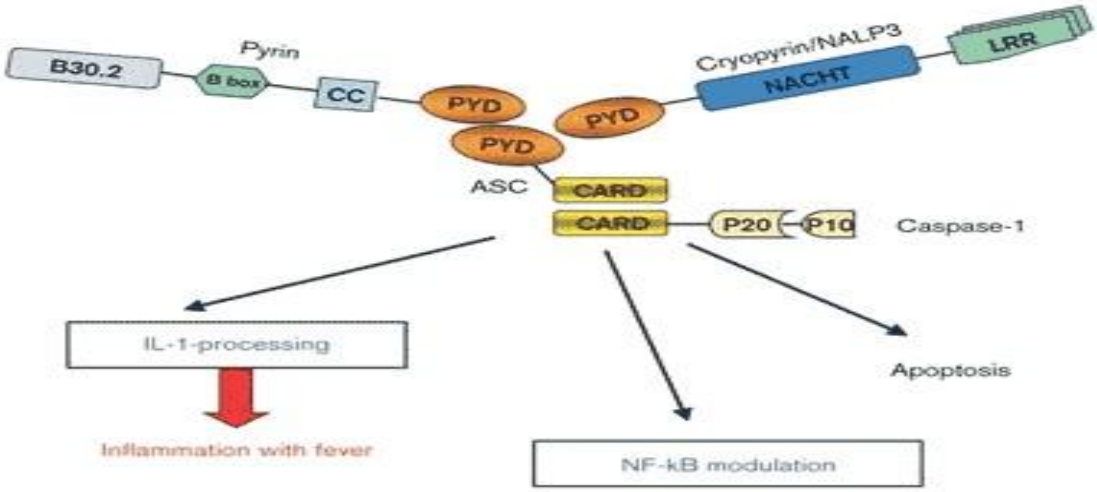


Рис. 2: Схематическое строение инфламасомы

Контакт с ASC способствует активации и аутокатализу каспазы-1 из неактивной формы в его активные субъединицы p20 и p10. Активированная каспаза-1 расщепляет инактивный предшественник IL-1β(31 kDa) в активную секретируемую форму IL-1β (17 kDa), который является потенциальным провоспалительным медиатором[54]–[56]. In vivo ASC участвует в формировании макромолекулярного комплекса, называемого инфламасомой, с помощью которого активируется каспаза-1. Многие моногенные аутовоспалительные заболевания связаны с изменениями в инфламасомах[57]. Инфламасомы представляют собой многомолекулярные протеиновые комплексы, отвечающие на предупреждающие сигналы об “опасности”, исходящие от активированных цитокинов[58]. За последние годы все больше внимания уделяется инфламасомам, как основным регуляторам иммунного ответа и воспаления, стимулирующим апоптоз клеток и активацию воспалительных цитокинов IL-1β и IL-18[58]–[60]. Гиперсекреция IL-1β является одним из ключевых факторов патогенеза аутовоспалительных заболеваний, с чем и связывают активацию воспалительного процесса и

некоторые типичные клинические проявления заболевания: перемежающую лихорадку, системные воспаления глаз, суставов, кожи и серозных оболочек разной локализации[61], [62]. Наиболее принята теория секвестрации и гипотеза ассоциации П/М с инфламасомами, согласно которой, пирин ингибирует активацию IL-1β и связанную с ним каспазу 1, что ведет к прерыванию воспалительного процесса[40], [63], [64]. Согласно гипотезе, П/М играет важную роль в формировании структуры инфламасомы, которая способствует активации каспазы-1[65]. Известны: 1). инфламасома, содержащая ASC, PYD, CARD-содержащий протеин, называемый NALP1, каспазу-1 и -5: 2). инфламасома, содержащая криопирин (также называемых NALP3), ASC, две молекулы каспазы-1 и белковую молекулу Cardinal[66].

Хроническое воспаление при ССЛ сохраняется в организме в свободные от приступов периоды, а периодические приступы считаются пиками хронического воспалительного процесса. В хроническом воспалительном процессе участвуют прововоспалительные медиаторы IL-1β, 6, 8, 12, 18, TNF, IFN-γ и противовоспалительные медиаторы IL-10, VEGFR-1[67]. Субклиническое хроническое воспаление наблюдается как у пациентов с гомозиготными и компаунд гетерозиготными мутациями гена MEFV, а также у гетерозиготных носителей мутаций[68].

Роль гена SAA в развитии аутовоспаления.

Наилучшим маркером субклинического воспаления считается белок A-SAA (acute phase serum amyloid A protein), уровень которого более высок в межприступные периоды у носителей двух мутаций гена MEFV по сравнению с гетерозиготными носителями. Иследования также показали, что успешное лечение колхицином не только предупреждает приступы ССЛ, но и понижает уровень A-SAA, следовательно уменьшая выраженность воспалительного процесса также в межприступные периоды[69], [70].

Плазменный амилоид SAA относится к семейству аполипопротеинов связанных с липопротеинами высокой плотности (ЛВП) в плазме крови, которые синтезируются в основном в печени. SAA секретируется в острой фазе воспаления и участвует в процессах транспорта холестерина в печень для синтеза желчи, активации иммунных клеток и транспорта к месту воспаления и активация энзимов разрушающих внеклеточный матрикс. Важная роль A-SAA отмечена при некоторых воспалительных заболеваниях, в частности, амилоидозе, атеросклерозе, ревматоидном артрите. Молекулярный вес протеина SAA1 составляет 11.7 kDa,SAA2 - 12.8 kDa.

Подобно С- реактивному белку (CRP), концентрация SAA в острой фазе воспаления повышается в течение нескольких часов после воспалительного стимула, причем магнитуда его повышения может быть выше, чем CRP. Поэтому SAA считается более чувствительным маркером ранних воспалительных болезней суставов. Согласно недавним исследованиям, кроме гепатоцитов SAA синтезируется также адипоцитами, поэтому его концентрация может зависеть от индекса массы тела (BMI).

Протеин SAA1 кодируется геном SAA1, который локализован на коротком плече хромосомы 11.15.1 (рисунок3).

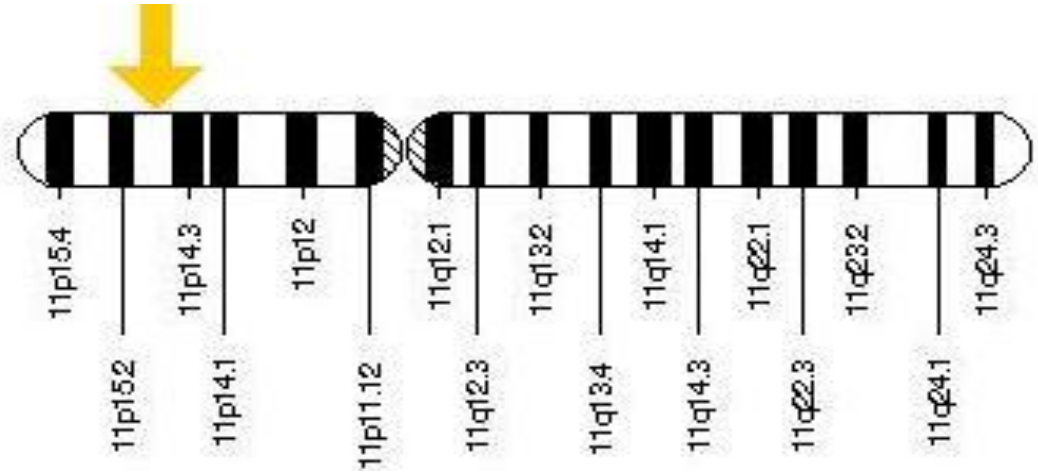


Рис. 3: Локализация гена SAA1 в 11-ой хромосоме

У людей различают три гена SAA (SAA1, SAA2, SAA3); ген SAA3 считается псевдогеном. В разных популяциях отмечаются разные частоты изоформ SAA: среди белого населения преобладает изоформа альфа; гамма встречается крайне редко, а среди японцев все три формы встречаются почти с одинаковой частотой[71], [72].

Интерес клиницистов к изучению изоформ SAA обусловлен связью данного гена с развитием АП у больных ССЛ[73]–[76].

Клинические проявления ССЛ

Начало первых приступов ССЛ может колебаться в широком диапозоне, начиная с рождения до 40 лет и старше. В большинстве случаев первые приступы наследственных периодических лихорадок манифестируют в раннем детском возрасте, колеблясь в промежутке от первых дней после рождения до десяти лет[77]. При ССЛ 60% случаев болезнь манифестирует до 10-летнего возраста больного, и до 20 лет первые приступы регистрируются почти у 90% пациентов[78]. Распределение возрастов начала приступов ССЛ после 20 лет выглядет примерно так: 14% случаев в 20-29 лет, 8.5% - в 30-39 лет, и редко - после 40 лет[79]. Стоит отметить, что клинические проявления ССЛ могут зависеть от возраста начала болезни. Так, при манифестации болезни до 2-х летнего возраста клинические проявления могут ограничиваться только лихорадкой без других типичных симптомов болезни[80]. По данным других иследователей есть вероятность различий между клиническими проявлениями ССЛ у пациентов с более поздним началом болезни. В часности, у больных с началом первых приступов ССЛ после 20 лет отмечается более легкое течение, с выраженным абдоминальгическим синдромом и чувствительностью к более малым дозам колхицина[79]. Другие источники показывают различие клинических проявлений ССЛ между группами больных с началом болезни до и после 18 лет, указывая на то, что более раннее начало болезни характеризуется выраженностью артритов и эризипелоидного высыпания, а

также более частого развития ослажнений при отсутствии соответсвующего лечения колхицином[79], [81].

Некоторые иследователи допускают наличие 2 основных фенотипов ССЛ. При 1-ом фенотипе болезнь проявляется короткими приступами лихорадки и серозитов, при 2-ом фенотипе наблюдается быстрое развитие амилоидоза почек без типичных клинических проявлений[82]–[84].

По классическим представлениям типичное клиническое течение ССЛ характеризуется приступами лихорадки и серозитов виде асептического перитонита, плеврита, артритов, длительностью от нескольких часов до 3-х дней. Между приступами больные, как правило, чувствует себя удовлетворительно. Хотя на практике выраженность клинических проявлений ССЛ варьируется от сравнительно легких до более тяжелых форм тех или иных симптомов[85].

Имеются также сведения о нетипичных проявлениях ССЛ с преобладанием одного или нескольких симптомов, без периодической лихорадки, или в виде периодически повторяющейся лихорадки, без остальных основных симптомов[86], [87]. Клиническая картина может быть разной даже при одинаковых генотипах, что может быть связано с влиянием внешнесредовых факторов, страны проживания, семейного анамнеза по ССЛ и иных факторов [88]–[90]. У детей до 2-х лет клиническая картина ССЛ может ограничиваться только лихорадкой, без типичного болевого синдрома[80].

Абдоминальные атаки

Абдоминальные атаки проявляются в виде асептического перитонита сопровождающиеся напряжением мыщ брюшного пресса, часто иммитируя приступ острого аппендицита. В большинстве случаев приступ заканчивается диареей.

К атипичным проявлениям абдоминальных аттак болезни относятся механическая обструкция кишечника (которая может быть как спонтанной, так и в виде осложнения после оперативного вмешательства), понос, инфаркт

стенки кишки, язвы в стенке кишечника и т.д.[91]–[93]. По данным проф. Г.Г.Амарян и соавторов из медицинского центра “Арабкир” у детей с мутацией M694V больше вероятности развития спаечной непроходимости кишечника[94]. Также есть данные, что некоторые мутации MEFV гена предрасполагают к развитию болезни Крона[95].

Плевральные атаки

В 15-30% случаев приступ ССЛ сопровождается вовлечением в процесс восполения плевры, что характеризуется в большинстве случаев острым односторонним плевритом и рентгенологической картиной утолщения плевры.

У 5-10% больных ССЛ клиническая картина ограничивается только лихорадкой и плевритом[96]. Описываются также редкие случаи вовлечения в воспалительный процесс перикарда, чему могут способствовать не только наличие мутаций MEFV гена, но и мутаций гена TNFRSF1A которые обусловливают развите синдрома TRAPS[97]. Из мутаций MEFV гена к развитию перикардита во время приступов больше всего предрасполагают мутации E48Q, P369S и V726A[98]. Также в ряде публикаций мутации гена MEFV выявлены при других аутовоспалительных синдромах, что коррелирует с положительным эффектом колхицина при лечении данных аутовоспалительных синдромов. К примеру, мутации гена MEFV отмечаются при аутовоспалительных синдромах Макл-Вейса (MWS) и TRAPS[86].

Суставные атаки

Часто встречающимися симптомами ССЛ являются артирты и хронические артралгии. Поражение суставов при ССЛ бывает как в виде симметричных артритов (59%), так и в виде моно- (20%), олиго- (8%) и полиартритов (10%). Наиболее часто встречаются поражения коленного (63%), голеностопного (42%), локтевого и лучезапястного суставов (15% и 17% соответственно), тазовых суставов (17%), мелких суставов рук и ног (10% и 3%), а также крестцово-подвздошного сустава (1%)[99]. При ССЛ иногда

возможна также проявление отдельного суставного синдрома без лихорадки и других типичных проявлений ССЛ, что может намного затруднить и отсрочить диагностику болезни[100]. При наличии ССЛ у больных также более высокий риск развития синдрома юношеской фибромиалгии[101].

Кожные проявления

При ССЛ, кроме полисерозитов и поражений суставов, возможны также поражения кожных покровов в виде эризипелободобной эритемы, которая часто встречается среди носителей M694V мутации гена MEFV[102], [103]. Эризипелободобные высыпание при ССЛассоцированы снарушением естественного восполительного процесса[102]. При вовлечении кожи в восполительный процесс во время приступов ССЛ наблюдается покрасенение, отечность и подчеркнутая демаркационная зона в основном на нижних конечностях. В литературе имеются данные и о других типах кожных проявлений: например мутации E148Q и M694V предрасполагают к развитию пурпуры Геноха-Шенлейна[104], а ткаже к развитиюдругих типов васкулитов как узелковый периартерит[105].

Мышечные боли

При ССЛ также часто встречается воспалительные процессы мышечной ткани, которое клинически проявляеться в виде миалгий, в восновном в нижных конечностях. Миалгии часто бывают после физической нагрузки и проходят после отдыха или приминения НПВС. На МРТ-картинах наблюдаються энтезиты[106].

Осложнение

Поражения почек считаются наиболее тяжелыми осложнениями ССЛ, особенно АП. При ССЛ встречаются также неамилоидные поражения почек в виде геморрагических и хронических гломерулонефритов, кроме того, в виде нефритов при пурпуре Генох-Шенлейна и узелкового периартерита. До применения колхицина неамилоидные поражение почек встречались редко,

поскольку при отсутствии соответствующего лечения колхицином развитие амилоидного поражения почек было на первом месте. Фактором риска АП является генотип. Важное клиническое значение имеет уровень плазменного амилоида, а также α/α генотип гена SAA1[107], [108]. При ССЛ возможно накопления амилоида в яичках, что может вести к понижению половой функции и ко вторичному бесплодию[109].

Особому вниманию со стороны специалистов подлежат пациенты с клинической картиной, схожей с ССЛ, при гетерозиготных генотипах и даже без мутаций MEFV гена. Во многих популяциях, в том числе и в армянской, статистически доказано наличие определенного процента гетерозиготных носителей мутаций гена MEFV с клиническими симптомами, типичными для ССЛ[110], [111], что возможно связано с генетическими дефектами патогенетического пути при наличии даже одной мутации гена MEFV[87]. Jeru с соавторами расчитали относительный риск развития клинически выраженной формы болезни у гетерозигот по сравнению с общей популяцией, составивший 6.3-8.1[112].

Учитывая актуальность данной проблемы прежде всего для клиницистов, в настоящем исследовании изучены особенности течения, клинических проявлений и прогноза развития болезни у лиц-гетерозигот с одной мутации гена MEFV.

Принципы диагностики ССЛ

Аутовоспалительные болезни (синдромы), к которым относится ССЛ – гетерогенная группа с разнообразной клинической симптоматикой, требующей разных критериев интерпретации генетических вариантов, а также лабораторных методов, имеющих первостепенное диагностическое значение.

Диагноз рецидивирующей лихорадки должен соответствовать определенным критериям: у детей или у молодых людей длительность эпизодов лихорадки должна быть ограничена во времени (от нескольких часов до

нескольких дней), с промежуточными периодами апирексии (без лихорадки). Эти эпизоды регулярно повторяются в течение нескольких месяцев или даже лет.

Критерии генетической диагностики НПЛ были установлены группой экспертов, в том числе проф. Т. Саркисян, в 2011 году в Брюгге, Бельгия[2], согласно которым, генетическую диагностику следует проводить лицам с клиническими проявлениями типичными для НПЛ, а также и их родственникам по желанию.

Пресимптоматическая диагностика и определение статуса носительства

Пресимтоматическая диагностика рекомендуется не всегда, поскольку выявление мутаций с неполной пенетрантностью может привести к неокончательной и неубедительной интерпретации результатов в плане оказания врачебной помощи. Пресимптоматическая генодиагностика рекомендуется при медико-генетическом консультировании бессимптомных членов семей пациентов с патогенным генотипом или амилоидозом для определения риска и предотвращения развития тяжелых осложнений. Ведутся дискуссии по поводу назначения профилактического лечения, прежде всего лицам с двумя мутациями, ассоциированными с заболеванием у больного родственника.

Пренатальная и предымплантационная генетическая диагностика

Пренатальная и предимплантационная генетическая диагностика для выявления НПЛ у плода в основном не рекомендуется. Данные заболевания не являются летальными, подлежат лечению и снижению/исчезновению интенсивности симптоматики.

Пренатальная и предимплантационная генетическая диагностика рекомендуется при наличии в семье тяжелых форм НПЛ с осложнениями: слепотой, глухотой, умственной отсталостью, атаксией, деформацией костей, отставанием физического развития, суставными и кожными проявлениями, к

примеру, при тяжелых формах с недостаточностью мевалонат-киназы (MKD) и мультисистемном восполительном синдроме с неонатальной манифестацией (CINCA). Диагноз подтверждается на основании молекулярно-генетического анализа.

Диагноз ССЛ ставится на основании клинических проявлений больного и данных генетического тестирования. Для клинической диагностики и оценки степени тяжести клинических проявлений ССЛ предложены разные подходы. В настоящее время “золотым стандартом” для клинической диагностики ССЛ является метод Tel-Hashomer, который включает большие и малые критерии клинических проявлений ССЛ и обеспечивает до 95% диагностической чувствительности[113] (таблица 2). Как уже упомяналось выше, клиническое течение ССЛ может колебаться в широком диапозоне в зависимости от генотипа, тригер факторов, факторов окружающей среды и других модифицирующих генетических факторов. Для определения степени тяжести и прогноза развития ССЛ, прделожены критерии Pras, Mor, Tel-Hashomer и т.д[114], включающие несколько ключевых признаков, типичных при манифестации ССЛ, в том числе, возраста начала заболевания, частоты приступов, выраженности полисерозитов, наличия осложнений, дозы употребляемого колхицина и т.д[115]. Тем не менее, среди всех предложенных критериев оценки тяжести клинического течения ССЛ, в настоящее время общепринятым считается критерий Tel-Hashomer (таблицы 3) и рассматриваются новые критерии, которые находятся на стадии утверждения[114].

Таблица 2

Клиническая диагностика ССЛ по системе Tel-Hashomer[116]

Критерии диагностики			**Клинический диагноз**
Основные (большие)	**Дополнительные (малые)**	**Вспомогательные**	
Типичные повторные приступы лихорадки с серозитом (≥3;Т 38º; 12-72 ч.) 1. Перитонит 2.Плеврит и/или перикардит 3.Артрит (тазобедренный, коленный, гол /стоп. суставы) 4. Лихорадка изолированная	Неполные приступы [типичные атаки с 1 или 2 следующими признаками: - Т≤ 38 º, -Приступы длительностью в 6- 12 часов или 3-7 дней, -Отсутствие симптомов перитонита во время абдоминальных приступов - Локализованная абдоминальная боль -Артриты других суставов (кроме тазобедренного, коленного, голеностопного] с вовлечением 1 или более следующих	1.Семейный анамнез по ПБ 2. Соответствующее ПБ этническое происхождение 3. Возраст начала болезни <20 л Особенности приступов: 4. Острые приступы, треб. нахождения в постели 5. Спонтанные ремиссии 6. Бессимптомные интервалы 7. Транзиторный воспалит. ответ (с одним или более изм. лабораторным тестом: лейкоциты, СОЭ, сывор. амилоид А и/или	≥1 большой критерий, или ≥2 малых критерия, или 1 малый плюс ≥ 4 из 5 первых вспомогат. критериев или 1 малый критерий плюс ≥5 любых вспомогат. критерия

	областей: живот, грудная клетка, суставы. Боли напряжения в нижних конечностях Благоприятный ответ на колхицин	фибр-ген) 8. Эпизодическая протеинурия /гематурия 9. Непродуктивная лапаротомия или удаление норм. (белого) аппендикса 10. Кровнородствен-ный брак родителей	

Следует отметить, что все предложенные критерии действительны только для оценки состояния взрослых пациентов и не соответствуют критериям диагностли и оценки тяжести заболевания для пациентов детского возраста, в чем несомненно есть большая потребность[117], [118].

Протокол клинического обследования включает наличие следующих симптомов: периодически повторяющуюся лихорадку, серозиты разной локализации, повторяющуюся эризипелоподобную сыпь, возможно повторные лапаротомии в анамнезе с подозрением на “острый живот”, но без патологических изменений, наличие АА амилоидоза у больных в возрасте старше 15 лет, если даже в анамнезе не отмечаются предшествующие типичные проявления ССЛ[13], [83].

Таблица 3

Оценка тяжести клинического течения ССЛ по шкале Tel-Hahsomer[119]

Параметры	**Характеристика**	**Единица**
Начало болезни	20<	0
	10-20	1
	5-10	2
	<5	3
Количество приступов за месяц	<1	1
	1-2	2
	>2	3
Наличие артритов	Острый	2
	Хронический	3
Наличие эризипелоидного высыпания	+	2
Наличие амилоидоза	+	3
Амилоидоз (фенотип - 2)	+	4
Колхицин, доза мг/дл	1 мг/д	1
	1.5 мг/д	2
	2 мг/д	3
	резистентность	4

В схеме, предложенной клиникой Tel-Hashomer, различают большие и малые критерии. Для постановки клинического диагноза обязательно наличие лихорадки и одного или более больших и одного малого критериев; или наличие лихорадки и двух малых критериев.

К большым критериям относятся: лихорадка, боли в брюшной полости, боли в грудной полости, кожные высыпания, боли в суставах (важно отметить, что при моноартритах диагноз ССЛ ставится при наличии периодической лихорадки, положительного ответа на колхицинотерапию, наличия родственников с ССЛ и, конечно же, при наличии соответсвенного генотипа).К малым критериям относятся: повышение СОЭ, лейкоцитоз, повышенный уровень плазменного фибриногена[83], [116]. Важно отметить, что во многих случаях постановлению правильного диагнозо помогают также правильно собранные анамнестические данные, в частности наличие семейных случаев или родсвенников умерших от почечной недостаточности.

С тех пор как был выявлен ген MEFV в 1997 г., генетическое иследование стало обязательным для конечного подтверждения диагноза ССЛ. Со времени обнаружения гена, ответсвенного за развитие ССЛ, было выявлено более 200 мутаций, которые обусловливают разное течение болезни. Как уже обсуждалось выше, в разных популяциях распространенность мутаций гена MEFV варьирует, в связи с чем во многих лабораториях используют панели из нескольких, наиболее распространенных в данной популяции мутаций.

Лечение ССЛ

В течении последних нескольких десятилетий основным эффективным лекарственным препаратом, который используется для лечения ССЛ, является колхицин, при соответствующей дозировки которого, а также при нормальном функционировании печени и почек, считается относительно безвредным препаратом для лечения ряда заболеваний, включая также ССЛ[120].

Колхицин представляет из себя алкалоид, который добывается из растений семейства Colchicum (autumncrocus). Описаны несколько механизмов действия колхицина и одним из основных считается нарушения функции внутриклеточного белка тубулина и следовательно анти-митотический эффект. Проникая во внутрь клетки, колхицин связывается с белком тубулин, который участвует в митозе клетки и играет одну из основных ролей в метафазе. Таким образом связанный с колхицином тубулин не участвует в дальнейшей полимеризации внутриклеточных микротрубочек, что в конечном итоге приводит к нарушению ряда важных клеточных функций. Важно отметить, что в малых дозах колхицин подавляет рост микротрубочек, а более высокие концентрации приводят к деполимеризации уже существующих микротрубочек. Последнее имеет токсический эффект на здоровые ткани и ограничывает использование колхицина в онкологии, где требуются более высокие концентрации препарата для достижения терапевтического эффекта.
Механизм воздействия колхицина на иммунную систему в основном связан с подавлением хемотаксиса, мобилизации и адгезии нейтрофилов, а также подавление продукции супероксидов путем ингибирования NALP3-инфламмасомы и высвобождения IL-1β.

Некоторыми авторами было показано также антифибротичный и протективный эффект колхицина на сердечно-сосудистую систему. Как было показано в лабораторных условиях, колхицин имеет протективный эффект на эндотелий сосудов, уменьшает концентрацию С-реактивного белка и липопротеин-ассоцированных фосфолипаз, а ткже способствует синтезу NO. В настоящее время клиническое применение колхицина при перикардитах и атеросклерозе находится в стадии исследовния[121]–[123].

Из-за высокой токсичности, колхицин имеет узкую терапевтическую нишу и при длительном использовании, как на пример при ССЛ, может иметь ряд побочных явлений, большинство из которых связаны с ЖКТ (до 20%) в виде диареи, тошноты и рвоты. Данные симптомы обычно проявляются не ярко

и быстро исчезают после снижения дозы препарата.явления в основном не ярко выражены. Также были описаны случаи таких побочных эффектов как лейкопения, гранулоцитопения, тромбоцитопения, панцитопения и апластическая анемия.

В терапевтических дозах колхицин используется при лечении таких ревматоидных заболеваний как подагра, ССЛ, остеоартроза и болезнь Бехчета-Адамантиадиса. Также колхицин назначается при некоторых не ревматоидных заболеваний в том числе перикардитах, атеросклерозе и некоторых других состояний связанных с нарушениями сердечно-сосудистой системы.

Некоторые исследователи отмечают, что эффективность колхицина может зависить от генотипа ССЛ, в частности среди пациентов с мутацией M694V в гомозиготном состоянии в редких случаях даже большие дозы колхицина могут быть неэффективными, что свидетельствует о необходимости создания новых средств для лечения ССЛ[124]. Неполная эффективность препарата может быть следствием использования неправильных схем терапии или недостаточностью дозировки[125].

Тем не менее, совершенно очевидна эффективность колхицинотерапии при ССЛ. Показана эффективность колхицина при АП у больных ССЛ, особенно на ранних стадиях протеинурии, с низкими показателями белка в моче[126].

Хронические мультисистемные воспалительные заболевания в большинстве случаев не реагируют на лечение стероидными гормонами или анти-TNF блокаторами и, прнимая во внимание ключевую роль IL-1 в патогенезе данной группы заболеваний, именно блокаторы IL-1 стали препаратами выбора.

Редкие случаи резистентности к колхицину способствовали поиску новых лекарственных средств из группы блокаторов IL-1β для лечения ССЛ. одним из наиболее эффективных препаратов явился анакинра[127], [128]. Анти IL-1β блокаторы относятся к наиболее эффективным средствам лечения ССЛ и других аутовосполительных заболеваний, в частности, криопирин-

ассоцированной периодической лихорадки, в основе которых лежит гиперактивация врожденной иммунной системы, вследствие чего происходит гиперсекреция провоспалительного медиатора IL-1β с последующими клиническими проявлениями воспалительного процесса[60]. Иследования показывают, что анакинра не только эффективна во время приступов ССЛ, но также влияет на хронический воспалительный процесс, который присутсвует даже в межприступные периоды ССЛ. Этому свидетельствут понижение высоких уровней CRP при использовании анакинры[62].

Для пациентов детского возраста с колхицин-резистентностью в 50% случаев эффективным препаратом является Дапсон. Некоторые иследования указывают на возможное использование анти-TNF препаратов как альтернативу анти-IL-1β, при лечении некоторых аутовоспалительных заболеваний, включая ССЛ[129].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. ОРГАНИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Настоящая работы выполнена на базе следующих учреждений:

1. Центр медицинской генетики и первичной охраны здоровья (ЦМГ), где проведены следующие исследования: клиническое обследование, лабораторные анализы, УЗИ, генетическое консультирование, генодиагностика всех 28000 лиц.

2. Терапевтическая клиника медицинского центра "Канакер-Зейтун", терапевтические отделения университетских клиник “Гераци” и “Мурацан”, где проходили стационарное лечение 166 пациентов с ССЛ.

2.2. КЛИНИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ КОНТИНГЕНТА

Обследованный контингент составил 28000 лиц обследованных в ЦМГ, из которых мутации гена MEFV были зафиксированы у 17669 человек, а диагноз ССЛ был подтвержден у 14935 пациентов.

Обследование пациентов:

Клиническое обследование лиц с подозрением на ССЛ проводилось по критериям Tel-Hashomer[116] (таблица 2), включая данные лабораторно-инструментальных комплексных обследований во время приступа.

При первичном анкетировании пациентов в ЦМГ использовалась адаптированная форма для диагностики наследственных периодических лихорадок соответсвующая международным критериям, которая включает персональные данные пациета, семейный анамнез, клинические характеристики ССЛ, режим и дозировку колхицина, а также родословную (таблица 4).

Степень тяжести клинических проявлений ССЛ оценивалась по шкале Tel-Hashomer с учетом возраста манифестации, частоты приступов, наличия артропатий, эризипелоподобной сыпи, протеинурии и почечных осложнений, реакции на прием колхицин. (таблица 3)[115], [117]. Клиническое состояние по

степени тяжести ССЛ оценивалось по трем степеням тяжести клинического течения ССЛ: легкая: 2-5; средняя: 6-10; тяжелая: 10<.

Окончательный диагноз ставился после молекулярно-генетического исследования и выявления мутаций гена MEFV.

Таблица 4

Первичная анкета для диагностика наследственных периодических лихорадок

<table>
<tr><td colspan="11">ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК</td></tr>
<tr><td colspan="6">Дата</td><td colspan="5">Номер анкеты</td></tr>
<tr><td colspan="11">Пациент (Ф.И.О.)</td></tr>
<tr><td colspan="11">Адрес, телефон</td></tr>
<tr><td colspan="5">Дата рождения</td><td colspan="6">Месторождения</td></tr>
<tr><td colspan="6">Месторождения: отца</td><td colspan="5">матери</td></tr>
<tr><td colspan="11">КЛИНИКА</td></tr>
<tr><td colspan="5">Возраст начала приступов</td><td colspan="6">АНАМНЕЗ</td></tr>
<tr><td colspan="5">Возраст установления диагноза</td><td colspan="3">Болезнь Крона</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Частота приступов</td><td colspan="4">1 раз в неделю</td><td colspan="3">Гемморагический ректоколит</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">1 раз в месяц</td><td colspan="3">Болезнь Бехчета</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">реже 1 раза в месяц</td><td colspan="3">Анкил. спондилит</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="5">ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИСТУПОВ</td><td colspan="3">Глухота</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">Рецедивирующие</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Лицевой дисморфизм</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">Постельный режим</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Ревматоидная пурпура</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">Снижения активности</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Заболевемость в семье</td><td>да</td><td>нет</td></tr>
<tr><td colspan="4">Интервалы между приступами</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="5">ПРОВОЦИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ</td></tr>
<tr><td colspan="4">Спонтанная ремиссия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Менструация</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">Длительнисть</td><td>ч.</td><td>д.</td><td colspan="3">Питание</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="3">Температура</td><td>38°</td><td>39°</td><td>40°</td><td colspan="3">Физические нагрузки</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">Абдоминальгия генерализ.</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Стресс</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">Абдоминальгия локализ.</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Холод</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">Аденопатия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="5">Другие:</td></tr>
<tr><td colspan="4">Торакалгия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="5">Аура:</td></tr>
<tr><td colspan="4">Плеврит</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="5">ЛАБОРАТОРНЫЕ ДАННЫЕ</td></tr>
<tr><td colspan="4">Перикардит</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">СОЭ</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="4">Артралгия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">Протеинурия (мг/24 ч.)</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="4">Моноартрит</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">CRP</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="4">Полиартрит</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="3">IgD</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="3">Локализация</td><td colspan="4"></td><td colspan="3">IgA</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="3">Продолжительность</td><td colspan="4"></td><td colspan="3">SAA</td><td colspan="2"></td></tr>
</table>

<table>
<tr><td colspan="2">Спленомегалия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="5">ЭФФЕКТ ЛЕЧЕНИЯ</td></tr>
<tr><td colspan="2">Гепатомегалия</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="2">Салицилаты</td><td>нет</td><td colspan="2">частичный</td></tr>
<tr><td colspan="2">Диарея</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="2">Парацетамол</td><td>нет</td><td colspan="2">частичный</td></tr>
<tr><td colspan="2">Запор</td><td>да</td><td>нет</td><td colspan="2">Кортикостероиды</td><td>нет</td><td colspan="2">частичный</td></tr>
<tr><td colspan="2">Тошнота</td><td>да</td><td>нет</td><td rowspan="4">Колхицин:</td><td colspan="2">Начало:</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">Миалгия</td><td></td><td></td><td colspan="2">Доза (мг/д)</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">Орхит</td><td></td><td></td><td colspan="4">Эффект</td></tr>
<tr><td colspan="2">Амилоидоз почек</td><td></td><td></td><td>нет</td><td>частичный</td><td>полный</td></tr>
<tr><td rowspan="6">Кожные высыпания</td><td>Крапивница</td><td colspan="7">РОДОСЛОВНАЯ</td></tr>
<tr><td>Эритема</td><td colspan="7" rowspan="6"></td></tr>
<tr><td>Пурпура</td></tr>
<tr><td>Афтозбук./генитальн.</td></tr>
<tr><td>Отечность, пурпура</td></tr>
<tr><td>Эризипелободобная</td></tr>
<tr><td colspan="2">Хирургические вмешательства:</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td></tr>
</table>

Пациенты получавшие стационарное лечение (166 пациентов), при первой госпитализации проходили исследования на маркеры острого воспаления: СОЭ, CRP, лейкоцитоз, показатели асептических серозитов (инструментальные исследования): рентгенография органов грудной клетки (реакция плевры, наличие эксудата в плевральной полости), эхокардиография (уплотнение перикарда, наличие эксудата в перикардиальной полости), компьютерная томография.

При надобности выполнялось также консультация хирурга и рентгенография брюшной полости для исключения хирургической патологии.

Вне приступов (динамическое наблюдение для исключения других клинических диагнозов)

- Повторное исследование гемограммы, лейкоцитоза, СОЭ, CRP
- Общее и бактериологическое исследование мочи
- Функциональные пробы печени и почек
- Сонография органов брюшной полости
- Общее и бактериологическое исследование мочи (при надобности)

- Стрип-тест на туберкулез
- Общее и бактериологическое исследовнаие кала
- Агглютинационный тест на бруцеллез (при надобности)
- Исследование крови, мочи и кала на наличие иерсиний (при надобности)

При надобности (для выявления сопутсвующих или ассоцированных болезней):

- Эндоскопия (гастродуоденоскопия, колоноскопия)
- Исследования крови на ANA, ds DNA, RF, C3, C4, HBsAg, ASL-O, HLA, B27, HLB51
- Рентгенография кисти (консультация эндокринолога)

2.3. МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ

Начальный процесс консультирования пациентов включал полное клиническое обследование с заполнением общепринятой специально разработанной анкеты, в которую включены симптомы болезни (лихорадка, перитонит, плеврит, артрит и артралгии, кожные высыпания в виде псевдоэризипелоидной сыпи, протеинурия, амилоидоз почек и т.д.), демографические параметры (пол, возраст, этническое происхождение), семейные случаи и т.д. После анкетирования, все данные вносились в созданный в ЦМГ генетический регистр ССЛ. После клинического обследования пациенту назначалось молекулярно-генетическое исследование, лабораторные анализы, УЗИ.

Повторное медико-генетическое консультирование проводилось после обнаружения генных мутаций. Пациенту давалось подробное объяснение диагноза, клинической значимости выявленных генных мутаций, прогноза течения болезни, возможных осложнений, риска для семьи.

2.4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ССЛ

Молекулярно-генетическое исследование выполнено под руководством зав. лабораторией генетики аутовоспалительных заболеваний ЦМГ, д.б.н., проф. А.С. Айрапетян.

Материалом для определения мутаций генов MEFV и SAA1 служила цельная периферическая кровь. Забор крови проводили из локтевой вены в специальные пробирки с EDTA для предотвращения свертывания крови и деградации ДНК. Для выделения ДНК использовались специальные наборы “MOBIO laboratories” (Ultra Clean Blood DNA Isolation Kit, USA). Мутации определялись мультиплексной амплификацией участка ДНК, содержащего исследуемый ген, с реверс-гибридизацией полученных ампликонов, контролем в паралельном исследовании и визуализации мутаций с помощью ферментативной реакции (Vienna Lab FMF & SAA1 Assay).

2.4. АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОННЫХ ДАННЫХ С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММЫ “NEW BUILDER”

Совместно с Институтом информатики НАН РА под руководством В.Г. Асланяна разработана программа “New Builder”, используемая на персональном компьютере без каких либо специальных установок и программ. Программа предназначена для ввода, хранения и анализа базы данных ЦМГ, включая комплекс клинических, генетических, лабораторных данных пациентов с аутовоспалительными заболеваниями и в частности больных с ССЛ.

Программа “New Builder” считается наилучшей альтернативой MsAccess, которая работает в веб пространстве, с использованием современных веб-технологий. В отличие от MsAccess, скорость работы “New Builder” не понижается по мере добавления новых данных. Особенности и основные преимущества данной программы следующие:

1. Программа полностью основана на веб-технологиях, что позволяет работать находясь на любом растоянии от основного сервера. Также нет надобности установлять какие-либо програмные обеспечения на персональном компьютере.
2. Открытый доступ (Open Source), позволяющий скачивать и устанавливать данное приложение без дополнительных затрат.
3. Специальные коды, ограничивающие доступ пользователей к серверу и изменению данных.
4. Ограничение к доступу данных исходя из их конфиденциальности.
5. Хранение электронных данных в центральном сервере.

С помощью данной программы проведены следующие исследования:

1. Анализ отдельных выборок больных с 1-й, 2-мя мутациями, без мутаций, по клиническим симптомам, а также другим параметрам.

2. Статистическая обработка для определения достоверности полученных результатов.

3. Определение особенностей наследования гена MEFV в семьях пациентов.

4. Составление генетического регистра полученных данных всех обследованных лиц.

2.5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Результаты исследования обрабатывались методом вариационной статистики, рекомендуемым для медико-биологических исследований на персональном компьютере Intel Pentium CPU 2020M с использованием пакета прикладных программ “SPSS Statistics 16.0”.

В ходе статистической обработки полученных данных вычислялись средние арифметические величины (M), стандартное отклоненеие (δ), средние квадратные ошибки (m), коэффициент корреляции (r). Достоверность различий показателей (p) определяли с помощью критерия Стьюдента (t). Различия расценивались как достоверные при значении $p < 0.05$.

Для определения фактора риска проводилась обработка данных по модели мультивариационного логического регрессионного анализа. Таким образом были определены показатели относительного риска (Относительный риск - ОР) и 95% доверительный интервал (Доверительный интервал – 95% ДИ). Относительный риск, равный 1, означает равные шансы для обеих исследуемых групп. Относительный риск больше 1 показывает повышенный риск для одной группы; показатель относительного риска менее 1, означает, что вероятность заболевания в интересующей группе ниже, чем в группе сравнения (контроля). Достоверными считались результаты, при которых 95% доверительный интервал (ДИ) находился в пределах, охватывающих значение 1.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование мутаций гена MEFV для диагностики ССЛ проводится в ЦМГ с 1997 г. - со времени описания мутаций, ответственных за развития заболевания. Уже более 19 лет благодаря внедрению соответствующих молекулярных диагностических тестов пациентам с подозрением на ССЛ ставится своевременный и достоверный диагноз, а также определяются прогноз развития и степень тяжести протекания заболевания, основанный на исследовании спектра выявленных мутаций.

Для выяснения вопросов, поставленных в задачах настоящей работы и сопоставления результатов клинического обследования и генетического тестирования, исследованный контингент из 28000 лиц был разделен на следующие группы:

- Лица с двумя мутациями гена MEFV: гомозиготы и компаунд-гетерозиготы с клиническими симптомами ССЛ
- Носители одной из мутаций гена MEFV с клиническими симптомами ССЛ
- Носители одной из мутаций гена MEFV без клинических симптомов ССЛ
- Лица без мутаций гена MEFV с клиническими симптомами ССЛ
-Лица с 1-2 мутациями гена MEFV в сочетании с разным спектром аллельных полиморфизмов SAA1: гомозиготы α/α; гомозиготы β/β, гетерозиготы α/β и β/γ.

Кроме того, нами были изучены особенности клинического течения заболевания у 166 госпитализированных больных, которые получали стационарное лечение в период 2014-2015 гг.

3.1. ДНК-ДИАГНОСТИКА И ВЕРИФИКАЦИЯ ТИПОВ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ У БОЛЬНЫХ ССЛ

Параллельно с генодиагностикой у лиц с подозрением на ССЛ, нами проведено молекулярное исследование 450 здоровых лиц без каких-либо симптомов заболевания с целью определения частоты носительства мутаций гена MEFV у армян. Определены следующие частоты встречаемости мутаций: M694V (4.7%); V726A (4.6%); M680I (1.8%); R761H (0.2%); F479L (0.4%); P369S (4.9%); E148Q (3.4%).

Для сравнения приводим частоты встречаемости тех же мутаций у пациентов, страдающих ССЛ: M694V (50.6%), V726A (22.3%), M680I (18.7%), R761H (3.2%), F479L (1.3%), E148Q (2.2%), M694I (0.4%).

В Армении, по данным ЦМГ, самые распространенные мутации гена MEFV обусловливают более 98.0% всех случаев ССЛ[11] (данные представлены в таблице 5).

Таблица 5

Распространенность мутаций гена MEFV в Армении у пациентов, страдающих ССЛ

Мутациигена MEFV	**%**	**Мутациигена MEFV**	**%**
M694V	50.6	R761H	3.2
V726A	22.3	E148Q	2.2
M680I	18.7	F479L	1.3

Исследования, проводимые в ЦМГ в течение последних 20-и лет, позволили установить, что среди пациентов наиболее распространенными являются следующие мутации гена MEFV, которые встречаются у 98.71% армянских больных ССЛ:M694V, V726A, M680I (G/C), M680I (G/A), F479L,

E148Q, M694I, R761H, P369S, 1692del, K695R, A744S. Также были установлены процентные соотношения разных генотипов. Нами вычислены частоты их встречаемости, которые приводятся в таблице 6 и на графике 1.

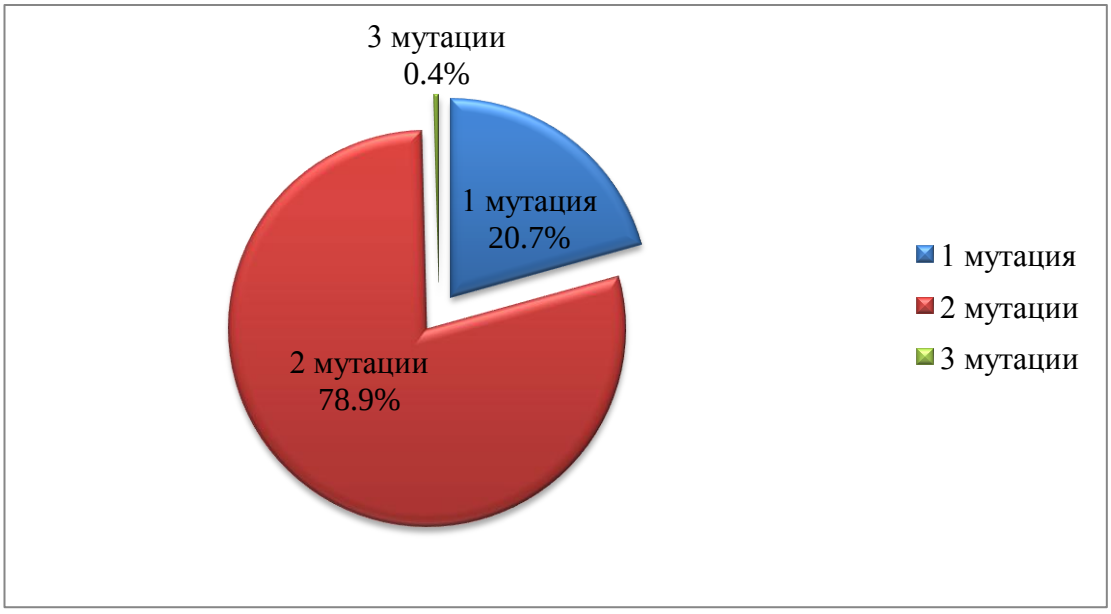
Таблица 6

Наиболее распространенные генoптипы гена MEFV среди обследованных больных в ЦМГ

Гомозиготы	M694V/ M694V	V726A/ V726A	M680I/ M680I	-	-	-
%	14.1	2.8	2.5	-	-	-
Компаунд – гетерозиготы	M694V/ V726A	V726A/ M680I	M694V/ M680I	M694V/ E148Q	M694V/ R761H	V726A/ F479L
%	21.3	11.9	11.6	3.7	3.0	3.0
Гетерозиготы	M694V/-	V726A/-	M680I/-	E148Q/-	-	-
%	9.9	4.5	1.5	0.5	-	-

График 1

Соотношение пациентов с 1,2,3 мутациями гена MEFV (%)



Распределение распространенных мутаций гена MEFV у армян по экзонам 2, 3, 5, 9 и 10 гена MEFV приведены в таблице 7 (результаты ЦМГ):

Таблица 7

Распределение по 10-и экзонам гена MEFV 12-и самых распространенных мутаций среди армян

Экзоны	**Мутации**
2	E148Q
3	P369S
5	F479L
10	M680I (G/C); M680I (G/A); V726A; I692del; M694V; M694I; A744S; R761H; K695R

Ранняя манифестация и тяжелое течение заболевания отмечено у больных с мутацией M694V. Мутации M680I и V726A ассоциированы с относительно меньшей вероятностью развития тяжелых осложнений, более мягким течением болезни; в 20.7% случаев болезнь проявляется у гетерозиготных носителей мутаций гена MEFV, у 1,29% пациентов с клиникой ССЛ мутации не обнаружены.

Считающиеся “непатогенными” мутации гена MEFV в редких случаях были ассоциированы с воспалительными приступами: к примеру, генотипы E148Q/A744S; E148Q/P369S. Более «мягкое» течение заболевания нами отмечено у лиц с генотипами: M694V/K695R; M694V/E148Q; V726A/P369S; M694V/R42W. Присутствие одного из симптомов заболевания в таких случаях может привести к упущению постановки диагноза и задержки лечения. Поэтому данная информация, полученная нами при обследовании подобных случаев, является доказательством вариабельной экспрессии каждой из мутаций гена MEFV, скорее всего проявляющейся индивидуально.

Для клиницистов важной явилась информация о возможной корреляции развития фенотипических проявлений с возрастом начала ССЛ в зависимости от мутаций. С этой целью пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на две группы:

1 группа: пациенты с ранней манифестацией заболевания до 20-летнего возраста;

2 группа: пациенты с более поздней манифестацией заболевания после 20- летнего возраста.

Результаты данного раздела исследований приведены в таблице 8. Как видно из таблицы, в ходе сравнительного анализа начала приступов ССЛ и клинических проявлений, а также взаимосвязи позднего начала болезни с генотипами ССЛ было выявлено, что артрит (ОР=1.360, p=0.004) и миалгия (ОР=1.557, p=0.015) более характерны для начала болезни в возрасте до двадцати лет.

В таблицы 8 показано, что позднее начало болезни более свойственно мужскому полу (ОР=0.580, p<0.001). При наличии семейных случаев, то есть при наличии мутаций гена MEFV у других членов семьи более свойственно раннее начало болезни (ОР=1.797, p=0.001).

Таблица 8

Результаты соотношения возраста начала ССЛ с клническими и демографическими характеирситками пациентов

Характеристики	**ОР**	**ДИ**	**p**
Пол (мужской)	0.580	0.427-0.788	<0.001
Семейные случаи	1.797	1.285-2.513	0.001
Артрит	1.360	1.104-1.675	0.004
Миалгия	1.557	1.090-2.224	0.015

Выявлено небольшое различие в возрасте манифестации болезни между пациентами с одной и двумя мутациями гена MEFV, что показано в таблице 9. Манифестация заболевания в возрасте 20 лет и старше отмечена у ¼ пациентов - гетерозиготных носителей одной из мутаций.

Таблица 9

Процентные составляющие начала ССЛ до и после 20-и летнего возраста среди пациентов с одной и двумя мутациями гена MEFV

Генотип	**Начало ССЛ до 20 лет**	**Начало ССЛ после 20 лет**	**p**
Гетерозиготный	75,0%	25,0%	0.001
Гомозиготный и компаунд-гетерозиготный	77,8%	22,2%	

Как уже отмечалось выше, в большинстве случаев болезнь манифестирует в детском и юношеском возрасте и до двадцатилетнего возраста первые симптомы болезни регистрируются у большей части пациентов. Согласно нашим результатам, в обследованной обширной выборке пациентов болезнь манифестировала до двадцатилетнего возраста у 77% пациентов. У остальных 23% отмечается начало приступов ССЛ в возрасте после 20-и лет. Более позднее начало ССЛ бывает редко, и согласно нашим данным, среди армянского населения начало болезни после 35 лет составляет 3.6%. Частота встречаемых генотипов с началом болезни после 35-и лет представлены в таблице 10.

Таблица 10

Часота генотипов MEFV среди пациентов с манифестацией ССЛ после 35-и лет

Генотип	**%**
M694V/V726A	19.2
M694V/-	18.3
M694V/M694V	13.4
V726A/M680I	6.7
M694V/M680I	6.7
V726A/-	8.6
E148Q/-	5.3
M680I/-	4.2
M694V/E148Q	5.3
M680I/E148Q	2.2
V726A/V726A	5.3
M680I/M680I	1.7

У 2.24% больных болезнь манифестировала в возрасте 35-70 лет независимо от пола (из них у 50.3% женщин и 49.7% мужчин), а также от генотипа: M694V/M694V (5.9%), M694V/V726A (35.33%), M680I/V726A (10.5%), M694V/M680I (9.3%), M680I/M680I (2.7%).

В единичных случаях при выявленных мутациях у гомо- и компаунд-гетерозигот клинические симптомы заболевания отсутствовали. Подобные случаи описаны также и в литературе, называемые «silent disease»: так называемый фенотип 3, что впервые было опубликовано проф. Беркуном и группой исследователей Израиля[130], [131].

Согласно полученным результатам, нами выявлен 1.9% лиц без мутаций гена MEFV, но их клиническая картина соответствовала клиническим

критериям Tel-Hashomer, что позволило подтвердить их клинический диагноз ССЛ с назначением колхицина.

В последнее время в литературе описываются атипично протекающие случаи ССЛ, причем среди разных наций выраженность тех или иных симптомов варьирует в широком диапазоне. В некоторых случаях отмечаются определенные отличия в клинической выраженности и симптоматике заболевания от типичных ССЛ признаков, что намного затрудняет клиническую диагностику заболевания и создает трудности в ведении и лечении таких случаев[132].

В частности среди наших пациентов были многочисленные случаи болезни без лихорадки, которая считается одним из основных критериев для диагностики ССЛ. У определенной группы больных наблюдались только моно- или полисерозиты без лихорадки, которая клинически проявлялась абдоминальгиями и торакалгиями. Как пример данной группы пациентов ниже приводим выписки из нескольких историй болезни зафиксированных в ЦМГ.

Также к атипичным проявлениям болезни относились случаи с ограниченным суставным синдромом, когда больные жаловались только на наличие артритов или артралгий, без свойственных периодических приступов лихорадки с серозитами. Ниже приводим выписки из историй болезни ЦМГ как пример данного фенотипа.

К наиболее редким с нетипичной симптоматикой относятся пациенты с генотипами: A744S/A744S; E148Q/E148Q; M694V/A744S; M694V/E148Q; E148Q/P369S; E148Q/A744S. Сложность для клиницистов состоит в распознавании симптомов, характерных для данного заболевания. Выявление мутаций в гене MEFV в процессе генетического тестирования позволяет окончательно подтвердить диагноз.

3.2. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЕНОТИПОВ С ГЕНОТИПАМИ У ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ ГЕНА MEFV С ГОМОЗИГОТАМИ ПО ТЕМ ЖЕ МУТАЦИЯМ

Многолетние исследования генетических особенностей ССЛ позволили определить, что данное моногенное заболевание наследуется в большинстве случаев аутосомно-рецессивно (OMIM 249100), что предполагает наличие двух мутантных аллелей для клинической выраженности заболевания.

У некоторых больных симптомы ССЛ отмечаются среди гетерозиготных носителей некоторых более патогенных мутаций гена MEFV[110], [133]. Учитывая информацию о клиническом проявлении заболевания у гетерозиготных носителей в разных популяциях, в которых распространена ССЛ, в Международной системе OMIM подтверждается аутосомно-доминантный тип наследования в ряде случаев ССЛ (OMIM 134610).

В Израиле, согласно данным проф. Беркуна и соавторов, до 25% диагностированных случаев ССЛ с типичной клинической картиной заболевания, могут быть обусловлены одной единственной мутацией[133]. Клиническая проблема ССЛ у лиц-носителей одной мутации, является наиболее обсуждаемой и не до конца выясненной, что часто затрудняет постановку правильного диагноза и разработку стратегии лечения пациентов.

Среди обследованных нами пациентов типичная, но варьирующей тяжести течения клиническая симптоматика также отмечена у определенного числа пациентов с одной мутацией. Основываясь на результатах исследования огромного материала – клинических и генетических данных более 28000 пациентов, в данной работе приводится сравнение клинических параметров у лиц – носителей каждой из мутаций гена MEFV и гомозигот по той же мутации. В ходе исследования были сопоставлены клинические проявления ССЛ при наличии наиболее часто встречающихся мутаций в армянской популяции.

Началом для выполнения данного раздела работы послужило исследование, проведенное вЦМГ в 2010 г. по изучению 1299 пациентов-

носителей одной мутации гена MEFV с типичными клиническими симптомами ССЛ. Подтверждение результатов генетического тестирования у лиц с одной мутацией гена MEFV было получено при последующем секвенировании ДНК данных пациентов. Т.Ф. Саркисян, А.С.Айрапетян совместно с др. Moradian и соавт.[134], показали, что используемая в последние годы в ЦМГ молекулярно-генетическая технология определения мутаций гена MEFV является наиболее точной и аккуратной, поскольку после секвенирования данного гена лишь у 1-2 гетерозиготных пациентов была выявлена вторая мутация, тогда как в остальных случаях было подтверждено носительство одной мутации у лиц с типичной клинической картиной ССЛ[134].

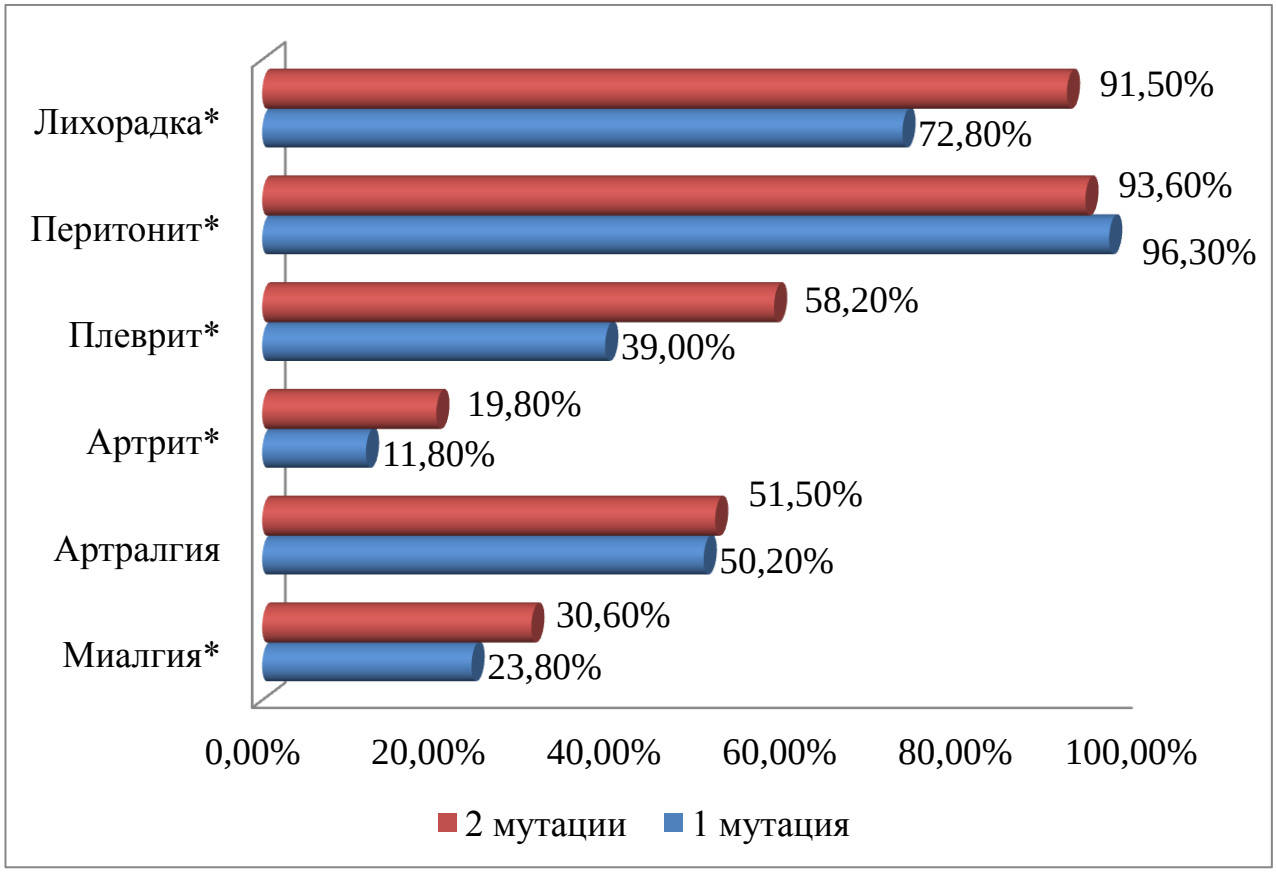
С целью изучения клинической выраженности ССЛ у пациентов-гетерозигот в настоящем разделе работы проведено исследование более обширной группы из 5878 лиц с одной мутацией гена MEFV, из которых у 3087 были отмечены различные клинические проявления ССЛ, соответственно клиническим критериям диагностики Tel-Hashomer.

Отсутствие семейного анамнеза и нетипичной клинической картины ССЛ, а также «классического рецессивного генотипа» может намного усложнить постановку своевременного диагноза и отсрочить лечение.

На графике приводятся общие фенотипические проявления заболевания у гетерозиготных и гомозиготных носителей, у которых самым частым симптомом является перитонит, затем следует лихорадка, плеврит, миалгия, реже- артрит (график 2).

График 2

Частота симптомов ССЛ у гетерозиготных и гомозиготных носителей разных мутаций гена MEFV



*p < 0.05

Нами проведен анализ экспрессии каждой мутации в отдельности с фенотипическим проявлением заболевания, с учетом выраженности отдельных симптомов в процентном соотношении при носительстве самых распространенных мутаций гена MEFV в гетерозиготном состоянии. С этой целью сравнивали процентные соотношения основных клинических проявлений заболевания: периодическая лихорадка, боли, связанные с асептическим перитонитом и плевритом, суставные боли, артриты, мышечные боли, кожные высыпания, протеинурия, АП.

Для сравнения ниже приводятся результаты исследования клинических проявлений у гетерозиготных носителей каждой отдельной мутации с той же

мутацией в гомозиготном состоянии. Учитывались только существенные клинические различия с зарегистрированными достоверными различиями между выраженностью отдельных клинических симптомов ССЛ.

Мутация M694V: самая распространенная мутация среди армян. Нами обобщены данные по корреляции фенотипических проявлений заболевания у гетерозигот и гомозигот. Результаты проводятся в таблице 11. Данная мутация предрасполагает к наиболее тяжелым проявлениям заболевания, включая развитие осложнений. Данные выводы ранее были сделаны на ограниченных выборках пациентов (см. публикации Т.Ф. Саркисян и А.С. Айрапетян) и подтверждаются в настоящем исследовании у нескольких тысяч больных ССЛ.

Среди гетерозиготных носителей мутации M694V отмечаются следующие симптомы: лихорадка, которая встречается чаще (97.9%) чем у гомозигот (81.6%); перитонит встречается с почти одинаковой частотой (77.3% и 77.8%); плеврит регистрируется реже, чем у гомозигот (36.4% и 46.7%); артралгия у гетерозигот по мутации M694V регистрировалось в 41.7%, а у гомозигот в 61.0% случаев; миалгия встречалась почти с одинаковой частотой (34.8% и 36.3%); кожная сыпь встречается в менее 20% случаев. Как показано в таблице 11, совершенно очевидно, что у гомозигот по мутации M694V клинические симптомы ССЛ в процентном соотношении превосходят по проявлению симптомы, отмеченные у гетерозиготных носителей данной мутации.

Возвратные перикардиты наблюдались у 13.8% пациентов с M694V-гомозиготным генотипом в сравнении с гетерозиготными носителями мутации M694V (χ^2=0.93; p=0.34). Что касается осложнений заболевания, при анализе полученных результатов по исследованию экспрессии мутации M694V следует отметить, что у всех пациентов-гомозигот по мутации M694V АП отмечен в 2.8% случаев (p<0.001). У 11 пациентов- M694V/- гетерозигот с клиническими симптомами ССЛ, отмечена терминальная стадия поражения почек в виде АП.

Данные результаты являются подтверждением полученных ранее на небольшой выборке пациентов[135], [136].

Таблица 11

Клинические проявления заболевания среди носителей мутации M694V гена MEFV в гетерозиготном и гомозиготном состояниях

Клинические проявления	Гетерозиготы по мутации M694V (1434)		Гомозиготы по мутации M694V (2043)			
	n	%	n	%	$\chi 2$	P
Лихорадка	1489	97.9	1649	81.6	2.28	0.001
Перитонит	1183	77.3	1563	77.8	0.09	0.756
Плеврит	553	36.4	943	46.7	37.7	0.001
Артрит	224	14.7	750	37.1	2.1	0.001
Артралгия	756	41.7	1233	61.0	45.0	0.001
Миалгия	377	34.8	733	36.3	53.1	0.001
Кожная сыпь	275	18.1	370	18.3	0.03	0.861
АП	3	0.2	56	2.8	35.0	0.001

Мутация V726A: согласно полученным нами результатам, мутация V726A отмечена у 22.3% пациентов с ССЛ.

В отличие от гетерозиготных носителей мутации M694V, у гетерозиготных носителей мутации V726A чаще всего развивается перитонит, а также лихорадка и плеврит. Гораздо реже - миалгия (16.8%, $p<0.001$) и артриты (10.6%).

В таблице 12 приводятся данные по процентному соотношению клинических симптомов у гетерозигот и гомозигот по мутации V726A. Согласно полученным результатам, наблюдаются статистически достоверные различия по наиболее типичным симптомам ССЛ, как лихорадка, перитонит, плеврит, артрит между гетерозиготными носителями и гомозиготами по мутации V726A.

Как видно из таблицы, у гомозигот лихорадка (79.6%, p=0.025) и перитонит (80.5%, p=0.023) встречаются достоверно чаще, чем у гетерозиготных носителей (63.5%, p<0.001 и 51.4%, p<0.001). Плеврит встречался чаще у гомозиготных носителей мутации V726A (32.7% и 25.5% соответсвенно, p<0.001). Миалгии проявляются в 16.8% и 23.2% случаев соответсвенно у гетерозигот и гомозигот (p<0.003), в то время как поражение суставов чаще встречается у гетерозиготных носителей чем у гомозигот (10.6% и 8.0%, p<0.001), но без статистически достоверного значения. Также статистически досотверных значений не регистрировалось при кожной сыпи, которая, как видно из таблицы, встречается почти с одинаковой частотой как у гетерозиготных так и у гомозиготных наосителей V726A мутации.

Таблица 12

Процентное соотношение клинических проявлений среди носителей мутации V726A гена MEFV в гетерозиготном и гомозиготном состоянии

Клинические проявления	Гетерозиготы по мутации V726A (695)		Гомозиготы по мутации V726A (401)			
	n	%	n	%	$\chi 2$	P
Лихорадка	357	51.4	319	79.6	1.0	0.001
Перитонит	441	63.5	323	80.5	41.2	0.001
Плеврит	177	25.5	161	40.1	32.7	0.001
Артрит	74	10.6	32	8.0	2.5	0.117
Артралгия	286	41.1	158	39.4	0.3	0.551
Миалгия	117	16.8	93	23.2	8.7	0.003
Кожная сыпь	103	14.9	57	14.2	0.1	0.735

Мутация M680I: считается третьей по распространенности среди армян. Клинические проявления, встречающиеся у лиц с одним и двумя мутантными аллелями приведены в процентном соотношении в таблице 13.

Как видно из таблицы, у гетерозиготных носителей мутации M680I наиболее частым симптомом является перитонит, который встречается с меньшей частотой по сравнению с гомозиготами (66.6% и 81.2, p<0.001), следом идет лихорадка, частота которой у гетерозигот и гомозигот составляет 57.8% и 82.3% соответсвенно (p<0.001). Плеврит среди гетерозигот проявляется с меньшей частотой по сравнению с гомозиготами (31.2% и 56.2%), а артриты у гомозигот встречаются в двое чаще чем у гетерозигот (21.1% и 10.2%, p<0.001). Миалгия у гетерозигот и гомозигот встречается в 17.5% и 25.0% случаев соответсвенно (p<0.001). Кожная сыпь встречается почти с одинаковой частотой у гетерозигот и гомозигот (14.8% и 13.5%, p=0.572), но без статистически достоверного значения (14.8%, p=0.696).

Таблица 13

Процентное соотношение клинических проявлений среди носителей мутации M680I гена MEFV в гетерозиготном и гомозиготном состоянии

Клинические проявления	Гетерозиготы по мутации M680I (363)		Гомозиготы по мутации M680I (356)			
	n	%	n	%	$\chi 2$	P
Лихорадка	209	57.8	293	82.3	62.2	0.001
Перитонит	242	66.6	289	81.2	24.1	0.001
Плеврит	113	31.2	200	56.2	59.7	0.001
Артрит	37	10.2	75	21.1	22.5	0.001
Артралгия	159	43.8	161	45.2	0.2	0.652
Миалгия	63	17.5	96	27.0	12.4	0.001
Кожная сыпь	54	14.8	48	13.5	0.3	0.572

Мутация E148Q: среди обследованных лиц 477 были гетерозиготными носителями и 15 гомозиготами по мутации E148Q. Исследована экспрессия данной мутации с целью уточнения ее влияния на выраженность клинической картины. В литературе приводятся противоречивые данные о клинической значимости данной мутации, поскольку в определенных популяциях она является полиморфизмом гена MEFV, не вызывая каких-либо клинических проявлений, то есть с большей частотой встречается среди асимптоматических носителей и не считается болезнь вызывающей мутацией[137]. Согласно некоторым авторам, E148Q является мутантным вариантом и вызывает клинические проявления вплоть до осложнений в виде АП при отсутсвии лечения[138]. Существует мнение, что разная выраженность клинической картины, ассоцированной с мутацией E148Q, наблюдается среди пациентов разных национальностей, когда в одних случаях наличие E148Q вызывает типичный для ССЛ симптомокомплекс, а в других случаях нет[139].

В связи с редкой встречаемостью мутаций E148Q, P369S, R761H, A744S, K695R, F479L в гетерозиготном состоянии, достоверность результатов рассчитана в сравнении с общей группой пациентов-гетерозигот.

Полученные нами результаты по процентному соотношению симптомов, встречающихся у пациентов при носительстве мутации E148Q в гетерозиготном и гомозиготном состоянии, приведены в таблице 12.

Как видно из таблицы 14, у гетерозиготных носителей мутации E148Q самым частыми регистрируемыми симптомами являются перитонит (63.1, $p<0.001$), лихорадка (52.2%, $p<0.001$), реже плеврит (24.1%, $p<0.001$) и миалгия (16.8%, $p<0.001$). Поражение суставов в виде острых артритов и хронических артралгий не регистрировалось.

Среди всей группы пациентов наличие всего 15 пациентов с ССЛ - гомозигот по мутации E148Q не позволило провести сравнительный статистический анализ достоверности между двумя группами.

Мутация P369S: считается редкой мутацией и отмечена у 91 пациента: как видно из таблицы 14, гетерозиготные носители мутации P369S имеют клиническую симптоматику, типичную для ССЛ. В частности, больше половины носителей одной мутации P369S отмечают наличие лихорадки и перитонита во время приступов (58.2%, p<0.001, 68.1%, p=0.050), а около четверти больных отмечают наличие плеврита (27.5%, p=0.003). У 38.5% пациентов-гетерозигот по мутации P369S отмечаются также артралгии. Острые артриты и миалгии встречаются сравнительно редко (7.7%, 11% соответственно).

Таблица 14

Ассоциации клинических симптомов ССЛ у гетерозиготных носителей мутаций E148Q и P369S гена MEFV

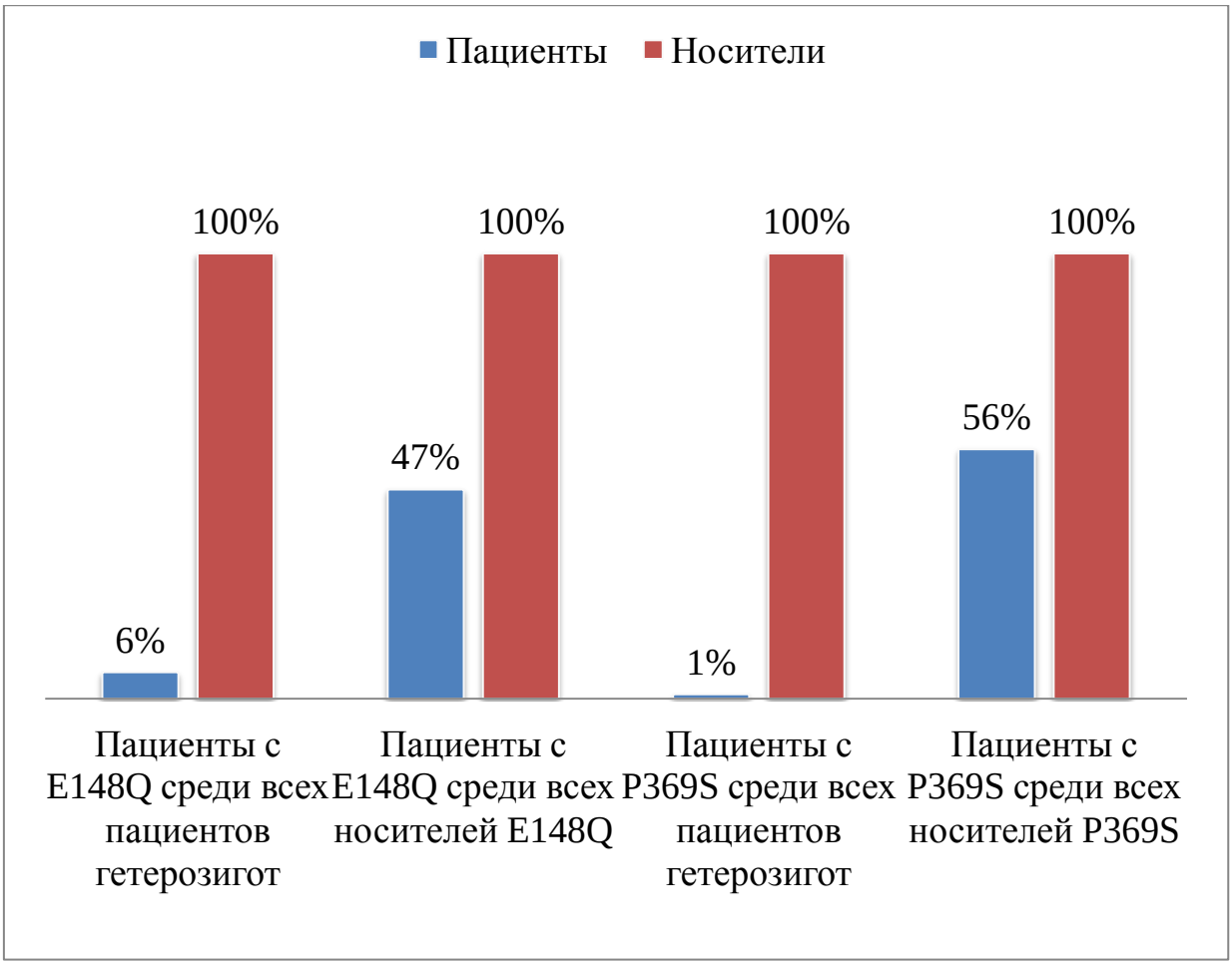
	E148Q (477)		P369S (91)	
Клинические проявления	%	p	%	p
Лихорадка	52.2	0.001	58.2	0.001
Перитонит	63.1	0.001	68.1	0.050
Плеврит	24.1	0.001	27.5	0.003
Артрит	11.4	0.001	7.7	0.022
Артралгия	43.6	0.197	38.5	0.158
Миалгия	16.8	0.001	11.0	0.003
Кожная сыпь	16.9	0.223	15.4	0.997

Полученные результаы свидетельствуют о патогенном эффекте мутаций E148Q (2 экзон) и P369S (3 экзон) у армянских больных, которые в иных популяцияхсчитаются полиморфизмами. На графике 3 показан риск развития ССЛ среди носителей мутаций E148Q и P369S в гетерозиготном состоянии. Риск развития ССЛ у носителей мутации E148Q составляет 6% среди всех

пациентов-гетерозигот и 47% среди всех носителей мутации E148Q. Для носителей мутации P369S риск развития ССЛ среди всех пациентов гетерозигот состовляет 1%, а среди всех носителей мутации P369S- 56%.

График 3

Риск развития ССЛ среди носителей мутации E148Q и P369S



Мутации A744S и K695R: среди пациентов с ССЛ данные мутации в гетерозиготном и гомозиготном состояниях встречаются достаточно редко[140], а именно: мутация K695R- у 27; мутация A744S- у 78 больных.

Результаты анализов корреляций клинических проявлений ССЛ и вышеупомянутых редких мутаций показаны в таблице 15.

Мутация R761H отмечена у 166 гетерозиготных носителей, из которых около половины отмечают выраженность лихорадки и перитонита во время приступов (49.4%, p<0.001; 57.2%, p<0.001), а у около четверти отмечается выраженность плеврита (23.5%, p<0.001). У 38.0% процентов пациентов гетерозигот по мутации R761H отмечается артралгия, а острые артриты регистрируются в 12.7% всех случаев. Миалгию отмечают 19.5% пациентов.

Мутация F479L - отмечена у 114 гетерозиготных носителей, из которых самыми частыми симптомами являются перитонит и лихорадка (62.3%, p<0.001; 56.1%, p<0.001); миалгии (15.8%, p=0.032); плеврит встречается у ¼ пациентов (24.6%, p=0.000).

Таблица 15

Ассоциации клинических симптомов ССЛ у гетерозиготных носителей мутаций R761H и F479L гена MEFV

	R761H (166)		F479L (114)	
Клинические проявления	%	p	%	p
Лихорадка	49.4	0.001	56.1	0.001
Перитонит	57.2	0.001	62.3	0.001
Плеврит	23.5	0.001	24.6	0.001
Артрит	12.7	0.171	12.3	0.215
Артралгия	38.0	0.040	38.6	0.119
Миалгия	19.3	0.124	15.8	0.032
Кожная сыпь	19.9	0.106	14.9	0.892

Одной из особенностей ССЛ является зависимость фенотипа от комплексных аллелей, ассоцированных в –cis-положении, например E148Q-I692del, E167D-F479L, E148Q-V726A, E148Q-P369S, что изучается в ЦМГ более 15 лет. В ЦМГ впервые были идентифицированы комплексные аллели,

несущие 3 мутации в cis-положении: E148Q-P369S-R408Q и было установлено, что варьирущая экспрессия в случаях комплексных аллелей с мутациями отличающимися по степени пенетрантности, способствует разной манифестации ССЛ. Легкое/атипичное течение ССЛ может быть связано с эффектом комлексных аллелей мутаций вне экзона 10. Нами и другими авторами показано, что замены последовательностей в положении cis идентифицированы в пределах потенциально активных элементов пирина: CpG-островки, домен B-box цинковых канальцев, B30.2 домен.

3.3. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ССЛ У ЛИЦ С ОДНОЙ И ДВУМЯ МУТАЦИЯМИ ГЕНА MEFV.

Изучены клинические особенности у пациентов, госпитализированных во время приступов СЛЛ в период с сентября 2014 года по сентябрь 2015.

Демографические данные больных находившихся на стационарном лечении приведены в таблице 16.

Таблица 16

Демографические параметры 166 пациентов ССЛ находившихся на стационарном лечении

N=166	**Параметры**		
		n	%
Пол	Женский	67	40.4
	Мужской	99	59.6
Возраст	18 – 25	67	40.3
	25 - 35	31	18.7
	35 - 45	39	23.5
	45 - 55	15	9.1
	55 - 65	13	7.8
	65 <	1	0.6
Генотипы	Гетерозиготы	55	33.1
	Комп. гетерозиготы	69	41.6
	Гомозиготы	42	25.3

Соотношение между пациентами женского и мужского пола среди госпитализированных больных 1:1.87 (34.9% и 65.1% соответственно). Возраст больных колебался от 18 до 77 лет. 79% составили пациенты возрастной

группы до 45 лет. У 27.1% отмечены семейные случаи.

Среди госпитализированных больных 33.1% были гетерозиготными носителями, 25.3% гомозиготами, 41.6% компаунд-гетерозиготами по мутациям гена MEFV. Самыми частыми генотипами были M694V/M694V (23.5%), M694V (16.9%), M694V/V726A (13.3%), V726A/M680I и M694V/M680I (7.8%) и V726A/- (7.2%), E148Q/- (4.2%), M680I (3.0%).

Таблица 17

Корреляция между генотипами и степенью тяжести ССЛ

Генотип	**Степеньтяжести***			**p**
	Легкая (%)	**Средняя (%)**	**Тяжелая (%)**	
Гетерозиготы	7.9	60.5	31.6	0.001
Гомозиготы	0.0	20.7	79.3	0.021
Комп. гетерозиготы	4.4	28.9	66.7	0.035

*Степень тяжести ССЛ по критериюTel-Hashomer.

Как уже отмечалось выше, степень тяжести ССЛ у вышеуказанных больных определяли методом Tel-Hashomer по критериям: возраст начала приступов, частота приступов в течение месяца, выраженность полисерозитов, острых и хронических артритов, эризипелоидной сыпи, наличие амилоидоза и эффективная доза колхицина.

Для определения статистической ассоциации между тяжестью клинического течения ССЛ и гетерозиготными, гомозиготными и компаунд-гетерозиготными генотипами проводился статистический анализ по критерию $\chi 2$ с помощью таблицы 2x2.

Как видно из таблицы 17, среди гетерозиготных носителей мутаций гена MEFV более часто встречались пациенты с клинической картиной средней тяжести (60.5%; $p<0.001$). Легкое течение болезни у той же группы больных отмечалось в 7.9% случаев ($p<0.001$), а тяжелая форма встречалась у 31.6%

пациентов (p<0.001). Тяжелое течение ССЛ чаще наблюдалось у пациентов с гомозиготным генотипом (79.3%; p=0.021), чем с компаунд-гетерозиготными генотипами (66.7%; p=0.035). Болезнь средней тяжести наоборот, чаще отмечалась у пациентов с компаунд-гетерозиготными (28.9%; p=0.035), чем с гомозиготными генотипами (20.7%; p=0.021). Среди пациентов с гомозиготными генотипами легкое течение болезни не отмечалось (0.0%; p=0.021). Среди пациентов с компаунд-гетерозиготными генотипами легкое течение СЛЛ регистрировалось в 4.4% (p=0.035) случаев.

Изучена зависимость эффекта дозы назначаемого колхицина от генотипа больных методом статистического анализа сравнения средних значений (t-тест). В результате были получены статистически достоверные ассоциации вышеуказанных параметров (таблица 18).

Таблица 18

Ассоциация генотипов ССЛ и эффективной дозы колхицина (N=166)

Генотип	**Эффективная доза колхицина**	**СО**	**p**
Гетерозиготы	1.2	±0.4	0.009
Гомозиготы	1.5	±0.3	0.027
Комп. гетерозигот	1.4	±0.3	0.025

Как видно из таблицы, в среднем эффективная доза колхицина для купирования приступов СЛЛ была ниже у гетерозиготных носителей (1.2±0.4; p=0.009) по сравнению с гомозиготами (1.5±0.3; p=0.027), и компаунд-гетерозиготами (1.4±0.3; p=0.025).

3.4 НАСЛЕДОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПОВ НАСЛЕДОВАНИЯ.

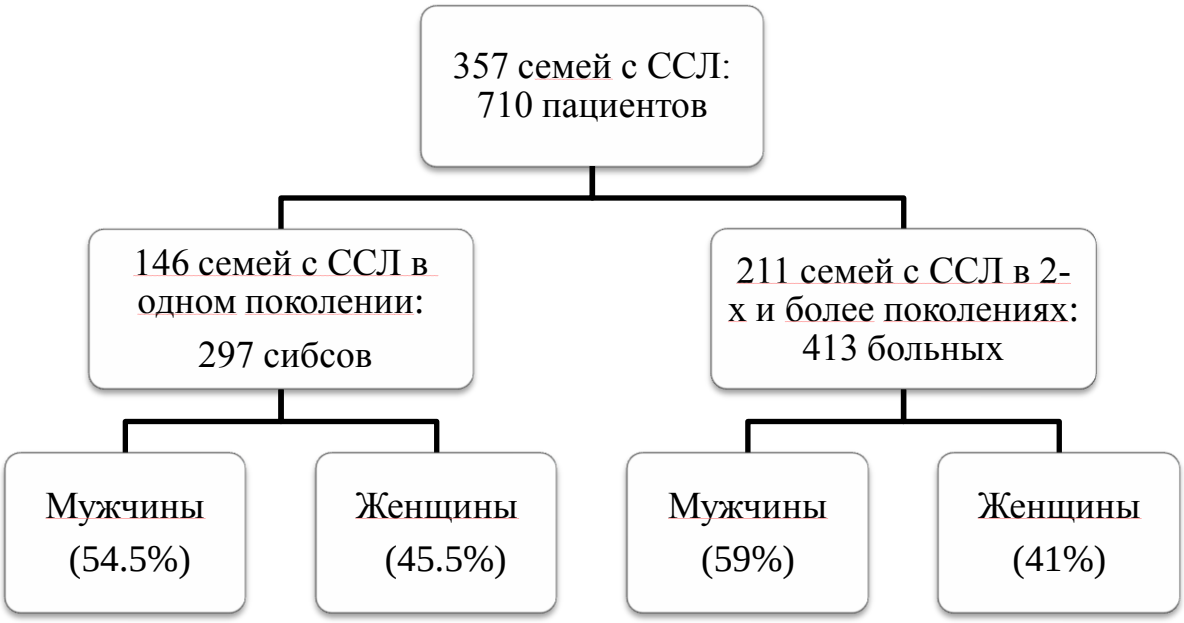
ССЛ относится к моногенным наследственным болезням, обусловленным мутациями в одном гене. Нами обследована когорта пациентов с клиническими признаками ССЛ, у большинства из которых тип наследования заболевания был аутосомно-рецессивным, а в некоторых случаях клинические симптомы ССЛ были отмечены у лиц с одной мутацией гена MEFV. Нами также были изучены семьи с наследованием заболевания в последующих поколениях, что свойственно генетическим заболеваниям с аутосомно-доминантным типом наследования. В литературе встречается описание семейных случев ССЛ с псевдо-доминантным или аутосомно-доминантным типом наследования ССЛ [141], [142].

Согласно нашим результатам, из 14879 пациентов, страдающих ССЛ в Армении, у 3087 больных было выявлено носительство одной из мутаций гена MEFV (20.7%) Для уточнения типа наследования нами обследованы 710 пациентов из 357 неродственных семей. В одном поколении заболевание наблюдалюсь у 297 сибсов из 146 семей. В 211 семьях отмечено 413 пациентов в двух и более поколениях, из которых в 40 семьях тип наследования заболевания соответствовал псевдо-доминантному (19.8%). Результаты исследования семейных случаев приводятся на графике 4.

Согласно полученным данным, частота наследования ССЛ среди армян по псевдо-доминантному типу в среднем составляет 19.8%, а по аутосомно-рецессивному – 80.2 %.

График 4

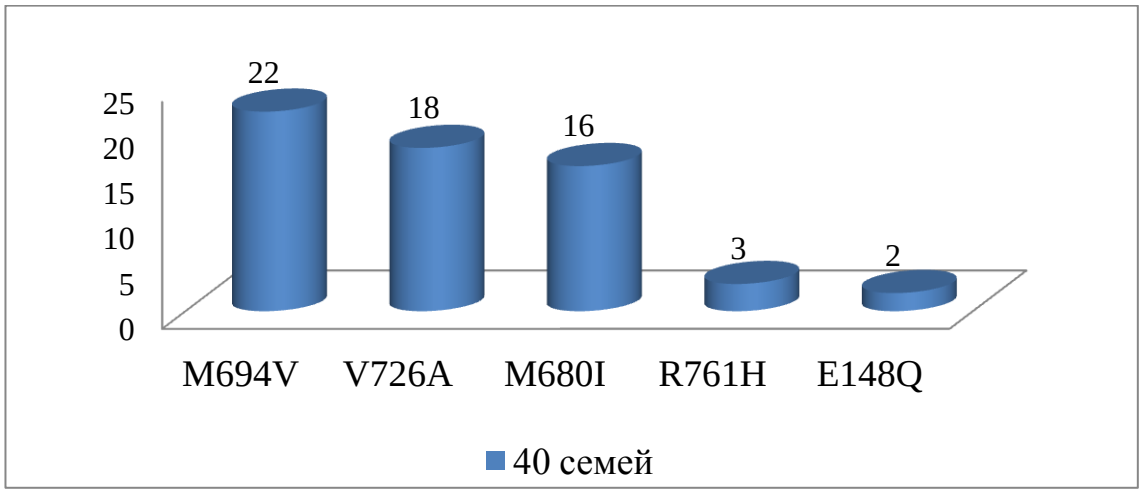
Результаты анализа семейных случаев ССЛ



Как видно из графика, среди лиц с клинической картиной ССЛ псевдо-доминантный тип наследования наблюдался у гетерозигот по мутациям M694V (36.0%), V726A (29.5%), M680I (26.2%) с наследованием заболевания в 2-х и более поколениях. Распределение мутаций, наследуемых по псевдо-доминантному типу, приведены на графике 5.

График 5

Частые мутации, наследуемые по псевдо-доминантному типу



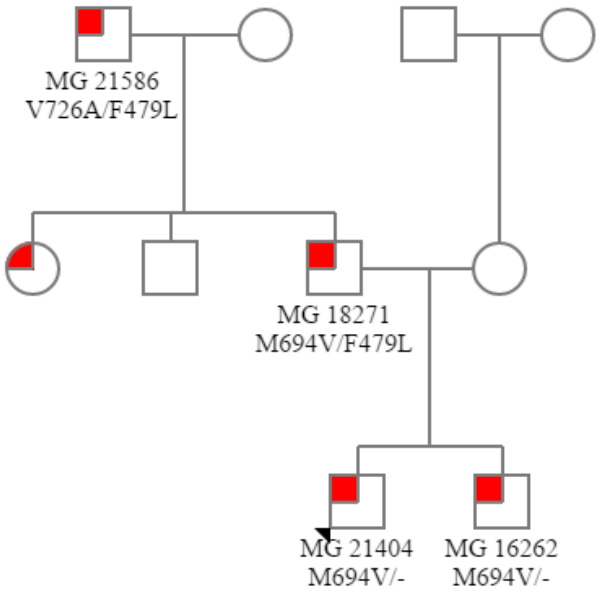
Примеры трех семей с разной экспрессией мутаций в 2-3 поколениях:

1. (рис.4): наследование ССЛ в 3-х поколениях. В первых двух поколениях пациенты имели по две мутации (классический аутосомно-рецессивный тип наследования): у деда: V726A/F479L; у отца - M694V/F479L. В третьем поколении оба его сына – гетерозиготные носители мутации M694V, которую унаследовали от отца, у которых наблюдалась схожая клиническая картина с периодическими приступами лихорадки (t=38-39°C), перитонита и артралгий.

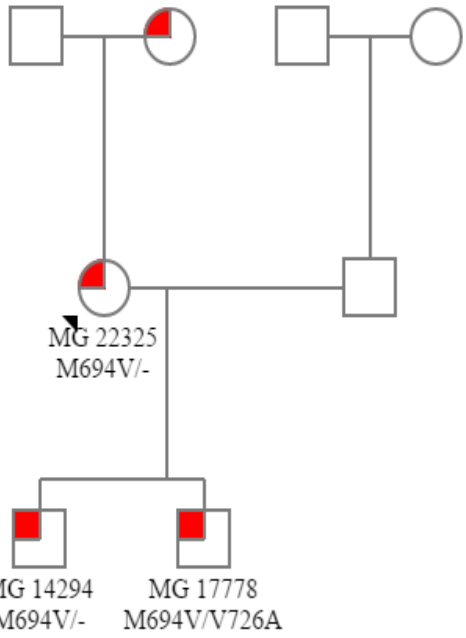
2. (рис. 4): наследование ССЛ в 3-х поколениях. В первых двух поколениях мать и один из двух сыновей были гетерозиготами по мутации M694V. У матери клиническая картина проявлялась перитонитом, плевритом и артралгиями с периодичностью меньше одного раза в неделю, а также в анамнезе отмечалось наличие артрита коленного сустава. У сына болезнь проявлялась приступами лихорадки (t=40°C) и артралгий периодичностью раз в месяц. У второго сына был обнаружен генотип M694V/V726A, где вторая мутация была унаследована от отца.

3. (рис.4): наследование ССЛ в 2-х последующих поколениях. Потомки двух братьев с компаунд-гетерозиготным генотипом M694V/M680I унаследовали мутации гена MEFV от родителей. У одного из них сын и дочь унаследовали тот же генотип от отца (редкий случай комплексных аллелей – cis), а сын второго брата имел гетерозиготный генотип по мутации M680I, но с выраженной клинической картиной ССЛ с периодически повторяющимися приступами лихорадки (t=38.2°C) и перитонитом с частотой раз в месяц.

1.



2.



3.

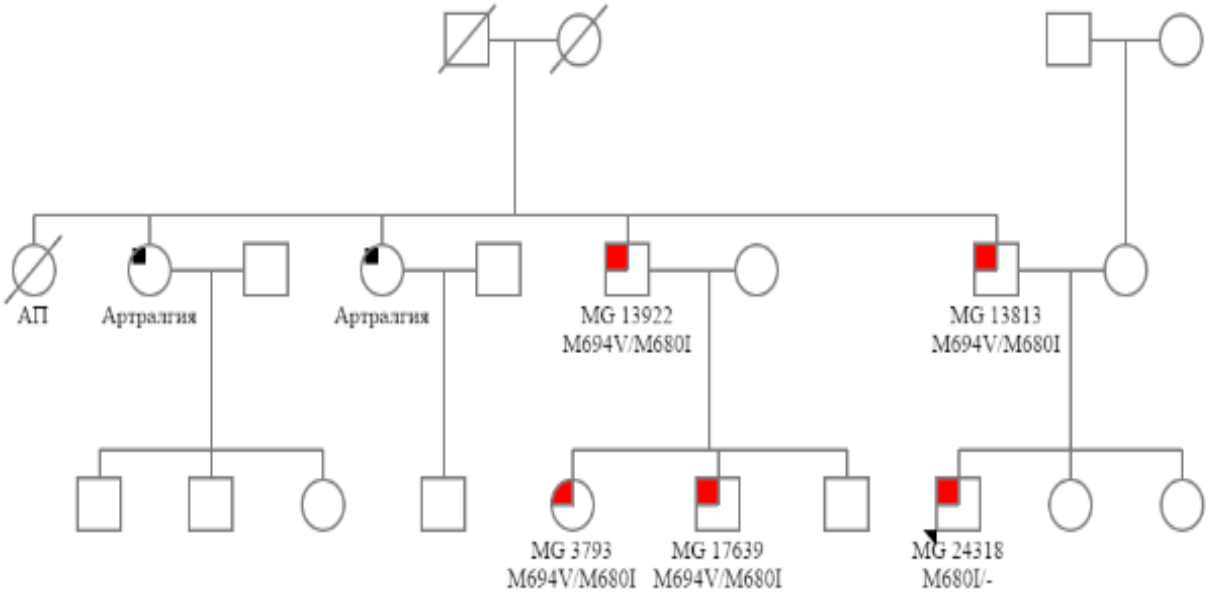


Рис. 4: Примеры родословных с псевдо-доминанттым типом наследования

3.5. РОЛЬ ГЕНА-МОДИФИКАТОРА SAA1 В РАЗВИТИИ ССЛ

Разная клиническая картина свойственна многим генетическим болезням, что предположительно связано с аллельной гетерогенностью, разными факторами окружающей среды или присутствием других генетических, модифицирующих факторов, влияющих на фенотип.

Как уже было отмечено, самым тяжелым осложнением ССЛ является вторичный амилоидоз (АА), поражающий в основом почки. Принято различать два фенотипа ССЛ [143]. При первом типе АП развивается после долгих лет типичных, периодических атак ССЛ (фенотип 1), а при втором типе амилоидоз считается первым или единственным проявлением болезни (фенотип 2). В настоящее время второй тип ССЛ подвергается сомнениям многими авторами, поскольку при детальном опросе больного удается выявить типичные для ССЛ приступы в анамнезе, которые в свое время были приписаны проявлениям других заболеваний[84].

Многочисленные работы были посвящены выявлению возможных ассоциаций между клиническими симптомами ССЛ и определенными мутациями гена MEFV. В результате данных исследований было показано, что мутация M694V, особенно в гомозиготном состоянии является предиктором более тяжелого течения болезни с ранней манифестацией болезни и с более частыми приступами[144]–[147].

Другие работы, посвященные исследованию предрасполагающих факторов к развитию АП у пациентов ССЛ, показывают вероятную связь развития АП с такими факторами, как мутации гена MEFV, пол, семейный анамнез, а также страна проживания пациентов [148]. Кроме того было показано, что кроме мутаций гена MEFV, другие генетические факторы также могут влиять на развитие амилоидоза[149]. В частности два гена-модификатора SAA1 (serum amyloid A type 1) и MICA предрасполагают к более тяжелому течению ССЛ и развитию осложнений в виде АП.

Аллели A4 и A9 гена MICA (ген ассоцированный с главным комплексом гистосовместимости класса I), ассоциированы с менее частыми приступами ССЛ и с ранним началом болезни, особенно у больных, гомозиготных по мутации M694V[150], [151].

Для определения возможных модифицирующих факторов, влияющих на клинические проявления ССЛ, в ЦМГ ведутся исследования влияния разных аллелей SAA1 кодирующих сывороточный амилоидный белок и гена APOE, кодирующего аполипопротеин E[150]'[149]. Результаты данного исследования показали, что достоверный модифицирующий эффект на возможное развитие АП у пациентов с ССЛ имел генотип α/α гена SAA1, при наличии которого риск развития АП возрастал в 7 раз. Взаимосвязи с повышением риска развития АП при ССЛ не было выявлено у лиц с полиморфизмами генов SAA2 и APOE.

Данный раздел настоящей работы был разработан на основании имеющихся следующих данных ЦМГ и литературных источников:

1. определение важной роли белков острой фазы воспаления в патогенезе ССЛ;
2. определение повышенного риска развития АП у лиц с определенными мутациями/полиморфизмами гена SAA1.

Нами проведено исследование следующих параметров:

1. различных полиморфизмов гена SAA1 (α/α, β/β, α/β) и их ассоциаций с клинической картиной ССЛ;
2. комбинированного эффекта полиморфизмов гена SAA1 и мутаций гена MEFV на возможное развитие аутовоспаления и АП у больных с ССЛ.
3. эффекта полиморфизмов гена SAA1 на другие клинические проявления ССЛ.

В данном разделе изучены клинические и лабораторные данные 1017 пациентов с клинической картиной ССЛ, не имеющих семейных связей, из всего обследованного в ЦМГ контингента за период 01.09.2015-01.11.2015.

У всех пациентов, включенных в данный раздел исследования, были

определены мутации генов MEFV и SAA1:

1. У 44-х был установлен диагноз АП, потвержденный после биопсии почек.
2. У 68-и пациентов была выявлена протеинурия (150 мг/24 час).
3. У 831 пациента с ССЛ без протеинурии и АП
4. У 34 пациентов с клинической картиной ССЛ без мутаций в гене MEFV.

Демографические и генетические характеристики пациентов приведены в таблице 19. Как видно из таблицы, соотношение пациентов мужского и женского полов составило 49.4% и 50.6%, средний возраст пациентов 18.5±14.5 лет. Колебание в широком диапазоне показателя стандартного отклонения возраста связано с тем, что возраст участников данного иследования колебался от 1 года до 67 лет.

По распределению генотипов SAA1 преобладал генотип α/β (47.4%), затем β/β (32.0%), α/α (16.9%), γ /β (2.9%) и α/γ (0.9%).

В данной группе мутации гена MEFV были обнаружены у 72.3%. Все генотипы приведены в таблице 19, из которой видно, что среди гомозиготных генотипов самым частым являлся генотип M694V/M694V (26.9%), а среди гетерозиготных M694V/- (9.1%).

Таблица 19

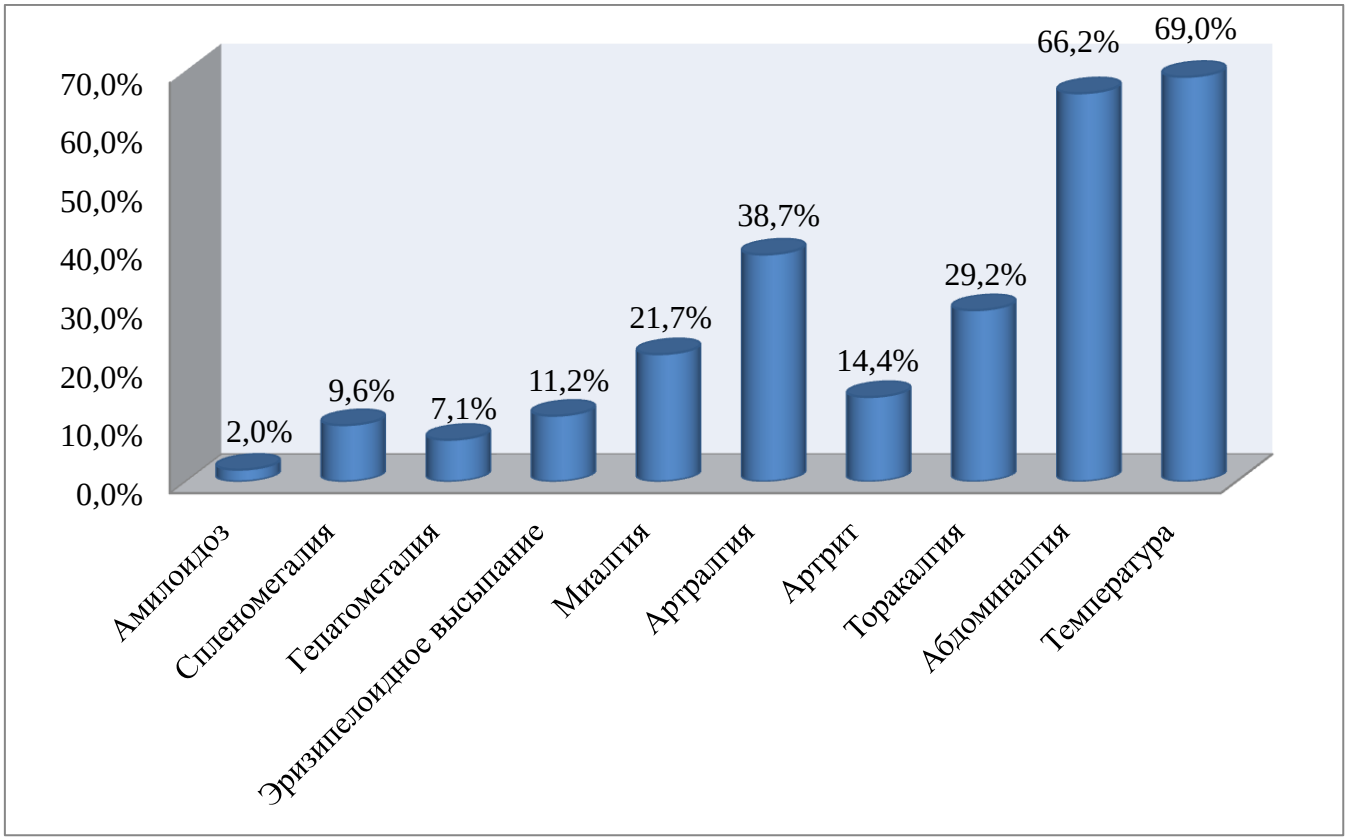
Характеристики 1017 пациентов включенных в исследование

N=1017		**n**	**%**
Пол	Женский	502	49.4
	Мужской	515	50.6
Генотипы SAA	α/β	482	47.4
	β/β	325	32.0
	α/α	172	16.9
	γ /β	29	2.9
	α/γ	9	0.9
Генотипы MEFV	M694V/M694V	239	26.9
	M694V/V726A	102	10.0
	M694V/-	81	9.1
	M694V/M680I	58	5.7
	V726A/-	56	5.5
	V726A/M680I	52	5.1
	V726A/V726A	20	2.0
	M694V/E148Q M694V/R761H	14	1.4
	M680I/M680I	13	1.3
	Без мутаций	241	23.7
	Средний возраст	мин.	макс.
Возраст	18.5±14.5	1	67

Фенотипические проявления заболевания приводятся на графике 6 в процентном соотношении.

График 6

Частота клинических симптомов у 1017 пациентов с мутациями генов MEFV и SAA



Как показано на графике, самыми частыми симптомами у пациентов данной группы являлись классические проявления ССЛ, а именно: лихорадка (69.0%), абдоминалгия (66.2%), артралгия (38.7%), торакалгия (29.2%) и миалгия (21.7%). У 14.4% пациентов отмечалось наличие острых артритов во время обследования. С меньшей частотой регистрировались эризипелоподобные высыпания (11.2%), спленомегалия (9.6%) и гепатомегалия (7.1%). АП, как осложнение ССЛ, отмечался у 2.0% пациентов.

Для выявления ассоциаций между разными клиническими проявлениями ССЛ инаиболее частых генотипов в данной выборке пациентов был применен анализ логической мультивариантной регрессии (таблица 20).

Таблица 20

Ассоциации между разными клиническими проявлениями ССЛ и мутациями гена MEFV

Генотипы FMF		**Клинические симптомы ССЛ**								
		Лихорадка	**Перитонит**	**Плеврит**	**Артралгия**	**Артрит**	**Миалгия**	**Эриз. сыпь**	**Протеинурия**	**АП**
M694V/ M694V	**OP**	2.629	1.805	2.703	1.784	4.417	2.115	2.959	3.629	2.601
	p	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.021	0.001	0.002
M694V/ -	**OP**	0.862	0.534	0.391	1.022	0.916	0.867	0.719	0.334	0.260
	p	0.547	0.007	0.003	0.928	0.796	0.622	0.749	0.113	0.154
M694V/ V726A	**OP**	2.343	2.919	2.339	1.155	0.047	1.397	0.556	1.213	2.433
	p	0.002	0.000	0.000	0.496	0.471	0.155	0.566	0.622	0.019
M694V/ M680I	**OP**	3.491	1.682	2.204	1.497	0.638	-	-	0.995	1.638
	p	0.002	0.093	0.003	0.128	0.303	-	-	0.997	0.358
M694V/ E148Q	**OP**	1.759	0.564	2.117	1.373	2.167	1.300	-	0.997	1.593
	p	0.378	0.266	0.142	0.542	0.180	0.655	-	0.998	0.654
M680I/ M680I	**OP**	0.692	0.663	1.502	2.530	1.777	0.294	-	1.165	1.862
	p	0.017	0.010	0.476	0.094	0.380	0.212	-	0.884	0.548
M694V/ R761H	**OP**	2.647	1.839	0.955	0.621	1.614	1.432	-	-	3.813
	p	0.187	0.345	0.939	0.419	0.463	0.545	-	-	0.065
V726A/ M680I	**OP**	1.484	2.166	1.527	0.817	0.109	0.952	1.162	0.544	0.420
	p	0.238	0.027	0.147	0.499	0.029	0.887	0.885	0.399	0.381
V726A/ V726A	**OP**	0.526	0.923	0.261	0.664	1.037	0.623	3.227	0.731	1.168
	p	0.151	0.866	0.053	0.403	0.954	0.450	0.241	0.760	0.881
V726A/-	**OP**	0.608	0.555	0.382	-	0.207	0.763	1.074	1.078	0.388
	p	0.074	0.033	0.013	-	0.030	0.449	0.945	0.888	0.336

Как видно из таблицы 20, у пациентов-гомозигот по мутации M694V наблюдаются статистически достоверные ассоциации со всеми указанными клиническими симптомами, протеинурией и АП. Остальные комбинации генотипов ассоциированы в основном с лихорадкой, перитонитом и плевритом. Кроме гомозигот по мутации M694V, в таблице также выделены компаунд-гетерозиготы с мутацией M694V, со статистически достоверными (ОР > 1.0; p< 0.05) ассоциациями с лихорадкой, перитонитом и плевритом.

Также были проанализированы возможные ассоциации полиморфизмов гена SAA1 и клинических симптомов ССЛ, результаты которых приведены в таблице 21.

Таблица 21

Ассоциации между разными клиническими проявлениями ССЛ и полиморфизмами гена SAA1

Клинические симптомы ССЛ	**Полиморфизмы гена SAA1**							
	α/α (n=172)		**α/β (n=482)**		**β/β (n=325)**		**β/γ (n=29)**	
	ОР	p	ОР	p	ОР	p	ОР	P
Лихорадка	1.155	0.438	0.990	0.940	0.933	0.634	1.150	0.740
Перитонит	1.071	0.701	0.935	0.612	1.180	0.253	0.523	0.081
Плеврит	0.911	0.616	0.856	0.260	1.216	0.178	1.478	0.312
Артралгия	0.884	0.477	1.014	0.913	1.123	0.398	0.817	0.610
Артрит	1.114	0.640	1.028	0.879	0.919	0.662	1.231	0.677
Миалгия	1.231	0.285	1.156	0.338	0.756	0.095	0.926	0.129
Эриз. сыпь	-	-	0.986	0.978	1.915	0.178	2.170	0.449
Протеинурия	1.428	0.241	0.868	0.575	0.948	0.844	1.035	0.963
АП	6.057	0.001	0.504	0.034	0.324	0.008	0.785	0.814

Как видно из таблицы, между полиморфизмами гена SAA1 с клиническими симптомами ССЛ статистически достоверных ассоциаций не выявлено. Что касается осложнений, у пациентов с гомозиготном генотипе α/α достоверно высокий риск развития АП (ОР = 6.057; p < 0.001), а с гомозиготном генотипе β/β отмечен протекторный эффект в отношении развития АП (ОР = 0.324; p = 0.008).

Отмечена более тяжелая симптоматика у 44 пациентов с АП в сравнении с 973 пациентами без АП (таблица 22).

Таблица 22

Частота атак ССЛ у пациентов с АП и без осложнений

N=973		**Частотаатак**		
АП, N=44		**<1раза в месяц**	**1-2 раза в месяц**	**>2 раза в месяц**
АП	Нет	20.9%	60.8%	18.3%
	Да	4.7%	74.4%	20.9%

Как показано в таблице 22, среди больных ССЛ с АП отмечена следующая частота приступов: у 20.9% - 1-2 в неделю; у 74.4% - 1-2 раза в месяц; у 4.7% - реже 1 в месяц. В группе пациентов без АП: у 18.3% - 1-2 раза в неделю; у 60.8% - 1-2 раза в месяц; у 20.9% - реже 1 в месяц (p<0.05).

ГЛАВА 4: ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность диагностики наследственных заболеваний и консультирования семей во многом зависят от своевременного клинического обследования пациентов, а также при возможности обязательного проведения молекулярного исследования с целью подтверждения диагноза и своевременного начала лечения. Процесс корректной организации обследования и подтверждающей диагностики пациентов невозможен без контроля качества молекулярно-генетического исследования (соответственно международным сертификатам качества), наличия тесной связи клиницистов с генетической службой. Внедрение в практику здравоохранения молекулярных технологий с применением ДНК-чипов, создания биобанков, компьютеризации и программного обеспечения открыло дорогу к созданию и использованию современных программ, позволяющих ускорить и сделать более объективным процесс диагностики, профилактики, прогноза и эффективности лечения множества заболеваний, а также во многих случаях предотвращения рождения больных детей.

ССЛ - одно из наиболее распространенных наследственных заболеваний у армян, которое в основном манифестирует в детском и юношеском возрасте, и пациенты особенно нуждаются в соблюдении сроков своевременной постановки диагноза, консультирования пробандов и членов их семей с объяснением прогноза, назначением соответствующего лечения во избежание развития тяжелых симптомов и осложнений.

В настоящее время генетическая диагностика НПЛ проводится в разных клинических центра по всему миру. В ряде стран основаны клинические референс-центры. В нашем регионе единственным профессиональным центром для диагностики НПЛ и в частности ССЛ является ЦМГ, где собраны клинико-генетические и лабораторные данные более чем 28.000 обследованных пациентов.

Разработанная нами компьютерная программа “New Builder” позволила автоматизировать и систематизировать регистрацию поступающих в ЦМГ пациентов, регистрировать все данные о каждом пациенте и родственниках, обследованных детях. Внедрение программы способствовало усовершенствованию анализа каждой из отдельных выборок больных с 1-й, 2-мя мутациями, без мутаций, по клиническим симптомам, по семьям, а также другим параметрам, включая наследование болезни в поколениях с использованием современных методов статистической обработки данных, для решения поставленных задач данной работы.

Созданная база данных огромного контингента больных, их родственников, в сравнении со здоровыми индивидами, позволила обобщить генетические особенности данной патологии у армян в сравнении с другими популяциями с часто встречающейся ССЛ, а также и разные аспекты данной патологии, начиная с патогенеза и заканчивая особенностями клинической и генетической гетерогенности.

ССЛ– заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования (OMIM 249100), что подразумевает наличие двух мутатных аллелей для клинического проявления болезни. Проявление симптомов заболевания у большинства пациентов с мутациями в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состояниях позволяет диагностировать заболевание со своевременным назначением лечения.

Тем не менее, литературные данные указывают на проявление типичных для ССЛ симптомов также у некоторых гетерозиготных носителей мутаций[112], [133], что подтверждается также данными ЦМГ. В связи с этим, в геномной базе даных OMIM, помимо аутосомно-рецессивного зарегистрирован также и аутосомно-доминантный тип наследования ССЛ.

Важным аспектом, изученным в настоящей работе, является информация о клинической характеристике и клинико-генетических особенностях гетерозиготных носителей одной из мутаций гена MEFV с типичными

симптомами ССЛ, поскольку имеющиеся недостаточные литературные данные отличаются некоторой противоречивостью.

В ЦМГ за 2014-2015 гг. заболевание было зарегистрировано в 357 семьях, среди которых наследование ССЛ в 2-х и более поколениях было выявлено в 211 семьях, из которых в 40 семьях отмечен псевдо-доминантный тип наследования, составший 18.9%, в то время как аутосомно-рецессивное наследование ССЛ отмечено у 81.1% пациентов.

В армянской популяции генетический анализ проводится с учетом 12 наиболее распространенных мутаций гена MEFV (E148Q, P369S, F479L, M680I (G/C), M680I (G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H), что обусловливает более чем 98% всех случаев ССЛ. При типичных клинических проявлениях без обнаружения вышеуказанных мутаций гена MEFV, ставится клинический диагноз ССЛ, если клинические проявление болезни соответствует критериям Tel-Hashomer, и назначается колхицинотерапия. Позитивный эффект колхицина на протяжении трех месяцев указывет на правильно поставленный диагноз. При подозрительных случаях рекомендуется проведение полного секвенированияе ДНК с целью обнаружения более редких мутаций гена MEFV. Решение данной проблемы для клиницистов относительно гетерозигот с клиническими проявлениями ССЛ предлагается группой Kastner, Aksentijevich и соавторов (Национальный институт здравоохранения США), согласно которому, при наличии одной мутации и клинической картины ССЛ следует назначать терапию колхицином без надобности полного секвенирования гена MEFV[152].

Основываясь на имеющихся данных, для более детального клинического и генетического изучения пациентов-гетерозигот нами была разработана и использована программы “New Builder”. Новая программа явилась необходимостью, поскольку ранее генотип-фенотипические корреляции и особенности ССЛ исследовались с применением стандартных статистических анализов корреляции гомозиготных или компаунд-гетерозиготных генотипов с

клиническими проявлениями, включая осложнения.

Изучение клинико-генетических характеристик лиц-носителей одной мутации гена MEFV помогло расширить наши представления и понять особенности клинического течения, а самое главное - ведения данной группы больных с правильным и своевременным назначением лечения.

Литературные данные подтверждают случаи доминантного наследования ССЛ, но с меньшей частотой. В работе PrasM. и соавторов среди 77 семей с ССЛ наследование по аутосомно-доминантному типу было отмечено в двух семьях, имеющих еврейские и иракско-грузинские корни[153].

Как показали результаты анализа пациентов, проходивших клиническое обследование и генетическое тестирование в ЦМГ, а также находившихся на стационарном лечении в терапевтических отделениях, среди пациентов с гетерозиготным генотипом выраженность клинических симптомов и следовательно воспалительного процесса варьирует в широком диапазоне. В данной работе нами проведен анализ экспрессии каждой отдельной мутации у гетерозигот в сравнении с гомозиготами по той же мутации, который позволил выявить их ассоциации с различными проявлениями ССЛ. Показано, что если некоторые мутации в гетерозиготном состоянии, которые мы считаем “патогенными”, определяют более выраженную клиническую картину, то при наличии остальных многих мутации болезнь протекает в более легких формах. Нами также было статистически доказано, что мутации E148Q и P369S в армянской популяции являются патогенными по сравнению с другими популяциями, где они считаются полиморфизмами и не являются патогенными мутациями. Полученные нами результаты коррелируют с результатами израильских исследователей[138].

Позднее начало болезни статистически достоверно ассоциируется с менее агрессивным течением, что коррелирует с литературными данными[78]. Среди пациентов, у которых болезнь манифестировала в возрасте старше 20 лет, отмечались менее выраженные проявления артритов и миалгий, что

соответствует результатам исследований иранской популяции[154].

В ЦМГ впервые были идентифицированы комплексные аллели, несущие 3 мутации в цис-положении: E148Q-P369S-R408Q и рдругие. Установлено, что существование комплексных аллелей с мутациями, отличающимися по степени пенетрантности, способствует разной манифестации ПБ. Легкое/атипичное течение ПБ может быть связано с эффектом комплексных аллелей мутаций вне экзона 10. В ЦМГ и другими авторами показано, что замены последовательностей в положении цис идентифицированы в пределах потенциально активных элементов пирина: CpG-островки, домен B-box цинковых пальцев, B30.2 домен.

У пациентов, находящихся на стационарном лечении, в результате сравнительного анализа клинических проявлений, лабораторных данных и ответов к лечению колхицином с одной и двумя мутациями гена MEFV, также отмечено менее тяжелое течение у гетерозигот с превалированием форм легкой и средней тяжести, в сравнении с больными с двумя мутациями с тяжелым течением болезни[155]. Данный вывод полностью коррелирует с результатами, полученными при совместных исследованиях Т.Ф. Саркисян и А.С. Айрапетян с французскими коллегами (Amselem S., Jeru I. et al.), согласно которым, больным гетерозиготам свойственно ССЛ-подобное течение болезни с менее выраженной клинической картиной[156].

Использование компьютерной программы “New Builder” позволило определить средние эффективные дозы колхицина для купирование приступов ССЛ и дальнейшего предписания препарата для достижения ремиссии.

Определенное воздействие на клиническое течение ССЛ оказывает ген-модификатор SAA. В ЦМГ было показано, что факторами риска развития АП, кроме мутаций гена MEFV, является определенный гомозиготный генотип SAA1 и мужской пол[157]: у кавказоидов α-гомозиготный генотип независимо от других предикторов повышает риск развития АП[74]. В литературе встречаются единичные публикации об ассоциации других генотипов SAA1 и

клинической картиной ССЛ.

Результаты наших исследований доказали достоверность ассоциации гомозиготного генотипа α/α с развитием АП, а также протекторного/предотвращающего эффекта аллелей β гена SAA1, что коррелирует с данными, полученными при исследовании других популяций[150]. Других ассоциаций с клиническими проявлениями ССЛ и полиморфизмами гена SAA1 выявлено не было.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что около 20.0% больных ССЛ являются гетерозиготными носителями мутаций гена MEFV с более легкими и средне-тяжелыми фенотипами без осложнений. Тяжелые клинические формы ССЛ ассоциируются с гомозиготными и компаунд-гетерозиготными генотипами.
2. Выявлены достоверные различия в клиническом течении заболевания между гетерозиготными и гомозиготными генотипами по каждой мутации. Мутации P369S (3 экзон) и E148Q (2 экзон), считающиеся в иных популяциях полиморфизмами, являются патогенными у армянских больных ССЛ.
3. Показана эффективность назначения колхицина пациентам с гетерозиготным генотипом на основании клинических симптомов. Рекомендуется средняя оптимальная доза колхицина для купирования атак у больных ССЛ с одной мутацией.
4. Ген SAA1 обладает модифицирующим эффектом на течение ССЛ, увеличивая риск развития амилоидоза. Среди 1017 пациентов с мутациями гена-модификатора SAA1 подтвержден α-гомозиготный генотип, определяющий фенотип амилоида А. β-гомозиготный генотип обладал протекторным эффектом в отношении развития АП.
5. Разработана компьютерная программа “New Builder”, на основании которой создан первый регистр аутовоспалительных заболеваний в Армении, показана достоверная корреляция клинических проявлений с разными генотипами гена MEFV, подтверждены аутосомно-рецессивный (81.1%) и псевдо-доминантный (18.9%) типы наследования ССЛ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты проведенного клинического и молекулярно-генетического исследования должны быть реализованы в клинической практике. Показана достоверность и специфичность генетической диагностики аутовоспалительного заболевания. Изучение патогенеза ССЛ на молекулярном уровне раскрывает многие вопросы, связанные с клинической гетерогенностью заболевания, хроническим воспалением и разной экспрессией мутантных генов, что имеет важнейшее значение для практических врачей.
2. Высокую прогностическую значимость имеют генотипы с разным спектром мутаций, способствующие развитию легких или тяжелых фенотипов с осложнениями. У армян патогенным эффектом обладают “легкие” мутации E148Q и P369S.
3. Важным для клиницистов, сталкивающихся с трудностями, связанными со случаями с типичной клиникой и анамнезом при гетерозиготном носительстве мутаций, является вывод о том, что около 20% больных ССЛ являются гетерозиготами с легкими и средне-тяжелыми фенотипами, требующих назначения средних доз колхицина.
4. Помимо основного гена MEFV, мутации которого имеют важнейшее значение в развитии клинических симптомов ССЛ, на проявление хронических воспалительных процессов влияют модифицирующие полиморфные аллели SAA1.
5. Генетическое консультирование родителей с мутациями гена MEFV позволяет информировать их о риске передачи заболевания потомству. При своевременной постановке диагноза и назначении лечения прогноз ССЛ благоприятен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] J. Galon, I. Aksentijevich, M. F. McDermott, J. J. O'Shea, andD. L. Kastner, "TNFRSF1A mutations and autoinflammatory syndromes.," *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 12, no. 4, pp. 479–86, Aug. 2000.

[2] Y. Shinar, L. Obici, I. Aksentijevich, B. Bennetts, F. Austrup, I. Ceccherini, J. M. Costa, A. DeLeener, M. Gattorno, U. Kania, I. Kone-Paut, S. Lezer, A. Livneh, I. Moix, R. Nishikomori, S. Ozen, L. Phylactou, L. Risom, D. Rowczenio, T. Sarkisian, M. E. vanGijn, M. Witsch-Baumgartner, M. Morris, H. M. Hoffman, andI. Touitou, "Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers.," *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 71, no. 10, pp. 1599–605, Oct. 2012.

[3] D. L. Kastner, "Hereditary periodic fever syndromes.," *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, vol. 2005, no. 1, pp. 74–81, Jan. 2005.

[4] G. A. M. Sanchez, A. A. de Jesus, and R. Goldbach-Mansky, "Monogenic autoinflammatory diseases: disorders of amplified danger sensing and cytokine dysregulation.," *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, vol. 39, no. 4, pp. 701–34, Nov. 2013.

[5] S. W. Canna, A. A. de Jesus, S. Gouni, S. R. Brooks, B. Marrero, Y. Liu, M. A. DiMattia, K. J. M. Zaal, G. A. M. Sanchez, H. Kim, D. Chapelle, N. Plass, Y. Huang, A. V Villarino, A. Biancotto, T. A. Fleisher, J. A. Duncan, J. J. O'Shea, S. Benseler, A. Grom, Z. Deng, R. M. Laxer, and R. Goldbach-Mansky, "An activating NLRC4 inflammasome mutation causes autoinflammation with recurrent macrophage activation syndrome.," *Nat. Genet.*, vol. 46, no. 10, pp. 1140–6, Oct. 2014.

[6] A. Livneh and I. Ben-Zvi, "Pearls from the Third Israeli Conference on FMF, other autoinflammatory disorders and AA amyloidosis.," *Isr. Med. Assoc. J.*, vol. 16, no. 5, pp. 269–70, May 2014.

[7] A. Vitale, D. Rigante, O. M. Lucherini, F. Caso, I. Muscari, F. Magnotti, M. G. Brizi, S. Guerrini, M. Patti, L. Punzi, M. Galeazzi, and L. Cantarini, "Biological

treatments: new weapons in the management of monogenic autoinflammatory disorders.," *Mediators Inflamm.*, vol. 2013, p. 939847, Jan. 2013.

[8] I. Touitou, C. Galeotti, L. Rossi-Semerano, V. Hentgen, M. Piram, and I. Koné-Paut, "The expanding spectrum of rare monogenic autoinflammatory diseases.," *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 8, p. 162, Jan. 2013.

[9] R. M. Shawky and N. E. A. Gaboon, "Hereditary periodic fever syndromes," *Egypt. J. Med. Hum. Genet.*, vol. 12, no. 2, pp. 117–125, Nov. 2011.

[10] I. Touitou, "The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations," pp. 473–483, 2001.

[11] T. Sarkisian, H. Hayrapetyan, A. Beglaryan, G. Shahsuvaryan, and A. Yeghiazaryan, "Molecular Diagnosis of Familial Mediterranean fever in Armenians," *NEW Armen. Med. J. Vol. 1 (2007), N.1, pp.33-40*, vol. 1, pp. 33–40, 2007.

[12] M. Daniels, T. Shohat, A. Brenner-Ullman, and M. Shohat, "Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non-Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel.," *Am. J. Med. Genet.*, vol. 55, no. 3, pp. 311–4, Jan. 1995.

[13] E. Ben-Chetrit and I. Touitou, "Familial mediterranean Fever in the world.," *Arthritis Rheum.*, vol. 61, no. 10, pp. 1447–53, Oct. 2009.

[14] S. SIEGAL, "BENIGN PAROXYSMAL PERITONITIS," *Ann. Intern. Med.*, vol. 23, no. 1, p. 1, Jul. 1945.

[15] H. A. REIMANN, J. MOADIE, S. SEMERDJIAN, and P. F. SAHYOUN, "Periodic peritonitis; heredity and pathology: report of seventy-two cases.," *J. Am. Med. Assoc.*, vol. 154, no. 15, pp. 1254–9, Apr. 1954.

[16] H. MAMOU and R. CATTAN, "[The periodic disease].," *La Sem. des hoˆpitaux organe fondé par l'Association d'enseignement médical des hoˆpitaux Paris*, vol. 28, no. 25, pp. 1062–70, Apr. 1952.

[17] M. Tunca and E. Ben-Chetrit, "Familial Mediterranean fever in 2003. Pathogenesis and management.," *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 21, no. 4 Suppl

30, pp. S49-52, Jan. .

[18] The International FMF Consortium, “Ancient Missense Mutations in a New Member of the RoRet Gene Family Are Likely to Cause Familial Mediterranean Fever,” *Cell*, vol. 90, no. 4, pp. 797–807, Aug. 1997.

[19] “ISSAID - The International Society of Systemic Auto-Inflammatory Diseases.” [Online]. Available: http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/index.php. [Accessed: 22-Jul-2015].

[20] The International FMF Consortium, “Ancient Missense Mutations in a New Member of the RoRet Gene Family Are Likely to Cause Familial Mediterranean Fever,” *Cell*, vol. 90, no. 4, pp. 797–807, Aug. 1997.

[21] “A candidate gene for familial Mediterranean fever.,” *Nat. Genet.*, vol. 17, no. 1, pp. 25–31, Sep. 1997.

[22] S. Grandemange, I. Aksentijevich, I. Jeru, A. Gul, and I. Touitou, “The regulation of MEFV expression and its role in health and familial Mediterranean fever.,” *Genes Immun.*, vol. 12, no. 7, pp. 497–503, Oct. 2011.

[23] H. Mattit, M. Joma, S. Al-Cheikh, M. El-Khateeb, M. Medlej-Hashim, N. Salem, V. Delague, and A. Mégarbané, “Familial Mediterranean fever in the Syrian population: gene mutation frequencies, carrier rates and phenotype-genotype correlation.,” *Eur. J. Med. Genet.*, vol. 49, no. 6, pp. 481–6, Jan. .

[24] H. A. Majeed, H. El-Shanti, M. S. Al-Khateeb, and Z. A. Rabaiha, “Genotype/phenotype correlations in Arab patients with familial Mediterranean fever.,” *Semin. Arthritis Rheum.*, vol. 31, no. 6, pp. 371–6, Jun. 2002.

[25] H. K. Armenian and K. H. Sha’ar, “Epidemiologic observations in familial paroxysmal polyserositis,” *Epidemiol. Rev.*, vol. 8, no. 4, pp. 106–116, 1986.

[26] N. Stoffman, N. Magal, T. Shohat, R. Lotan, S. Koman, A. Oron, Y. Danon, and G. J. Halpern, “Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever in various Jewish ethnic groups,” *Eur. J. Hum. Genet. 8, 307–310*, no. June 1999, pp. 307–310, 2000.

[27] D. Kishida, A. Nakamura, M. Yazaki, A. Tsuchiya-Suzuki, M. Matsuda, and S.-

I. Ikeda, “Genotype-phenotype correlation in Japanese patients with familial Mediterranean fever: differences in genotype and clinical features between Japanese and Mediterranean populations.,” *Arthritis Res. Ther.*, vol. 16, no. 5, p. 439, Sep. 2014.

[28] K. Pagava, B. Rauscher, I. A. Korinteli, D. Shonvadze, G. Kriegshauser, and C. Oberkanins, “Familial Mediterranean fever in Georgia.,” *Georgian Med. News*, no. 230, pp. 79–82, May 2014.

[29] M. Shohat, A. Livneh, D. Zemer, M. Pras, and E. Sohar, “Twin studies in familial Mediterranean fever.,” *Am. J. Med. Genet.*, vol. 44, no. 2, pp. 179–82, Sep. 1992.

[30] A. Mimouni, N. Magal, N. Stoffman, T. Shohat, A. Minasian, M. Krasnov, G. J. Halpern, J. I. Rotter, N. Fischel-Ghodsian, Y. L. Danon, and M. Shohat, “Familial Mediterranean Fever: Effects of Genotype and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis,” *Pediatrics*, vol. 105, no. 5, pp. e70–e70, May 2000.

[31] H. K. Armenian, “Genetic and environmental factors in the aetiology of familial paroxysmal polyserositis. An analysis of 150 cases from Lebanon.,” *Trop. Geogr. Med.*, vol. 34, no. 2, pp. 183–7, Jun. 1982.

[32] G. Yenokyan and H. K. Armenian, “Triggers for attacks in familial Mediterranean fever: application of the case-crossover design.,” *Am. J. Epidemiol.*, vol. 175, no. 10, pp. 1054–61, May 2012.

[33] В. А. Аствацатрян, С. Г. Саргсян, Г. Г. Амарян, Т. Ф. Саркисян, С. С. Арустамян, А. Г. Саргсян, П. А. Казарян, Р. А. Петросян, А. Г. Закарян, Л. А. Кцоян, and И. Т. Арзуманян, “Современные вопросы эпидемиологии и этиопатогенеза периодической болезни у детей,” 2000.

[34] A. Giannelou, Q. Zhou, and D. L. Kastner, “When less is more: primary immunodeficiency with an autoinflammatory kick.,” *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 14, no. 6, pp. 491–500, Dec. 2014.

[35] D. Rigante, G. Lopalco, A. Vitale, O. M. Lucherini, F. Caso, C. De Clemente,

F. Molinaro, M. Messina, L. Costa, M. Atteno, F. Laghi-Pasini, G. Lapadula, M. Galeazzi, F. Iannone, and L. Cantarini, “Untangling the web of systemic autoinflammatory diseases.,” *Mediators Inflamm.*, vol. 2014, p. 948154, Jan. 2014.

[36] A. Kucuk, I. A. Gezer, R. Ucar, and A. Y. Karahan, “Familial Mediterranean Fever,” *Acta Medica (Hradec Kral. 2014;57(3)97-104*, vol. 57, no. 3, pp. 97–104, 2014.

[37] R. A. G. Russo and P. A. Brogan, “Monogenic autoinflammatory diseases.,” *Rheumatology (Oxford).*, vol. 53, no. 11, pp. 1927–39, Nov. 2014.

[38] L. Cantarini, A. Vitale, O. M. Lucherini, C. De Clemente, F. Caso, L. Costa, G. Emmi, E. Silvestri, F. Magnotti, M. C. Maggio, E. Prinzi, G. Lopalco, B. Frediani, R. Cimaz, M. Galeazzi, and D. Rigante, “The labyrinth of autoinflammatory disorders: a snapshot on the activity of a third-level center in Italy.,” *Clin. Rheumatol.*, Jun. 2014.

[39] D. L. Kastner, “Hereditary periodic fever syndromes.,” *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, vol. 2005, no. 1, pp. 74–81, Jan. 2005.

[40] J. J. Chae, G. Wood, S. L. Masters, K. Richard, G. Park, B. J. Smith, and D. L. Kastner, “The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 103, no. 26, pp. 9982–9987, Jun. 2006.

[41] E. Mansfield, J. J. Chae, H. D. Komarow, T. M. Brotz, D. M. Frucht, I. Aksentijevich, and D. L. Kastner, “The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments.,” *Blood*, vol. 98, no. 3, pp. 851–9, Aug. 2001.

[42] “The hereditary periodic fever syndromes: molecular analysis of a new family of inflammatory diseases.” [Online]. Available: http://hmg.oxfordjournals.org/content/7/10/1581.full.pdf. [Accessed: 23-Aug-2014].

[43] A. Diaz, C. Hu, D. L. Kastner, P. Schaner, A. M. Reginato, N. Richards, and D.

L. Gumucio, “Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: a prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial Mediterranean fever.,” *Arthritis Rheum.*, vol. 50, no. 11, pp. 3679–89, Nov. 2004.

[44] Y. Matzner, S. Abedat, E. Shapiro, S. Eisenberg, A. Bar-Gil-Shitrit, P. Stepensky, S. Calco, Y. Azar, and S. Urieli-Shoval, “Expression of the familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures.,” *Blood*, vol. 96, no. 2, pp. 727–31, Jul. 2000.

[45] F. Martinon, K. Hofmann, and J. Tschopp, “The pyrin domain: a possible member of the death domain-fold family implicated in apoptosis and inflammation.,” *Curr. Biol.*, vol. 11, no. 4, pp. R118-20, Mar. 2001.

[46] K. Pawlowski, F. Pio, Z.-L. Chu, J. C. Reed, and A. Godzik, “PAAD – a new protein domain associated with apoptosis, cancer and autoimmune diseases,” *Trends Biochem. Sci.*, vol. 26, no. 2, pp. 85–87, Feb. 2001.

[47] E. Staub, E. Dahl, and A. Rosenthal, “The DAPIN family: a novel domain links apoptotic and interferon response proteins,” *Trends Biochem. Sci.*, vol. 26, no. 2, pp. 83–85, Feb. 2001.

[48] J. Bertin and P. S. DiStefano, “The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins.,” *Cell Death Differ.*, vol. 7, no. 12, pp. 1273–4, Dec. 2000.

[49] A. A. D’Cruz, J. J. Babon, R. S. Norton, N. A. Nicola, and S. E. Nicholson, “Structure and function of the SPRY/B30.2 domain proteins involved in innate immunity.,” *Protein Sci.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2013.

[50] C. Vernet, J. Boretto, M.-G. Matti, M. Takahashi, L. W. Jack, I. Mather, S. Rouquier, and P. Pontarotti, “Evolutionary study of multigenic families mapping close to the human MHC class I region,” *J. Mol. Evol.*, vol. 37, no. 6, pp. 600–12, Dec. 1993.

[51] J. Henry, I. H. Mather, M. F. McDermott, and P. Pontarotti, “B30.2-like domain

proteins: update and new insights into a rapidly expanding family of proteins.," *Mol. Biol. Evol.*, vol. 15, no. 12, pp. 1696–1705, 1998.

[52] J. Masumoto, S. Taniguchi, K. Ayukawa, H. Sarvotham, T. Kishino, N. Niikawa, E. Hidaka, T. Katsuyama, T. Higuchi, and J. Sagara, "ASC, a Novel 22-kDa Protein, Aggregates during Apoptosis of Human Promyelocytic Leukemia HL-60 Cells," *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 48, pp. 33835–33838, Nov. 1999.

[53] N. Richards, P. Schaner, A. Diaz, J. Stuckey, E. Shelden, A. Wadhwa, and D. L. Gumucio, "Interaction between pyrin and the apoptotic speck protein (ASC) modulates ASC-induced apoptosis.," *J. Biol. Chem.*, vol. 276, no. 42, pp. 39320–9, Oct. 2001.

[54] F. Martinon, K. Burns, and J. Tschopp, "The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta.," *Mol. Cell*, vol. 10, no. 2, pp. 417–26, Aug. 2002.

[55] S. M. Srinivasula, J.-L. Poyet, M. Razmara, P. Datta, Z. Zhang, and E. S. Alnemri, "The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1.," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 24, pp. 21119–22, Jun. 2002.

[56] L. Wang, G. A. Manji, J. M. Grenier, A. Al-Garawi, S. Merriam, J. M. Lora, B. J. Geddes, M. Briskin, P. S. Di Stefano, and J. Bertin, "PYPAF7, a novel PYRIN-containing Apaf1-like protein that regulates activation of NF-kappa B and caspase-1-dependent cytokine processing.," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 33, pp. 29874–80, Aug. 2002.

[57] L. Broderick, D. De Nardo, B. S. Franklin, H. M. Hoffman, and E. Latz, "The inflammasomes and autoinflammatory syndromes.," *Annu. Rev. Pathol.*, vol. 10, pp. 395–424, Jan. 2015.

[58] M. Moll and J. B. Kuemmerle-Deschner, "Inflammasome and cytokine blocking strategies in autoinflammatory disorders.," *Clin. Immunol.*, vol. 147, no. 3, pp. 242–75, Jun. 2013.

[59] P. H. V Saavedra, D. Demon, H. Van Gorp, and M. Lamkanfi, "Protective and

detrimental roles of inflammasomes in disease.," *Semin. Immunopathol.*, Apr. 2015.

[60] V. U. Ozkurede and L. Franchi, "Immunology in clinic review series; focus on autoinflammatory diseases: role of inflammasomes in autoinflammatory syndromes.," *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 167, no. 3, pp. 382–90, Mar. 2012.

[61] A. Rubartelli, "Autoinflammatory diseases.," *Immunol. Lett.*, vol. 161, no. 2, pp. 226–30, Oct. 2014.

[62] A. A. Jesus and R. Goldbach-Mansky, "IL-1 blockade in autoinflammatory syndromes.," *Annu. Rev. Med.*, vol. 65, pp. 223–44, Jan. 2014.

[63] J. J. Chae, H. D. Komarow, J. Cheng, G. Wood, N. Raben, P. P. Liu, and D. L. Kastner, "Targeted Disruption of Pyrin, the FMF Protein, Causes Heightened Sensitivity to Endotoxin and a Defect in Macrophage Apoptosis," *Mol. Cell*, vol. 11, no. 3, pp. 591–604, Mar. 2003.

[64] S. W. Canna, A. A. de Jesus, S. Gouni, S. R. Brooks, B. Marrero, Y. Liu, M. A. DiMattia, K. J. M. Zaal, G. A. M. Sanchez, H. Kim, D. Chapelle, N. Plass, Y. Huang, A. V Villarino, A. Biancotto, T. A. Fleisher, J. A. Duncan, J. J. O'Shea, S. Benseler, A. Grom, Z. Deng, R. M. Laxer, and R. Goldbach-Mansky, "An activating NLRC4 inflammasome mutation causes autoinflammation with recurrent macrophage activation syndrome.," *Nat. Genet.*, vol. 46, no. 10, pp. 1140–6, Oct. 2014.

[65] J.-W. Yu, J. Wu, Z. Zhang, P. Datta, I. Ibrahimi, S. Taniguchi, J. Sagara, T. Fernandes-Alnemri, and E. S. Alnemri, "Cryopyrin and pyrin activate caspase-1, but not NF-kappaB, via ASC oligomerization.," *Cell Death Differ.*, vol. 13, no. 2, pp. 236–49, Feb. 2006.

[66] L. Agostini, F. Martinon, K. Burns, M. F. McDermott, P. N. Hawkins, and J. Tschopp, "NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder.," *Immunity*, vol. 20, no. 3, pp. 319–25, Mar. 2004.

[67] I. Ben-Zvi and A. Livneh, "Chronic inflammation in FMF: markers, risk

factors, outcomes and therapy.," *Nat. Rev. Rheumatol.*, vol. 7, no. 2, pp. 105–12, Feb. 2011.

[68] H. J. Lachmann, B. Sengül, T. U. Yavuzşen, D. R. Booth, S. E. Booth, A. Bybee, J. R. Gallimore, M. Soytürk, S. Akar, M. Tunca, and P. N. Hawkins, "Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations.," *Rheumatology (Oxford).*, vol. 45, no. 6, pp. 746–50, Jun. 2006.

[69] A. Duzova, A. Bakkaloglu, N. Besbas, R. Topaloglu, S. Ozen, F. Ozaltin, Y. Bassoy, and E. Yilmaz, "Role of A-SAA in monitoring subclinical inflammation and in colchicine dosage in familial Mediterranean fever.," *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 21, no. 4, pp. 509–14, Jan. .

[70] Z. B. Ozçakar, F. Yalçinkaya, S. Yüksel, B. Acar, D. Gökmen, and M. Ekim, "Possible effect of subclinical inflammation on daily life in familial Mediterranean fever.," *Clin. Rheumatol.*, vol. 25, no. 2, pp. 149–52, Mar. 2006.

[71] T. Yamada, Y. Okuda, K. Takasugi, L. Wang, D. Marks, M. D. Benson, and B. Kluve-Beckerman, "An allele of serum amyloid A1 associated with amyloidosis in both Japanese and Caucasians.," *Amyloid*, vol. 10, no. 1, pp. 7–11, Mar. 2003.

[72] K. Migita, K. Agematsu, J. Masumoto, H. Ida, S. Honda, Y. Jiuchi, Y. Izumi, Y. Maeda, R. Uehara, Y. Nakamura, T. Koga, A. Kawakami, M. Nakashima, Y. Fujieda, F. Nonaka, K. Eguchi, H. Furukawa, T. Nakamura, M. Nakamura, and M. Yasunami, "The contribution of SAA1 polymorphisms to Familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population.," *PLoS One*, vol. 8, no. 2, p. e55227, Jan. 2013.

[73] C. Cazeneuve, T. Sarkisian, C. Pêcheux, M. Dervichian, B. Nédelec, P. Reinert, A. Ayvazyan, J. C. Kouyoumdjian, H. Ajrapetyan, M. Delpech, M. Goossens, C. Dodé, G. Grateau, and S. Amselem, "MEFV-Gene analysis in armenian patients with Familial Mediterranean fever: diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype-genetic and therapeutic

implications.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 65, no. 1, pp. 88–97, Jul. 1999.

[74] D. R. Booth, S. E. Booth, J. D. Gillmore, P. N. Hawkins, and M. B. Pepys, "SAA1 alleles as risk factors in reactive systemic AA amyloidosis.," *Amyloid*, vol. 5, no. 4, pp. 262–5, Dec. 1998.

[75] A. Delibaş, A. Oner, B. Balci, G. Demircin, M. Bulbul, K. Bek, O. Erdoğan, S. Baysun, and E. Yilmaz, "Genetic risk factors of amyloidogenesis in familial Mediterranean fever.," *Am. J. Nephrol.*, vol. 25, no. 5, pp. 434–40, Jan. .

[76] A. Bakkaloglu, A. Duzova, S. Ozen, B. Balci, N. Besbas, R. Topaloglu, F. Ozaltin, and E. Yilmaz, "Influence of Serum Amyloid A (SAA1) and SAA2 gene polymorphisms on renal amyloidosis, and on SAA/C-reactive protein values in patients with familial mediterranean fever in the Turkish population.," *J. Rheumatol.*, vol. 31, no. 6, pp. 1139–42, Jun. 2004.

[77] F. Caso, L. Cantarini, O. M. Lucherini, P. Sfriso, M. Fioretti, L. Costa, A. Vitale, M. Atteno, M. Galeazzi, I. Muscari, F. Magnotti, B. Frediani, L. Punzi, and D. Rigante, "Working the endless puzzle of hereditary autoinflammatory disorders.," *Mod. Rheumatol.*, vol. 24, no. 3, pp. 381–9, May 2014.

[78] N. Tamir, P. Langevitz, D. Zemer, E. Pras, Y. Shinar, S. Padeh, N. Zaks, M. Pras, and A. Livneh, "Late-onset familial Mediterranean fever (FMF): a subset with distinct clinical, demographic, and molecular genetic characteristics.," *Am. J. Med. Genet.*, vol. 87, no. 1, pp. 30–5, Nov. 1999.

[79] M. Sayarlioglu, A. Cefle, M. Inanc, S. Kamali, E. Dalkilic, A. Gul, L. Ocal, O. Aral, and M. Konice, "Characteristics of patients with adult-onset familial Mediterranean fever in Turkey: analysis of 401 cases.," *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 59, no. 2, pp. 202–5, Mar. 2005.

[80] S. Padeh, A. Livneh, E. Pras, Y. Shinar, M. Lidar, O. Feld, and Y. Berkun, "Familial Mediterranean Fever in the first two years of life: a unique phenotype of disease in evolution.," *J. Pediatr.*, vol. 156, no. 6, pp. 985–9, Jun. 2010.

[81] N. M. Study, "Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey," *Medicine (Baltimore).*, vol. 84, no. 1, pp. 1–11, Jan. 2005.

[82] M. R. Soriano A, “Familial Mediterranean fever: new phenotypes. 2012 Nov;12(1):31-7. doi: 10.1016/j.autrev.2012.07.019. Epub 2012 Aug 2.” [Online]. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22878273. [Accessed: 12-Mar-2014].

[83] M. Shohat and G. J. Halpern, “Familial Mediterranean fever--a review.,” *Genet. Med.*, vol. 13, no. 6, pp. 487–98, Jun. 2011.

[84] M. Melikoğlu, H. Ozdoğan, C. Korkmaz, O. Kasapçopur, N. Arisoy, S. Akkuş, Z. Fresko, and H. Yazici, “A survey of phenotype II in familial Mediterranean fever.,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 59, no. 11, pp. 910–3, Nov. 2000.

[85] J. Samuels, I. Aksentijevich, Y. Torosyan, M. Centola, Z. Deng, R. Sood, and D. L. Kastner, “Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health.,” *Medicine (Baltimore).*, vol. 77, no. 4, pp. 268–97, Jul. 1998.

[86] E. Ben-Chetrit, H. Peleg, S. Aamar, and S. N. Heyman, “The spectrum of MEFV clinical presentations--is it familial Mediterranean fever only?,” *Rheumatology (Oxford).*, vol. 48, no. 11, pp. 1455–9, Nov. 2009.

[87] I. Ben-Zvi, C. Herskovizh, O. Kukuy, Y. Kassel, C. Grossman, and A. Livneh, “Familial Mediterranean fever without MEFV mutations: a case-control study.,” *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 10, no. 1, p. 34, Jan. 2015.

[88] I. Ben-Zvi, B. Brandt, Y. Berkun, M. Lidar, and A. Livneh, “The relative contribution of environmental and genetic factors to phenotypic variation in familial Mediterranean fever (FMF).,” *Gene*, vol. 491, no. 2, pp. 260–3, Jan. 2012.

[89] S. Erten, C. Erzurum, and A. Altunoglu, “Three family members with familial Mediterranean fever carrying the M694V mutation showed different clinical presentations.,” *Intern. Med.*, vol. 51, no. 13, pp. 1765–8, Jan. 2012.

[90] S. Ozen, E. Demirkaya, G. Amaryan, I. Koné-Paut, A. Polat, P. Woo, Y. Uziel, C. Modesto, M. Finetti, P. Quartier, E. Papadopoulou-Alataki, S. M. Al-

Mayouf, G. Fabio, R. Gallizzi, L. Cantarini, J. Frenkel, S. Nielsen, M. Hofer, A. Insalaco, C. Acikel, H. Ozdogan, A. Martini, N. Ruperto, and M. Gattorno, “Results from a multicentre international registry of familial Mediterranean fever: impact of environment on the expression of a monogenic disease in children.,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 73, no. 4, pp. 662–7, 2014.

[91] M. Cakir, F. Ozgenc, M. Baran, C. Arikan, M. Sezak, M. Tuncyurek, O. Ergun, and R. V. Yagci, “A rare cause of refractory ascites in a child: familial Mediterranean fever.,” *Rheumatol. Int.*, vol. 30, no. 4, pp. 531–4, Feb. 2010.

[92] T. Takahashi, H. Tsukuda, H. Itoh, H. Kimura, M. Yoshimoto, and M. Tsujisaki, “An atypical familial Mediterranean fever patient who developed ulcers in the terminal ileum and recurrent abscess-like lesions in multiple organs.,” *Intern. Med.*, vol. 51, no. 16, pp. 2239–44, Jan. 2012.

[93] Y. Berkun, E. Ben-Chetrit, A. Klar, and E. Ben-Chetrit, “Peritoneal adhesions and intestinal obstructions in patients with familial Mediterranean fever--are they more frequent?,” *Semin. ArthritisRheum.*, vol. 36, no. 5, pp. 316–21, Apr. 2007.

[94] 2 Г.Г. Амарян1, 2, К.Г. Мирзабекян1, 2, С.Г. Казарян 1 and A. C. A. A.C. Баблоян1, 2, 3, “Клинико-генетическая характеристика спаечной кишечной непроходимости при периодической болезни у детей.” [Online]. Available: http://www.medlib.am/articles/Amaryan(HB-09-4).pdf. [Accessed: 12-Mar-2014].

[95] A. Karban, E. Dagan, R. Eliakim, A. Herman, S. Nesher, B. Weiss, D. Berkowitz, R. Shamir, and R. Gershoni-Baruch, “Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in patients with Crohn’s disease.,” *Genes Immun.*, vol. 6, no. 2, pp. 134–9, Mar. 2005.

[96] F. Sever, M. Sever, S. Sanal, M. Yalçın, and A. Berdeli, “[Familial Mediterranean fever with pulmonary manifestations alone; early diagnosis with genetic analysis].,” *Tuberk. Toraks*, vol. 60, no. 4, pp. 380–4, Jan. 2012.

[97] D. Rigante, L. Cantarini, M. Imazio, O. M. Lucherini, E. Sacco, M. Galeazzi,

M. G. Brizi, and A. Brucato, “Autoinflammatory diseases and cardiovascular manifestations.,” *Ann. Med.*, vol. 43, no. 5, pp. 341–6, Aug. 2011.

[98] S. Salah, R. Hegazy, R. Ammar, H. Sheba, and L. Abdelrahman, “MEFV gene mutations and cardiac phenotype in children with familial Mediterranean fever: a cohort study.,” *Pediatr. Rheumatol. Online J.*, vol. 12, p. 5, Jan. 2014.

[99] R. A. Jarjour and R. Dodaki, “Arthritis patterns in familial Mediterranean fever patients and association with M694V mutation.,” *Mol. Biol. Rep.*, vol. 38, no. 3, pp. 2033–6, Mar. 2011.

[100] G. Mattiassich, G. Semlitsch, K. Nadler, and F. Rainer, “Familial Mediterranean fever without fever as a cause of monoarthritis.,” *BMJ Case Rep.*, vol. 2013, Jan. 2013.

[101] G. Alayli, D. Durmus, O. Ozkaya, H. E. Sen, G. Genc, and O. Kuru, “Frequency of juvenile fibromyalgia syndrome in children with familial Mediterranean fever: effects on depression and quality of life.,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 29, no. 6 Suppl 69, pp. S127-32, Jan. .

[102] A. Barzilai, P. Langevitz, I. Goldberg, J. Kopolovic, A. Livneh, M. Pras, and H. Trau, “Erysipelas-like erythema of familial Mediterranean fever: Clinicopathologic correlation,” *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 42, no. 5, pp. 791–795, May 2000.

[103] I. Kone Paut, “Phenotype-genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features,” *Rheumatology*, vol. 39, no. 11, pp. 1275–1279, Nov. 2000.

[104] U. Altug, C. Ensari, D. B. Sayin, and A. Ensari, “MEFV gene mutations in Henoch-Schönlein purpura.,” *Int. J. Rheum. Dis.*, vol. 16, no. 3, pp. 347–51, Jun. 2013.

[105] K. Aksu and G. Keser, “Coexistence of vasculitides with familial Mediterranean fever.,” *Rheumatol. Int.*, vol. 31, no. 10, pp. 1263–74, Oct. 2011.

[106] I. Eshed, Y. Rosman, A. Livneh, R. Kedem, P. Langevitz, I. Ben-Zvi, and M. Lidar, “Exertional leg pain in familial Mediterranean fever: a manifestation of

an underlying enthesopathy and a marker of more severe disease.," *Arthritis Rheumatol. (Hoboken, N.J.)*, vol. 66, no. 11, pp. 3221–6, Nov. 2014.

[107] H. Peleg and E. Ben-Chetrit, "The kidney in familial Mediterranean fever.," *J. Rheumatol.*, vol. 40, no. 12, pp. 1948–50, Dec. 2013.

[108] B. Bashardoust and N. Maleki, "Assessment of renal involvement in patients with familial Mediterranean fever: a clinical study from Ardabil, Iran.," *Intern. Med. J.*, Jul. 2014.

[109] M. A. Gharabaghi, A. Behdadnia, M. A. Gharabaghi, and H. Abtahi, "Hypoadrenal syndrome in a patient with amyloidosis secondary to familial Mediterranean fever.," *BMJ Case Rep.*, vol. 2013, Jan. 2013.

[110] Նազարեթյան Է. Ե. and Աթոյան Ս. Ա., "Պարբերական հիվանդության կլինիկական դրսևորումները MEFV գենի հետերոզիգոտ մուտացիաների կրողների շրջանում," Հայաստանի բժշկագիտություն. Հայաստանի ԳԱԱ, 18-Jun-2015.

[111] V. Hentgen, G. Grateau, K. Stankovic-Stojanovic, S. Amselem, and I. Jéru, "Familial Mediterranean fever in heterozygotes: are we able to accurately diagnose the disease in very young children?," *Arthritis Rheum.*, vol. 65, no. 6, pp. 1654–62, Jun. 2013.

[112] I. Jéru, V. Hentgen, E. Cochet, P. Duquesnoy, G. Le Borgne, E. Grimprel, K. S. Stojanovic, S. Karabina, G. Grateau, and S. Amselem, "The risk of familial Mediterranean fever in MEFV heterozygotes: a statistical approach.," *PLoS One*, vol. 8, no. 7, p. e68431, Jan. 2013.

[113] Y. Berkun and E. M. Eisenstein, "Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever.," *Autoimmun. Rev.*, vol. 13, no. 4–5, pp. 388–90, Jan. .

[114] E. Demirkaya, C. Acikel, A. Gul, M. Gattorno, H. Ozdogan, P. Hashkes, A. Polat, O. Karadag, A. Livneh, S. Ozen, F. M. F. A. Vasculitis, and P. Rheumatology, "Developing a new severity score for FMF," *Pediatr. Rheumatol.*, vol. 11, no. Suppl 1, p. A81, 2013.

[115] A. Mor, Y. Shinar, N. Zaks, P. Langevitz, A. Chetrit, S. Shtrasburg, E.

Rabinovitz, and A. Livneh, “Evaluation of disease severity in familial Mediterranean fever.,” *Semin. Arthritis Rheum.*, vol. 35, no. 1, pp. 57–64, Aug. 2005.

[116] A. Livneh, P. Langevitz, D. Zemer, N. Zaks, S. Kees, T. Lidar, A. Migdal, S. Padeh, and M. Pras, “Criteria for the diagnosis of familial mediterranean fever,” *Arthritis Rheum.*, vol. 40, no. 10, pp. 1879–1885, Oct. 1997.

[117] G. Kalkan, E. Demirkaya, C. H. Acikel, A. Polat, H. Peru, A. Karaoglu, E. Sari, I. Dursun, F. Gok, and S. Ozen, “Evaluation of the current disease severity scores in paediatric FMF: is it necessary to develop a new one?,” *Rheumatology (Oxford).*, vol. 51, no. 4, pp. 743–8, Apr. 2012.

[118] Y. Berkun and E. M. Eisenstein, “Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever.,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 13, no. 4–5, pp. 388–90, 2014.

[119] H. S. E.-D. Talaat, M. F. Mohamed, N. M. El Rifai, and M. A. Gomaa, “The expanded clinical profile and the efficacy of colchicine therapy in Egyptian children suffering from familial Mediterranean fever: a descriptive study.,” *Ital. J. Pediatr.*, vol. 38, p. 66, Jan. 2012.

[120] E. Ben-Chetrit and M. Levy, “Colchicine: 1998 update,” *Semin. Arthritis Rheum.*, vol. 28, no. 1, pp. 48–59, Aug. 1998.

[121] R. A. Lange and L. D. Hillis, “Acute Pericarditis.” Massachusetts Medical Society, 08-Oct-2009.

[122] S. M. Nidorf, J. W. Eikelboom, and P. L. Thompson, “Colchicine for secondary prevention of cardiovascular disease.,” *Curr. Atheroscler. Rep.*, vol. 16, no. 3, p. 391, Mar. 2014.

[123] D. Kershenobich, F. Vargas, G. Garcia-Tsao, R. Perez Tamayo, M. Gent, and M. Rojkind, “Colchicine in the treatment of cirrhosis of the liver.,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 318, no. 26, pp. 1709–13, Jun. 1988.

[124] M. Lidar, H. Yonath, N. Shechter, F. Sikron, S. Sadetzki, P. Langevitz, A. Livneh, and E. Pras, “Incomplete response to colchicine in M694V homozygote FMF patients.,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 12, no. 1, pp. 72–6, Nov. 2012.

[125] M. La Regina, E. Ben-Chetrit, A. Y. Gasparyan, A. Livneh, H. Ozdogan, and R. Manna, “Current trends in colchicine treatment in familial Mediterranean fever.,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 31, no. 3 Suppl 77, pp. 41–6, Jan. .

[126] S. Unverdi, S. Inal, M. Ceri, H. Unverdi, H. Batgi, R. Tuna, M. A. Ozturk, G. Guz, and M. Duranay, “Is colchicine therapy effective in all patients with secondary amyloidosis?,” *Ren. Fail.*, vol. 35, no. 8, pp. 1071–4, Sep. 2013.

[127] A. Soriano, E. Verecchia, A. Afeltra, R. Landolfi, and R. Manna, “IL-1β biological treatment of familial Mediterranean fever.,” *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, vol. 45, no. 1, pp. 117–30, Aug. 2013.

[128] C. Estublier, K. Stankovic Stojanovic, J.-F. Bergerot, C. Broussolle, and P. Sève, “Myositis in a patient with familial Mediterranean fever and spondyloarthritis successfully treated with anakinra.,” *Joint. Bone. Spine*, vol. 80, no. 6, pp. 645–9, Dec. 2013.

[129] N. Ter Haar, H. Lachmann, S. Özen, P. Woo, Y. Uziel, C. Modesto, I. Koné-Paut, L. Cantarini, A. Insalaco, B. Neven, M. Hofer, D. Rigante, S. Al-Mayouf, I. Touitou, R. Gallizzi, E. Papadopoulou-Alataki, S. Martino, J. Kuemmerle-Deschner, L. Obici, N. Iagaru, A. Simon, S. Nielsen, A. Martini, N. Ruperto, M. Gattorno, and J. Frenkel, “Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review.,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 72, no. 5, pp. 678–85, May 2013.

[130] A. Kogan, Y. Shinar, M. Lidar, A. Revivo, P. Langevitz, S. Padeh, M. Pras, and A. Livneh, “Common MEFV mutations among Jewish ethnic groups in Israel: high frequency of carrier and phenotype III states and absence of a perceptible biological advantage for the carrier state.,” *Am. J. Med. Genet.*, vol. 102, no. 3, pp. 272–6, Aug. 2001.

[131] D. Camus, Y. Shinar, S. Aamar, P. Langevitz, I. Ben-Zvi, A. Livneh, and M. Lidar, “‘Silent’ carriage of two familial Mediterranean fever gene mutations in large families with only a single identified patient.,” *Clin. Genet.*, vol. 82, no. 3, pp. 288–91, Sep. 2012.

[132] Л. С. Оганесян and А. А. Айвазян, “Анализ случаев поздней диагностики периодической болезни,” *Медицинская Наука Армении НАН РА*, vol. 1, no. 72, pp. 616–56, 2013.

[133] D. Marek-Yagel, Y. Berkun, S. Padeh, A. Abu, H. Reznik-Wolf, A. Livneh, M. Pras, and E. Pras, “Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever.,” *Arthritis Rheum.*, vol. 60, no. 6, pp. 1862–6, Jun. 2009.

[134] M. M. Moradian, T. Sarkisian, H. Ajrapetyan, and N. Avanesian, “Genotype-phenotype studies in a large cohort of Armenian patients with familial Mediterranean fever suggest clinical disease with heterozygous MEFV mutations.,” *J. Hum. Genet.*, vol. 55, no. 6, pp. 389–93, Jun. 2010.

[135] M. Shohat, N. Magal, T. Shohat, X. Chen, T. Dagan, A. Mimouni, Y. Danon, R. Lotan, G. Ogur, A. Sirin, M. Schlezinger, G. J. Halpern, A. Schwabe, D. Kastner, J. I. Rotter, and N. Fischel-Ghodsian, “Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis.,” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 7, no. 3, pp. 287–92, Apr. 1999.

[136] E. Ben-Chetrit and R. Backenroth, “Amyloidosis induced, end stage renal disease in patients with familial Mediterranean fever is highly associated with point mutations in the MEFV gene.,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 60, no. 2, pp. 146–9, Feb. 2001.

[137] E. Ben-Chetrit, I. Lerer, E. Malamud, C. Domingo, and D. Abeliovich, “The E148Q mutation in the MEFV gene: is it a disease-causing mutation or a sequence variant?,” *Hum. Mutat.*, vol. 15, no. 4, pp. 385–6, Apr. 2000.

[138] M. S. and A. L. Ruth Gershoni-Baruch, Riva Brik, “The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever,” vol. 10, no. 2, Mar. 2002.

[139] K. Konstantopoulos, A. Kanta, K. Lilakos, G. Papanikolaou, and I. Meletis, “Familial Mediterranean fever and E148Q pyrin gene mutation in Greece.,” *Int. J. Hematol.*, vol. 81, no. 1, pp. 26–8, Jan. 2005.

[140] O. Soylemezoglu, Y. Kandur, A. Duzova, O. Ozkaya, O. Kasapcopur, E. Baskin, K. Fidan, and F. Yalcinkaya, “Familial Mediterranean fever with a single MEFV mutation: comparison of rare and common mutations in a Turkish paediatric cohort.,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, May 2015.

[141] D. R. Booth, J. D. Gillmore, H. J. Lachmann, S. E. Booth, A. Bybee, M. Soytürk, S. Akar, M. B. Pepys, M. Tunca, and P. N. Hawkins, “The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever.,” *QJM*, vol. 93, no. 4, pp. 217–21, Apr. 2000.

[142] D. Marek-Yagel, Y. Berkun, S. Padeh, A. Abu, H. Reznik-Wolf, A. Livneh, M. Pras, and E. Pras, “Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever,” *Arthritis Rheum.*, vol. 60, no. 6, pp. 1862–1866, Jun. 2009.

[143] A. BLUM, J. GAFNI, E. SOHAR, S. SHIBOLET, and H. HELLER, “Amyloidosis as the sole manifestation of familial Mediterranean fever (FMF). Further evidence of its genetic nature.,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 57, pp. 795–9, Nov. 1962.

[144] R. Duşunsel, I. Dursun, Z. Gündüz, M. H. Poyrazoğlu, M. K. Gürgöze, and M. Dundar, “Genotype–phenotype correlation in children with familial Mediterranean fever in a Turkish population,” *Pediatr. Int.*, vol. 50, no. 2, pp. 208–212, Apr. 2008.

[145] S. Padeh, Y. Shinar, E. Pras, D. Zemer, P. Langevitz, M. Pras, and A. Livneh, “Clinical and diagnostic value of genetic testing in 216 Israeli children with Familial Mediterranean fever.,” *J. Rheumatol.*, vol. 30, no. 1, pp. 185–90, Jan. 2003.

[146] M. Dewalle, C. Domingo, M. Rozenbaum, E. Ben-Chétrit, D. Cattan, A. Bernot, C. Dross, M. Dupont, C. Notarnicola, M. Levy, I. Rosner, J. Demaille, and I. Touitou, “Phenotype-genotype correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF),” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 6, no. 1, pp. 95–97, Mar. 1998.

[147] A. Gül, “Familial Mediterranean fever phenotype and MEFV variations.,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 32, no. 6 Suppl 87, p. S-12-3.

[148] I. Touitou, T. Sarkisian, M. Medlej-Hashim, M. Tunca, A. Livneh, D. Cattan, F. Yalçinkaya, S. Ozen, H. Majeed, H. Ozdogan, D. Kastner, D. Booth, E. Ben-Chetrit, D. Pugnère, C. Michelon, F. Séguret, and R. Gershoni-Baruch, “Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever.,” *Arthritis Rheum.*, vol. 56, no. 5, pp. 1706–12, May 2007.

[149] C. Cazeneuve, H. Ajrapetyan, S. Papin, F. Roudot-Thoraval, D. Geneviève, E. Mndjoyan, M. Papazian, A. Sarkisian, A. Babloyan, B. Boissier, P. Duquesnoy, J. C. Kouyoumdjian, E. Girodon-Boulandet, G. Grateau, T. Sarkisian, and S. Amselem, “Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever.,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 67, no. 5, pp. 1136–43, Nov. 2000.

[150] M. Medlej-Hashim, V. Delague, E. Chouery, N. Salem, M. Rawashdeh, G. Lefranc, J. Loiselet, and A. Mégarbané, “Amyloidosis in familial Mediterranean fever patients: correlation with MEFV genotype and SAA1 and MICA polymorphisms effects.,” *BMC Med. Genet.*, vol. 5, p. 4, Feb. 2004.

[151] N. Turkcapar, T. Tuncalı, S. Kutlay, B. Y. Burhan, G. Kinikli, S. Erturk, and M. Duman, “The contribution of genotypes at the MICA gene triplet repeat polymorphisms and MEFV mutations to amyloidosis and course of the disease in the patients with familial Mediterranean fever,” *Rheumatol. Int.*, vol. 27, no. 6, pp. 545–551, Mar. 2007.

[152] M. G. Booty, J. J. Chae, S. L. Masters, E. F. Remmers, B. Barham, J. M. Le, K. S. Barron, S. M. Holland, D. L. Kastner, and I. Aksentijevich, “Familial Mediterranean fever with a single MEFV mutation: where is the second hit?,” *Arthritis Rheum.*, vol. 60, no. 6, pp. 1851–61, Jun. 2009.

[153] Y. Yuval, M. Hemo-Zisser, D. Zemer, E. Sohar, and M. Pras, “Dominant inheritance in two families with familial Mediterranean fever (FMF),” *Am. J. Med. Genet.*, vol. 57, no. 3, pp. 455–457, Jul. 1995.

[154] H. Nobakht, F. Zamani, H. Ajdarkosh, Z. Mohamadzadeh, S. Fereshtehnejad, and M. Nassaji, “Adult-onset familial mediterranean Fever in northwestern iran; clinical feature and treatment outcome.,” *Middle East J. Dig. Dis.*, vol. 3, no. 1, pp. 50–5, Mar. 2011.

[155] С. А. Атоян, Э. Е. Назаретян, and З. Т. Джндоян, “Различия клинического течени и лечения семейной средиземноморской лихорадки у пациентов с одной и двумя мутациями гена MEFV,” *Научно-Медицинский журнал Национальный Институт Здравоохранения имени академика Авдалбекяна МЗ РА*, vol. 11, no. 1, pp. 20–26, 2016.

[156] M. Yasunami, H. Nakamura, K. Agematsu, A. Nakamura, M. Yazaki, D. Kishida, A. Yachie, T. Toma, J. Masumoto, H. Ida, T. Koga, A. Kawakami, K. Eguchi, H. Furukawa, T. Nakamura, M. Nakamura, and K. Migita, “Identification of Disease-Promoting HLA Class I and Protective Class II Modifiers in Japanese Patients with Familial Mediterranean Fever.,” *PLoS One*, vol. 10, no. 5, p. e0125938, Jan. 2015.

[157] M. Medlej-Hashim, V. Delague, E. Chouery, N. Salem, M. Rawashdeh, G. Lefranc, J. Loiselet, and A. Mégarbané, “Amyloidosis in familial Mediterranean fever patients: correlation with MEFV genotype and SAA1 and MICA polymorphisms effects,” *BMC Medical Genetics*, vol. 5, no. 1. BioMed Central, p. 1, 10-Feb-2004.