

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
КЛИНИКА ПО НЕФРОЛОГИЯ към УМБАЛ "СВЕТИ ИВАН РИЛСКИ" ЕАД

д-р МАРИЯ ХРИСТОВА ХРИСТОВА

**ИМУНОГЕНЕТИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ
СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА ИНТЕРЛЕВКИН-17 ПРИ
СИСТЕМЕН ЛУПУС ЕРИТЕМАТОЗУС И
ЛУПУСЕН НЕФРИТ**

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователна и научна степен “доктор”

Научен ръководител: проф. д-р Атанас Иванов Кундурджиев, д.м.
Научен ръководител: доц. д-р Васил Венциславов Василев, д.м.

София, 2023

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АКЛА	Антикардиолипинови антитела
АНА	Антинуклеарни антитела
ГБМ	Гломерулна базална мембрана
КМБ	Кръвномозъчна бариера
ЛН	Лупусен нефрит
мРНК	Матрична рибонуклеинова киселина
ПББ	Пункционна бъбречна биопсия
РААС	Ренин-ангиотензин-алдостеронова система
СЛЕ	Системен лупус еритематозус
ACR	Американска асоциация по ревматология (American College of Rheumatology)
bp	Базични двойки
CD	Групова детерминанта (clusterofdifferentiation)
EMA	Европейска агенция по лекарствата
ERA (EDTA)	Европейска бъбречна асоциация
EULAR	Европейска лига за борба с рематизма
FDA	Американска агенция по лекарствата и храните
GFR	Скорост на гломерулна филтрация
HLA	Човешки левкоцитарни антигени
HRMA	High-Resolution Melting Analysis (Анализ на топенето на кривите с висока резолюция)
IFN	Интерферон
ИФ	Индиректна имуофлуоресценция
IL-1	Интерлевкин 1
IL-6	Интерлевкин 6
IL-10	Интерлевкин 10
IL-17	Интерлевкин 17
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes (инициатива за подбряване на глобалните резултати при бъбречни заболявания)
MHC	Главен комплекс на тъканната съвместимост
NFκB	Нуклеарен фактор kappa B
OR	Отношение на шансовете (Odd Ratio)
PCR	Полимеразна верижна реакция
rs	Референтен идентификационен номер на SNP (reference SNP)

SNP	Единичен нуклеотиден полиморфизъм
STAT	Сигнален трансдюсер и активатор на транскрипцията
TGF-β	Трансформиращ растежен фактор- β
TLR	Toll-ликерцептор
TNF-α	Тумор некротизиращ фактор- α

ВЪВЕДЕНИЕ

Системният лупус еритематозус (СЛЕ) е автоимунно заболяване с неясна етиопатогенеза, водещо до органични увреди и инвалидизация на пациенти в трудоспособна възраст. Автоимунните болести и в частност СЛЕ са причина за смъртност при жени в млада и средна възраст, като засягането на бъбречните структури е един от основните прогностични фактори за изхода от заболяването. При 7-31% от пациентите лупусният нефрит (ЛН) се установява още при поставяне на диагнозата СЛЕ, а 31-48% развиват клинично изявен ЛН в следващите 5 години. При провеждане на ПББ хистологични промени се откриват в 40 до 76% от пациентите със СЛЕ. Въпреки наличието на съвременните терапевтични възможности все още около 22% от пациентите с лупусен нефрит достигат до терминална бъбречна недостатъчност в рамките на 10 години.

Въпреки значителния технологичен напредък в молекулярната биология и медицината през ХХ и ХХІ век, етиологията на автоимунните болести остава неизяснена, а тяхното лечение продължава да бъде предизвикателство в съвременната клинична практика. Появяват се множество хипотези и теории, чиято цел е да бъдат обяснени нарушенията в хомеостазата на имунната регулация. Като цяло засега е приета идеята за многофакторното естество на автоимунните болести, в чиято патогенеза взимат участие екзогенни и ендогенни фактори. Към последните спадат променен имуен отговор с формирането на автоантитела, нарушения във вродения и придобития имунитет, хормонален и цитокинов дисбаланс, абераантно предаване на сигнала в downstream каскадните пътища, нарушения в процесите на апоптоза и клетъчно преживяване, генетична предразположеност.

Установеният цитокинов дисбаланс при много автоимунни болестие мотив за изясняване на механизмите, чрез които цитокините способстват за възникването на патологичния процес. Предвид генетичния контрол, на който е подложена тяхната секреция, цитокиновите полиморфизми логично попадат във фокуса на множество изследвания. Счита се, че сред цитокините, интерлевкин-17 (IL-17) има ключова роля за развитието на някои инфламаторни и голям спектър от автоимунни заболявания. В подкрепа на участието му в патологичния процес са установените повишени серумни нива при пациенти със СЛЕ, както и повишеният брой Th17 клетки, отговорни за производството му.

Освен че биха могли да доведат до изясняването на някои патогенетични механизми, резултатите от провеждането на асоциативни проучвания биха могли да спомогнат и за откриването на нови диагностични маркери с прогностична стойност. Практическият принос от подобни данни е свързан с избора на терапевтична стратегия, възможност за прилагане на таргетна терапия и отдиференцирането на пациенти респондери от нон-респондери при употребата на анти-IL-17 лекарствени средства. Това би допринесло за индивидуализиран подход при определянето на лечението и стои в основата на развитието на съвременната фармакогенетика и създаването на нови лекарствени стратегии по пътя към персонализираната медицина.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. АВТОИМУНИТЕТ

Етиологията на автоимунните болести остава неизяснена, въпреки множеството проучвания през последния век. В основата на идеята за автоимунитета лежи концепцията на Р. Ehrlich за “horror autotoxicus”, според която в имунната система съществуват определени механизми, които възпират имунната атака спрямо „своето”. За основополагащо събитие при изследванията на автоимунитета се счита откриването на LE-клетките от Malcolm Hargreaves през 1948 г., което показва наличие на фагоцитоза на собствени структури. През 50-те години на ХХ век Е. Witebsky и N. Rose предоставят допълнителни доказателства за възникването на автоимунния процес като резултат от нарушен имунологичен толеранс. През 1962г. създателят на клонално-селекционната теория Sir Frank Macfarlane Burnet и неговият сънародник Ian Reay MacKay издават монография, озаглавена „Автоимунни болести”, с която се слага началото на множество изследвания в една нова област на медицинската наука - автоимунитета. На базата на клонално-селекционната теория, те създават хипотезата за автоимунната болест като “състояние, при което структурните и функционалните увреди са резултат от действието на имунокомпетентни клетки или антитела срещу собствени компоненти на тялото”, водещи до появата на “забранени клонове” от лимфоцити. Още тогава MacKay отбелязва факта, че “СЛЕ е ключова болест, обхващаща целия спектър от имунопатологични лезии, отнасящи се до забранените клонове, която би могла да спомогне за цялостното разбиране и изясняване на автоимунитета”. С развитието на познанието се оказва, че теорията за “забранените клонове” не дава обяснение за нарушението на хомеостазата в имунната регулация. Предлагат се множество нови хипотези. Сред тях са хипотезата за освобождаване на секвестрирани собствени антигени, избягването на автореактивните клонове, загубата на супресорни клетки, антигенна мимикрия и кръстосана реактивност между екзогенни и променени собствени антигени вследствие на химични фактори и вирусни инфекции. Предложеното през 1986г. от Mosmann разделение на CD4+ Т клетките на субтипове въз основа на техния цитокинов профил се отразява и на концепцията за автоимунните болести, като се правят опити за категоризирането им като Th1 и Th2 обусловени. С откриването на нов подклас Т хелпери, а именно продуциращите IL-17 Th17 хелпери, тази парадигма е оспорена. Появява се нова концепцията за принципите на взаимодействие и контрол в

citoкиновата мрежа, а изследването на citoкиновия дисбаланс се превръща в основен фокус на проучванията при автоимунните болести. През 1996 г. Matzinger открива значителни недостатъци на теорията за „чуждо” и „свое” и така формулира своя хипотеза, наречена „danger hypothesis” за ролята на „опасните” сигнали. Според нея имунната реактивност към автоантигените предлага възможност за клетъчна смърт чрез апоптоза или чрез некроза, а автоимунните заболявания са причинени от генни мутации, водещи до нарушения във физиологичната смърт на клетките, при което се задействат процесите на некроза и се изпращат „алармиращи” сигнали [1]. Съществуват и хипотези, които отхвърлят понятието автоимунитет, като отдават наблюдаваните промени на загуба на самокритичност на имунния отговор спрямо повтарящи се антигенни дразнители [2]. Появата на нови теории продължава, но като цяло засега широко е приета идеята за многофакторното естество на автоимунните болести, в чиято патогенеза взимат участие различни екзогенни и ендогенни фактори.

2. ИНТЕРЛЕВКИН-17 - БИОЛОГИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ВИДОВЕ РЕЦЕПТОРИ И МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ

Цитокините са хуморални протеини или гликопротеини, които модулират активността на прицелните клетки, принадлежащи към имунната система. Те имат ключова роля за осъществяването на вродения имунитет, но потенцират и различни ефektorни нива на адаптивния имуен отговор [3, 4], като така те осъществяват връзка между тези две звена на имунната система. Въпреки плейотропния спектър на действие на цитокините, дидактично се открояват вертикална и хоризонтална ос на тяхното влияние. Първата се осъществява чрез взаимодействието на цитокините със специфични цитокинови рецептори, вследствие на което се инициира сигнална трансдукция. В резултат на последвалата каскадна активация настъпват процеси на митотично делене, диференциация или апоптоза [5]. Счита се, че липсата на баланс в осъществяването на тези „downstream” процеси е критичен за възникването на автоимунни и малигнени заболявания [6]. Хоризонталният модел на влияние се изразява в кръстосаното взаимодействие между различни цитокини т.нар. „cross talk”, който се проявява на различни нива. На базата на кръстосаното взаимодействие се осъществяват положителните и отрицателните обратни връзки в citoкиновата мрежа, при което се постига имунологична хомеостаза. Счита се, че при автоимунните болести тя е нарушена, като в потвърждение на тази теза са установените отклонения в citoкиновите профили при много автоимунни заболявания [7].

2.1. Интерлевкин 17- обща характеристика

Интерлевкин-17 (IL-17) са семейство от цитокини с плейотропно действие, участващи в имунния отговор, хемопоезата, костния метаболизъм, възпалителните и автоимунни процеси. Интерлевкин-17 (IL-17A) е клониран за първи път през 1993 г. [8], а неговият рецептор IL-17RA е описан през 1995 г. [9],[10]. Основополагащият за фамилията IL-17A показва неочаквана секвенционна хомоложност с Herpesvirus saimiri [9]. Той, както и цялата фамилия показват характерна последователност, коренно различна от тази на останалите цитокини. Впоследствие се установява, че те са възникнали много назад в еволюцията [11]. Въпреки че до началото на 2000 г. IL-17 не буди особен интерес, още тогава са налице няколко проучвания, които подсказват, че този цитокин се повишава при възпалителни и автоимунни заболявания и се секретира от Т хелпери [12-16]. Интересът към него бързо нараства през 2005 г., когато категорично се установява, че IL-17 се произвежда от различни от класическите Т хелпери. Те биват наречени Th17 и се характеризират с производството на транскрипционен фактор ROR γ t, активиращ се под действието на IL-12 цитокиновата фамилия и по-специално на IL-23. Така първоначално при животински модели, а в последствие и при хора чрез геномни асоциативни проучвания се доказва, че оста IL-17/ IL-23 играе ключова роля при автоимунните болести. През 2015 г. е регистриран и първият IL-17A инхибитор [17].

2.2. Интерлевкин 17 - видове, биологични характеристики.

Интерлевкин 17 са семейство цитокини, в което се наблюдават следните разновидности - IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (познат още като IL-25) и IL-17F. Всички членове на IL-17 фамилията имат подобна протеинова структура. Тяхната белтъчна последователност се отличава съществено от тази на останалите цитокини. Всеки член от IL-17 има различен модел на клетъчна експресия. Установено е, че IL-17A и IL-17F се произвеждат от Th17, $\gamma\delta$ T клетки, естествени убийци (NK) и nNKT клетки [9, 18]. IL-17B се произвежда от клетки, намиращи се в някои периферни тъкани и имунологични структури. IL-17C се повишава само при възпалителни състояния, като обичайно се открива в малки количества. IL-17D се открива в нервната система и скелетните мускули, а IL-17E присъства в периферни тъкани в ниски количества.

Първоначално, наричан CLTA8, основополагащият IL-17A показва плеiotропни свойства - участва в имунната защита, има отношение към автоимунитета и участва в костния метаболизъм. Подобно на други цитокини на вродения имунитет като IL-1 β и TNF- α , той показва проинфламаторни свойства и изглежда играе важна роля в регулацията на гранулоцитите *in vivo* [19]. Установено е, че IL-17A заедно с други проинфламаторни цитокини като IL-6, IL-8 осигурява бърз провъзпалителен отговор [17], като участва в защитата на организма срещу множество инфекции, причинени от екстрацелуларни бактерии и гъбички като *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Candida albicans* и др. [20]. Както вече беше посочено, интересът към него, се засилва, когато се появяват данни, че се произвежда от особена група клетки - Th17 хелперите и се установява патологично повишена продукция на този цитокин при възпалителни и особено при автоимунни процеси. Това води до задълбочени научни изследвания относно секретиралите го клетки, видовете рецептори и механизмите на сигналната трансдукция, с оглед разработване на нови терапевтични стратегии.

На базата на генетични проучвания и протеинов анализ се установява, че има голяма хомоложност между шестте члена на фамилията. От всички, IL-17F е най-близък до структурата на IL-17A, с 50% идентичност, което позволява споделяне на едни същи рецептори [21]. IL-17A и IL-17F обичайно образуват хомодимери, но понякога може да се секретират и като хетеродимер IL-17AF [22]. Въпреки че споделят един и същи сигнални пътища, хомодимерите IL-17A водят до много по-силен имуен отговор в сравнение с IL-17F [23, 24]. IL-17F е по-слабо активен от IL-17A, но също би могъл да бъде биологично активен и да проявява синергичен ефект с туморнекротизиращия фактор (TNF) подобно на IL-17A. За IL-17A обаче е доказано, че има по-силно влияние върху автоимунните процеси [25].

За разлика от IL-17A и IL-17F, IL-17E по-известен като IL-25, показва най-ниска хомоложност с IL-17A (около 19%). И докато IL-17A и IL-17F се свързват с проинфламаторен отговор, IL-25 и неговият рецептор IL-17RE имат противовъзпалителен ефект чрез инхибиране на IL-17A и IL-17F [26]. IL-25 води до отговор подобен на този от Th2 клетките, което стимулира еозинофилите, мастоцитите и му отрежда място в развитието на някои алергични състояния [27] и отговора срещу паразити [28].

Установено е, че IL-17B се увеличава при чревни възпалителни процеси и води до левкоцитна миграция при интраперитонеална апликация в животински модели, което предполага провъзпалителни свойства. От друга страна този цитокин е показал

антиинфламаторен ефект в лигавиците, вероятно поради свързване към определена част на IL-17RB [29]. Интересни са наблюденията, че IL-17B има отношение към клетъчното преживяване, пролиферация и миграция на туморни клетки, а повишените му нива се свързват с по-лоша прогноза при пациенти с карцином на панкреаса, бял дроб и гърда [30].

IL-17C участва както в антимикробния имунния отговор, така и в бариерните функции, които осъществяват кожата и червата [22]. За разлика от останалите членове на фамилията, които се произвеждат от клетки на имунната система, IL-17C се секретира от епителни клетки. Така той осъществява предимно локален автокринен отговор, особено при нарушаване целостта на епитела [31]. Има данни, че IL-17C се произвежда от кератиноцити и кожни нервни окончания, което води до протекция на периферните сетивни неврони [32]. За по-голяма яснота относно тези процеси, обаче са необходими допълнителни проучвания.

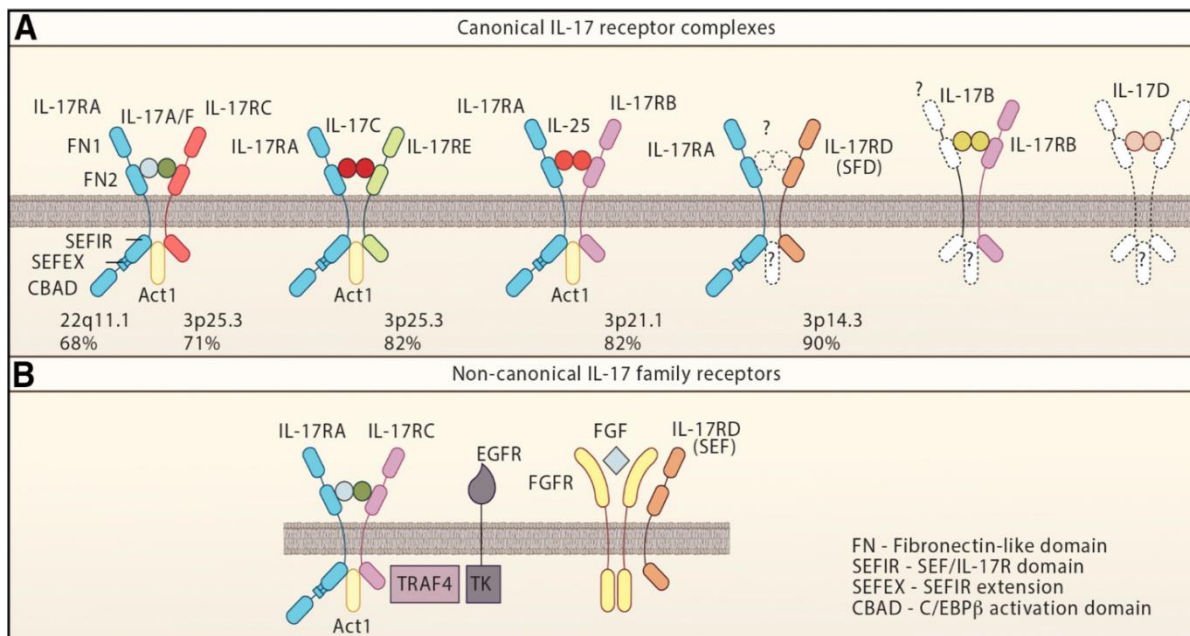
IL-17D е най-малко проученият член на фамилията. Той се експресира в множество тъкани, като е установено, че стимулира секрецията на IL-6, IL-8 и GM-CSF от ендотелни клетки [33]. Доказано е, че неговите нива се увеличават при вирусни инфекции и туморни заболявания [34].

2.3. Интерлевкин-17 - механизъм на действие и видове рецептори

IL-17 рецепторната фамилия се състои от пет члена - IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD и IL-17RE), които подобно на IL-17 членовете, показват хомоложност, като всички те съдържат фибронектин III-подобен домейн в екстрацелуларния си регион и SEF/IL-17R (SEFIR) домейн в интрацелуларния си район. Нови данни показват, че IL-17RA вероятно е общ рецептор за членовете на IL-17 цитокиновата фамилия [21]. За рецепторите IL-17RB, IL-17RC и IL-17RE се счита, че са специфични за IL-17B, IL-17C и IL-17E. IL-17RD първоначално се определя като рецептор с инхибиращ ефект за фибробласт растежния фактор, а впоследствие се оказва, че има отношение и към регулацията на IL-17A. Известно е, че предаването на IL-17 сигнала става посредством класически и неклассически рецепторни димери, чиято структураи лиганди са представени на фигура 1. Сигналната трансдукция както за IL-17A, така и за IL-17F изисква присъствието на хетеродимерен рецептор IL-17RA/IL17RC. Според A. Но и S. Gaffen, C субединицата играе ключова роля в модулирането на IL-17 отговорите [35]. Според повечето проучвания свързването на IL-17A към рецепторния хетеродимер IL-17RA/IL17RC

задейства сигналната каскада чрез NF- κ B, MAPK и C/EBP [36]. Резултат от започналата каскада е отделяне на TNF- α , IL-6, CXCL8, and CXCL1, които участват в имунния отговор. Има обаче съобщения и за активация на Jak-Stat и Jak-PI3K пътищата [37], което е важно поради възможността IL-17A отговорът да бъде модулиран чрез молекули инхибитори на Jak-Stat пътя като tofacitinib и baricitinib, които показват добър терапевтичен ефект при някои автоимунни заболявания като ревматоиден артрит, улцерозен колит и др.

Профилът на експресия и разпространение на рецепторите също е различен. Установена е значителна експресия на мРНК на IL-17RC в епителни клетки на простатата, бъбреците и ставите, докато в хемопоеичните структури се откриват ниски нива [38]. Обратно, IL-17RA се експресира в костния мозък, тимус и слезката, но с ниска експресия в гастроинтестиналния тракт и белия дроб [35]. Относно бъбречните структури, рецепторите от фамилията - IL-17RA, IL-17RC, IL-17RE се експресират от подоцити, тубулни епителни клетки, мезангиални и ендотелни клетки. В бъбрека те са свързани с проинфламаторен отговор, водещ до нарушения в структурата и функцията на нефрона, въвличайки множество профибротични пътища с краен резултат интерстициална фиброза [39].



Фигура 1. Структура на IL-17 рецептора - класически и некласически рецепторни димери по М. McGeachy [22].

2.4. Интерлевкин 17 - механизъм на сигнална трансдукция

IL-17RA и IL-17RC субединиците се характеризират от два екстрацелуларни фибронектинподобни домейна, които се свързват с IL-17A, IL-17F и IL-17AF. Интрацелуларният домейн съдържа консервативния SEFIR участък, който взаимодейства с кореспондиращия SEFIR мотив на адапторния протеин Act1 и сигналът се предава към продължението на SEFIR последователностите (SEFEX). Act1 се свързва с фамилията на TRAF протеините, които от своя страна активират класическия NF- κ B път [29]. По-късно се установява, че IL-17RA съдържа и регион наречен "С/EBP β активационен домейн" (CBAD), за който се доказва, че осъществява и инхибиращи сигнали [40]. Ето защо N. Amatsu и сътр. озаглавяват статията си за IL-17 сигналната трансдукция "Ин и Ян" [29]. Докато ролята на IL-17RA е по-добре проучена, то по отношение на останалите рецептори, включително IL-17RC, както и на IL-17 лигандите има много неясности, които налагат тяхното проучване [22, 35].

2.5. Т-хелперна клетъчна популация, продуцираща IL-17 (Th17)

Диференциацията на Th17 и другите IL-17-продуциращи клетки е многостъпален процес, който е подложен на контрол. TGF- β , IL-6, IL-1 са цитокини, които оказват особено влияние върху ранните стъпки на диференциацията на Th17 клетките [41]. Последната стъпка в диференциацията на Th17 се осъществява под контрола на IL-23, член на семейството на IL-12 [17]. Установено е, че едновременното инхибиране на IL-23 и IL-12 чрез anti-p40 споделената между тях субединица предотвратява диференциацията на Th17 клетките и по този начин се намалява продукцията както на IL-17A и IL-17F, така и на други цитокини произведени от Th17 като IL-21 и IL-22 [17, 42]. Крайният ефект се свързва с антиинфламаторен отговор, който довежда до положителни клинични резултати при някои аутоимунни заболявания.

Освен ролята на цитокините, благодарение на опитите в миши модели, се установява, че експресията на Th17 клетките зависи от редица транскрипционни фактори. Свързаният с ретиноидната киселина ядрен рецептор - ROR γ t е първият описан фактор, който дефинира клетъчната линия на Th17 [43] и способства за производството на трите характерни за Th17 цитокина IL-17A, IL-17F, IL-22. Други два цитокина, които се отделят от Th17 са IL-21 и IL-2 [44]. Тези цитокини стимулират проинфламаторните медиатори и разрушават микробните пептиди.

Впоследствие са установени множество транскрипционни фактори, както такива принадлежащи към ROR фамилията (rorc), така и други като BATF, IRF4, STAT3, KLF4 и т.н.

Важно е да се отбележи, че Th17 клетките и Т регулаторни клетки (Treg), имат общ прекурсор - наивни CD4⁺ Т клетки. В присъствието на TGF- β наивните CD4⁺ клетки получават сигнал за началната диференциация в посока на Th17. В последващите стъпки се дефинират клетъчни линии с тотално противоположни функции. Докато Th17 клетките могат да предизвикат автоимунитет и имат проинфламаторни свойства, Treg инхибират тези феномени и поддържат имунната хомеостаза [45]. Като причина за тези различия се посочва цитокиновата среда, включително влиянието на IL-23 за експанзията на Th17 клетките, значението на транскрипционните фактори, влияещи върху експресията, ролята на генетичните полиморфизми и други.

3. РОЛЯ НА ИНТЕРЛЕВКИН-17 И Th17 КЛЕТКИТЕ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА АВТОИМУННИТЕ БОЛЕСТИ

До началото на хилядолетието автоимунните заболявания се категоризират като предимно Th1 или Th2-медиирани. Благодарение на откриването на нов подклас Т хелпери, а именно продуциращите IL-17 Th17, тази парадигма беше променена. Днес се счита, че много автоимунни заболявания са Th17-медиирани с оглед на установените повишени нива както на клетките, произвеждащи IL-17, така и на самите цитокиновите нива [46].

3.1. Роля на IL-17 при някои неврологични заболявания.

Цитокиновият дисбаланс играе основна роля в патогенезата на някои неврологични заболявания с оглед процесите на олигодендроцитна смърт, невронална дисфункция и аксонална дегенерация, които са отлично систематизирани от J. Milovanovic и сътр. [47]. IL-17 и Th17 CD4⁺ Т клетки са значително повишени при пациенти с множествена склероза [48]. Установено е, че те способстват за нарушаване на кръвно-мозъчната бариера (КМБ) чрез увреда на плътните връзки [21, 47, 49]. Така според някои автори Th17 са едни от основните ефекторни клетки при множествена склероза (МС) [50] и при нейния аналог - експерименталния автоимунен

енцефалит (ЕАЕ). В подкрепа на това становище са установените сигнификантно повишени нива на IL-17 в серума на пациенти с МС в сравнение със здрави контроли [51], както и положителната им корелация с активността на заболяването, която се демонстрира на ЯМР [52]. В унисон с повишените нива на IL-17 в периферната кръв и ликвора на пациенти с МС, е и повишеният брой на Th17 клетките по време на рецидив на заболяването. За разлика от тях нивата на Th1 клетките остават непроменени [50]. Съществуват доказателства, че Th17 първи инфилтрират централната нервна система [53], като в подкрепа на това е установената още в ранните етапи на заболяването продукция на IL-17 и IL-22 от активните лезии [54]. Всички тези факти дават основание на някои автори да определят МС като първично IL-17 медирано заболяване [47, 49].

Някои нови данни показват, че IL-17 би могъл участва и в патогенезата на болестта на Алцхаймер. Амилоид β пептидите, които се откриват в плаките на тези пациенти, увеличават образуването на реактивни азотни и кислородни радикали от микроглиалните клетки, което води до оксидативен стрес, стимулация на Th17 клетките и продукция на IL-17 [55]. In vitro експерименти показват, че последният от своя страна може да предизвика автофагия на неврони и доведе до невродегенерация.

3.2. Роля на IL-17 при ревматоиден артрит.

Въпреки че ролята на IL-17A първоначално е подценявана, още първоначалните резултати показват връзката му с IL-6, продуциран от синовиоцити. През 1999 г. S. Kotake и сътр. установяват, че анти-IL-17 антителата потискат активираните остеокласти от синовиалните структури на пациенти с ревматоиден артрит. По-късно става ясно, че това вероятно се дължи на свойството на IL-17A да индуцира експресията на рецептор активатор NF- κ B лиганд (RANKL) в синовиалите фибробласти и остеобласти, което индиректно води до костна ерозия, а инхибирането на IL-17 спира този процес. Същите автори установяват и значимо по-високи нива на IL-17 при пациенти с ревматоиден артрит в сравнение с пациенти остеоартрит. Интерпретацията на тези резултати с оглед ролята на IL-17 в автоимунната генеза на заболяването, обаче, се изяснява на по-късен етап. През 2003 г. C. Murphy и сътр. демонстрират, че блокирането на IL-23 в миши модели оказва протективна роля върху развитието на автоимунен артрит, а наличието на IL-12 се свързва с повишаване на IL-17 продуциращите клетки и изостряне на

заболяването [56]. Днес е известно, че IL-17A има тригериращ ефект по отношение на синовиита и участва активно в поддържането на локалното възпаление при пациенти с ревматоидния артрит [57]. Така се оформят два механизма на патологично действие на IL-17 при заболяването - нарушения в костната минерализация (костна ерозия) и поддържане на автоимунния процес. Загубата на отговор към TNF инхибиторите според някои автори също би могла да се резултат от нарушения баланс в полза на Th17 отговор [17]. Въпреки множеството доказателства за участието на Th17 и IL-17 фамилията в патогенезата на ревматоидния артрит, обаче, данните по отношение на ефектите от приложението на анти-IL-17 медикаменти са спорни [57]. Отговорни за тези противоречиви резултати може да бъдат разбира се и значимите различия в експресията на IL-17 между отделните пациенти. Необходимо е да се направи подбор на пациентите, които могат да отговорят на терапията с анти-IL-17 антители [57]. Разработването на предикативни маркери все още стои като неразрешен проблем в медицината и са необходими сериозни проучвания и доказателства, за да се достигне до етапа на персонализирана медицина.

3.3. Роля на IL-17 при анкилозиращ спондилит.

Анкилозиращият спондилит (АС) е мултифакторно заболяване с добре установена генетична предиспозиция, свързана с наличието на HLA-B27. То се характеризира с имунен дисбаланс, дължащ се основно на активация на IL-17 оста [58-60]. Още през 2011 г. се установява, че броят на IL-17-секретиращите клетки във фасетните стави на пациенти с АС е значително по-голям в сравнение този на пациенти с други ставни заболявания [61]. Нещо повече, при това заболяване много автори наблюдават значимо по-високи нива на серумния IL-17 в сравнение със здрави индивиди [62, 63]. Високи нива на IL-17, IL-18, IL-23 се откриват и сред български пациенти с АС от М. Иванова и сътр. [64]. Позитивният ефект от анти-IL-17 средствата върху клиничната картина и прогресията на заболяването в животински модели [65], даде зелена светлина за приложението им при хора, което се оказва изключително успешно и бе включено в препоръките на EULAR [66].

3.4. Роля на IL-17 при дерматологични заболявания - псориазис и псориазисен артрит.

Предвид ролята на IL-17A върху кератиноцитите, този цитокин се определя като ключов за развитието на псориазис. Нови данни също показват, че IL-17 оста е

ключова и за развитието на псориазичен артрит [67]. Участие в развитието на заболяването вземат комплекси от собствената ДНК, както и продуциран от епидермиса антимиоксибиален пептид LL37, за които се счита, че отключват отделянето на IFN- α от дермалните пламоцитоидни дендритни клетки [68]. Така сенсублизиранни, тези клетки още в началните фази започват да отделят TNF- α и IL-23, при което се задейства IL-23/ Th17 оста [69]. Подобен механизъм би могъл да съществува и при СЛЕ и в бъбречите структури при ЛН. Кожните биопсии на пациенти с псориазис показват увеличен брой на Th1 и Th17 клетките. Установява се повишена експресия на IL-17, както и на IL-23, IL-22, IL-6 [70, 71]. Под действието на IL-17A, IL-17F и IL-22 кератиноцитите започват да пролиферират и се разгръщат типичните за заболяването клинични признаци [71].

3.5. Роля на IL-17 при възпалителните чревни заболявания.

Патогенезата на възпалителните чревни заболявания (IBD) се свързва с прекомерен и неконтролиран имунен отговор към нормалната микробиота чрез активация на Т хелпери (CD 4+) [72]. Класическото схващане беше, че болестта на Крон е предимно Th1-асоциирано заболяване, а улцерозният колит - Th2-медирано състояние [73]. Впоследствие обаче се установява, че и при двете заболявания има повишено наличие на Th17 в чревната мукоза, а цитокините, отделяни от тези клетки, играят ключова роля в патогенезата и на двете заболявания [44, 73]. При физиологични условия IL-17 осигурява защитата срещу бактерии и гъби [74], но при някои недобре проучени обстоятелства могат да се окаже патологичен фактор, отговорен за поддържане на интестиналното възпаление [44]. Причините за промяна в цитокиновия профил при IBD е предмет на научен интерес и от страна и на български учени [44]. При пациенти с болестта на Крон се установяват повишени нива на IL-17A в ламина прориа [75], а при пациенти с ХУК се установява корелация между активността на заболяването и нивата на IL-17A, отделяни от мононуклеарните клетки [76]. Това прави IL-17A възможна терапевтична мишена. Освен данни за повишени нива на IL17A и IL-17F, в интестиналния тракт на пациенти с IBD се наблюдават повишени нива и на други свързани с тях цитокини като IL-22 и IL-26 [77]. В опити да се установят причините за тези отклонения в нивата, се провеждат и независими широкомащабни асоциативни генетични проучвания. Резултатите от тях показват участие на IL23/IL-17 оста в патогенезата на заболяването. Установяват се полиморфизми в Th17-свързаните гени като *STAT3* и

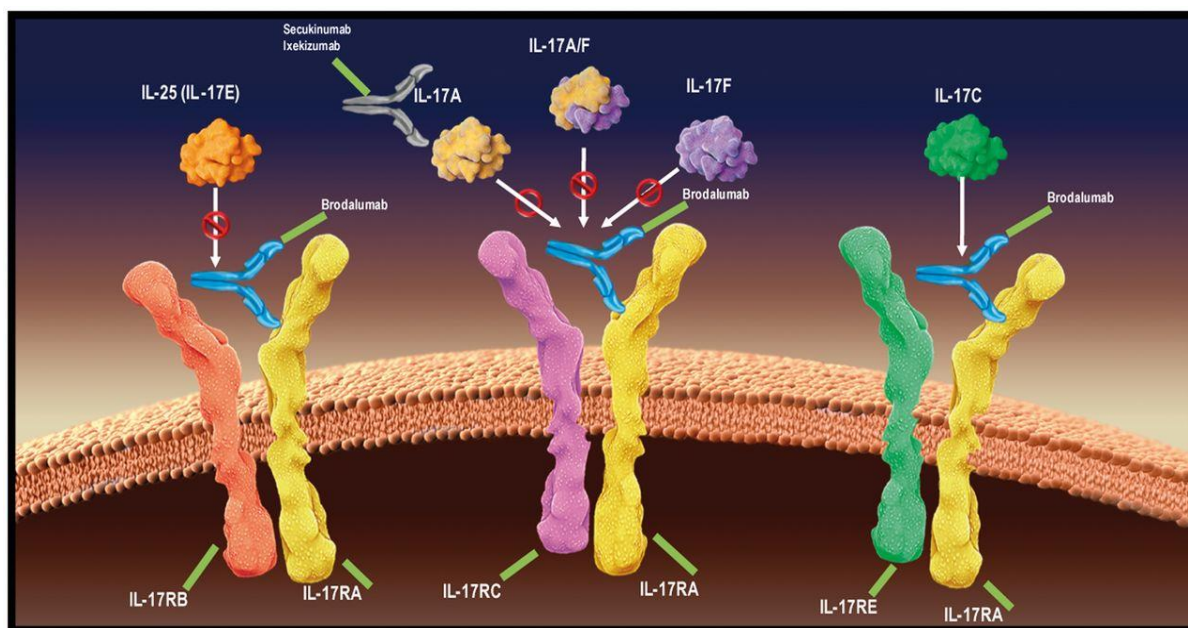
IL-23R [78], както и повишени нива на *IL-17A* мРНК в мукозата. Тези данни заедно с добрите резултати от приложението на анти-*IL-17* медикаментите при пациенти с псориазис и псориагичен артрит стават причина да се проучи тяхната ефикасност и безопасност при пациенти с IBD, но резултатите показват парадоксален ефект [79]. Оказва се, че анти-*IL-17* терапията не само не подобрява състоянието, а дори парадоксално може да доведе до влошаване на чревното възпаление при тези пациенти. Всичко това води до въздържане от по-нататъшни клинични проучвания на този клас медикаменти при пациенти с IBD, а подлежащите причини са подложени на задълбочен научен анализ.

3.6. Роля на *IL-17* при гломерулонефрити.

Известно е, че в патогенезата на гломерулонефритите участват различни Т клетъчни полулации, като доказателствата за ролята на Th17 клетките и *IL-17* са много. Още през 2009 г. в журнала на Американското нефрологично дружество е публикувана статия за ролята на оста *IL23/Th17* в бъбречната увреда при експериментален модел на гломерулонефрит [80]. През 2011 г. в миши модели се установява, че *IL-17A* допринася за ранната гломерулна увреда при полулунен гломерулонефрит [81], а нови задълбочени проучвания показват ролята на *IL-17RC* сигнализацията при развитието на имуномедиирани бъбречни заболявания [82]. Установено е, че в 53% от пациентите с мембранозна нефропатия, прогресията на заболяването зависи от факторите на средата и Th17 медиацията клетъчен отговор е водещ, а високите серумни нива на *IL-17A* се свързват с лоша прогноза. При тези пациенти са налице повече тромбоемболични усложнения и по-чести рецидиви на заболяването [83]. *IL-17* се оказва важен цитокин и при IgA нефропатията. Пациентите с IgA нефропатия имат по-високи нива на *IL-17* в сравнение със здрави контроли [84]. Установено е, че *IL-17* води до увеличена продукция на аберантно гликозилирани IgA1 в DAKIKI клетки [85], което кара някои автори да предполагат подобен механизъм и *in vivo* от страна на В клетките [84, 86]. Все повече доказателства се откриват относно ключовата роля на оста Th17/*IL-17* при СЛЕ и особено при лупусен нефрит [39], които ще бъдат разгледани отделно. Все още причините за наблюдаваните патологични отклонения остават неясни, но както отбелязват К. Ramani и Р. Biswas, познаването на процесите, свързани с Th17/*IL-17*, може да спомогне за намиране нови терапевтични стратегии за лечението при различни форми на гломерулонефрити [87].

4. АНТИ-IL-17 МЕДИКАМЕНТИ И КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ.

Ролята на IL-17A в патогенезата на някои автоимунни заболявания като анкилозиращия спондилит и псориатичния артрит се потвърждава и от ефикасността, която показва лечението с инхибитори на IL-17A. Окуражителните резултати водят до разработване на нови молекули, действащи на различни нива по оста Th17/IL-17/IL-17R/IL-23. Някои от най-използваните представители на анти-IL-17 медикаментите и механизмът им на действие са представени на фигура 2.



Фигура 2. Анти-IL-17 медикаментите и механизъм на действие - Секукинумаб, Иксекизумаб, Бродалумаб.

Секукинумаб (Secukinumab) е първото изцяло хуманизирано IgG1 моноклонално антитяло насочено срещу IL-17A. След положителните резултати от три големи рандомизирани плацебо контролирани проучвания, обхващащи общо 3866 участника, през март 2016 г. и април 2016 г. лекарственото средство е одобрено от FDA и съответно EMA за лечение на умерено тежък до тежък плакетен псориазис. През декември 2017 г. FDA разширява показанията и за псориатичен артрит [88, 89]. Секукинумаб показва добра ефикасност и ниска имуногенност при пациенти с псориазис, лекувани в продължение на пет години [90]. Проучванията MEASURE 1 демонстрират дългосрочни позитивни ефекти при пациентите с АС [91-93]. В друго клинично изпитване Секукинумаб показва ефикасност по отношение на забавянето

на рентгенологичните промени при пациентите с АС, при които не е постигнат добър контрол чрез anti-TNF инхибитори [94].

Иксекизумаб (Ixekizumab) е друго хуманизирано IgG4 anti-IL-17A антитяло. То показва структурни различия със секукинумаб, които осигуряват по-висок афинитет към IL-17A [95]. През 2017 г. е одобрено е от FDA за лечение на псориаатичен артрит, през 2019 г. е одобрено за радиографски аксиален АС, а през 2020 г. и за нерадиографски АС [96]. В краткосрочен аспект лечението с Иксекизумаб на псориазис показва по-добри резултати в сравнение със Секукинумаб [97] и по-добър отговор по отношение на кожните прояви (PASI) в сравнение с адалимумаб [98].

Нетакимаб (NTK) е също напълно ново хуманизирано антитяло срещу IL-17A в процес на клинични проучвания при анкилозиращ спондилит [58].

Бизекинумаб Bimekizumab (496.g3 IgG1) е ново хуманизирано IgG1 антитяло, което за разлика от Секукинумаб и Иксекизумаб неурализира не само IL-17A, а и IL-17F [99]. При сравнение на Бизекинумаб с наличните Иксекизумаб и Секукинумаб чрез изследване на нивата на IL17A *in vitro*, Бизекинумаб (496.g3 IgG1) показва сходен афинитет към IL-17A с Иксекизумаб, далеч по-голям от този на Секукинумаб. Към момента проучванията, в които той се изпитва BE ACTIVE и BE AGILE показват добра ефикасност в лечението на псориаатричен артрит и АС в краткосрочен план [100, 101].

Сонелокимаб (Sonelokimab) е тривалентна наночастица в начален етап на изпитване, чиято мишена също са едновременно IL-17A и IL-17F [101];

Още един лекарствен продукт, свързан с IL-17 фамилията, е Бродалумаб (Brodalumab). Той представлява рекомбинантно изцяло хуманизирано антитяло (IgG2), което е насочено срещу рецептора IL-17RA и се свързва с него с висок афинитет. Чрез блокирането му всъщност се възпрепятства действието на голяма част от цитокините във фамилията включително IL-17A, IL-17F, IL-17A/F, IL-17E (IL-25) и IL-17C (фигура 2). Към момента Бродалумаб също е разрешен за употреба от FDA за лечение на умерен до тежък плакетен псориазис, при липса на отговор от предходна системна или локална терапия [102-104].

Други нови лекарствени средства, които таргетират оста Th17/IL-17/IL-17R/IL-23 и заболяванията, при които са разрешени за употреба са обобщени в таблица 1.

Таблица 1. Нови лекарствени средства, таргетиращи оста Th17/IL-17/IL-17R/IL-23 по Н. Tsukazaki и Т. Kaito [96]

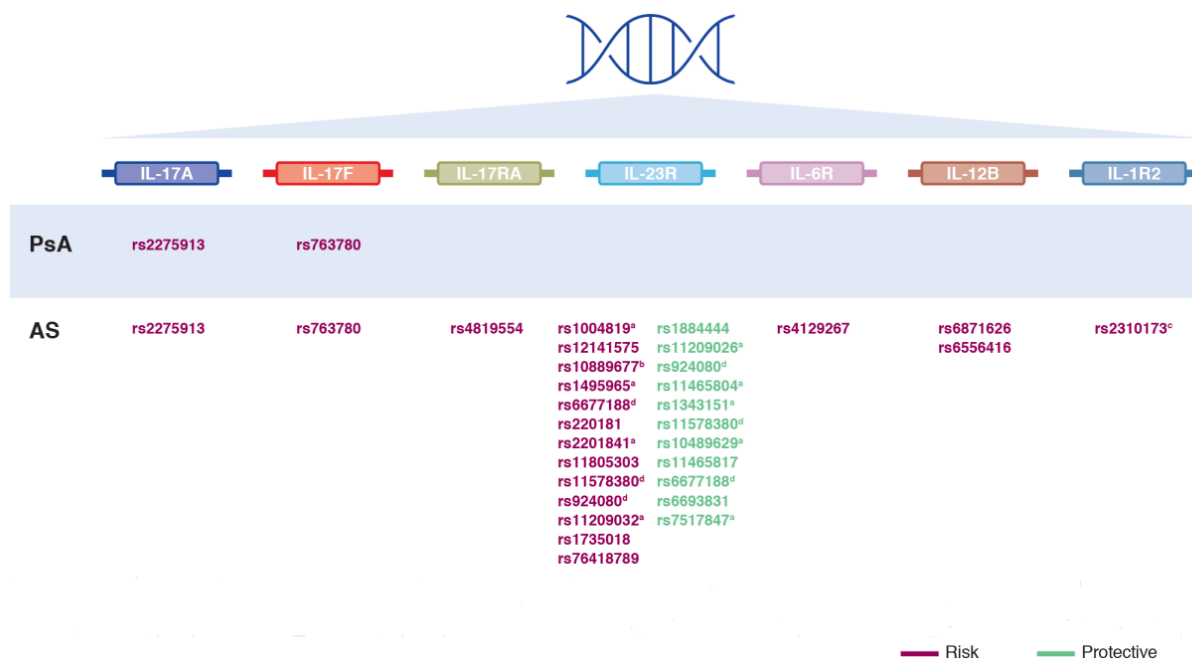
Наименование	Таргетен цитокин	Употреба при заболявания
Ustekinumab	IL-12 p40 /IL-23 p40	псориазис, улцерозен колит, Болест на Крон (в процес на клинични изпитвания при СЛЕ)
Guselkumab	IL-23 p19	псориазис
Tildrakizumab	IL-23 p19	псориазис
Rizankizumab	IL-23 p19	псориазис
ABT-122	IL-17A/ TNF- α	в процес на клинични проучвания

Като цяло IL-17A инхибиторите показват добра ефикасност по отношение на всички клинични изяви на псориазиса, псориазичния артрит и анкилозиращия спондилит включително дерматит, периферен артрит, дактилит, ентезит при същевременно добър профил на дългосрочна безопасност с ниски нива на сериозни инфекции, кандидоза и малигнени заболявания, без данни за увеличаване на екзацербациите на IBD. Все пак обаче е необходимо по-дълго проследяване и наличие на данни от реалната клинична практика.

Добрите резултати от лечението с IL-17 инхибиторите потвърждават основната роля, която този цитокин играе в патогенезата на псориазиса, псориазичния артрит и анкилозиращия спондилит. Съществуват обаче и заболявания като възпалителните чревни заболявания, увеитите, при които въпреки доказателства за участието на IL-17 на някакъв етап от патогенезата, анти-IL-17 терапията не води до желаното подобрене. В опити да се обясни този парадоксален ефект на анти-IL-17 при пациенти с IBD се провеждат експерименти в животински модели. Те разкриват двойствения характер на IL-23/IL-17 оста. Резултатите от тях показват, че анти-IL-23 антителата възпрепятстват пролиферацията на Th17 и така подобряват състоянието, но неутрализацията на IL-17 нарушава чревната хомеостаза и интегритета на чревната стена [79]. Ролята на оста Th17/IL-17/IL-23 по отношение на системния лупус и специално на лупусния нефрит засега остава обект на сериозен научен интерес, като данните за приложението на лекарствени средства насочени към нея са оскъдни и базирани предимно на отделни клинични случаи, разгледани по-долу.

5. ЕДИНИЧНИТЕ НУКЛЕОТИЧНИ ПОЛИМОРФИЗМИ ОТ СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 - РОЛЯ ПРИ АВТОИМУННИТЕ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Съществуват данни, че някои единични нуклеотидни полиморфизми, в гените, отговорни за IL-17 сигнализацията, могат да доведат до промени в трансдукцията на сигнала. Наличието им води до предиспозиция към развитие на автоимунни, малигнени и инфекциозни заболявания. Така Y Lu и сътр. в своя метаанализ, показват че полиморфизмът IL-17A (-197G/A) rs2275913 е свързан с повишен риск от развитие на туморни заболявания [105], а Z. Yu и сътр. установят, че TT генотипът от IL-17A rs3748067 е рисков фактор за развитие на туберкулоза сред азиатската популация [106]. Генетичната предразположеност, свързана с IL-17 сигнализацията за развитието на автоимунни заболявания, представлява огромен научен интерес особено в последните години. Провеждат се голям брой проучвания, насочени към значителен брой нозологични единици в сферата на автоимунните заболявания. Предвид някои различия в получените резултати, част от данните биват обобщавани в системни ревюта и метаанализи, позволяващи по-голяма достоверност на направените изводи. Подобен анализ от Y. Jin и сътр. доказва значението на полиморфизмите IL-17F rs1889570 (C/T), IL-17A rs4711998 (A/G) и IL-17A rs3819024 (A/G) като потенциален рисков фактор за развитие на астма [107], а I. Agonía и сътр. в наскоро публикуван метаанализ установяват, че полиморфизмите IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 са значим фактор за предиспозиция към ревматоиден артрит [108]. Както при псориазичен артрит, така и при анкилозиращ спондилит се установяват асоциации с варианти в гените, кодиращи IL-17A, IL-17RA, IL-12 p40 субединицата, IL-23 p19 субединицата и IL-23 рецептора [67]. Подробно нуклеотидните полиморфизми в съответните гени при тези заболявания са представени на фигура 3.

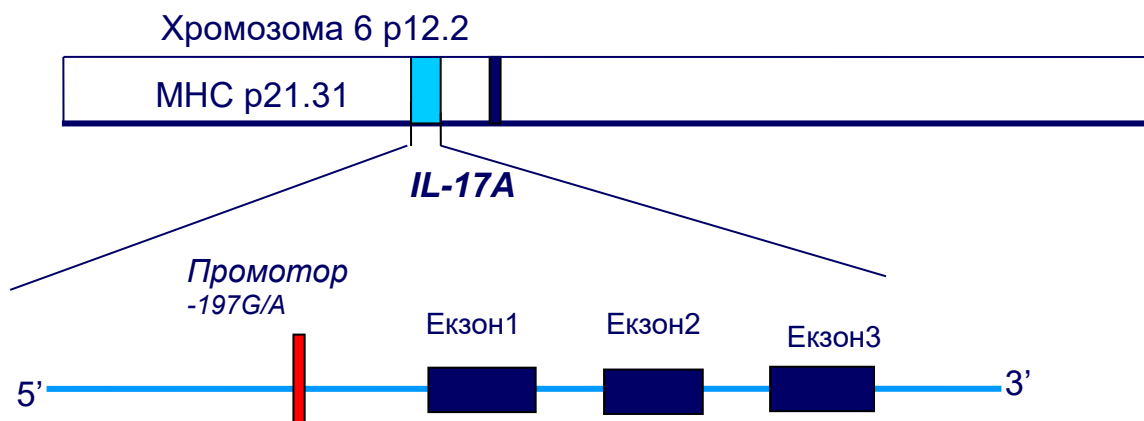


Фигура 3. Рискови (в лилаво) и протективни (в зелено) единични нуклеотидни полиморфизми в гени от сигналния път на IL-17 при псориатичен артрит (PsA) и анкилозиращ спондилит (AS) по Dennis G McGonagle и сътр. [67]

Единични нуклеотидни полиморфизми в гените на молекули, свързани с IL-17 сигнализацията, като TYK2, TRAF3IP2 и STAT3, също се счита, че могат до доведат до аберантно предаване на сигнала и съответно до развитие на автоимунно заболяване. Важната роля на генетичните варианти в оста IL-17/IL-23 при псориатичен артрит е фокус и на един наскоро публикуван обзор [109]. R. Hayashi и сътр. изследват и доказват ролята на *IL17A*, rs2275913 (-197 G > A) и rs3748067 (*1249 C > T) в предразположението и протичането на улцерозен колит [110].

5.1. Генетична организация на *IL-17A* гена и роля на полиморфизмите му при автоимунни заболявания

Генът *IL-17A* е локализиран върху късото рамо на 6-та хромозома бр12.2, където се намира и силно полиморфният участък на МНС клас I, II, III (p21.31), като последният включва и *TNFA*. *IL-17A* се състои от 3 kb и съдържа 3 екзона. Схематично е представен на фигура 4. До момента в промоторния регион, екзоните и 3'-непреведения район на *IL-17A* гена са идентифицирани голям брой SNPs.



Фигура 4. Ген за *IL-17A* (модифицирана по М. А. Ponce-Gallegos [111])

Съвременни проучвания предполагат, че заместването на азотната база гуанин с аденин на позиция -197 в промоторния район на *IL-17A* гена води до функционална промяна и може да повлияе нивата на *IL-17A*. Едно наскоро проведено изследване показва, че носителите на А алела от този полиморфизъм имат намалени нива на *IL-17A* [112]. In silico проведени проучвания показват, че полиморфизмът *IL-17A* rs2275913 (-197 G > A) би могъл да доведе до промени в модела, по който транскрипционният фактор IRF4 се свързва с промотора, повлиявайки неговата активност [113]. Повишената активност от своя страна би могла да засили *IL-17A*-медираните отговори. Както беше посочено по-горе, съществуват данни за асоциация на полиморфизма rs2275913 с голям брой заболявания, сред които псориазис [114], ревматоиден артрит [108], улцерозен колит [110], пурпура на Henoch-Schonlein [115], астма [116], Vogt-Koyanagi-Harada [117], прееклампсия [118]. Тъй като не липсват и проучвания за неутралност по отношение на генната експресия, мненията относно значението му не са категорични. Ролята му по отношение на системния лупус и лупусния нефрит също остава спорна, като до момента са проведени относително малък брой проучвания.

5.2. *IL-17RC* и автоимунни заболявания. Роля на полиморфизмите в кодиращия го ген.

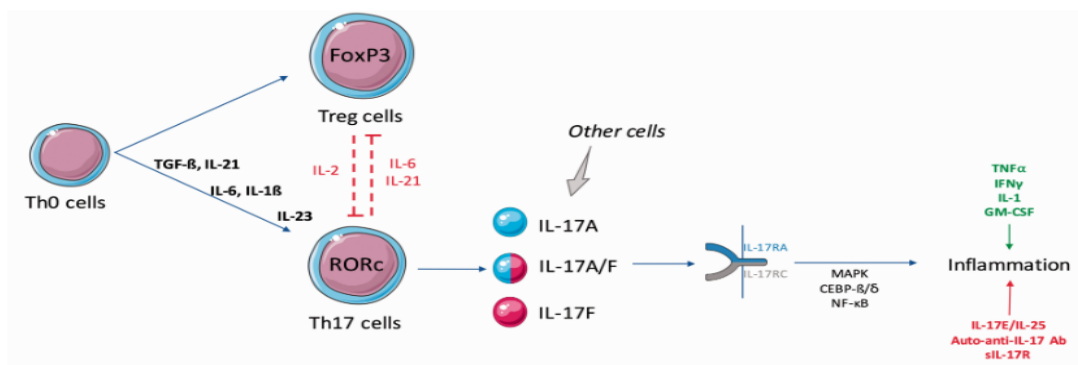
Както беше показано, членовете на *IL-17* фамилията и в частност *IL-17A* и *IL-17F* осъществяват класическата сигнална трансдукция чрез рецепторен комплекс - димер. Според Но и Gaffen водеща роля в модулирането на сигнала в хетеродимерите

IL-17RA/IL-17RC има C субединицата [35]. Така фокусът на изследванията от IL-17A и IL-17RA постепенно се насочва към проучвания, обхващащи цялата фамилия. Научният интерес към IL-17RC нараства в последните няколко години. Публикация от 2021 г., поместена в периодиката на Американското дружество по нефрология, на базата на проучвания върху животински модели, разкрива значението на IL-17RC в Th17 сигнализацията при имуномедиирани бъбречни заболявания и акцентира върху терапевтичните възможности, които тези данни откриват [82]. В друга наскоро излязла публикация се съобщава за значително повишена експресия на IL-17RA и IL-17RC в моноцити, изолирани от пациенти с булозен пемфигоид [119]. Поради увеличаване на данните относно важността на IL-17RC, генетичната предиспозиция също представлява научен интерес. Установено е, че полиморфизмът rs708567 C/T в 4-ти екзон на гена *IL-17RC* представлява мисенс (missense) мутация, за която се предполага, че играе важна роля в дисфункцията на рецептора [120]. С оглед неимунологичните свойства на IL-17 фамилията, първоначалната насока на изследване е свързана с костния метаболизъм. Проучванията установяват асоциация на полиморфизма rs708567 в IL-17RC с развитието на идиопатична сколиоза [120]. Ролята му при автоимунните заболявания тепърва започва да се проучва. Наскоро T. Dhaouadi и сътр. за първи път изследват влиянието на този полиморфизъм при пациенти с ревматоиден артрит, макар да не откриват асоциация със заболяването [121]. J. Wielńska и сътр., при проучване върху няколко полиморфизма в гените за IL-17A и F и техните рецептори при пациенти с анкилозиращ спондилит, установяват, че хомозиготите по А алела на rs708567 в *IL-17RC* гена имат по-ранно начало на заболяването [122]. Ролята на този полиморфизъм при СЛЕ и лупусен нефрит до този момент не е проучвана.

5.3. TGF- β - роля в оста Th17/IL-17/IL-17R и полиморфизми в кодиращия го ген при автоимунни заболявания.

Както стана ясно, повечето нови проучвания подкрепят значението на TGF- β в началния етап на Th17 клетъчната диференциация (фигура 5). В промоторния регион на кодиращия го ген е установен функционален полиморфизъм rs1800469, познат още като -509 C>T или -1347 C>T. Според повечето проучвания T алелът се свързва с повишени нива на TGF- β , тъй като предотвратява свързването на супресорния транскрипционен фактор AP1 в промоторния регион [123]. На тези промени се отдават свързаните с T-алела негативни асоциации с различни сърдечно съдови, злокачествени

и някои автоимунни заболявания, сред които ИгА нефропатия [124], ревматоиден артрит [125] и СЛЕ [126]. В проучването върху ревматоиден артрит сред бразилската популация Т алелът, освен че се оказва рисков за развитието на ревматоиден артрит, TGFβ1 -509ТТ генотипът се асоциира с по-висока честота на умерено и тежко протичащите форми със скор на болестна активност DAS28 ≥ 3.2 (OR 2.58, 95% CI 1.04-6.42, p = 0.041). Изследване върху същия полиморфизъм сред български пациенти с ревматоиден артрит не потвърждава неговата роля като рисков фактор за развитие на заболяването [127]. Подобни разнопосочни данни се откриват по отношение на ролята му при СЛЕ [124].



Фигура 5. Схематично представяне на съвременната концепция за етапите на сигналния път Th17/IL-17/IL17R по М Robert и Р Miossec [128]. Роля на ключови цитокини в процеса на Th17 диференциацията. Значение на TGF-β в ранните фази на процеса.

6. СИСТЕМЕН ЛУПУС ЕРИТЕМАТОЗУС И ЛУПУСЕН НЕФРИТ

Системният лупус еритематозус (СЛЕ) е комплексно аутоимунно заболяване с хронично-рецидивиращ ход на протичане и неизвестна етиология и затова е необходим мултидисциплинарен подход при неговото изучаване.

Заболяемостта от СЛЕ варира между 20 и 50 души на 100000, като за България тя е средно около 38/100 000 [129]. Въпреки че СЛЕ се наблюдава във всички раси, трябва да се отбележи, че афроамериканците и латиноамериканците страдат по-често в сравнение с индивиди от бялата раса, а най-висока честота в света е регистрирана в Бразилия. Друга характерна особеност за СЛЕ е, че женският пол е значително по-засегнат, като съотношението мъже/жени достига до 1:9. Системният лупус може да се прояви във всяка възраст, но обикновено първата изява на болестта е в периода между 2^{-рата} и 4^{-тата} декада. Поради влошеното качество на живот и повишената смъртност на болните [130], СЛЕ представлява социално значим проблем.

Особено значение за прогнозата и преживяемостта на пациентите със СЛЕ е липсата или наличие на лупусен нефрит. При 7-38% от пациентите лупусният нефрит се установява още при поставяне на диагнозата СЛЕ [131-133], а 31-48% развиват клинично изявен ЛН през следващите 5 години [133]. Предполага се, че процентът на засягането е значително по-голям, но поради субклиничното протичане остава недиагностициран. При проведена ПББ, хистологични промени се откриват в 40 до 76% от пациентите със СЛЕ [133]. По литературни данни клас IV е най-често наблюдаваният вариант, който има и най-лоша прогноза. За период от 10 години 6-22% от пациентите с лупусен нефрит достигат до терминална бъбречна недостатъчност, независимо от приложението на съществуващите терапевтични средства [134].

6.1. Кратък исторически преглед

Данни за развитие на СЛЕ съществуват от повече от 2 хилядолетия. Хипократ 460-375 г. пр. Хр. първи описва кожни улцерации под наименованието herpes esthiomenos [135]. Въвеждането на термина лупус (от латински "вълк" заради приликата на дискоидния лупус с рана от ухапване от вълк), традиционно се приписва на Roger Frugardí през 1230 г. [136]. През Средновековието с термина lupus се означават широк диапазон от улцеративни кожни заболявания, включително лепра, туберкуоза, сифилис, кожен рак, както и самият лупус.

Като първо добре дефинирано описание на лупуса под наименованието *erythema centrifugum* се приема направеното от френския дерматолог Pierre Louis Alphée Cazenave през 1833 г. През 1851 г. Cazenave заменя термина *erythema centrifugum* с *lupus érythémateux*, като дава класическо описание на дискоидния лупус еритематозус [137]. По-късно терминът е заменен с латинското *lupus erythematosus* от венецианския лекар Ferdinand von Hebra [138]. Той е и първият лекар, който описва маларийния обрив на лицето и го оприличава на пеперуда. През 1872 г. Karosi също дава своя принос за изясняване на клиничните характеристики на лупуса. Той разделя признаците на кожни и системни и въвежда концепцията, че системното заболяване би могло да има летален изход [139]. Hutchinson за първи път обръща внимание върху фоточувствителния характер на обрива. През 1894 г. Payne предполага наличието на васкуларни нарушения и въвежда употребата на хинин за лечение на лупус [140]. През 1902 Sequira и Valean публикуват серия от пациенти с дискоиден и системен лупус, като описват детайлно случай на млада жена с гломерулонефрит, довел до летален изход [139]. Между 1895 и 1904 г. Sir William Osler публикува 29 случая от групата на еритемните заболявания. От днешна гледна точка е ясно, че повечето от включените пациенти не са били с лупус, но най-големият принос на работата му са посочените различни системни прояви, обвързани с кожните лезии и първоначалните опити за систематизация на заболяването [140].

Съвременната история на лупуса е белязана от откриването на лупусни клетки (LE клетки) от Hargraves през 1948 г., на антинуклеарни антитела от Miescher през 1954 г. и от откритието на Селигман през 1957 г., че части от ДНК са основните антигени, срещу които са насочени антинуклеарните антитела [139].

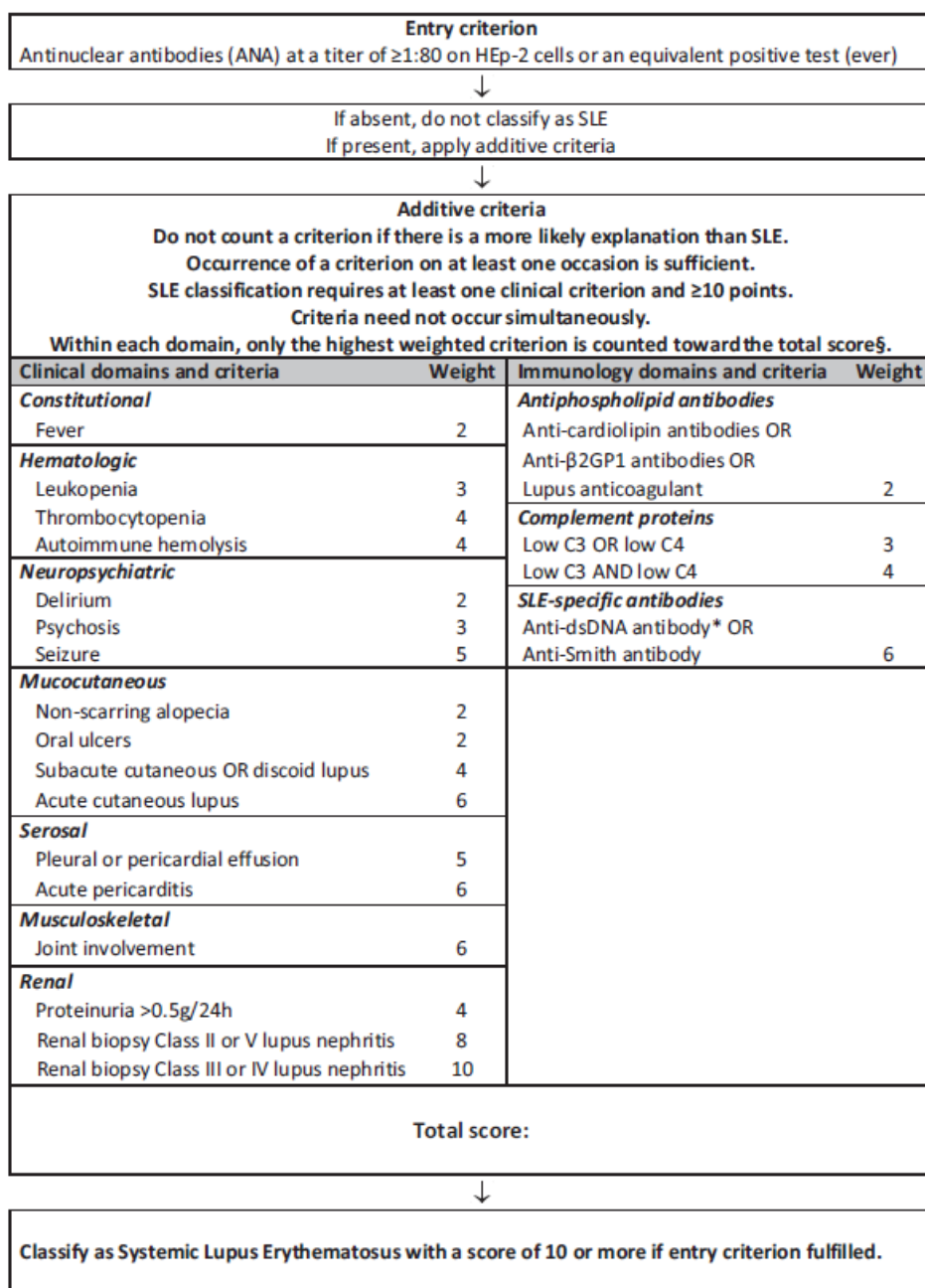
6.2. Диагноза, класификация и индекси за оценка на СЛЕ. Дефиниция за рецидив и ремисия.

В последните десетилетия непрекъснато се правят опити за разработване на нови и по-точни класификационни критерии за СЛЕ - ACR-1971, ACR-1982, ACR-1997, SLICC-2012 представени на таблица 2 и EULAR/ACR 2019 г. представени в фигура 6.

Таблица 2. Класификационни критерии за СЛЕ - ACR-1971, ACR-1982, ACR-1997, SLICC 2012[141], [142], [143], [144], [145], [146].

1971	1982	1997	2012
			Клинични критерии
1.Обрив на лицето	1.Малариен обрив	1.Малариен обрив	1. остър кожен лупус
2.Дискоиден лупус	2.Дискоиден обрив	2.Дискоиден обрив	2. хроничен кожен лупус
3. Фотосензитивност	3.Фотосензитивност	3.Фоточувствителност	3.Фоточувствителност
4.Орални и назални улцерации	4.Орални и назални улцерации	4.Орални и назални улцерации	4.Орални назофарингеални улцерации
5.Алопеция			
6.Феномен на Рейно			
7.Недеформиращ артрит	5.Артрит - неерозивен артрит, обхващащ 2 или повече стави.	5.Неерозивен артрит, обхващащ 2 или повече стави, с болка и подуване	5. Синовиит, засягащ 2 или повече стави.
8.Плеврит или перикардит	6. Серозит -плеврит или перикардит	7.Плеврит или перикардит	6. Серозит
9. Протеинурия	7. Бъбречно засягане с протеинурия или наличие на клетъчни цилиндри	7. Бъбречно засягане с протеинурия или наличие на клетъчни цилиндри	7. Бъбречно засягане
10.Клетъчни цилиндри			
11.Психоза или конвулсии	8.Неврологично засягане с гърчове и психоза	8.Неврологично засягане с гърчове и психоза	8.Неврологично засягане
12.Хемолитична анемия или левкопения или тромбоцитопения	9.Хематологично засягане хемолитична анемия или левкопения или лимфопения тромбоцитопения	9.Хематологично засягане хемолитична анемия или левкопения или лимфопения тромбоцитопения	9.Хемолитична анемия
			Левкопения и лимфопения
			Тромбоцитопения
13. LE клетки	10.Имунологични нарушения Позитивни LE клетки Анти-ДНК антитела Анти-Sm антитела	10.Имунологични нарушения 1.Анти-ДНК антитела към нативна ДНК 2.Анти-Sm антитела	10. Имунологични критерии
14. Позитивен тест за сифилис			1.АНА
			2.Анти-двДНК антитела
			3.Анти-Sm антитела

	Позитивен тест за сифилис	3.Позитивни антифосфолипидни антитела -IgGили IgM антикардиолипинов и антитела -позитивен лупусен антикоагулант -фалшиво положителен тест за сифилис	4.Позитивни антифосфолипидни антитела средно до високотитърни антикардиолипинови антитела анти-β2 гликопротеин 1 5.Ниски нива на комплемента
	11.Позитивни АНА	11.Позитивни АНА	6.Положителен директен тест на Coombs при липса на хемолитична анемия. -позитивен лупусен антикоагулант



Фигура 6. Класификационни критерии EULAR/ACR 2019[147]

Основно оценката на класификационните критерии се извършва на базата на параметрите специфичност и чувствителност, показани в таблица 3.

Таблица 3. Специфичност и чувствителност на класификационните критерии

	Чувствителност	Специфичност
ACR 1997	82,8	93,4
SLICC 2012	96,7	83,7
EULAR/ARC 2019	96,1	93,4

Така разработените SLICC критерии при сравнението им с критериите на ACR 1997 г. показват сходна специфичност при по-голяма чувствителност в полза на SLICC. Освен това впечатление прави, че се отдава все по-голямо значение на лупусния нефрит. Така според скорвата система на EULAR/ACR-2019 пациенти с проведена ПББ, отговаряща на клас III или IV лупусен нефрит, получават директно 10 точки, с което състоянието се класифицира като СЛЕ, разбира се при изпълнен входящ критерий [147].

При пациенти с начално заболяване SLICC и EULAR/ACR критериите са по-специфични от ACR, а EULAR/ACR и показват и по-голяма чувствителност, но въпреки това пациенти с потенциално тежък лупус могат да бъдат пропуснати [148]. Затова продължава да се счита, че за поставяне на диагнозата особено важен е и клиничният опит [149].

Друг важен проблем при системния лупус е измерването на болестната активност, която е от съществено значение при подбора на пациенти в научни разработки и клинични проучвания, при сравняването на различни пациентски групи, мониторинг на клинични резултати при провеждане на терапия [150].

От началото на 80-те години на миналия век до момента са разработени различни методи - въпросници като Systemic Lupus Activity Questionnaire [SLAQ] [151] и индекси, по които това се осъществява, част от които се използват и днес с някои модификации. Основните индекси за оценка са обобщени в таблица 4.

Таблица 4. Индекси за оценка на болестната активност при СЛЕ

BILAG (British Isles Lupus Assessment Group index) и BILAG-2004
SLEDAI SLEDAI-2000 (SLEDAI-2k)
SELENA-SLEDAI Safety of Estrogens in Lupus National Assessment study-SLEDAI (a modified version of the SLEDAI)
PGA Physician Global Assessment
SFI (SLE Flare Index)
SLE Responder Index (SRI)
CLASI Cutaneous Lupus Erythematosus Disease area and severity Index.
BICLA (British Isles Lupus Assessment Group-Based Composite Lupus Assessment)

BILAG е индекс, който оценява активността на заболяването на базата на точкова система, оценяваща 8 органа от А до Е [152, 153]. Оригиналната версия е публикувана 1988 г., като през 2005 г. е направено осъвременяване, извесно като

BILAG-2004, в което допълнително се включва абдоминална и офталмологична оценка. BILAG-2004 категоризира органната активност за последните 4 седмици, като А се свързва най-висока активност, а Е - с липсата на такава. Предимство на метода е, че позволява сравнение по множествени категорийни вариабилни, но изисква добре обучен екип и е трудоемък. За улеснение е разработена компютърна програма, която автоматично изчислява BILAG - известна като BLIPS (British Lupus Integrated Prospective System) [3].

SELENA-SLEDAI (Safety of Estrogens in Lupus National Assessment study-SLEDAI)

SELENA-SLEDAI индексът първоначално е разработен за оценка безопасността от употребата на естрогени за развитие на СЛЕ в популационно проучване. Отчитат се белези на активност като обриви, мукозни улцерации, алоpecia, които до този момент не са били обект на оценка, както и някои субективни оплаквания. Освен оценката на субективни критерии един недостатък на SELENA-SLEDAI индекса е, че дълго време не е бил валидиран.

SLEDAI-2000 (SLEDAI-2K) е въведен през 2002 г. като способ за обща оценка на активността на СЛЕ. SLEDAI-2K индексът е модификация на оригиналната версия, който допълнително документира оценка на обрив, алоpecia, лигавични прояви, протеинурия. С времето, при провеждането на валидации, SLEDAI-2K се е доказал като по-чувствителен метод от оригиналната версия. SLEDAI-2K индексът е силно предикативен и по отношение на смъртността при пациенти със СЛЕ [154]. Общата оценката на активността на СЛЕ, лесното приложение на валидирани форми го правят един от най-често използваните методи за клинични и научните цел [150].

PGA (Physician global assessment)

През 1988г., Liang и сътр. [155] определят необходимостта от разработването на валидиран, надежден и отчитащ промяна на състоянието на пациентите със СЛЕ метод. Те предлагат това да става по визуално-аналогова скала, която да обхваща шест елемента, което стои в основата на PGA [155]. Терминът “Physician Global Assessment” (PGA) (в превод) лекарска глобална оценка, е използван за първи път през 1991 г. от М. Petri и сътр. [156], за да се направи визуална оценка на активността на заболяването в скала от 0 до 3. Нарастването с една единица от последната визита показва наличието на екзацербация на заболяването. Последните препоръки на EULAR/ACR PGA съветват PGA да се използва при рутинното проследяване на СЛЕ, но няма точни указания как това да се осъществява и надеждността на метода е ограничена [157].

SFI индексът е полезен за по-добра оценка на периодите на екзацербация на заболяването, като той все по-често се използва при клинични проучвания [158].

CLASI е индекс, който оценява предимно кожнолигавичното засягане.

Комбинирани индекси - сред тях най-широко разпространен е British Isles Lupus Assessment Group-Based Composite Lupus Assessment (BICLA), който е разработен като експерно ниво на оценка на активността на заболяването. BICLA включва едновременно оценката на BILAG 2004, SLEDAI-2K и PGA и се изисква да няма промяна и по трите индекса едновременно, за да се отчете липса на прогресия. Използва се най-вече в големи рандомизирани клинични проучвания [159].

Освен оценка на активността на заболяването, важно е да се оценят системните и органните увреждания, дължащи се както на самото заболяване, така и на провежданата терапия. Индексът на органна увреда - SDI (SLICC/ACR Damage Index) е разработен през 1996 г., за да се оценят необратимите увреди независимо дали са резултат от активността на заболяването или провежданото лечение [160]. Този индекс включва оценка на 39 елемента, които оценяват дихателна, сърдечно съдова, гастроинтестинална, отделителна и мускулоскелетна система. Изисква се дерматологичен, офталмологичен, невропсихиатричен статус, оценка на смущения в гонадната функция, информация относно наличието на диабет и развитието на малигнени състояния и др. Степента на увреда зависи силно от активността на заболяването и неговата давност [161].

Резултатите получени за бъбречната увреда при СЛЕ между различните проучвания варират от 8% сред китайската популация до 37.5% при проучване сред пакистански пациенти със СЛЕ [161, 162]. Нещо повече последните автори установяват, че степента на бъбречна увреда през първата година е предикативен фактор за смъртност в рамките на следващите 10 години.

Дефиниция за рецидив на лупусен нефрит. Дефиниции за ремисия. Видове ремисии.

Рецидив на СЛЕ се дефинира болестна активност, налагаща подновяване на имunosупресивното лечение. Като рецидив на лупусен нефрит се приема увеличение на серумния креатинин с 25% с наличие на активен седимент или повишение на протеинурията с повече от 1г/24ч след пълна ремисия или с повече от 2г/24ч или двойно увеличаване от изходната стойност при частична ремисия [163].

Наличието или липсата на ефект от провеждането на лечение при СЛЕ е наложило употребата на няколко основни понятия - клинично-лабораторна ремисия,

съответно пълна ремисия, частична ремисия или липса на отговор към терапията. За пълна ремисия основните критерии включват uPCR <0.5 g/g, липсата на патологичен седимент, серумен албумин и серумен креатинин в референтни граници. В уринния седимент не трябва да се открива гломерулна хематурия (т.е. > 5% дисморфни еритроцити на поле) и левкоцитни или еритроцитни цилиндри. Частичната ремисия се дефинира като стабилизиране или подобрене на серумния креатинин с 25% и \geq 50% намаление на uPCR за 6 месеца [163]. Липса на отговор на лечение се дефинира като трайно увеличаване на серумния креатинин с 25% в рамките на 3 месеца и протеинурия, която не достига критериите за частична ремисия в рамките на 6 месеца [163]. По-подробно описание на критериите за пълна и частична ремисия, както и за липсата на отговор към лечение според различните дружества е представен на таблица 5.

Таблица 5. Критериите за пълна и частична ремисия и липса на отговор към лечение на ЛН според различните дружества

<https://conquest.health/epidemiology-pathophysiology-and-management-of-lupus-nephritis>

Препоръки	Пълна ремисия	Частична ремисия	Липса на отговор
KDIGO	Намаление на uPCR \leq 0.5g/g (\leq 50mg/mmol), връщане на серумния креатинин към изходната стойност	>50% редукция на uPCR; ако е била налице протеинурия от нефротичен порядък, спад <3.000mg/g (<300mg/mmol); стабилизиране (\pm 25%) на или подобрене на серумния креатинин, но не до нормалните нива	Не е постигната пълна или частична ремисия
ACR	uPCR<0.2g/g; серумен креатинин в референтни граници или 25% подобрене в eGFR, ако е имало повишаване в хода на рецидив; неактивен уринен седимент	uPCR между 0.2-2g/g; eGFR към изходната стойност или 25% подобрене, ако е имало повишаване в хода на рецидив; неактивен уринен седимент	Липса на промяна или влошаване на протеинурията; > 25% влошаване на eGFR; активен уринен седимент
EULAR/ ERA-EDTA	uPCR \leq 0.5g/g (\leq 50mg/mmol), GFR до +10% от изходната стойност	>50% редукция на uPCR до протеинурия по-ниска от нефрозна; GFR до +10% от изходната при 12 месечно лечение	<50% редукция на протеинурията или персистираща нефрозна протеинурия, понижена GFR (>10% от изходната

В последно време се разработват и други критерии, свързани с някои особености на СЛЕ и идеята за лечението насочено към целта ("treat to target" -T2T). Най-строгите критерии за пълна ремисия (пълна ремисия по DORIS) изискват наличие включително на серологична ремисия, но се оказва, че тя е трудно постижима (по литературни данни само в около 4,6% от случаите) [164]. Поради това понятията за ниска болестна активност при СЛЕ (LLDAS) или ремисия на фона на лечение по DORIS (CROT) се оказват по-практични за клиничната практика. Дефинициите за всяко понятие са обобщени в таблица 6. И трите метода за оценка на ремисията са валидирани и имат за цел да намалят рецидивите на заболяването, риска от необратимо органно увреждане и в крайна сметка да подобрят изхода от болестта [164]. Напоследък се доказва, че кортикостероидите дори в доза 7.5 мг са независим рисков фактор, водещ до органна увреда [165], традиционно свързана с остеопороза, аваскуларна некроза на бедрената шийка, отключването на захарен диабет, катаракта и др. Засега се допуска тяхната употреба в доза <7,5мг в част от дефинициите, но принципно се счита, че тяхната употреба трябва да се преустанови при първа възможност, заради риска от трайна увреда.

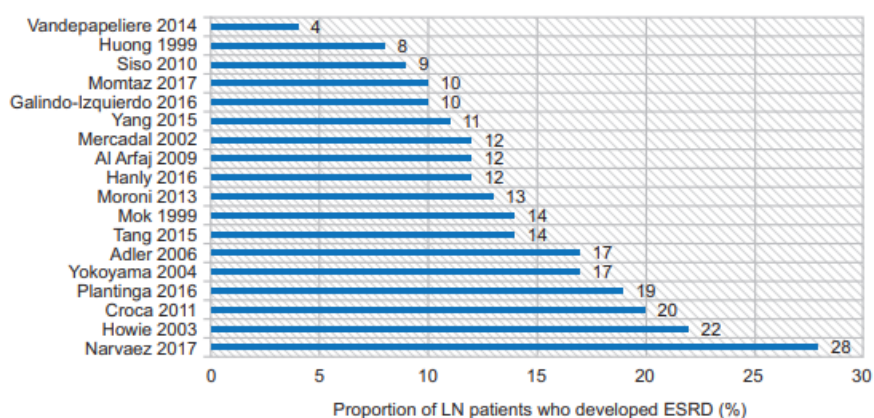
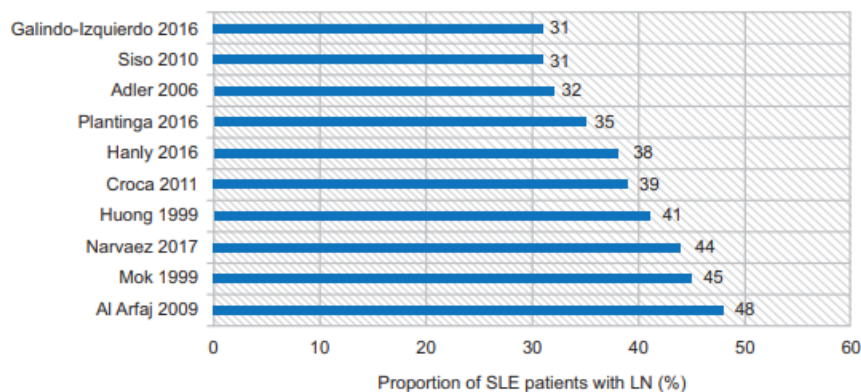
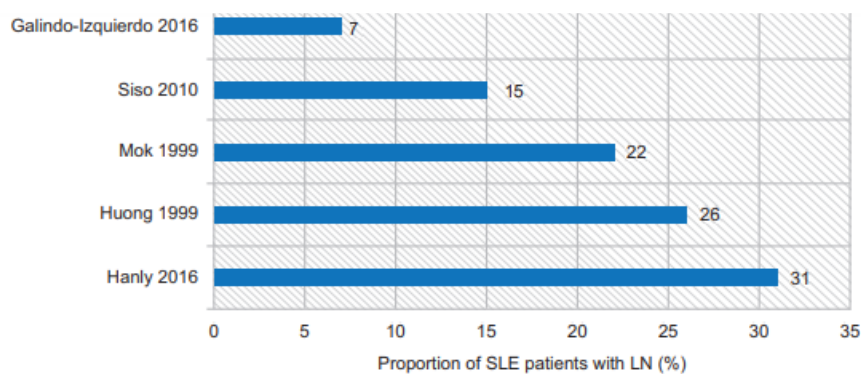
Таблица 6. Определения за пълна ремисия по DORIS, CROT (ремисия на фона на терапия) по DORIS, ниска болестна активност (LLDAS) по V. Golder и сътр. [164]

DORIS пълна ремисия	DORIS (CROT)	LLDAS
- SLEDAI = 0	-SLEDAI = 0	- SLEDAI-2k \leq 4 без активност на важни органи и системи и без активност в сравнение с предходната оценка
- Липса на серологична активност	- Позволена серологична активност	- Позволена серологична активност, ограничена до степен, че SLEDAI-2k \leq 4
- SELENA-SLEDAI PGA \leq 0.5 (по скала 0-3)	- SELENA-SLEDAI PGA \leq 0.5 (по скала 0-3)	- SELENA-SLEDAI PGA \leq 1 (по скала 0-3)
- Без прием на кортикостероиди	- Ниска доза кортикостероиди напр. \leq 5мг/дн е допустима	- Прием на преднизолон (или еквивалент) <7.5мг/дн
-Поддържащи антималярини средства без имуносупресивни и/или биологични препарати.	- Поддържащи антималярини средства и имуносупресивни средства одобрени за употреба биологични препарати	- Стандартна поддържаща имуносупресивна терапия и одобрени за употреба биологични препарати

6.3. Епидемиология на лупусния нефрит.

Използвайки SLICC международната кохорта, включваща 1827 пациента, Hanly и сътр. установяват, че честотата на ЛН сред пациентите със СЛЕ е 38% [132]. От тях 81% са с ЛН още при включването им в кохортата, а останалите 19% са развили ЛН средно за период от 4,6 години. Подобни данни публикуват и Galindo-Izquierdo и сътр. [131]. Те показват, че 50% от пациентите развиват хистологично верифициран ЛН в рамките на една година от диагностицирането на заболяването, а в рамките на 5 години този процент достига 74%. Следователно рискът от развитие на ЛН е най-голям в първите години от поставяне на диагнозата. По литературни данни само в около 13% от случаите, ЛН се изявява след петата година [166]. Най-дългият докладван период за развитие на ЛН след първоначалната изява на СЛЕ е 19 години [167], но А. Махајан и сътр. посочват, че това са редки случаи [133] предвид направения от тях анализ за ЛН при СЛЕ (фигура 7). Авторите посочват също, че клас IV ЛН се открива най-често, както и че е с най-лоша прогноза. Хистологична трансформация от един в друг клас се наблюдава в 40-76%, по-често сред пролиферативните варианти. До терминална бъбречна недостатъчност за 5 години достигат 3-11% от пациентите със СЛЕ и ЛН, а за 10 години - 6-22% [134].

А. Махајан и сътр. правят много детайлен преглед на резултатите от различни проучвания относно процента пациенти с ЛН още при поставяне на диагнозата. Авторите представят и обстоен преглед на данните относно процентът на пациенти, достигащи до терминален стадий на ХБЗ (ХБН) в рамките на 5 годишен период, независимо от провежданата терапия. Всички тези данни са представени на фигура 7.



Фигура 7. Честота на лупусния нефрит по А. Махајан и сътр. [133] А) Процент на ЛН при поставяне на диагнозата СЛЕ Б) Процент на ЛН в рамките на 5-годишен период В) Процент на терминален стадий на ХБЗ (ХБН), независимо от провежданата терапия.

6.4. Класификация на лупусен нефрит.

Макар че бъбречното засягане при СЛЕ е известно повече от столетие, класификация на спектъра на гломерулните лезии на базата на резултати от ПББ за първи път е направена от група патолози в Buffalo, New York, през 1974 г. със съдействието на СЗО. Обособяват се 5 големи класа на ЛН представени в таблица 7.

Таблица 7. Сравнение между оригиналната СЗО класификация на ЛН от 1974 г., модифицираната СЗО класификация от 1982 г., СЗО 1995 г.

Класификация Клас	СЗО 1974г.	Модифицирана СЗО 1982 г.	СЗО 1995 г.
Клас I	Нормални гломерули на СМ, ИФ, ЕМ	Нормални гломерули а) нормални гломерули при СМ, ИФ и ЕМ б) нормални гломерули на СМ, но депозити при ИФ и/или ЕМ	1. Нормални гломерули а) Нормални гломерули чрез всички техники б) Нормални на СМ, но наличие на депозити при ИФ и/или ЕМ
Клас II	Чисто мезангиално заболяване А. нормоцелуларен мезангиум на СМ, но мезангиални депозити при ИФ и/или ЕМ Б. Мезангиален хиперцелуларитет с мезангиални депозити при ИФ и /или ЕМ	Чисти мезангиални увреждания (мезангиопатия) а) мезангиално разширение и/или лек хиперцелуларитет (1+) б) умерен хиперцелуларитет (2+)	Чисти мезангиални увреждания а) Мезангиално задебеляване и/или умерен хиперцелуларитет. б) Мезангиална клетъчна пролиферация
Клас III	Фокален сегментен пролиферативен гломерулонефрит (<50% от гломерулите)	Фокален сегментен гломерулонефрит (асоцииран с леки до умерени мезангиални увреждания) а) с активни некротични лезии б) с активни и склеротични лезии в) със склеротични лезии	Фокален сегментен гломерулонефрит (асоцииран с леки/умерени мезангиални увреждания и/или сегментни епимембранозни депозити)
Клас IV	Дифузен пролиферативен гломерулонефрит (>=50% от гломерулите)	Дифузен гломерулонефрит (тежка мезангиална, ендокапилярна или мезангиокапилярна пролиферация и/или екстензивни субендотелни депозити; мезангиалните депозити са налице постоянно, субепителните депозити са чести и многобройни) а) без сегментни лезии б) с активни некротични лезии в) с активни и склеротични лезии	Дифузен гломерулонефрит (тежък мезангиален/мезангиокапилярен с екстензивни субендотелни депозити; мезангиалните депозити винаги са налице и често се установяват субепителни депозити а) без сегментни лезии б) с активни некротични лезии в) с активни и склеротични лезии г) със склеротични лезии

		г) със склеротични лезии	
Клас V	Мембранозен гломерулонефрит.	Мембранозен гломерулонефрит. а) чист мембранозен гломерулонефрит б) асоцииран с лезии от категория 2 (а или б) в) асоцииран с лезии от категория 3 (а, б или в) г) асоцииран с лезии от категория 4 (а, б, в или г)	Дифузен мембранозен гломерулонефрит. а) чист мембранозен гломерулонефрит б) асоцииран с лезии от категория 2
Клас VI	-	Напреднал склеротичен гломерулонефрит.	Напреднал склерозиращ гломерулонефрит.

Дълго време като стандарт за хистологично класифициране на лупусния нефрит беше използвана класификация INS/RPS 2003 представена по-долу.

Класификация на лупусните нефрити ISN/RPS 2003

Клас I Минимален мезангиален ЛН

Клас II Мезангиален пролиферативен ЛН

Клас III Огнищен ЛН (< от 50% от гломерулите) III

(A): активни лезии III

(A/C): активни и хронични лезии III

(C): хронични лезии

Клас IV Дифузен ЛН (>50% от гломерулите)

Дифузен сегментен (IV-S) или глобален (IV-G) ЛН IV

(A): активни лезии IV

(A/C): активни и хронични лезии IV

(C): хронични лезии IV

Клас V Мембранозен ЛН

Клас VI Напреднал склерозиращ ЛН (>90% глобално склерозирани гломерули без остатъчна активност)

Последната ревизия на класификацията на ЛН от 2003 г. [168] е от 2018 г. [169]. По същество номенклатурата на класовете не се променя, но се въвеждат някои дефиниции и уточнения (таблица 8). Така например се въвежда количествен критерий при дефинирането на клас II ЛН, като за хиперцелуларитет се приема наличието на повече от 4 клетъчни ядра, заобиколени от матрикс, попадащи извън хилусната зона. Тази промяна е по подобие на Оксфордската класификация за IgA нефропатия. В обновената версия се включват и количествени критерии определящи клетъчните, клетъчно-фиброзните и фиброзните полулуния (таблица 8).

Таблица 8. ISN/RPS 2003 Класификация на лупусен нефрит [168] и нейната ревизия от 2018 [169].

Клас	Номенклатура	Лезии по ISN/RPS 2003	Ревизия 2018
Клас I	Минимален мезангиален ЛН	Нормален изглед на гломерулите на СМ*, мезангиални ИК** на ИФ*** и изглаждане или слепване на подоците на ЕМ****.	
Клас II	Мезангиален пролиферативен ЛН	Чист мезангиален хиперцелуларитет или мезангиална матриксна експанзия с мезангиални депозити от ИК. Липса на субепителни или субендотелни ИК на СМ.	Мезангиален хиперцелуларитет ≥ 4 ядра напълно обхванати от матрикс в мезангиума без да се взема предвид хилусната област.
Клас III	Огнищен ЛН [$<50\%$ от гломерулите] А: Активни лезии А/С: Активни и хронични лезии С: Хронични лезии	Сегментни или глобални екстракапилярни или ендокапилярни пролиферативни лезии (хиперцелуларитет) или неактивни гломерулни лезии от огнищни субендотелни депозити от ИК с или без мезангиални промени. Такива промени включват $<50\%$ от гломерулите.	Полулуние: екстракапилярен хиперцелуларитет, който включва 10% и повече от циркумференцията на Баумановата капсула, с наличие на клетки, фибрин и фиброзен матрикс. Клетъчни полулуния $\rightarrow 75\%$ клетки и фибрин, $<25\%$ фиброзен матрикс Фиброзни полулуния: $>75\%$ фиброзен матрикс, $<25\%$ клетки и фибрин. Фиброзно-клетъчни полулуния: $25-75\%$ клетки и фибрин във фиброзен матрикс
Клас IV	Дифузен ЛН [$\geq 50\%$ от гломерулите] дифузен сегментен и дифузен глобален ЛН А: Активни лезии А/С: Активни и хронични лезии С: Хронични лезии	Сегментни или глобални екстракапилярни или ендокапилярни пролиферативни лезии (хиперцелуларитет) или неактивни гломерулни лезии от огнищни субендотелни депозити от ИК с или без мезангиални промени. Лезиите обхващат $\geq 50\%$ от гломерулите.	Адхезии: изолирана зона, в която се осъществява връзка между капсулата и гломерулното кълбце от екстрацелуларен матрикс, когато в подлежащия сегмент няма явна склероза.

Клас	Номенклатура	Лезии по ISN/RPS 2003	Ревизия 2018
		<p>Сегментна лезия: лезия, обхващаща по-малко от 1/2 на гломерулното кълбце.</p> <p>Глобална лезия: лезия, която обхваща повече от половината от гломерулното кълбце.</p>	<p>Фибриноидна некроза: фибрин свързан структура на ГБМ и/или лиза на мезангиалния матрикс; тази лезия не изисква наличието на кариорексис.</p>
Клас V	Мембранозен ЛН	Линеарни или гранулни субепителни депозити от ИК с или без мезангиални промени	
Клас VI	Напреднал склерозиращ ЛН [$\geq 90\%$ от гломерулите]	Глоблано склерозирали гломерули без остатъчна активност	

Тубулоинтерстициални лезии: показател дали интерстициалното възпаление е в присъствие или отсъствие на интерстициална фиброза.

Подоцитопатия: гломерулни промени, които са в съответствие с болест на минималните изменения, мезангиална пролиферация или огнищна сегментна гломерулосклероза на СМ* и заличаване на подоцитите на ЕМ с или без мезангиални депозити от ИК. Да липсват ИК в периферните гломерулни капилляри или ендокапиллярна пролиферация.

СМ* - светлинна микроскопия, ИК** - имунни комплекси, ИФ*** - имунофлуоресценция, ЕМ**** - електронна микроскопия

6.5. ПББ. Индикации за ПББ при СЛЕ.

Все още ролята на перкутанната бъбречна биопсия (ПББ) е от изключителна важност при определянето на диагнозата, лечението, поведението и прогнозата на ЛН [170] и засега няма неинвазивни маркери, които могат да я заместят ефективно. Първоначално няма единни индикации за провеждане на ПББ и се наблюдават значителни различия в препоръките на ACR, EULAR, ERA-EDTA и KDIGO. През 2012 г. ACR препоръчват провеждане на ПББ при пациенти със СЛЕ, които имат необяснимо намаляване на GFR, протеинурия $>1\text{г}/24\text{ч}$ или протеинурия $> 500\text{ мг}/24\text{h}$ при наличие на хематурия (>5 еритроцита на поле при уринен анализ, клетъчни цилиндри и/или двете [171]). По същото време препоръките на EULAR не са толкова конкретни, като най-общо е посочена необходимостта от провеждане на ПББ при персистиране на абнормни резултати от обикновена урина и седимент, при повишени нива на серумния креатинин, след ултразвуково изследване [172]. В опит да се унифицират критериите за извършване на ПББ се стигна до провеждане на общи инициативи от дружествата и се въвежда принципът на степен на доказателственост.

През 2019 г. EULAR/ERA-EDTA публикуват общи препоръки за поведението и лечението на ЛН. В тях се посочва, че ПББ трябва да се проведе при съмнение за бъбречно засягане, особено при наличие на персистираща протеинурия $\geq 0.5\text{ g}/24\text{ h}$ (или UPCr $\geq 500\text{mg}/\text{g}$ в първа сутрешна урина (при степен 2b/B) и /или при спад в GFR (2b/C). Авторите посочват също, че ПББ остава златен стандарт без аналог по отношение на диагностичната си и прогностична стойност (2b/B), като хистологичният анализ следва да се извършва на базата на класификацията на ISN/RPS 2003 (2a/B) с допълнителна оценка на индексите на хроничност и активност (1b/A), както и оценка на васкулитните и тромботичните лезии свързани с АФС 2b/C [173]. Въпреки опитите за сближаване на позициите по отношение на индикациите за ПББ при СЛЕ между различните организации, през 2021 г. KDIGO обяви собствени препоръки, които представят по-детайлни характеристики на изследванията за оценка на протеинурията [174]. Приликите и разликите относно препоръките за провеждане на ПББ между ACR, EULAR /ERA-EDTA и KDIGO са представени в таблица 9.

Таблица 9. Препоръките за провеждане на ПББ при СЛЕ от ACR, EULAR /ERA-EDTA и KDIGO

ACR 2012 [171]	EULAR/ERA EDTA 2019 [173]	KDIGO 2021 [174]
<p>-необяснимо намаляване на GFR</p> <p>- протеинурия >1g/24h</p> <p>-протеинурия > 500 mg/24h при наличие на хематурия (>5 еритроцита на поле при уринен анализ), клетъчни цилиндри или и двете</p>	<p>- персистираща протеинурия ≥ 0.5 g/24 h (или UPCR ≥ 500mg/g в първа сутрешна урина)</p> <p>- спад в GFR.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Белтък на тест-ленти $\geq 2+$ (при всяко специфично тегло на урината) или 1+, при ниско специфично тегло или спонтанен uPCR >500mg/g (50mg/mmol) с или без данни за уринен седимент положителен за дисморфни еритроцити, акантоцити ($\geq 5\%$), еритроцитни или левкоцитни цилиндри Количествена протеинурия >0.5 g/24h • спад в eGFR

ПББ е сравнително безопасна процедура, но в 13% от случаите се наблюдават усложнения, а в 7% те са сериозни [175]. В изключително редки случаи между 0.1% и 0.5% се налага провеждането на нефректомия [176]. Въпреки че някои автори не препоръчват да се провежда ПББ при СЛЕ пациенти без бъбречна симптоматика поради възможния риск [177], по-нови проучвания показват, че невинаги съществува корелация между клиничната, лабораторната, имунологичната и хистологичната активност [178]. Поради това засега ПББ е особено важен метод в диагностиката и лечението на заболяването, но се търсят и биомаркери, които могат да спомагат за по-прецизна неинвазивна оценка на състоянието. Тяхното обособяване е особено важно и при някои състояния, при които ПББ е абсолютно или относително противопоказана в случаи на ехографски данни за нефросклеротични бъбреци (при малки размери и висока ехогенност), наличие на единствен бъбрек, бъбречни/периренални инфекции, кисти, недобре контролирани хипертензивни състояния и др., при които рискът от

усложнения е по-висок [179]. Освен това значение оказва и достатъчното количество на изследвания материал. За изключване на фокални лезии се препоръчва изследването на поне 10 гломерула, както и задължително отделяне на материал за провеждане на имунофлуоресцентно изследване [168]. Всички тези ограничения показват защо търсенето на неинвазивни маркери, които да са достатъчно надежни относно диагнозата, проследяването и прогнозата на пациентите са от голямо значение.

6.6. Индекси за хроничност и активност на Националния здравен институт (НИИ)

С оглед по-прецизна оценка на терапевтичния подход, мониториране на отговора на лечение и преценка на прогресията на болестта, се разработват индекси, отразяващи белезите на активност и хроничност при лупусен нефрит. Индексите са разработени на принципа на точкова система, отразяваща тежестта на състоянието и даваща възможност за полуколичествен анализ на патологичните хистологични лезии. През 2018 г. I. Вајета и сътр. предлагат някои общовъзприети модификации в НИИ индекса, както в точковата оценка, така и в терминологично отношение [169]. Терминът ендокапилярна пролиферация се заменя с ендокапилярен хиперцелуларитет, а гломерулен левкоцитен инфилтрат - с неутрофили/кариорексис. Това се налага поради това, че карiorексисът настъпва след неутрофилна фрагментация и поради това тези две лезии са обединени в една група, а фибриноидната некроза е изведена в отделна група. Към клетъчните полулуния се добавят и клетъчно-фиброзните, тъй като и те също се приемат като белег на подостро възпаление и съответно като белег на активност. Терминът мононулеарна клетъчна инфилтрация се заменя с интерстициално възпаление. Тази промяна се налага поради факта, че в инфилтратите участват и други клетъчни субпопулации - неутрофили, еозинофили и мастоцити. Терминът тотална гломерулна склероза обхваща едновременно глобалната и сегментната склероза, т.к. вторична глобална склероза може да се наблюдава и в по-късите стадии на болестта. Новата скорова система е представена на таблица 10. Описание на базата на тези индекси се препоръчва при всички пациенти с огнищен или дифузен лупусен нефрит.

Таблица 10. Модифициран индекс за активност и хроничност по NIH - модифицирана по I. Вајета и сътр. [169]

Хистологичен белег	Брой точки според процента на гломерулно засягане			Сбор
	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	> 50% -3т.	
Ендокапилярен хиперцелуларитет	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	> 50% -3т.	0-3 т.
Неутрофили и/ или кариорексис	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
Фибриноидна некроза	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	(0-3)х2 т.
Хиалинни отлагания ("телени бримки" и хиалинни тромби)	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
Клетъчни и клетъчно-фиброзни полулуния	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	(0-3)х2 т.
Интерстициално възпаление (инфилтрати)	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
	Максимален брой точки за активност			24 т.
Тотална (Глобална и/ или сегментна) склероза	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
Фиброзни полулуния	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
Тубулна атрофия	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3 т.
Интерстициална фиброза	<25% - 1т.	Между 25-50% - 2т.	>50% - 3т.	0-3т.
	Максимален брой точки за хроничност			12 т.

6.7. Основни рискови фактори и предиктори за развитието на лупусен нефрит.

Сред основните статистически значими рискови фактори за развитие на ЛН са по-младата възраст и мъжкия пол. Едно от проучванията отчита, че средната възраст на пациенти с лупусен нефрит е 31.3 г. спрямо 36.9 г. за пациенти със СЛЕ, но без ЛН ($p < 0.001$) [131]. При включването на пациентите със СЛЕ на случаен принцип мъжете с ЛН са 16% спрямо 8% без ЛН ($p < 0.001$) [131]. Голям брой проучвания

посочват, че рискът за развитие на лупус е по-висок сред афроамериканците или сред латиноамериканците в сравнение с бялата раса след съпоставка по възраст и пол [131].

6.8. Клинична картина и лабораторни промени при лупусен нефрит

При първи и втори клас може да липсват клинична симптоми, докато при пролиферативните класове клиничната картина е доминирана от проявите на нефритен синдром. За пациентите с лупусен клас V е характерен нефротичният (нефрозен) синдром. Много често, обаче, може да има смесени форми. Обобщено клиничната картина и лабораторните феномени при лупусен нефрит с тяхната честота са представени в таблица 11 [180].

Таблица 11. Честота на клинично-лабораторните прояви при лупусен нефрит по S. Almasani и сътр. [180]

<i>Клинично-лабораторен признак</i>	<i>Честота %</i>
Протеинурия	100
Протеинурия от нефротичен (нефрозен) порядък/синдром	50
Микроскопска хематурия	80
Макроскопска хематурия	5
Еритроцитни цилиндри	30
Други видове цилиндри	30
Влошена бъбречна функция	60
Бързопрогресиращо влошаване на бъбречна функция	15
Хипертония	30
Тубулно засягане	7

6.9. Етиология и патогенеза на СЛЕ и лупусен нефрит

Системният лупус е мултифакторно заболяване, за развитието на което роля играят екзогенни и ендогенни фактори. Към първите спадат промени в околната среда, бактериални и вирусни инфекции, употребата на медикаменти. Ендогенните фактори включват променен имунен отговор с формирането на автоантитела, промяна

в клетъчните популации, хормонални нарушения, променен цитокинов отговор, нарушения в клетъчната апоптоза, дефицит на компоненти от системата на комплемента, аберантна сигнална трансдукция, генетична предразположеност. В крайна сметка се стига до загуба на толеранс към собствените структури и системна органна увреда.

6.9.1. Промени в хуморалния имунен отговор при СЛЕ и ЛН

От откриването на антинуклеарни антитела от Miescher през 1954 г. и до момента са детектирани над 200 вида автоантитела при СЛЕ и ЛН. Имунологичните промени при СЛЕ са свързани с откриването на антинуклеарни антитела в серума на 98-100% от болните. Те са антитела с висока чувствителност, поради което са включени като входен класификационен критерий при последните препоръки на EULAR/ERA, но притежават ниска специфичност. Според някои проучвания се откриват 100% при пациентите с ЛН и смесена съединително-тъканна болест, както и в 80-95% от лекарствено индуцирания лупус. При дискоиден лупус също могат да бъдат открити в около 35% [181]. Антителата срещу двойно верижната ДНК са положителни в до 80% от случаите и корелират с активността на заболяването. С диагностична важност са антителата срещу Smith антигена, каквито се доказват в 30% от случаите и често са асоциирани с анти-RNP антитела. При част от пациентите са възможни фалшиво положителни неспецифични проби за сифилис, дължащи се на антифосфолипидни антитела. От тях най-често се наблюдават такива срещу кардиолипин и β -2-гликопротеин-1. В 61-85% от пациентите от пациентите със СЛЕ се откриват и антитела срещу нуклеозомите, като при ЛН този процент варира между 60-90%. Понякога могат да се открият и анти-SSA (анти-Ro) и анти-SSB (анти-La) антитела. Докато анти-La се срещат само в 5-10%, анти-Ro се откриват в 40-70% от пациентите със СЛЕ. Важна тяхна особеност е, че се разграничават два типа анти-SSA52 (Ro52) и анти-SSA 60 (Ro60), като първото антитяло (анти-Ro52/TRIM21) се установява в 40-70% от пациентите със СЛЕ, а наличието му е характерно за неонаталния лупус, където играе пряка патогенетична роля в конгениталния сърдечен блок [182]. В 5-10% от случаите със СЛЕ могат да бъдат открити и анти-Ku антитела особено в случаите на overlap с други автоимунни заболявания. Левкопенията, гранулоцитопенията и тромбоцитопенията се дължат на автоантитела от класовете IgG и IgM спрямо левкоцитите и тромбоцитите. Според някои автори мониторирането на анти-C1q антителата при пациенти със СЛЕ се асоциира с ЛН и може да предхожда

бъбречното засягане [183]. Освен тях с клинично значение от системата на комплемента са и anti-C3 (в около 30% от пациентите с ЛН) [184], докато anti-C1r и anti-C1s не показват съществена корелация с клиничните характеристики на лупусния нефрит [185].

6.9.2. Промени в клетъчните популации при СЛЕ и ЛН с акцент върху Th17

Промените в основните клетъчни популации се свързват с нарушения в съотношението на различните субтипове клетки или с техни функционални промени. Относно Т лимфоцитите през последните години има нарастващ брой публикации за ролята на дисбаланса в съотношението Th17/Treg за развитието СЛЕ и ЛН [186, 187]. Повечето проучвания при пациенти със СЛЕ показват по-високи нива на проинфламаторните Th17, като има и проучвания, про които се установяват ниски нива на поддържащите имунния толеранс Treg (FOXP3) [187]. Съществуват обаче и проучвания, които не потвърждават ролята на Th17 сред пациентите със СЛЕ [188].

Поради способността на НКТ-клетките и дендритните клетки да произвеждат различни цитокини и растежни фактори, те също се считат за потенциален регулатор на автоимунния процес при СЛЕ [189].

Сред В клетъчната популация в периферната кръв се наблюдават значително по-малко наивни $CD19^+CD27^-$ клетки за сметка на повишения брой плазматични клетки $CD19^{dim}CD20^-CD27^{high}CD138^+$, които чрез производството на антитела лежат в основата на определени деструктивни процеси [190]. Отдавна е известна ролята на автореактивните В-клетъчни клонове в патогенезата на СЛЕ [191], като контролът върху предаването на определени растежни сигнали е изключително важен фактор за развитие на болестния процес. Неслучайно В-лимфоцитите се превръщат в мишена на терапия чрез инхибирането на В-клетъчния активационен фактор (В лимфоцитен стимулатор) BAFF/BlyS от моноклоналното тяло belimumab. Дисрегулацията на тирозин киназа Lyn в В-клетъчните сигнали също подчертават значението на сигналната трансдукция при СЛЕ [192, 193], тъй като Lyn корелира с повишена продукция на IL-10, пролиферация на В клетките, повишена продукция на анти-двДНК антитела и органна деструкция [194]. Установените множество патологични отклонения на клетъчно ниво при СЛЕ показват, че причините за развитието на автоимунния процес се крият в сложен комплекс от взаимодействия.

6.9.3. Хормонални фактори – роля при СЛЕ и ЛН.

Счита се, че един от най-значимите рискови фактори за развитие на СЛЕ е женският пол [195]. Предполага се, че този полов диморфизъм се дължи на хормонални фактори. Поради тази причина естрогените се превръщат в обект на интензивно изследване. Въпреки че първоначално не се открива сигнификантна разлика в нивата на естрадиола между здрави жени и такива със СЛЕ, впоследствие се установява, че при болни има значително повишени нива на естрогенови метаболити. Така при бременност, когато се увеличават 16-хидрокси метаболитите, се наблюдава обостряне на заболяването, а при синдрома на Клайнфелтер (XXY), при който е налице абнормно съотношение между естрогени/ андрогени, честотата на СЛЕ е висока.

Още през 1986 г. веднага след откриването на естрогеновите рецептори в тимоцити и моноцити от периферната кръв на пациенти със СЛЕ, Weusten и сътр. [196] предполагат участието им в патогенезата на заболяването. По същото време Kelly и Vertosick [197] изказват хипотезата, че естрогеновият рецептор може да играе ролята на автоантиген при СЛЕ. Според тях поради структурни промени в рецептора, естрогеновият метаболизъм се нарушава с последващо повишаване на лигандното свързване. Поради тази причина множество проучвания целят да установят наличието или отсъствието на количествени и качествени промени в естрогеновите рецептори при СЛЕ. Много оригинална е идеята на Lu и сътр. [198], които доказват, че влиянието на полиморфизмите в *ESR1* при лупусно болни пациенти може да бъде резултат от модулация в цитокиновата секреция на IL-10, IL-4, IL-2 и IFN- γ . От друга страна нови данни показват също, че сигналната трансдукция през *ESR1* увеличава продукцията на IL-17 от Th17 клетките чрез тяхната пролиферация, дължаща се на повишена експресия на IL-23R и митохондриални промени [199]. Описаните клинични асоциации доказват връзки между фундаментални структурни звена като имунната и ендокринната система, поради което в последните години се засилва интересът към изучаване на съответните механизми, по които се осъществява този “crosstalk”.

6.9.4. Система на комплемента - роля при СЛЕ и ЛН.

Съществуват категорични доказателства, че системата на комплемента и нейните фракции участват в патогенезата на СЛЕ. Отдавна известен факт е, че при пациенти с активна форма на заболяването се наблюдава промяна в серумните нива

на C3 и C4 фракциите. В едно проучване, в което се разглежда цитокиновия дисбаланс се установява, че броят на Th17 клетките корелира позитивно с индекса SLEDAI и негативно с нивата на C3 фракцията [200]. При част от пациентите с това заболяване се установява генетично обусловен дефицит на C1q, C1r, C1s, C2 или C4 [201]. По литературни данни липсата на C1q фракцията е рядък, но много сигурен фактор за развитие на СЛЕ. Той и анти-C1q антителата имат съществено значение за развитието на лупусния нефрит [202, 203]. Установени са значими асоциации между хистологичния клас ЛН и anti-C1q и anti-C3 антителата. Най-високи нива на тези антитела се установяват при клас IV ЛН. Налице са връзки между хистологични признаци на активност на ЛН и нивата на anti-C1q, anti-C3 и anti-C4, като липсват значими връзки между хистологичните белези на ЛН и anti-C1r и anti-C1s. Разработките по отношение на системата на комплемента показат, че манозосвързващият лектин много наподобява структурата на C1q [204] и затова се счита, че неговият дефицит би могъл да се изяви със сходна клинична симптоматика. Нови проучвания, включително и на български научен екип показват недвусмислено ролята на анти-C3b антителата в патогенезата на заболяването [205]. Те възпрепятстват инхибиторите на алтернативния път и водят до прекомерна активация комплемента, с плазмено изчерпване на C3, поради тъканното му отлагане най-вече в бъбречните структури. Детекцията на тези антитела корелират с активността на ЛН и имат предикативна стойност по отношение обостряне на състоянието.

6.9.5. Цитокинов дисбаланс при СЛЕ и ЛН с акцент върху ролята на IL-17A

В последните две десетилетия фокусът на проучванията е насочен към цитокините, тяхната експресия и участието им в сигналната трансдукция. Въпреки противоречивите данни по отношение на конкретната промяна в цитокиновия профил при системния лупус, със сигурност става ясно, че цитокиновият дисбаланс играе важна роля за възникването и развитието на болестта. Още в началото на хилядолетието С Wong и сътр. съобщават в списание "Лупус" за значимо повишени нива на IL-4, IL-12, IL-17A и IL-18 сред пациенти със СЛЕ [206]. А. Zickert и сътр. [207] демонстрират, че базисните нивата на IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 и IFN- γ са по-високи сред пациенти със СЛЕ спрямо контролите, като единствено за TGF- β установяват значимо по-ниски нива. През последните години има нарастващ брой публикации за дисрегулация в профила на цитокинова продукция от хелперните

популации Th1, Th2, Th17 при СЛЕ, които най-често корелират с тежестта на протичане [208]. Както F. Yusoff и сътр. обобщават в своята наскоро излязла обзорна статия, повечето отклонения са свързани с повишаване на нивата цитокините (с изключение на IL-2, IL-4 и TGF- β 1) и обичайно се асоциират с активност на заболяването [208]. Разбира се има проучвания, които показват, че повишени нива на TGF- β 1 също се асоциират със СЛЕ, както и високо продуциращия -509T алел rs1800469 [126]. Резултатите досега утвърждават водещата роля на IFN- α като основен цитокин в патогенезата на СЛЕ [209]. Въпреки това много автори съобщават за повишени нива IL-17A при пациенти със СЛЕ [206, 210, 211]. От друга страна не липсват и съобщения, които оспорват ролята на IL-17A при СЛЕ и ЛН, тъй като не откриват статистически значими различия в нивата между здрави лица и пациенти със СЛЕ [212, 213]. Някои автори обясняват повишаването на определени цитокини като рефлекторно в резултат на общото повишаване на острофазовите белтъци при активност на заболяването [212, 214].

Независимо дали се открива или не сигнификатна разлика в нивата на IL-17A между пациентите със СЛЕ и контроли, преобладават авторите, които установяват връзка между нивата на IL-17A и активността на заболяването и позитивна корелация с индексите на активност [187, 210, 215]. В това отношение обаче отново няма пълен унисон, тъй като има съобщения, които не откриват подобни зависимости [213, 216].

Още по-хетерогенни са данните относно връзката на серумните нива на IL-17A с клиничните признаци на болестта. Така F. Vincent и сътр. намират значимо по-високи нива на IL-17A сред пациентите със СЛЕ и засягане на централната нервна система ($P = 0.0298$) [216]. Същите автори, както и X. Zhao и сътр. [217] не намират разлика в нивата на IL-17A между пациентите с или без ЛН. За разлика от тях H. Dedong и сътр. установяват значимо по-високи нива при пациенти с активен ЛН спрямо тези с неактивен ЛН или контролите ($p < 0.001$) [218]. S. Galil и сътр. също намират позитивна корелация с активността на лупусния нефрит и SLEDAI-2k, като установяват и връзка между нивата на цитокина и анемичния синдром [219].

При СЛЕ IL-17A показва силна корелация с нивата на IL-6 ($r = 0.62, P < 0.0001$) без оглед на активността на заболяването, както и със серумните нива на BAFF ($r = 0.64, P < 0.0001$) и MIF ($r = 0.36, P = 0.0016$) [216].

7. Th17, IL-17A И ПОЛИМОРФИЗМИ В ГЕНИ ОТ СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 – РОЛЯ ПРИ СЛЕ И ЛУПУСЕН НЕФРИТ

7.1. Th17 и IL-17A роля при СЛЕ и ЛН - от експерименталните модели до клиничната практика

Съществуват данни, които карат някои автори да считат, че IL-17 има съществено значение за развитието на лупусен нефрит [42]. В действителност още разработки от 2009 г. установяват наличието на IL-17 продуциращи Т клетки при Fas/lpr мишки, които са експериментален модел на СЛЕ с бъбречно засягане [220]. Получени данни показват, че IL-17 оказва вредно влияние върху ендотелните, тубулните, мезангиалните клетки и фибробластите [221]. Като механизъм се предполага засилената продукция на хемокини, водещ до неутрофилен хемотаксис и стимулация на апоптозата. По-детайлни проучвания в *in vitro* модели, показват, че програмираната клетъчна смърт се дължи на IL-17 асоциирана активация на протеини като Fas, Fas ligand (FasL), каспаза 3 и p65, които на свой ред активират NF-κB пътя. Инхибирането на IL-17 преустановява тези процеси и съответно подоцитната апоптоза [222]. В модел на лупусен нефрит, предизвикан чрез трансфер ДНК от активирани лимфоцити, се установява, че IL-17 корелира позитивно с активността на заболяването поради увеличаване на нивата на анти-двДНК [223]. Отново при миши модели MRL/lpr се доказва корелация между тежестта на заболяването и продукция на IL-17R и IL-23R mRNA [220], докато при липса на IL-17A се установяват сигнификатно по-ниски нива на анти-двДНК и C3 в гломерулите [224]. В заключение авторите посочват, че в експериментални модели на СЛЕ, IL-17A е необходим за развитието на лупусен нефрит, а IL-17A усилената сигнализация влошава състоянието. От друга Schmidt и сътр. [225] отчитат липса на ефект от приложението на анти-IL-17 средства върху хода на лупусния нефрит при NZB/NZW мишки, докато приложението на анти-IFN γ повлиява активността на заболяването. M. Larosa и сътр. [42] отдават тези разнопосочни резултати на генетични различия, като авторите предполагат, че Th17 и Th1 клетките допринасят по различни механизми за развитието на ЛН.

7.2. Влияние на IL-17 върху бъбречните структури.

Оста Th17/IL-17 е отговорна за поддържане на тъканната деструкция и ремоделиране на тъканите в посока фиброза, което води до нарушена архитектура и дисфункция на органите [39]. Много проучвания установяват значимо по-високи нива на IL-17 при пациенти със СЛЕ в сравнение със здравите контроли [207, 210] и повишена експресия на IL-17 във възпалителните инфилтрати в бъбречните структури при пациенти с активен ЛН [207]. Установено е, че основните типове клетки, които го продуцират локално в бъбреците са двойно негативни Т клетки, CD4+ и CD8+ [226], както и Th17. Има все повече доказателства за негативния ефект, който Th17/IL-17 оста оказва върху структурите на гломерулната филтрационна бариера. Съществуват данни, че Th17/IL-17 пътят води до промени в цитоскелета на подоцитите, повишава нивата на оксидативния стрес, активира инфлазомите и в крайна сметка предизвиква подоцитна апоптоза [39]. Освен това IL-17 матричната РНК намалява експресията на подокаликсин, като нивата ѝ директно корелират със загубата на подоцити в урината [39]. Допълнителни доказателства за неблагоприятното влияние на IL-17 върху подоцитите идват от проучвания при пациенти с идиопатичен нефрозен синдром [222]. При тези пациенти се установява сигнификантно повишена експресия на IL-17 в бъбречните структури, особено при огнищно-сегментната гломерулна склероза [222]. Въпреки че има малко данни за потенциалния ефект на IL-17 върху гломерулната базална мембрана, при модели на диабетна нефропатия се доказва, че IL-17 води до задебеляване ѝ, докато блокирането му намалява този ефект [227]. Експериментални данни показват, че Th17/IL-17 пътят е един от ключовите фактори за възникването на възпаление и антителна увреда при анти-гломерулобазалномембранната болест [228]. В литературата липсват насочени изследвания за влиянието на IL-17 върху бъбречния ендотел, но се счита, че важат част от принципите за влиянието му върху съдовите структури въобще [39]. В експериментален модел на хипертония и ангиотензин II индуцирана фиброза, блокадата на IL-17A или IL-17RA значимо намалява нивата на TGF- β 1 [229]. Друго проучване показва, че IL-17A е ключов фактор в съдовото ремоделиране на малките артерии, води до тяхната ригидност и съответно до повишаване на съдовото налягане [230]. В мезангиалните клетки IL-17A стимулира мезангиалноклетъчна пролиферация по различни механизми - чрез стимулация на хемокини CCL2 и CXCL2 [231], при освобождаването му от естествените убийци Т (NKT) [232] и други. В тубулите пък

под действие на IL-17 се отключват профибротични процеси, като се увеличава експресията на TGF- β и настъпва епително-мезенхимна трансформация (ETM) с повишаване на екстрацелуларните матриксни протеини [39].

7.3. IL-17 - значение за клиничните параметри и тежестта на протичане на ЛН.

IL-17 спомага за образуването на провъзпалителна среда чрез стимулиране продукцията и на други цитокини и растежни фактори както от имунните клетки в бъбрека, така и от самите клетъчни структури на бъбрека. H. Dedong и сътр. демонстрират, че стойностите на IL-17A са значимо по-високи при пациенти с активен ЛН спрямо тези с неактивен ЛН или контролите ($p < 0.001$). W. Qian и сътр. намират слаба позитивна корелация с нивата на серумния креатинин. За разлика от тях F. Vincent и сътр. съобщават за негативна такава, а Yusuff и сътр. не намират връзка между двата показателя. Според някои автори серумните нива на IL-17 корелират с протеинурията [219, 233, 234], като тяхната изходна концентрация се асоциира с тежестта на протеинурията във времето [235]. В едно проучване върху 15 хистологични проби се установява, че броят на IL-17 секретиралите клетки в бъбречните инфилтрати корелира положително с хематурията [236].

Относно тежестта на ЛН се установява, че броят на Th17 клетките корелира и с хистологичната активност, с броя на полулунията и наличието на ендокапилярна пролиферация. Отчитат се сигнификантно по-високи нива на IL-17A при клас IV ЛН в сравнение с пациенти с болест на минималните изменения и мембранозна нефропатия. Нивата на уринния IL-17 корелират с тежестта на ЛН, като те са значително по-високи при клас III-IV в сравнение с клас I-II [237]. Друго проучване, също доказва значимо по-високи нива на IL-17A при пролиферативните форми на заболяването в сравнение с непролиферативните [238]. Освен корелация на IL-17A и IL-23 с индекса SLEDAI, Chen и сътр. установяват и положителна корелация с индекса на хистологична активност [239]. Подобно на A. Zickert и сътр. [207], Larosa и сътр. [42] също споделя схващането, че високите нива на IL-17 се свързват с неблагоприятен хистологичен тип и IL-17A би могъл да бъде маркер за тежестта на ЛН, както и за липсата на отговор към терапия. Подлежащите механизми, зад тези емпирично получени данни са в етап на проучвания. J. Thurman и сътр. [240], както и J. Santacruz и сътр. [241] дори изказват становището, че IL-17 и IL-23 могат да се окажат алтернативни биомаркери за поставяне на диагноза, мониторинг и оценка на активността и прогнозата на отговора на лечение при ЛН.

Изследванията относно значението на оста Th17/IL-17/ IL-17R за развитието на ЛН през последните години представлява особен интерес. В модифицираната таблица по F. Raquissi и H. Abensur са представени по-важни проучвания през последните 5 години и обобщените резултати по темата (Таблица 12).

Таблица 12. Актуални проучвания за ролята на оста Th17/IL-17/IL-17R в развитието на ЛН модифицирана по F. Raquissi и H. Abensur [39]

Автор (година)	Брой изследвани пациенти/ контроли	Обобщение на резултатите
Cavalcanti и сътр. (2017)[213]	51 ювенилен ЛН	Нивата на IL-17A са значително по-високи при активност на заболяването.
Saber и сътр.(2017)[200]	45 ЛН и 20 здрави лица	- Повишени нива на Th17 корелират със SLEDAI и класа ЛН. - Повишени нива на уринния IL-17A, корелират с протеинурия и СУЕ
Jakiela и сътр. (2018) [242]	33 ЛН и 19 здрави контроли	Th17 са по-висок процент при ЛН, Treg са без значима разлика.
Wang и сътр. (2018) [235]	28 с ЛН на индукц. терапия на 0,12, 24 седмица	Персистират високи нива на IL-17A при пациентите без ремисия.
Cheng и сътр. (2019)[233]	45 пациента с ЛН и 50 здрави контроли	IL-17 са значимо по-високи сред пациентите с ЛН и корелират с протеинурията.
Dedong и сътр. (2019)[218]	80 ЛН и 20 контроли	IL-17A са по-високи при активен ЛН, отколкото при пациенти без активност или при контролите. IL-17A обратно корелира с С3.
Nakhjavani и сътр. (2019)[243]	50 СЛЕ (25 с и 25 без ЛН) 39 здрави контроли	IL-17 значимо по-високи при СЛЕ в сравнение с контролите, както и при ЛН в сравнение със СЛЕ без ЛН.

7.4. Полиморфизми в гени, свързани с IL-17 сигналния път – роля при СЛЕ и ЛН.

Генетичните варианти се счита, че оказват съществена роля при определянето на плазмените нива на протеините. Счита се, че тяхната локация в промоторния регион би могла да предопредели свързването им с различни транскрипционни фактори, което съответно да доведе до увеличаване или намаляване на протеиновата продукция [244]. Въпреки множеството открити полиморфизми в гена *IL-17A*, повечето асоциативни проучвания се фокусират върху полиморфизма rs2275913 (-197G/A), тъй като са налице някои данни за функционалната му активност [245]. По тази причина неговото проучване представлява особен интерес при пациенти със СЛЕ, особено предвид установените от някои автори повишени нива на IL-17A в различните форми на заболяването [246]. До момента са проведени малко на брой изследвания, а резултатите са разнопосочни. Проучване сред египетската популация показва, че "А" алелът се асоциира със заболяването [247], докато сред ирански пациенти същият алел се оказва протективен [245]. Сред мексиканската популация I. Montufar-Robles и сътр. изобщо не установяват връзка с този полиморфизъм [248]. Полиморфизмът *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 е обект и на изследване на два наскоро излезли метаанализа, които също изказват противоречиви становища и заключават, че е необходимо да бъдат проведени повече изследвания, за да се изготви достоверен анализ и ролята на този полиморфизъм да бъде конкретно оценена [246, 249].

Изучаването на други полиморфизми, свързани с IL-17 сигнализацията, също представлява научен интерес. Така например А. Hammad и сътр. [250] освен ролята на *IL-17A* rs2275913 полиморфизма, проучват и значението на *IL-17F* rs763780 и *IL-17F* rs2397084. Те не установяват асоциация с болестта или с обща смъртност при пациенти с ювенилен СЛЕ, но посочват, че комбинираният генотип *GGA/GAA* или *GGA* хаплотип би могъл да бъде рисков фактор за възприемчивост.

Значението на IL-17RC сигнализацията за развитието на имуномедианите бъбречни заболявания пред последните години е обект на сериозни проучвания. Т. Schmidt и международен екип от сътрудници установяват, че липсата на този рецептор води до влошаване на експериментално индуциран гломерулонефрит [82]. В заключение авторите посочват, че получените от тях данни могат да дадат нова насока на анти-IL-17 терапевтичните стратегии. Ролята на полиморфизмите в *IL-17RC* гена за развитието на СЛЕ и лупусен нефрит до момента не е проучвана.

8. ТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ ПРИ СЛЕ И ЛУПУСЕН НЕФРИТ. IL-17 СИГНАЛИЗАЦИЯТА КАТО ТЕРАПЕВТИЧНА МИШЕНА.

Употребата на кортикостероиди през 50-те години на ХХ век силно променя хода на лечение на СЛЕ и ЛН. Преди рутинното въвеждането на КС 5-годишната преживяемост на пациентите с ЛН е била 17% [251]. Едно фундаментално проучване Pollak и сътр. показва, че въвеждането на високодозови терапевтични режими с кортикостероиди като стандарт на лечение за пролиферативния ЛН, води до нарастване на 5-годишната преживяемост до 55% [252]. Въпреки тези ползи, в дългосрочен аспект високите дози кортикостероиди причиняват сериозни вреди, а смъртността остава висока. През 70-те години на миналия век се установява, че добавянето на цитотоксични агенти към кортикостероидите, би могло да има подобър ефект върху прогресията на бъбречната болест, като след включването на циклофосфамид в терапевтичните схеми, 5-годишната преживяемост нараства до 80% [253].

Така напредъкът в лечението на ЛН за период от 30 години е в застой, а високите дози на кортикостероиди и циклофосфамид са основен избор на лечение. На този фон в краткосрочен план се отчита пълна ремисия в 10-40%, но в дългосрочен все още около 30% от пациентите достигат до терминална бъбрена недостатъчност [254]. Разработването на алтернативни терапевтични стратегии и провежданите клиничните проучвания дълго време изключват пациентите с ЛН. В последните 5 години тази тенденция беше променена и като резултат има одобрени три нови препарата.

Според осъвременените препоръки на EULAR/ERA-EDTA (ERA) от 2019 г. [173] прилаганата терапия при ЛН цели постигането на пълна ремисия с протеинурия <0.5–0.7 g/24 часа и гломерулна филтрация в референтни граници за срок от 12 месеца, като периодът може да бъде удължен, ако пациенти са с начална протеинурия от нефротичен (нефрозен) порядък. Приемът на Hydroxychloroquine се препоръчва във всички етапи на заболяване при съответно наблюдение от офталмолог. При активен пролиферативен ЛН се препоръчва индукционна терапия с микофенолат мофетил (MMF 2–3 g/дневно или микофенолова киселина (MPA) в еквивалентна доза) или и.в. Циклофосфамид 500 мг на всеки две седмици в продължение на 6 седмици в комбинация с и.в. пулсове кортикостероиди, последвани от перорален прием в доза на 0.3–0.5 мг/кг/дневно преднизон. MMF или CNI (особено такролимус) в комбинация и високи дози циклофосфамид са алтернативна за пациенти с протеинурия нефротичен

(нефрозен) порядък или с други неблагоприятни фактори. Препоръчва се също последваща поддържаща терапия с ММФ или азатиоприн с или без комбинация с ниски дози кортикостероиди (<7.5 мг/дневно). Изборът на лечение зависи и от репродуктивните планове на пациента.

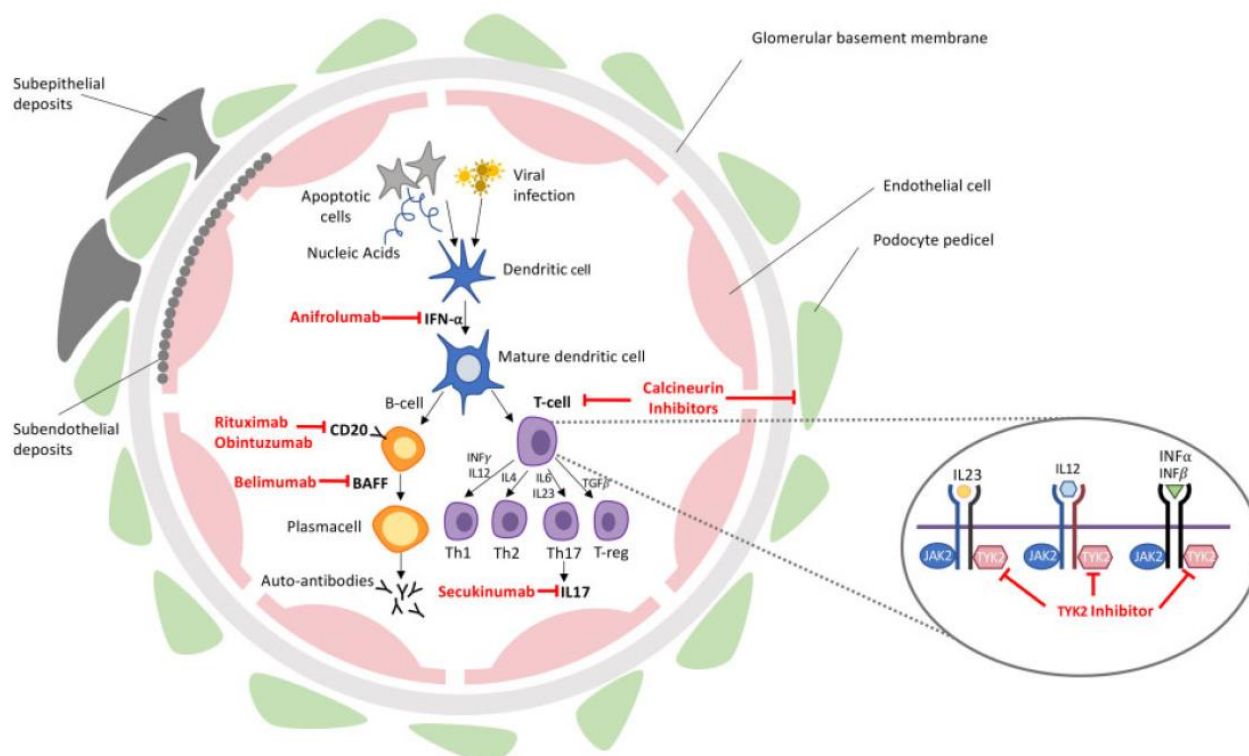
При пациенти, които не отговарят на терапия, като индукционна терапия може да се приложи ритуксимаб. При класически вариант на клас V (мембранозен ЛН) с протеинурия от нефрозен порядък или протеинурия >1 г/24 часа, въпреки провеждането на терапия с инхибитор на РААС, се предпочита ММФ в комбинация с глюкокортикостероиди. При липса на пълна ремисия и наличие на чести рецидиви се препоръчва оценка на екстрареналното засягане, както и провеждане на ПББ, като се посочва необходимостта от лечение на коморбидните състояния. При терминална бъбречна недостатъчност се препоръчва трансплантация с терапия подчинена на принципите на трансплантационните протоколи и/или екстрареналните клинични прояви.

Въпреки че лечението с глюкокортикостероиди и циклофосфамид рязко подобрява преживяемостта при пациентите със СЛЕ и се превръща в стандарт на лечение, то неуспехите от лечението все още са чести, като прогресията до терминална бъбречна недостатъчност остава неприемливо висока [254]. Освен това лечението е свързано със значителна заболяемост [254]. Следователно с подобряването на преживяемостта на пациентите, целите за усъвършенстване на лечението на ЛН се изместват към намиране на такива лекарствени средства, които биха могли да подобрят дългосрочната бъбречна прогноза при минимално органно увреждане. За съжаление напредъкът е бавен и настоящите подходи за лечение на ЛН продължават да разчитат на високи дози кортикостероиди в комбинация с широкоспектърен имunosупресивен агент. През последното десетилетие подобреното разбиране на патогенезата на лупусния нефрит доведе до провеждането на няколко значими клинични проучвания BLISS-LN, AURORA, TULIP 1 и 2, които доведоха до одобрението на няколко нови препарата за лечение на СЛЕ и лупусен нефрит от FDA, а именно Belimumab (BLISS-LN), Voclosporin (AURORA) и Anifrolumab (TULIP 1 и 2). Засега обаче първоначално се прилага стандартното лечение, като не са установени точни критерии или показания, определящи подходящата терапевтична схема спрямо индивидуалните характеристики на пациента. Въпреки широкото обсъждане на цитокиновия профил и стратификация на пациентите на базата на т. нар. интерферонов подпис, липсват указания за изследване биологични маркери, които да определят терапевтичния подход и да отдиференцират пациентите респондъри от

нон-респондърите. Понякога се прилага т. нар. многолекарствена терапия, т.к. се предполага, че в патогенезата на заболяването се включват различни подлежащи дефекти и комбинираната терапия може да обхване повече нарушени оси. Натрупаните данни за възможни нарушения в оста Th17/IL-17/IL-23 при СЛЕ и ЛН, прави изучаването на подлежащите патогенетични механизми обект на множество проучвания и този напредък се очаква да доведе до появата на нови подходи за лечение. Наред с откриването на нови лекарствени мишени, стратифицирането на пациентите, подходящи за съответния терапевтичен режим, ще представлява един от основните въпроси на следващото десетилетие.

Намаляването на активността на СЛЕ при липса на IL12/23 p40 субединицата в животински модели предполага, че последната може да бъде потенциална мишена за терапия. Ролята на Ustekinumab е предмет на проучване при пациенти със СЛЕ, като засега резултатите от фаза II клинично проучване са окуражителни [255]. Относно употребата на IL-17 инхибиторите при СЛЕ има оскъдни данни, предимно от единични съобщения. Резултатите от клинично проучване III-та фаза за безопасността, ефикасността и толерантността на secukinumab при пациенти с лупусен нефрит (SELUNE) се очакват най-рано през 2025 г. [256]. Описан е клиничен случай на 62-годишна пациентка едновременно с псориазис вулгарис и рефрактерен ЛН, който след лечение с anti-IL-17A моноклоналното антитяло secukinumab, се е повлиял положително в клиничен аспект [257]. R. Costa и сътр. също описват рефрактерен на лечение лупусен нефрит, при който приложението на secukinumab е довело до подобрене на клиничните симптоми и пълна ремисия на лупусния нефрит [258]. Интересно от друга страна в литературата се откриват единични съобщения за лекарствено-индуциран лупус - две при употребата на secukinumab и три при употребата на ixekizumab [259]. За да може пациентите по-добре да бъдат стратифицирани и да се преодолеят ограниченията на настоящите терапевтични възможности, научните разработки в момента са насочени към изследване на подлежащите механизми, водещи до ЛН. Характеристиките на болестта се изследват на различни нива, като проучванията обхващат целия спектър от клетъчен анализ, изследване на биомаркери, характеристика на ролята и функцията на антителата до определянето на генетични и епигенетични профили. Благодарението на постиженията и последващия напредък, който се очаква да бъде ориентиран към прецизната (персонализирана) медицина, терапевтичният арсенал, както и индикациите за употребата му, предстои да се обогатяват значимо. Според повечето

автори блокадата на IL-17 има своето значимо място сред новите терапевтични стратегии (фигура 8). [260].



Фигура 8. Нови лекарствени стратегии за лечение на СЛЕ и ЛН по М. Gasparotto и сътр. [260].

Въпреки одобрението на анти-IL-17 терапията при различни автоимунни заболявания и описания добър клиничен отговор при рефрактерен ЛН, са необходими допълнителни клинични изпитвания и данни от реалната практика за дългосрочна оценка на ефикасността и безопасността на IL-17 инхибиторите при СЛЕ. Според Т. Коба и сътр., тъй като СЛЕ е силно хетерогенно автоимунно заболяване, може да се окаже, че блокадата на IL-17 не е подходяща за всички пациенти [261]. Потенциалните благоприятни ефекти на блокерите на IL-17 могат да бъдат ограничени до подгрупа пациенти със СЛЕ, чието заболяване се дължи от нарушения в IL-17 оста. Следователно е важно да се идентифицират биомаркери, които могат да се използват като скрининг, за да се определят пациентите, които имат най-добър шанс да отговорят на лечение с биологични средства, насочени към IL-17.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализът на литературните данни показва, че в патогенезата на автоимунните болести и в частност на СЛЕ дисбалансът в цитокиновата продукция играе важна роля. Предвид генетичната предиспозиция към развитие на автоимунна болест се правят множество опити да бъдат идентифицирани подлежащите молекулярно-биологични механизми. Данните от последното десетилетие очертават възможната роля на единичните нуклеотидни полиморфизми като фактори на възприемчивостта към автоимунитета, тъй като се счита, че някои от тях са свързани със стимулиране или потискане на генната експресия. В подкрепа на тази хипотеза са резултатите от множество асоциативни проучвания, които установяват връзка между полиморфизми в гени с различно функционално значение при СЛЕ и ЛН. Някои алели се очертават като рискови фактори за възникване на тези заболявания, а за други се предполага, че играят протективна роля. Въпреки това получените данни не са напълно категорични и показват значителни популационни вариации. Дори наскоро проведените метаанализи посочват необходимостта от натрупването на по-голям брой научно базирани данни, за да се направи извод за тяхното значение. Резултатите от тези проучвания са важни, тъй като освен за изясняване на патогенезата на автоимунните болести, те биха могли да доведат и до появата на нови диагностични и прогностични маркери по отношение на очакваната клинична изява, тежест на протичане на автоимунния процес, както и да спомогнат при избора на терапевтична стратегия и провеждането на лекарствен мониторинг.

ГЛАВА II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящото проучване е да се изследва влиянието на IL-17A и генетични полиморфизми от сигналния път Th17/IL-17/IL-17R върху предразположението и клиничното протичането на системния лупус еритематозус и лупусния нефрит.

За постигане на целта си поставихме следните **задачи**:

- 1. Да се изследват серумните нива на IL-17A при здрави лица и пациенти с лупусен нефрит и да се определи ролята на този цитокин за развитието на болестта.
- 2. Да се определи влиянието на нуклеотидните полиморфизми (rs2275913, rs708567 и rs1800469) върху секрецията на IL-17A при здрави и болни лица
- 3. Да се определи значението на *IL-17A* rs2275913 (-197G/A) полиморфизма за възникване и изява на СЛЕ и лупусен нефрит.
- 4. Да се изследва ролята на *IL-17RC* rs708567 (+6313C/T) полиморфизма за развитие на заболяването и клиничното му протичане.
- 5. Да се определи ролята на *TGF- β* rs1800469 (-509C/T) полиморфизма за възприемчивостта към СЛЕ и лупусен нефрит и отношението му към IL-17 оста.

ГЛАВА III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1.МАТЕРИАЛ

1.1. ИЗСЛЕДВАНИ ЛИЦА

Проучването обхваща общо 154 индивида, разделени в две групи – 59 пациента със СЛЕ и ЛН и контролна група от 95 неродствени здрави индивиди. Характеристиките на всяка от групите са посочени на таблица 13.

Таблица 13. Характеристика на изследваните групи :

Група	Диагноза	Брой	Мъже	Жени	Възраст				
					Средна	±SD	Медиана	Мин.	Макс.
Игр.	Здрави лица	95	17	78	42.7	14.5	42.0	18	73
Игр.	Пациенти СЛЕ+ЛН	59	10	49	41.3	14.8	41.0	18	78

I-ва група - здрави лица

Контролната група се състои от 95 здрави неродствени индивиди, не проявяващи клинични признаци на автоимунно заболяване, без анамнестични данни за фамилна обремененост, подбрани от биобанка към Молекулярен център по медицина, така че да съответстват по пол, възраст и етническа принадлежност на изследваните пациенти.

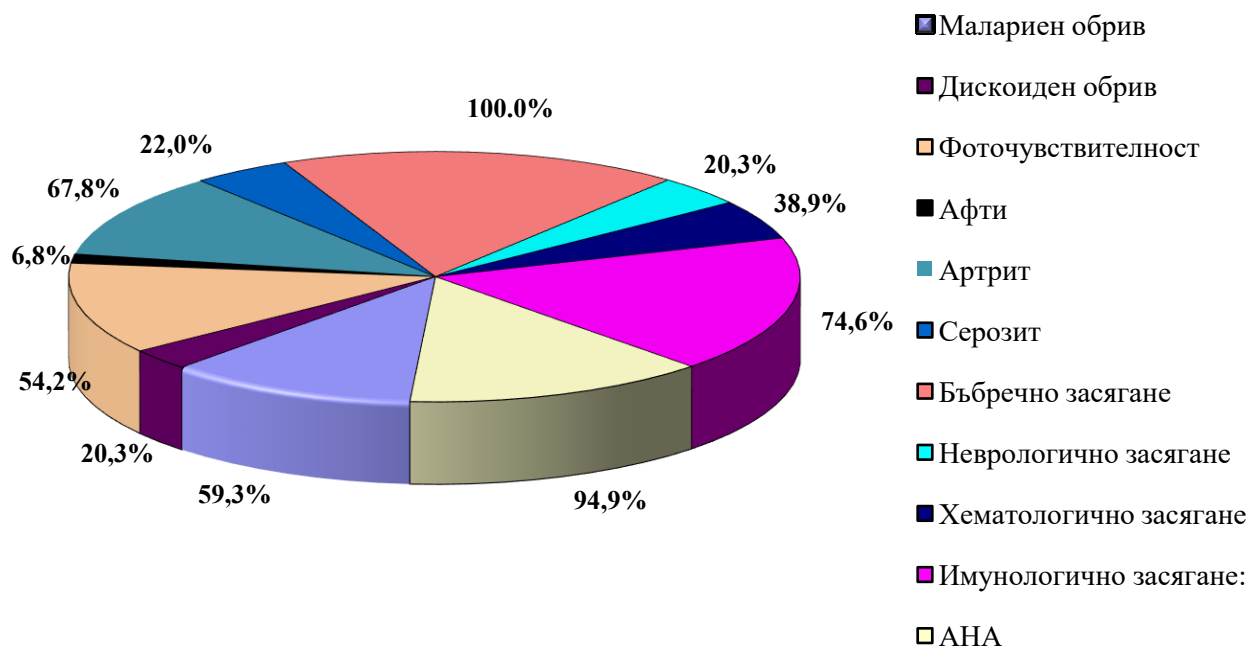
II-ра група -пациенти със СЛЕ

В периода от 2007-2019 г. е извършен подбор на пациенти на случаен принцип със СЛЕ и ЛН от Клиника по нефрология към УМБАЛ “Александровска”, I-ва Клиника по вътрешни болести, отделение по нефрология - Медицински институт на МВР и Клиника по нефрология към УМБАЛ "Св. Иван Рилски", които отговарят на модифицираните критерии на ACR от 1997 г. [144]:

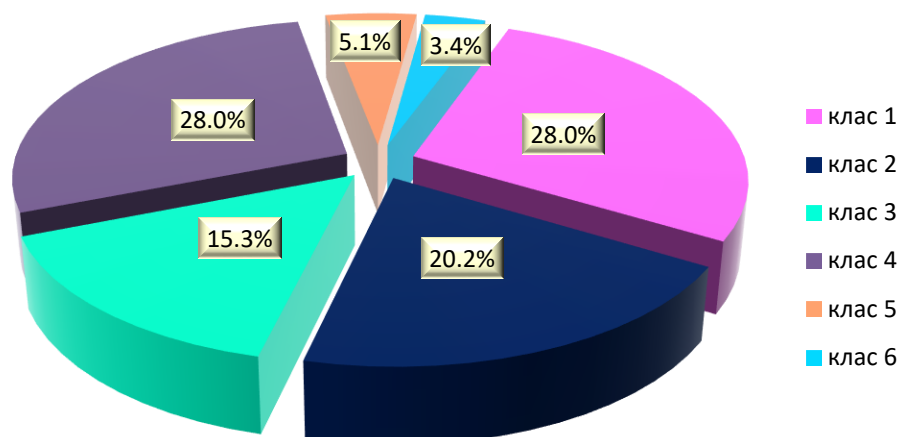
- пеперудообразен обрив
- дискоиден лупус
- фоточувствителност
- орална афтоза
- артрит/артралгии

- серозит
- бъбречно засягане - протеинурия над 0,5 г/л, биопсично доказан лупуснефрит
- неврологични промени (19 синдрома)
- хематологични нарушения - анемия, левкопения, лимфопения, тромбопения
- наличие на антинуклеарни антитела
- имунологични нарушения - антитела срещу ДНК, анти-Smith антитела, антифосфолипидни антитела

Диагнозата беше поставяна при наличие на поне 4 критерия. При всички пациенти бяха регистрирани - възрастта към момента на изследването, възрастта на поява на болестта, формите на болестта, проявени от началото на заболяването и видовете позитивирани автоантитела. Наличието на цереброваскулит беше обективизирано с инструментални методи (КТ, ЯМР, ЕЕГ). Разпределението на пациентите спрямо класификационните критерии е показано на фигура 9. Наличието на ЛН бе верифицирано чрез хистологично изследване след проведена ПББ съгласно Класификация на лупусен нефрит ISN/RPS 2003, като процентният дял по класове е показан на фигура 10.

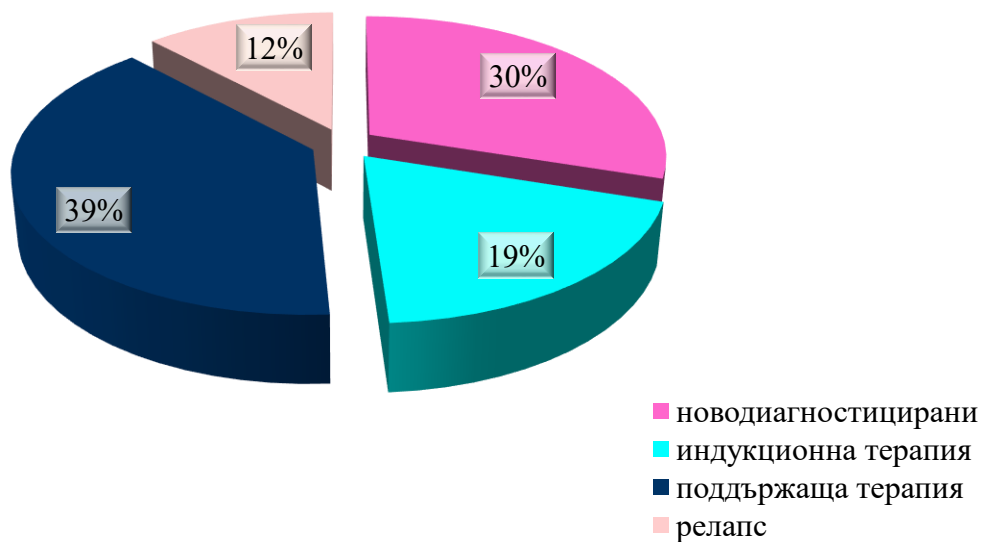


Фигура 9. Характеристика на клиничните прояви при пациенти със СЛЕ според критериите на ACR 1997 г.



Фигура 10. Разпределение на пациентите по клас лупусен нефрит.

Процентното разпределение на пациентите спрямо терапевтични режим при включването в проучването е показано на фигура 11.



Фигура 11. Разпределение на пациентите според терапевтичния режим.

Исключващи критерии – от всички групи бяха изключени пациенти с инфекциозни заболявания, малигнени заболявания, декомпенсирани сърдечно-съдови и чернодробни заболявания, други аутоимунни заболявания, включително хроничен кожен лупус еритематозус, склеродермия, ревматоиден артрит, смесена съединително-тъканна болест.

Всички изследвани лица са подписали писмено информирано съгласие за участие в проучването. Описаното изследване е проведено съгласно Етичния кодекс на Световната лекарска асоциация (Декларацията от Хелзинки), отнасящи се до експерименти с хора. Изследването също така е одобрено от Комисията по етика към Медицински университет – София по проект № 526/21.01.2016 г.

1.2. БИОЛОГИЧЕН МАТЕРИАЛ

1.2.1. Материал за серологично изследване

Изолирането на серума ставаше след венепункция със затворена вакутейнерна система - серумна епруветка с гел на BD от 13ml, посредством центрофугиране 1000g/10 min. Отделеният серум се разпределяше в пластмасови контейнери тип Eppendorf, които се съхраняват при -80°C до момента на анализа за IL-17A. При определянето на антитела АНА, анти-двДНК, анти-Sm, антикардиолипинови антитела серумът се изработваше в рамките на 48 h, поради което пробите бяха съхранявани при +4°C.

1.2.2. Материал за генетично изследване - изолиране на ДНК

За извършване на генетичния анализ след подписване на информирано съгласие беше взимана венозна кръв в епруветка (с обем 10 ml), съдържаща K₃EDTA (етилен диамин тетраацетат) на BD. Кръвта се съхраняваше при +4°C в продължение на максимум 48 часа, след което се изолираше ДНК чрез машинна магнитна сепарация – Chemagen magnetic separation station. След оценка на концентрацията получената ДНК се разделяше в две криоепруветки, които се съхраняваха в ДНК банка към Молекулярния медицински център при – 20°C. Преди това бяха изготвяни работни проби, при които концентрацията на ДНК се довеждаше до 100ng/μl. Те се съхраняваха при +4°C до момента на изследването.

Изолитране на високомолекулна ДНК от кръв чрез робот CHEMAGEN® magnetic separation station с фабричен кит за изолитране chemagic DNA Blood 10k Kit PerkinElmer®

Съдържание на реактивите:

- магнитни частици
- лизиращ буфер 1 (до 1/3 от разтвора)
- свързващ буфер 2 (представява 60% от разтвора)
- промиващ буфер 3-6, съдържащи етанол
- елуиращ буфер съдържа 10 mM Трис-HCl pH=8.0. TE буфер с pH 8.0.

Позициониране на плаки и контейнери в модула на работа

Позиция 1: Поставка за контейнер с налични типове за еднократна употреба

Позиция 2: Панел с 50 ml епруветки съдържащи:

10ml кръв;

50µl протеиназа;

15 ml лизиращ буфер;

25 ml свързващ буфер;

1000µl магнитни частици.

Позиция 3: 50ml епруветка с 15ml миеш буфер 3

Позиция 4: 50ml епруветка с 15ml миеш буфер 4

Позиция 5: 50ml епруветка с 15ml миеш буфер 5

Позиция 6: 50 ml епруветка с 7.5 ml миеш буфер 6

Позиция 7: 50 ml епруветки с 15ml миеш буфер 6

Позиция 8: 13ml епруветки с 1ml елуиращ буфер 7

Изпълнение на метода:

Етап 1. В епруветки от 50 ml, съдържащи 10ml кръв взета върху K₃EDTA (етилен диамин тетраацетат) се добавят 2x7.5ml лизиращ разтвор 1, необходим за разкъсване на клетъчните мембрани. Инкубира се за 5 минути, след което се добавя 50µl протеиназа K - за разграждане на клетъчните белтъци. Стартира се програмата 'blood 10k' за лизиране на клетките за 24 минути.

Етап 2. След като изтекат 24 минути към епруветките с кръв се добавя 25ml свързващ буфер 2 и 1000µl магнитни частици. Движещият модул се зарежда на позиции от 3-8, както е посочено по-горе. След изтичане на програмата изолираните ДНК проби (на позиция 8) се оставят за около 15 минути и ДНК се разпределя в 2 криоепруветки.

Очакваният добив от цяла кръв на здрави индивиди е 200-400µg ДНК.

Количествена и качествена оценка на изолираната ДНК

Качествената и количествена оценка на изолираната ДНК се определи спектрофотометрично (спектрофотометър BioPhotometer, Eppendorf и програма NANODROP). Методът се базира на специфичното поглъщане на светлина с дължина на вълната $\lambda=260\text{nm}$ от пуриновите и пиримидиновите бази на ДНК. Отношението на абсорбциите, измерени съответно при $\lambda 260\text{nm}$ и $\lambda 280\text{nm}$, определя чистотата на ДНК. За граници приемахме стойности между 1.7 и 2.0, тъй като такива под 1.6 се свързват с наличието на примеси от белтъци, а над 2.0 – с примеси от РНК.

2.МЕТОДИ

2.1. СЕРОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

За осъществяването на серологичните методи бяха използвани ELISA stripreader DAS (Digital and analog systems) srl модел B1 M07 и флуоресцентен микроскоп Jenamed 2.

2.1.1. Определяне на серумната концентрация на IL-17A

За определянето на серумните нива на IL-17A бе използван ELISA кит Human IL-17A Platinum ELISA kit of Affymetrix eBioscience™. Тестът е изпълнен съгласно указанията на производителя. Съдържанието на кита е представено в таблица 14:

Таблица 14. Съдържание на ELISA китза IL-17A BMS 2017:

Компонент / Количество
№1 1- 96-гнездова предварително натоварена плака
№2 Покривно фолио
№3 Лиофилизиран стандарт 2 бр.200pg/ml
№4 Буфер за разреждане на стандартите 10x 1 бр. (12ml)
№5 Разребител за стандартите 1 бр. (при изследване на човешки серум или плазма)
№6 Контроли 2 бр.(висока и ниска)
№7 Биотин-конюгат анти-IL-17A1 бр. (70 μl)
№8 Буфер 20x 1 бр. (5ml)
№9 Разребител за пробите 1 бр. (12ml)
№10 Стрептавидин -HRP (пероксидаза от хрян) 1 бр. (150 μl)
№11 Миеш буфер 20x 1 бр. (50 ml)
№12 TMB субстрат 1 бр. (15 ml)
№13 Стоп разтвор 1 бр. (15ml)
№14 Сертификат за качествен контрол 1 бр.

Таблица 15. Приготвяне на стандартите чрез серийни падащи разреждания на основния стандарт - директно накапване.

Епр.№	V на стандарта № 5 във всяка епруетка	Разредител	Конц. на стандартите (pg/ml)
1	100 µl +	100 µl	100.0
2	100 µl +	100µl	50.0
3	100 µl +	100µl	25.0
4	100 µl +	100µl ↓	12.5
5	100 µl +	100µl ↓	6.3
6	100 µl +	100µl	3.1
7	100 µl +	100µl	1.6
8		100µl	бланк

Процедура:

1. Темперирание на китовете и пробите на стайна температура 20-25°C за около час.
2. Накапват се стандартите по посочение начин.
3. Накапват по 100µl от разредителя на пробите в бланка.
4. Накапват по 50µl от разредителя на пробите в гнездата за пробите.
5. Накапват се 50µl от пробите.
6. Приготвя се Биотин-конюгатът (с буфера) и се накапват по 50µl във всички гнезда.
7. Следва инкубация на стайна температура (18-25°C) за 2 часа.
8. Съдържанието в гнездата се изхвърля и те се промиват четирикратно с миеш разтвор, подсушават се върху филтърна хартия.
9. Накапват се по 100µl от предварително разредената с буфер стрептавидин-пероксидаза във всички гнезда на стайна температура (18-25°C).
10. Следва инкубация за 1 час на стайна температура.
11. Стъпка 8 се повтаря.
12. Пипетират се по 100µl от ТМВ субстрат във всички гнезда.
13. Инкубиране на плаката за 10 минути на стайна температура, на тъмно.
14. За спиране на реакцията се добавят по 100µl стоп-разтвор във всички кладенчета.
15. Отчитане на резултата става веднага след прибавянето на стоп-разтвора при дължина на вълната 450 nm.

Така получените резултати са в разреждане 2:1, така че коефициентът на умножение е x2

2.1.2. Определяне на антитела

Определени бяха серумните антитела, посочени в таблица 16, съгласно стандартните оперативни процедури в Клиника по клинична имунология на УМБАЛ „Александровска”

Таблица 16. Използвани методи за определянето на антитела при изследваните пациенти със СЛЕ

Антитела	Метод	Реактивис каталожен номер
Антинуклеарни антитела (АНА)	IIF	FS001.3 BindingsiteHep2-slides PF004 ИЦЗПБ античовешки ИгГ FA105 Bindingsite – (+) контрола FA108 Bindingsite – (+) контрола CON92 Bindingsite – (-) контрола
Анти-двДНК (скрининг)	ELISA	ORG604S ORGENTEC
Анти-Sm	ELISA	ORG510 ORGENTEC
Анти-кардиолипинови ИгГ/ИгМ	ELISA	ORG515 ORGENTEC

Забележка: Всички ELISA процедури са изпълнени съгласно изискванията на производителя ORGENTEC Diagnostica, Mainz, Germany

2.2. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

За генотипизиране на изследваните полиморфизми бяха използвани методи ТаqMan анализ и HRMA анализ (high resolution melting analysis - анализ на топене с висока резолюция), посочени в таблица 17 за всеки полиморфизъм.

Таблица 17. Изследвани гени, единични полиморфизми в тях, номенклатура, метод

Ген	SNP	rs	Метод
<i>IL-17A</i>	-197G/A	rs2275913	HRMA
<i>IL-17RC</i>	+6313 T/C	rs708567	ТаqMan
<i>TGFβ1</i>	-509 C/T	rs1800469	ТаqMan

2.2.1. ТаqMan - количествена полимеразна верижна реакция (PCR)

ТаqMan позволява провеждането на количествена полимеразната верижна реакция (PCR). При метода е използвана двойка алел-специфични проби, конструирани чрез софтуеър Applied Biosystems 7500 версия 2.05. Използваните секвенции (VIC/FAM) са посочени в таблица 18.

Таблица 18. Ген, номенклатура на SNP, секвенции

Ген	rs	VIC/FAM
<i>IL-17RC</i>	rs708567	GAAAAGTTTGGAGGAGCAGCTGACT[C/T]AGGGGTGGAGGAGCCTAGGAATGGT
<i>TGFβ1</i>	rs1800469	GAGGAGGGGGCAACAGGACACCTGA[A/G]GGATGGAAGGGTCAGGAGGCAGAC

TaqMan реакцията е проведена съгласно инструкциите предоставени от Thermo Fisher Scientific в обем 5 µl. За прегледност съдържанието на амплификационната смес и условията на реакцията за двата полиморфизма са представени съответно в таблици 19 и 20.

Таблица 19. Съдържание на амплификационната смес за TaqMan за *IL-17RC*, rs708567 и *TGFβ1* rs1800469

Съдържание на амплификационната смес за TaqMan	<i>IL-17RC</i> , rs708567 <i>TGFβ1</i> rs1800469 Краен обем V= 5 µl
ДНК	1.5µl (10ng/µl)
2X TaqMan® Master Mix	2.5 µl
40X Assay Working Stock	0.12µl
dH ₂ O	0.88µl

Таблица 20. Оптимизирани условия за протичане на амплификация на изследваните SNPs.

Ген	SNPs rs	Бр. цикли	Условия на амплификация PCR
<i>IL-17RC</i>	rs708567	40	D:95°C 00:30 A:60°C 00:90
<i>TGFβ1</i>	rs1800469	40	

2.2.2. Анализ на топене с висока резолюция (HRMA)

Полиморфизмът *IL-17A* rs2275913 беше изследван чрез анализ на топене с висока резолюция. Последователността на двойките праймери (прав и обратен) за генотипизиране на *IL-17A* rs 2275913 са представени на таблица 21:

Таблица 21. Използвани двойки праймери за изследване на *IL-17A* rs 2275913

Ген	rs	Праймери
<i>IL-17A</i>	rs 2275913	F-5'-ACATGAATTTCTGCCCTTCC-3' R-5'-GTTTCAGGGGTGACACCATTT3'

Реакцията беше извършена в краен обем 25 μ l, като съдържанието на амплификационната смес е представени е таблица 22. Амплификационните условия включваха първоначална денатурация на 95 $^{\circ}$ C за 3 минути следвана от 45 цикъла от денатурация на 95 $^{\circ}$ C за 15 секунди, анилинг 58 $^{\circ}$ C за 20 секунди и елонгация на 72 $^{\circ}$ C за 20 секунди. Анализът на топене бе проведен с нарастване от 70-98 $^{\circ}$ C с 0.1 градуса на всяка стъпка. Получените резултати бяха анализирани с помощта на Rotor Gene 3000 Data Analysis software.

Таблица 22. Съдържание на амплификационната смес за HRMA

Съдържание на амплификационната смес за HRMA	<i>IL-17A, rs2275913</i> Краен обем V= 25 μ l
ДНК	3.3 μ l (15ng/ μ l)
10X реакционен буфер	2.5 μ l
MgCl ₂ (50 mM)	0.75 μ l
dNTPs*(5mM)	1.5 μ l
прав праймер (10 pM)	1.56 μ l
обратен праймер(10 pM)	1.56 μ l
Syto9 ((50 μ M)	0.75 μ l
Таqполимераза	0.12
dH ₂ O	12.96 μ l

*Дезоксинуклеотидтрифосфати – дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ

2.3. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

Статистическата обработка на получените резултати беше направена с помощта на следните програми:

- SPSS 26.0

2.3.1. Описателни методи: Проведен беше вариационен анализ на количествените променливи – средна стойност, стандартно отклонение и/или стандартна грешка (за показателите с нормално разпределение) и медиана с минимална и максимална стойност, персентили 25-ти и 75-ти (за показателите с различно от Гаусовото разпределение), което е отразено и в графичните изображения.

2.3.2. Методи за проверка на хипотези

Проверка за нормалност на разпределението чрез тест на Колмогоров-Смирнов (Shapiro-Wilk при пациенти под 50):

1. Параметрични (при нормалност на разпределението)

1.1.Т-тест за проверка на равенство между две независими извадки (Independent Samples T -test)

1.2. Еднофакторен дисперсионен анализ (One-way ANOVA) при сравняване на повече от две средни стойности.

1.3. Корелационен анализ по Pearson за изследване на връзка между две количествени променливи

2. Непараметрични (при разпределение различно от нормалното)

2.1. Тест на Mann-Whitney за сравняване на количествена променлива в две групи (представени са медиани);

2.2. Тестна Kruskal-Wallis за сравняване количествена променлива в повече от две групи (представени са медиани).

2.3. Болест-асоциираното проучване от типа случай-контрола беше осъществено чрез метод χ -квадрат или точен тест на Фишер (two-tailed Fisher's exact test) при малки извадки. При множествени сравнения беше прилагана и корекция по Bonferroni. Допълнително беше изчислена стойността на отношението на шансовете (odd ratios=OR) в 95% доверителен интервал (95 % CI), измерващ относителния риск (шанс) за развитие на болестта при експозиция на анализирания фактор. Разгледани бяха доминантен, рецесивен и кодоминантен модел на генотипно взаимодействие (таблица 23). Този подход беше използван и при оценка на генотипното влияние на всеки от изследваните полиморфизми върху клиничните признаци при СЛЕ. С "NS" беше отбелязван общия случай, когато липваше статистическа значимост за всеки един от тях. При наличие на статистическа значимост тя беше допълнително графично представена.

2.4. Корелационен анализ по Spearman за изследване на връзка между две количествени променливи с непараметрично разпределение.

Таблица 23. Изследвани модели на генетично влияние.

Доминантен модел	Рецесивен модел	Кодоминантен модел
XX+XY	XX	XX
YY	XY+YY	YY

Всички описани статистически методи бяха осъществени с програма SPSS 26.0 IBM. За статистически достоверни се приеха стойности на $p < 0.05$.

2.3.3. Методи за оценка на равновесието на Харди-Вайнберг

Чрез програма PLINK беше направена проверка за съответствие на получените резултати със закона на Харди-Вайнберг.

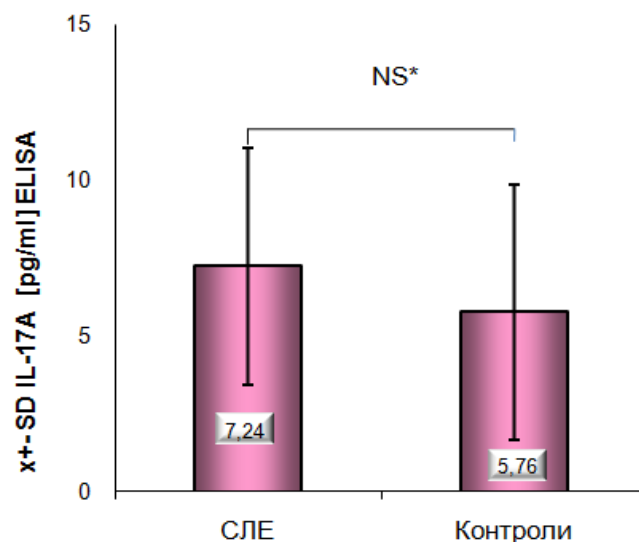
ГЛАВА IV. РЕЗУЛТАТИ

Въз основа на хипотезата за съществуването на цитокинов дисбаланс при болните със СЛЕ, сравнихме серумните нива IL-17A при болни и здрави лица и изследвахме три единични нуклеотидни полиморфизма в три ключови гени от сигналния път на IL-17, а именно *IL-17A*, *IL-17RC* и *TGFβ1*. Анализирана беше както честотата на индивидуалните полиморфизми с оглед изясняване на ролята им в патогенезата на СЛЕ и ЛН сред българи, така и влиянието им върху серумните нива на IL-17A.

1. СЕРУМНИ НИВА НА ИНТЕРЛЕВКИН - 17A (IL-17A) - РОЛЯ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА СЛЕ/ЛН

1.1. Серумни нива на IL-17A при изследваните болни и здрави лица

За да се определи значението на IL-17A в патогенезата и клиничното протичане на СЛЕ и ЛН, серумните му нива бяха сравнени между 59 пациента със СЛЕ/ЛН и 95 неродствени здрави лица, съответстващи по пол и възраст. Средната концентрация в групата на пациентите е 7,24 pg/ml, а тази в групата на контролите е 5,76 pg/ml (фигура 12).

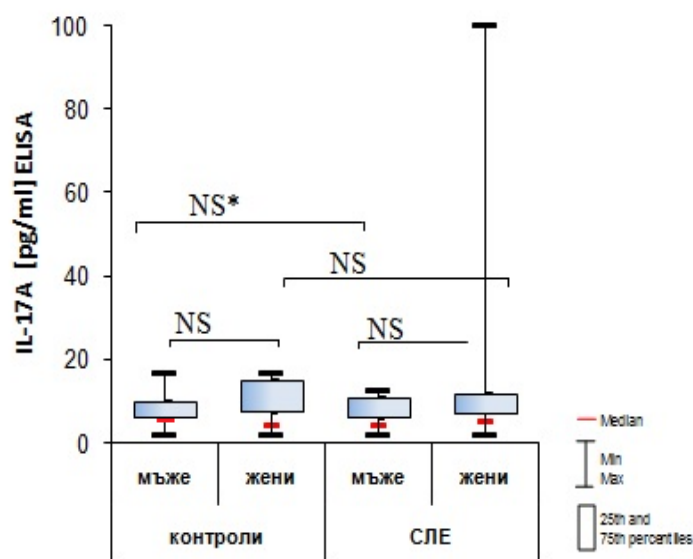


Фигура 12. Сравнение на концентрациите при пациенти със СЛЕ/ЛН и здрави контроли. Представени са средните стойности за всяка група и стандартното отклонение (\pm SD). Поради асиметричното разпределение на нивата на IL-17A се използва непараметричен тест Mann-Whitney U, при което между групите не беше установена статистически значима разлика ($p=0.667$). NS* - статистически несигнификантна разлика.

Чрез теста на Shapiro-Wilk се установи обаче, че разпределението на изследваната променлива (серумна концентрация на IL-17A) е асиметрично, поради което допълнително бяха определени медианите за всяка от изследваните групи, съответно 4.79 pg/ml за пациентите със СЛЕ/ЛН и 4.44pg/ml за контролната група. Използван беше U тест на Mann–Whitney за непараметрични вариабилни, който показва, че разликите в медианите между пациентите със СЛЕ и здравите лица са статистически незначими ($p=0.667$).

1.2. Влияние на пола върху серумните нива на IL-17A

За да се оцени влиянието на пола върху продукцията на IL-17, всяка от изследваните групи – пациенти със СЛЕ/ЛН и здрави лица беше разделена на подгрупи - мъже/жени. При сравнение на нивата на цитокина между двата пола в рамките на всяка група не се установиха значими различия ($p>0.05$ и за двете групи) (фигура 13). Като следваща стъпка бяха сравнени концентрациите на IL-17A между съответните подгрупи - здрави и болни мъже и здрави и болни жени, при което също не се установиха статистически значими разлики (фигура 13).



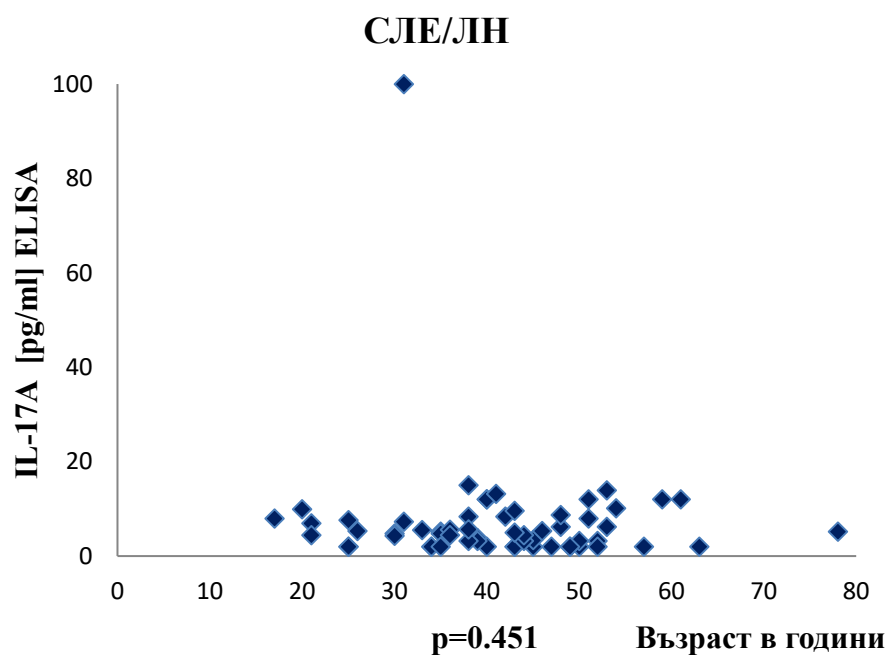
Фигура 13. Сравнение на концентрациите на IL-17 по пол. 1. при мъже и жени във всяка група и 2. между групите по признак пол. *Представена е липсата на статистически значима разлика (NS).

1.3. Влияние на възрастта върху серумните нива на IL-17A

Беше потърсена корелация между възрастта и нивата на IL-17A по метода на Spearman, но не беше установена значимост нито сред здравите лица ($p=0.766$) (фигура 14), нито сред пациентите ($p=0.451$) (фигура 15):



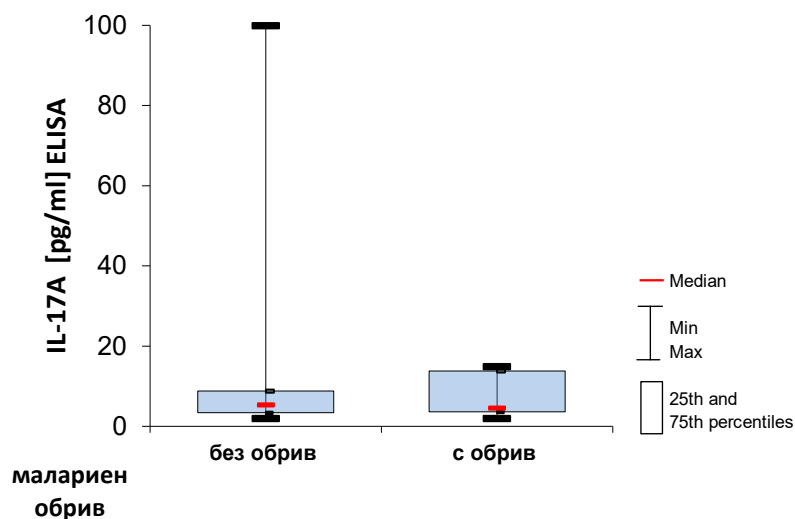
Фигура 14. Линеен корелационен анализ по Spearman между серумните нива на IL-17A и възрастта при здрави индиви. Липсва статистическа значимост ($p>0.05$)



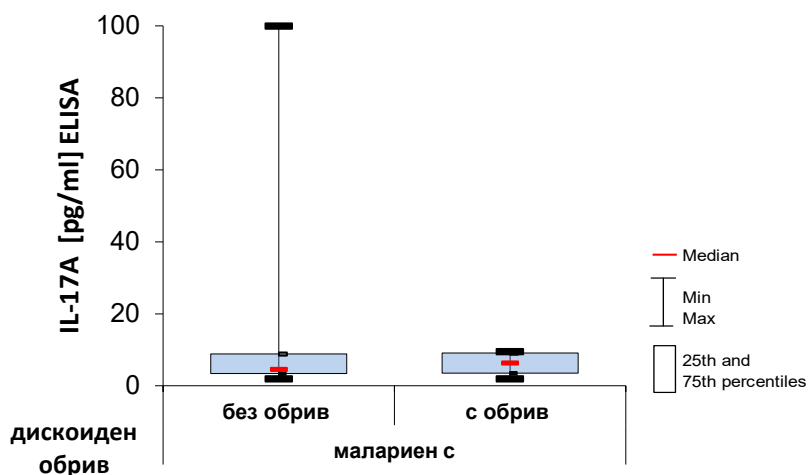
Фигура 15. Линеен корелационен анализ по Spearman между серумните нива на IL-17A и възрастта при пациенти с СЛЕ и ЛН. Липсва статистическа значимост ($p>0.05$)

1.4. Влияние на серумните нива на IL-17A върху клиничните признаци на СЛЕ

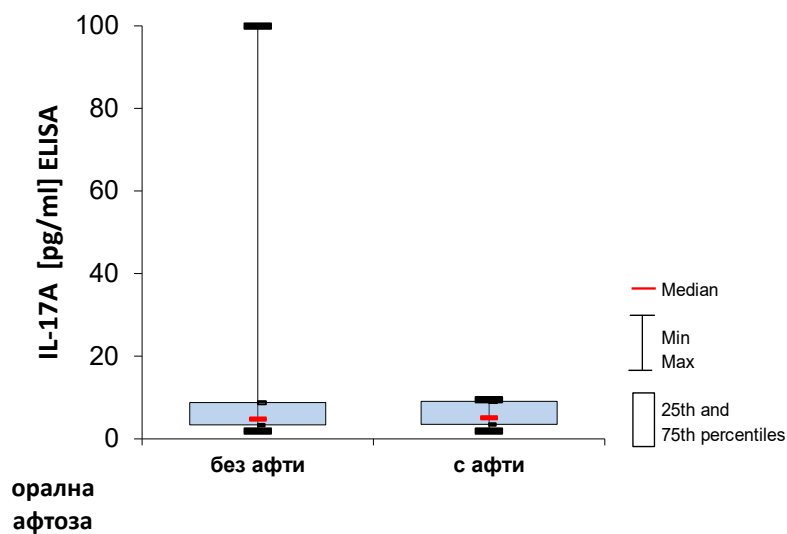
При определяне на връзката между серумните нива и клиничните признаци на СЛЕ, не бяха открити статистически значими резултати за нито един от изследваните клинични и лабораторни признаци (фигури 16-24).



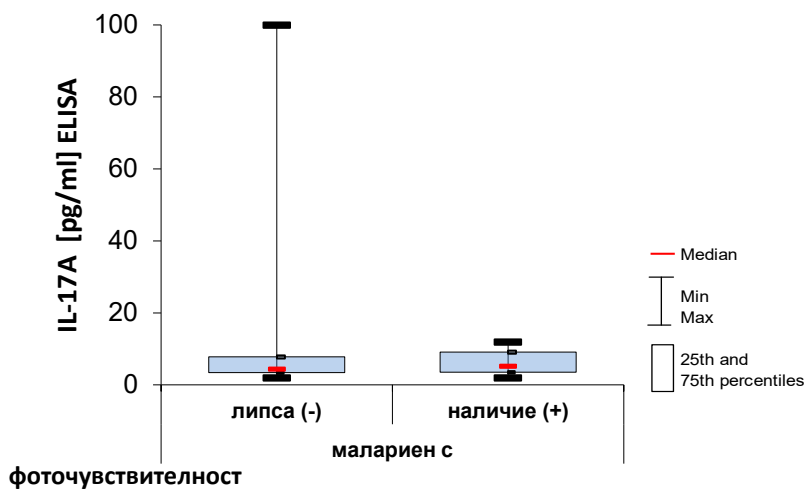
Фигура 16. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без малариен обрив. Липса на статистически значима разлика.



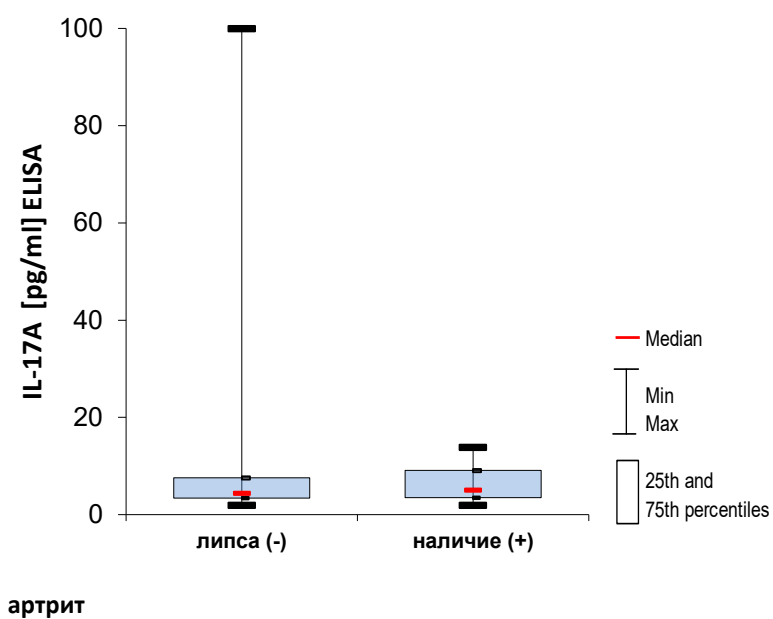
Фигура 17. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без дискоиден обрив. Липса на статистически значима разлика.



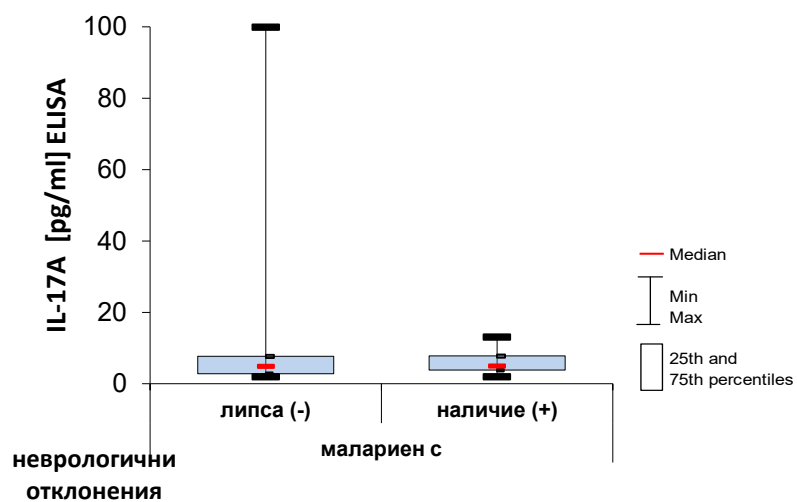
Фигура 18. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без орална афтоза. Липса на статистически значима разлика.



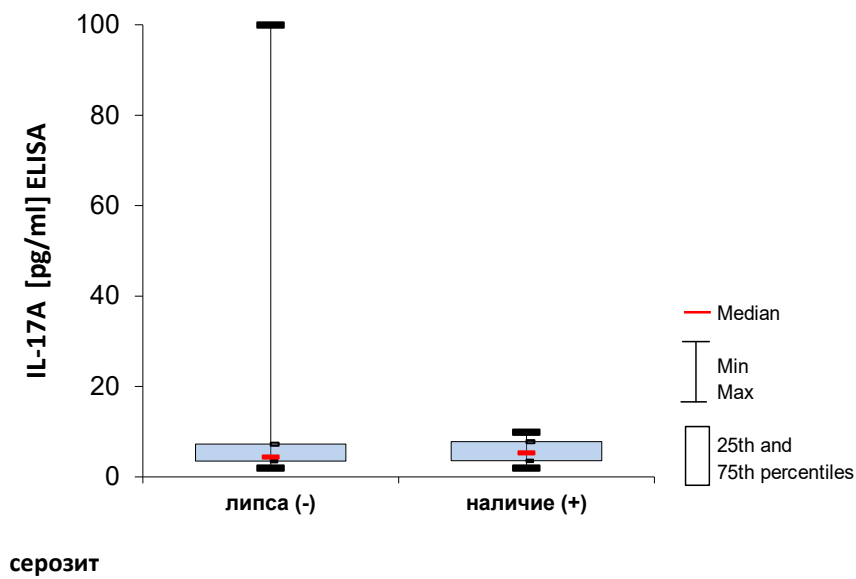
Фигура 19. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с наличие на и без фоточувствителност. Липса на статистически значима разлика



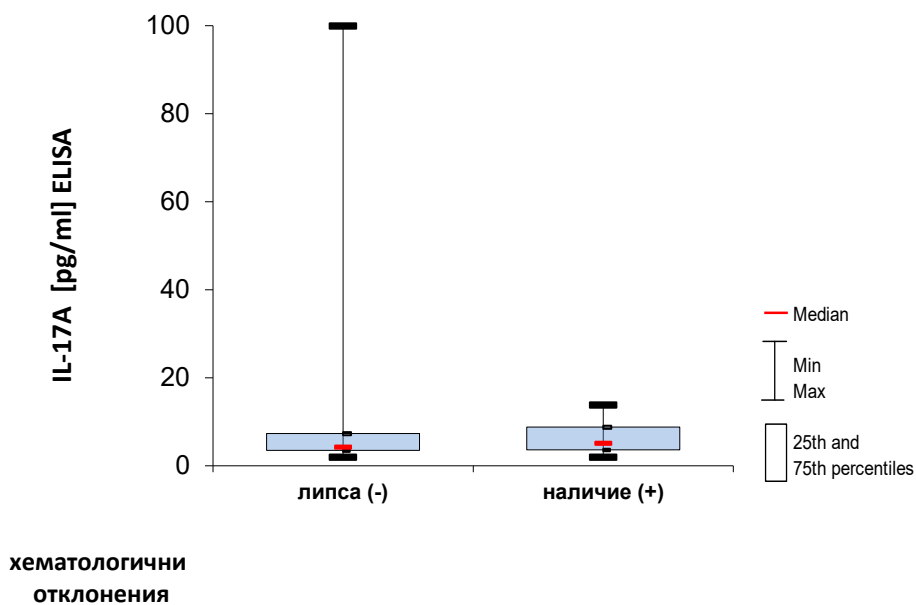
Фигура 20. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без неерозивен артрит. Липса на статистически значима разлика



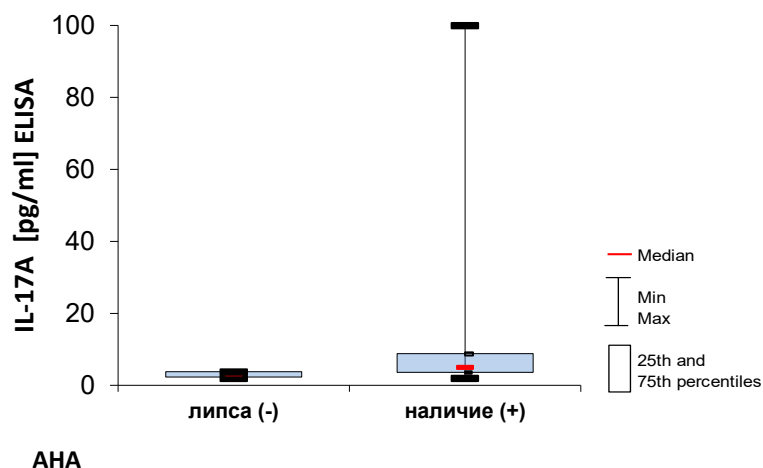
Фигура 21. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без неврологично засягане. Липса на статистически значима разлика.



Фигура 22. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без серозит. Липса на статистически значима разлика.



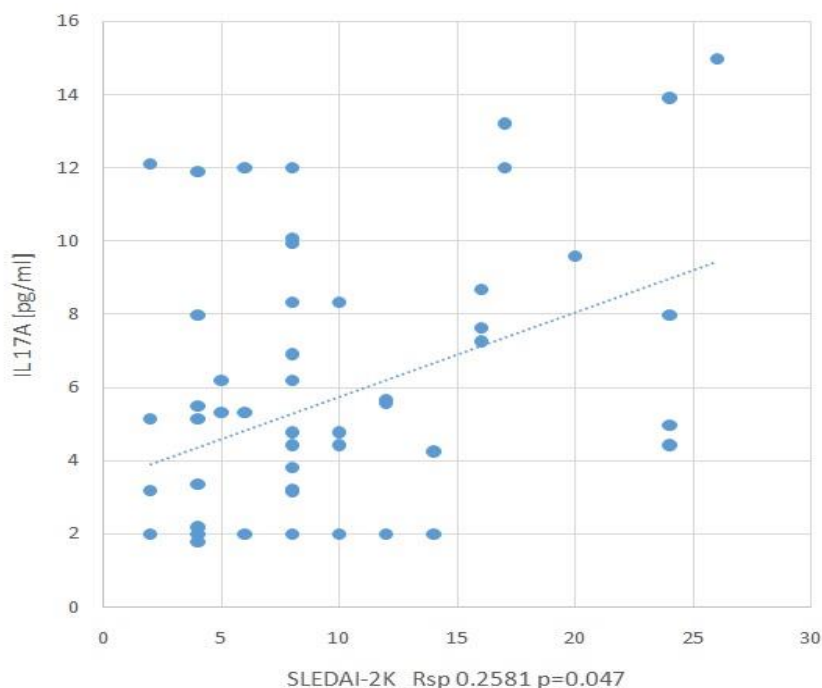
Фигура 23. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без на хематологично засягане. Липса на статистически значима разлика.



Фигура 24. Серумни нива на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН с и без наличие на АНА. Липса на статистически значима разлика.

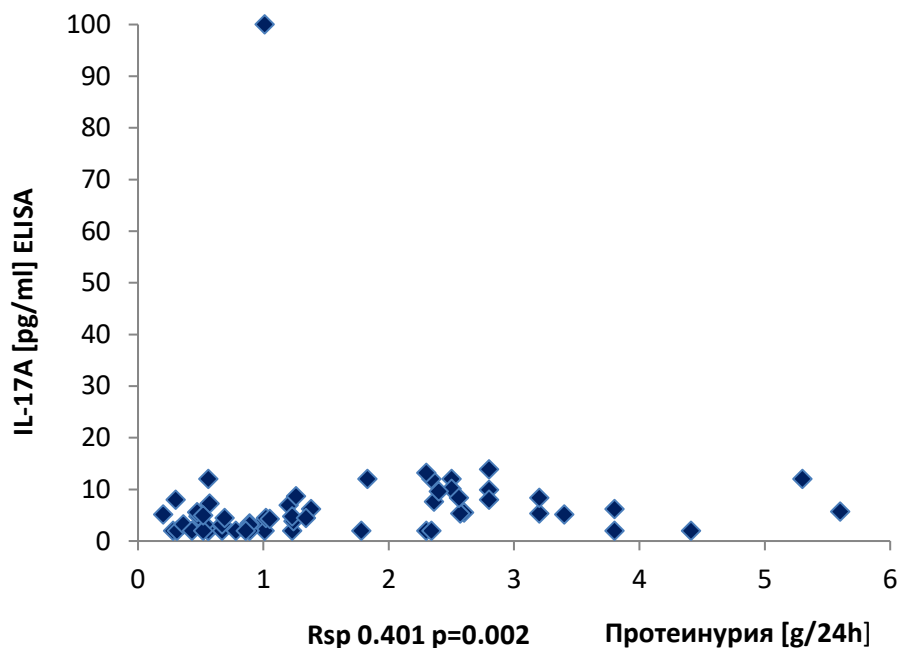
1.5. Връзка на серумните нива на IL-17A и активността на СЛЕ/ЛН

Въпреки че IL-17A не показва различия по отношение на отделните клинични признаци на СЛЕ, при проведения корелационен анализ по Spearman се установи статистически значима положителна корелация между нивата на IL-17A и индекса за активност на заболяването SLEDAI-2K (Rsp 0.258, p=0.047) (фигура 25).



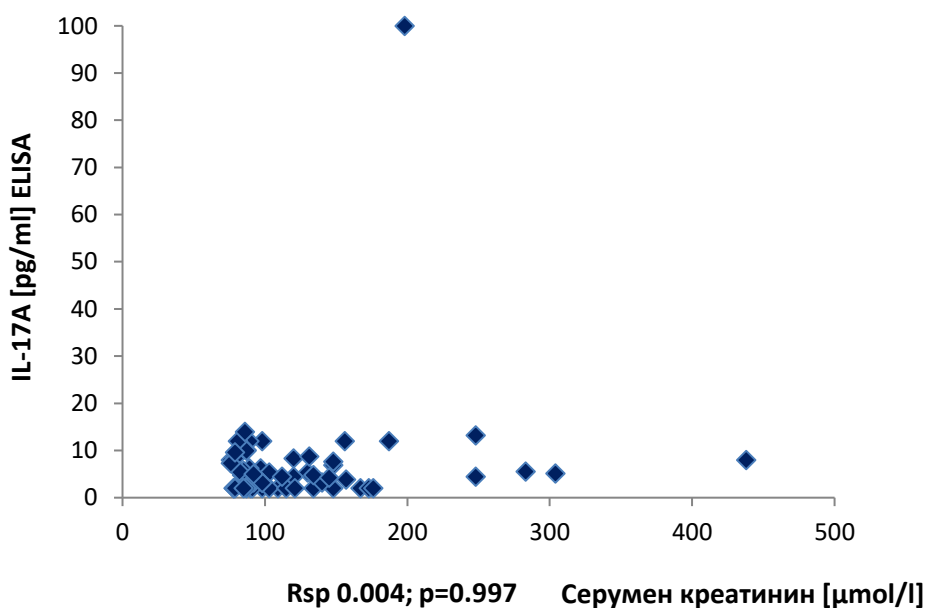
Фигура 25. Графично представяне на положителната корелация между серумни нива на IL-17A и индекса на активност на СЛЕ - SLEDAI-2K. Rsp - коефициент на корелация по Spearman.

От проведените изследвания относно лупусния нефрит се установи положителна корелация между серумните нива на IL-17 и протеинурията с $R_{sp} 0.401$ $p=0.002$; фигура 26.



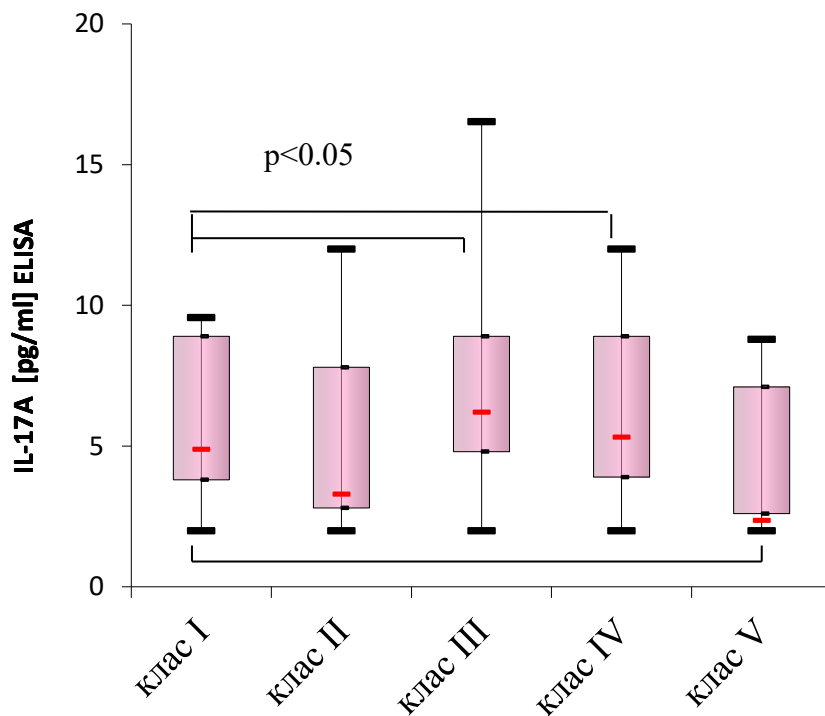
Фигура 26. Графично представяне на положителната корелация между серумните нива на IL-17A и протеинурия при пациенти със СЛЕ/ЛН.

Между нивата на IL-17A и серумния креатинин не се установи статистически значима връзка фигура 27.



Фигура 27. Графично представяне на липсата на зависимост между серумните нива на IL-17A и серумния креатинин при пациенти със СЛЕ/ЛН ($p>0.05$)

Извършен бе и анализ на нивата на IL-17A по класове на ЛН. Най-високи нива бяха наблюдавани в пролиферативните класове - III и IV клас, а най-ниски в клас V, като статистическият анализ потвърди значимостта на различията ($p < 0.05$) (фигура 28). Средната на IL-17A за клас I беше 5.0 при медиана 4.8, а за клас II съответно средна 5.38 и медиана 3.29. В клас III и IV бяха отчетени съответно най-високите средни от 7.11 и 6.0 и най-високи медиани 6.20 и 5.32. Изследваните пациенти с клас V показаха ниски стойности, както за средната 3.22, така и за медианата 2.36. Анализ при клас VI не беше проведен, т.к. само двама от изследваните пациенти попадат в тази група и получените резултати не биха били статистически достоверни.

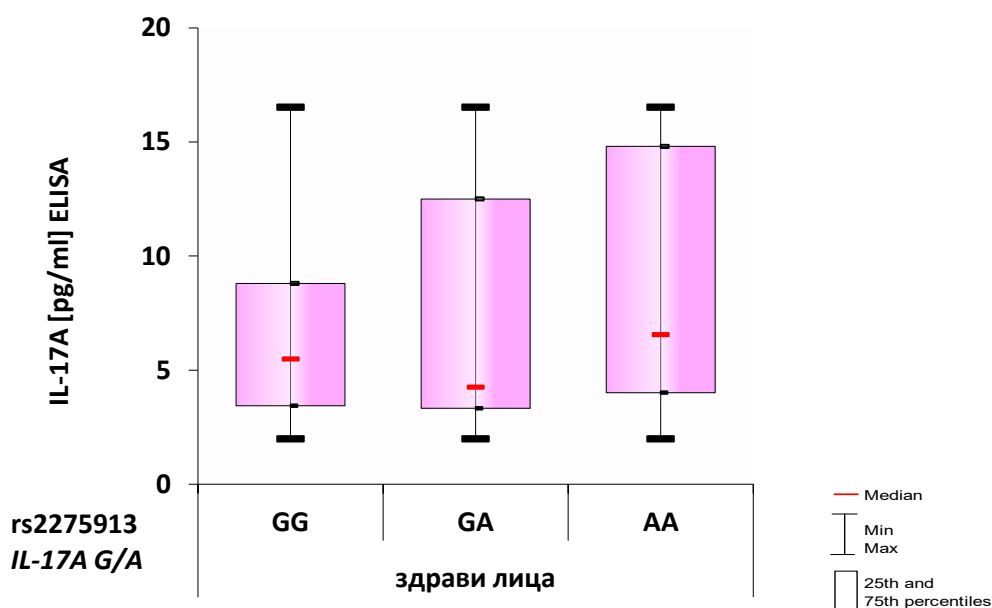


Фигура 28. Графично представяне на нивата на IL-17A при пациенти със СЛЕ/ЛН по класове на лупусния нефрит. Статистически значимо по-високи нива се наблюдават в пролиферативните класове - III и IV, а най-ниски нива бяха отчетени за клас V.

2. ГЕНОТИПНО ВЛИЯНИЕ ВЪРХУ ПРОДУКЦИЯТА НА IL-17A ПРИ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЗДРАВИ И БОЛНИ ЛИЦА

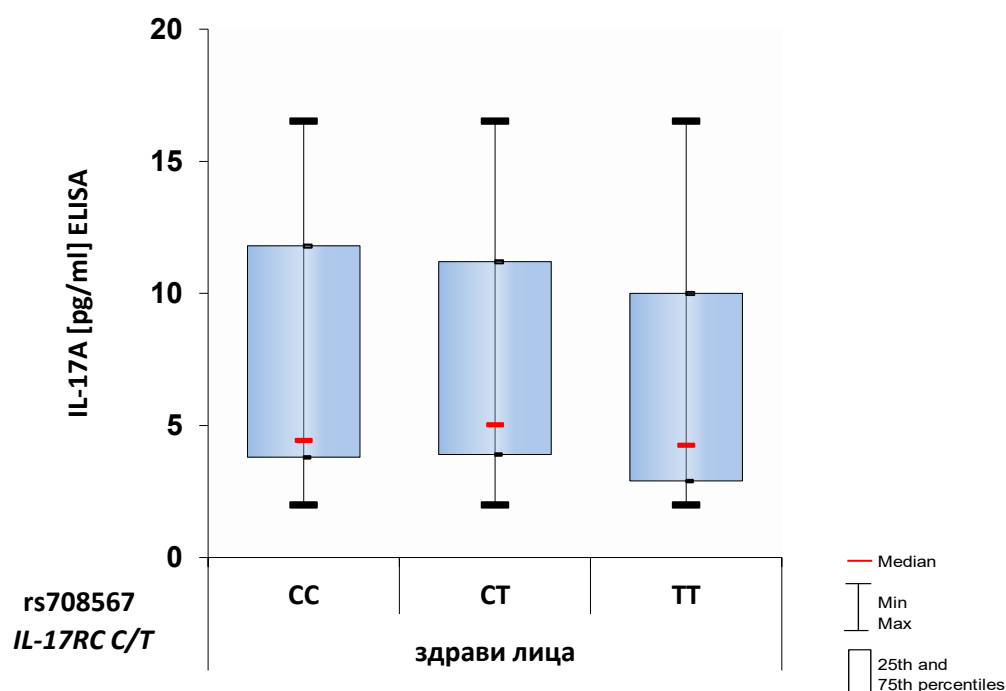
2.1. Генотипно влияние на изследваните полиморфизми върху продукцията на IL-17A при здрави лица

За да се определи влиянието на *IL-17A* (-197G/A) rs 2275913 върху продукцията на IL-17A бяха изследвани нивата на IL-17A сред здравите лица. Най-висока средна стойност на IL-17A беше измерена за лицата с генотип AA - 8.11 pg/ml при медиана 6.56 pg/ml. Най-ниски стойности бяха отчетени за хетерозиготите (GA) - съответно средна 5.07 pg/ml и медиана 4.26 pg/ml. Средната при генотипа GG беше 6.09 pg/ml, а медианата - 5.49 pg/ml. Статистическият анализ показва, че различията не достигат статистическа значимост (фигура 29).



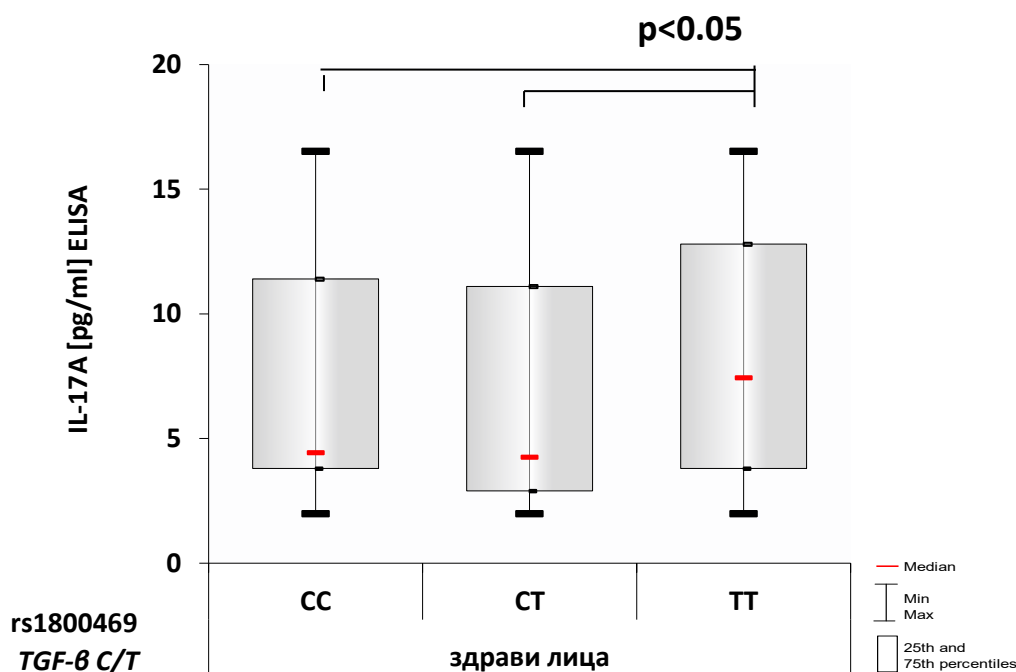
Фигура 29. Генотипно разпределение на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма и серумните нива на IL-17A. Липса на статистически значима разлика при сравняване на нивата на IL-17A по генотип.

Относно *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма средната за хомозиготите по С алела беше 5.25 pg/ml при медиана 4.44pg/ml, а средната за хомозиготите по Т алела - 5.32 pg/ml при медиана 4.26 pg/ml. Най-висока средна и медиана бяха отчетени за хетерозиготите (СТ) съответно 6.30 pg/ml и 5.03 pg/ml. Направеният статистически анализ показва, че между отделните генотипи на полиморфизма *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 липсва статистически значима разлика в концентрацията на IL-17 (фигура 30).



Фигура 30. Генотипно разпределение на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма и серумните нива на IL-17A. Липса на статистически значима разлика при сравняване на нивата на IL-17A по генотип.

Единствено полиморфизмът *TGF-β* (-509T/C) rs18000467 показва статистически значима разлика в нивата на IL-17A при сравнението по генотип. При хомозиготите по С алела генотипа беше установена средна 5.76 pg/ml при медиана 4.44 pg/ml, а при хетерозиготите (СТ) изчислената средна беше 4.78 pg/ml при медиана 4.26 pg/ml. При хомозиготите по Т алела се установиха най-високи стойности - средна 8.88 pg/ml и медиана 7.44 pg/ml. От направения непараметричен тест се установи, че -509ТТ генотипът се асоциира със значимо по-високи нива на IL-17A в сравнение с генотипите СС и СТ (фигура 31).



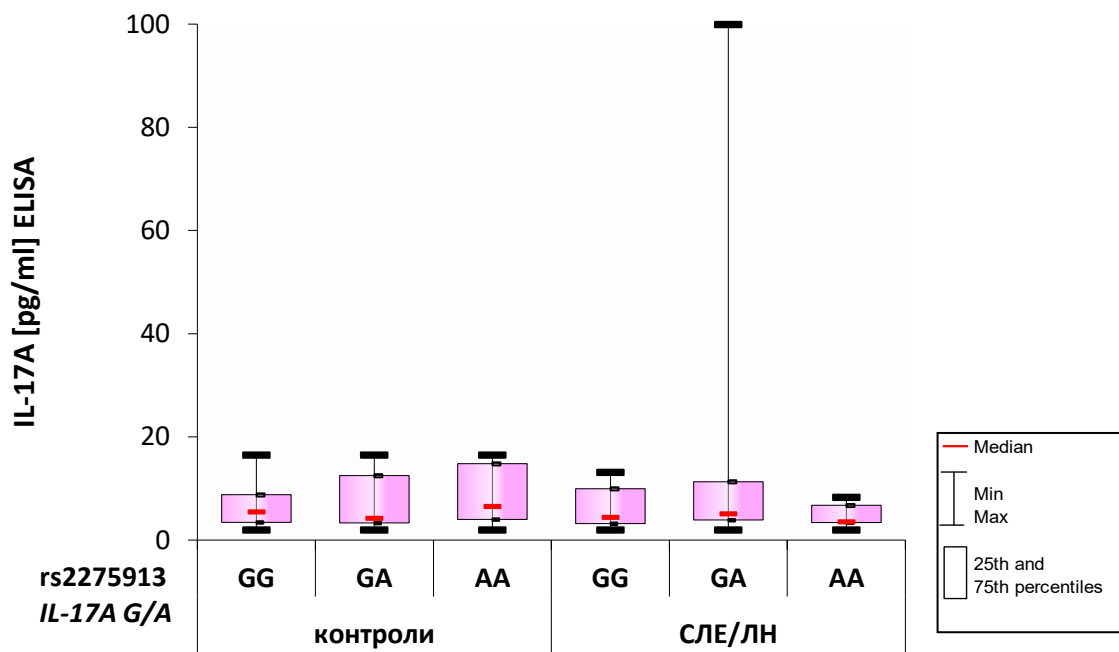
Фигура 31. Връзка на *TGFβ* (-509C/T) rs1800469 полиморфизма и серумните нива на IL-17A. Представена статистически значима асоциация на -509TT генотипа с високите нива на IL-17A в сравнение с генотипите CC и CT.

От получените резултати може да се обобщи, че генотипните различия в полиморфизмите *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 и *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 не показаха значими разлики в продукцията на IL-17A при здрави лица, а *TGFβ* -509TT генотипът от rs1800469 полиморфизма се асоциира с високи нива на IL-17A.

2.2. Генотипно влияние на изследваните полиморфизми върху продукцията на IL-17A при пациенти със СЛЕ и ЛН

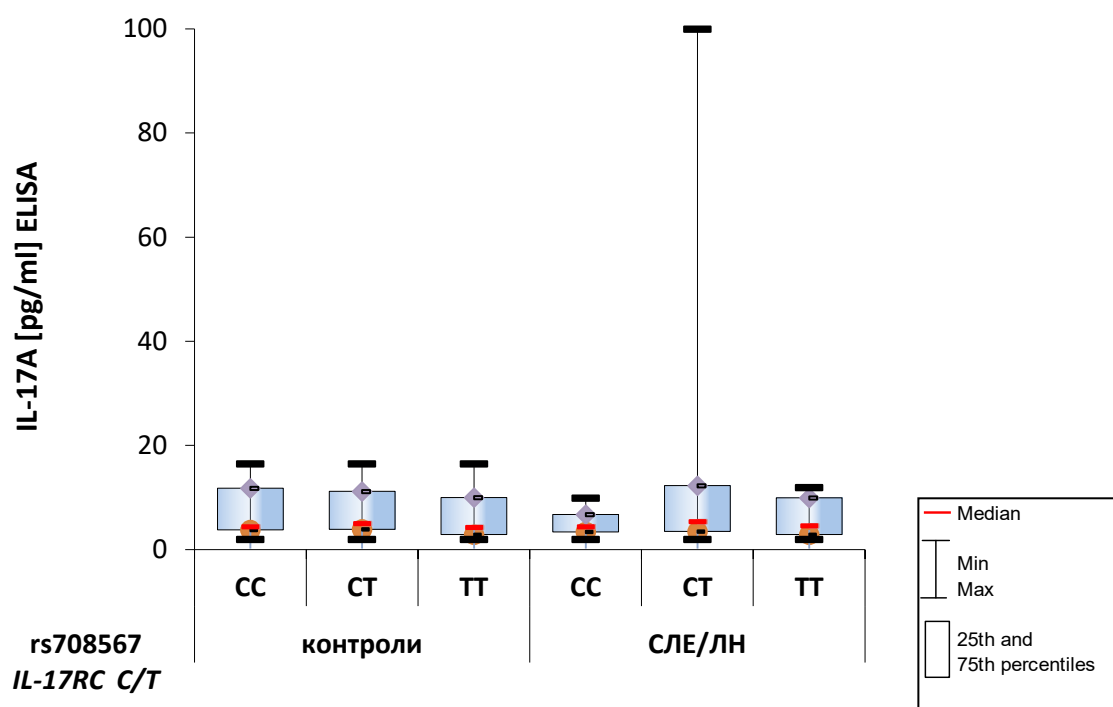
За да се оцени ролята на полиморфизмите върху продукцията на IL-17A в условията на болестния процес и да се оцени влиянието на патологичните фактори, от една страна бяха сравнени нивата на IL-17A между различните генотипи сред пациентите със СЛЕ/ЛН (вътрегрупов анализ), а от друга страна беше направено сравнение за идентичните генотипи между болните и здравите лица (междугрупов анализ).

При сравнението на серумни нива на IL-17A в полиморфизма *IL-17A* -197G/A rs2275913 сред пациентите със СЛЕ/ЛН, не се установиха статистически значими разлики. Липса на статистическа значимост беше отчетена и при сравнение на нивата на IL-17A по генотип между групите болни и здрави лица (фигура 32).



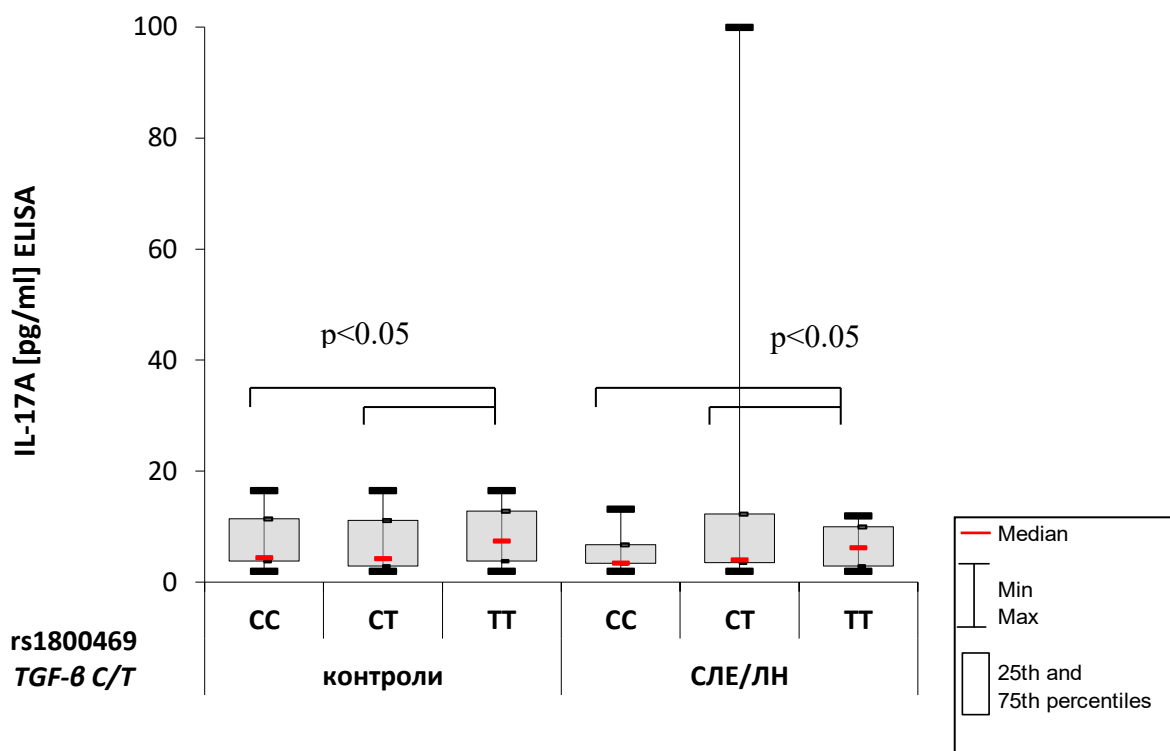
Фигура 32. Серумни нива на IL-17A спрямо генотипите от полиморфизма *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 при здрави и болни лица. Липса на статистическа значимост както при вътрегруповия анализ сред пациентите, така и при сравнение на нивата на IL-17A по генотипи между групите болни и здрави лица.

Подобни резултати бяха получени и относно полиморфизма *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567. При сравнение на нивата на IL-17A в групата на СЛЕ/ЛН по генотип не беше установена статистически значима разлика (фигура 33). Сравнителният анализ между групите здрави лица и пациенти със СЛЕ/ЛН по идентичен генотип също не показва значими различия (фигура 33).



Фигура 33. Серумни нива на IL-17A по генотипове от полиморфизма *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма при здрави и болни лица. Липса на статистическа значимост както при вътрегруповия анализ сред пациентите, така и при сравнение на нивата на IL-17A по генотипи между групите болни и здрави лица.

Както при здрави лица, така и сред пациентите със СЛЕ/ЛН *TGF-β* -509T/C rs18000467 показва статистически значима разлика в нивата на IL-17A. При пациентите с генотип CC беше установена средна 5.42 при медиана 3.48, при хетерозиготите (CT) средната беше 8.28 при медиана 4.04, а при пациентите с генотип TT беше изчислена средна 6.72 при медиана 6.2. Чрез непараметричен тест на Манн-Whitney се установи, че -507TT генотипът се асоциира със значимо по-високи нива на IL-17A в сравнение с генотипите CC и CT и при пациентите със СЛЕ/ЛН (фигура 34). От извършения сравнителен анализ за нивата на IL-17A по идентични генотипове между групите болни и здрави лица обаче, не бяха установени статистически значими разлики ($p > 0.05$).



Фигура 34. Връзка на полиморфизма *TGFβ* (-509C/T) rs1800469 със серумните нива на IL-17A в зависимост от генотипа при здрави лица и при пациенти със СЛЕ/ЛН. Представена е установената статистически значима разлика в серумните нива на IL-17A за TT генотипа спрямо останалите генотипи и за двете групи. Липсва статистическа значима разлика по идентичен генотип между болни и здрави лица.

В обобщение при сравнението на нивата на IL-17A по генотип в рамките на групата на пациентите, подобно на резултатите при здрави лица, значими различия се установиха единствено по отношение на полиморфизма *TGF-β*-509C/T rs18000467. Както при здрави лица, така и при пациентите със СЛЕ/ЛН *TGFβ* -509TT генотипа се асоциира със значимо по-високи нива на IL-17A. И за трите изследвани полиморфизма не се установяват статистически различия в нивата на IL-17A при сравнението им по идентичен генотип между групите болни и здрави лица.

3. АСОЦИАТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ПОЛИМОРФИЗМИ, СВЪРЗАНИ СЪС СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СЛЕ И ЛН

В хода на настоящото проучване бе проведен анализ от вида случай - контрола за връзката на три единични нуклеотидни полиморфизма - rs2275913 *IL-17A*-197G/A, rs708567 *IL-17RC*+6313C/T, rs1800469 *TGF-β*-509C/T. Честотата на полиморфизмите в цитокиновите гени бе проучена в група от 59 болни със СЛЕ и ЛН и беше сравнена с тази на 95 здрави, неродствени индивиди.

Всички изследвани SNPs са в съответствие със закона на Hardy-Weinberg.

За всеки отделен полиморфизъм бе изследвано алелно и генотипно влияние върху клиничните признаци на болестта.

3.1. Влияние на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН.

Получените резултати относно генотипните и алелни честоти за *IL-17A* -197G/A rs2275913 полиморфизма при пациентите със СЛЕ/ЛН и сред здравите лица са обобщени в таблица 24. Както се вижда, разпределението по генотипи между пациентите и контролите не се различава. И в двете групи G-алелът се среща с по-висока честота в сравнение с А алела, като разпределението в двете групи е почти идентично (69% спрямо 31%).

Таблица 24. Алелни и генотипни честоти на полиморфизма rs2275913 в гена *IL-17A* (-197G/A) при пациентите със СЛЕ/ЛН и здрави лица.

Ген/ полимор- физъм	Генотипи и алели		Група, брой (%)		OR	95% CI	p-стойност (Fisher's exact test)
			СЛЕ/ЛН (59)	Контроли (95)			
<i>rs2275913</i> <i>IL-17A</i> <i>-197 G/A</i>	Генотипи	GG	27(45.8)	43 (45.3)	1	0.5 – 1.9	1
		GA	28 (47.5)	45 (47.3)	1	0.5 – 1.9	1
		AA	4 (6.7)	7 (7.4)	0.9	0.3 – 3.3	1
	Алели	G	82 (69.5)	131 (68.9)	1	0.6–1.6	1
		A	36 (30.5)	59 (31.1)			

Алелно и генотипно влияние на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма върху клиничните признаци при СЛЕ и ЛН

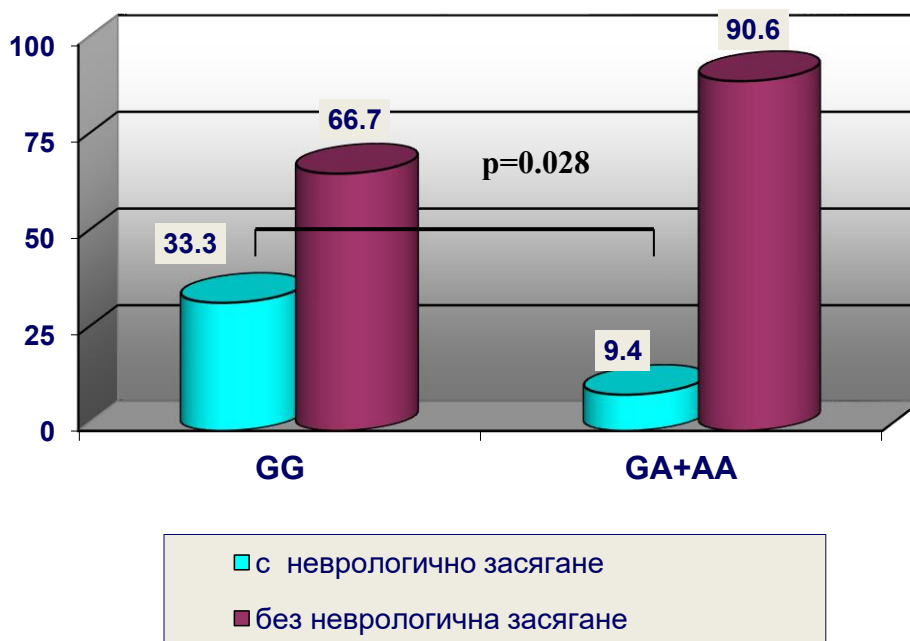
Връзката между изследвания полиморфизъм и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН обобщено са представени в таблица 25. При проучването им бе установена единствено асоциация на носителството на *IL17A* -197GG генотипа ($p=0.028$, OR 4.83, 95% CI 1.2-20.3) и G-алела ($p=0.024$, OR 3.8, 95%CI 1-13.6) с наличието на неврологично засягане.

Таблица 25. Генотипно разпределение на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма при СЛЕ/ЛН спрямо клиничните признаци на болестта.

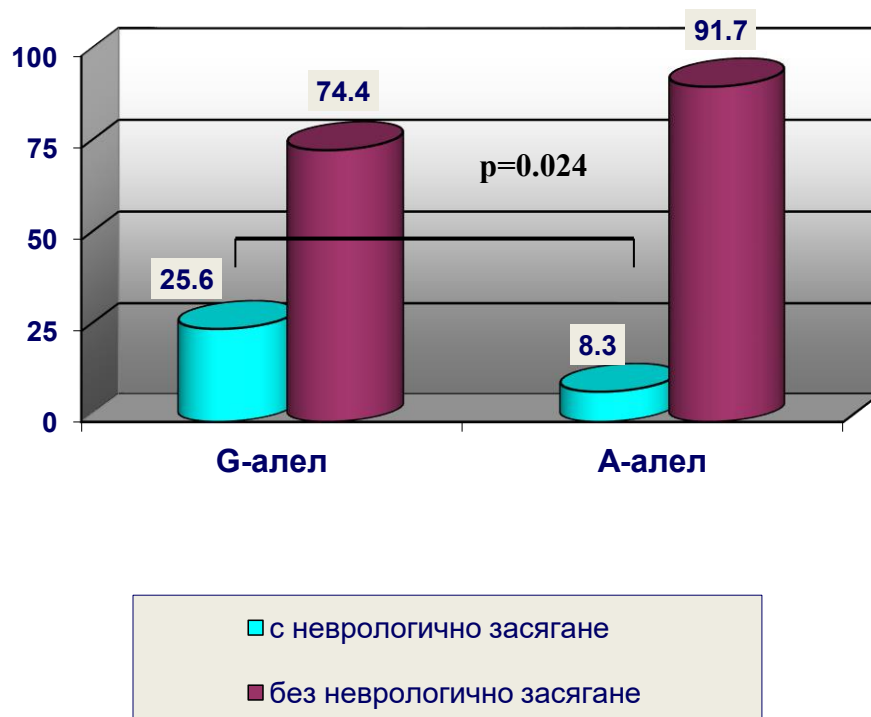
<i>Генотип</i>	<i>GG (n=27)</i>	<i>GA (n=28)</i>	<i>AA (n=4)</i>	<i>р-стойност</i>
<i>Клиничен признак</i>				<i>Fisher's exact test</i>
Малариен обрив	16 (59.3%)	16 (57.1%)	3 (75.0%)	NS*
Дискоиден обрив	5 (18.5%)	7 (25.0%)	0 (0.0%)	NS
Фоточувствителност	15 (55.6%)	15 (53.6%)	3 (75.0%)	NS
Афтоза	3 (11.1%)	1 (3.6%)	0 (0.0%)	NS
Артрит	17 (63.0%)	20 (71.4%)	3 (75.0%)	NS
Серозит	5 (18.5%)	7 (25.0%)	1 (25.0%)	NS
Бъбречно засягане	27(100.0%)	28 (100.0%)	4 (100.0%)	-
Неврологично засягане	9 (33.3%)	3 (10.7%)	0 (0.0%)	GG генотип $p=0.028$ G алел $p=0.024$
Хематологично засягане	7 (25.9%)	13 (46.4%)	3 (75.0%)	NS
АНА	24 (88.9%)	28 (100.0%)	2 (50.0%)	NS
Имунологично засягане (анти-двДНК, анти-Sm, АФА, други)	20 (74.1%)	20 (71.4%)	4 (100.0%)	NS

*NS- статистически незначим резултат

От направения анализ се установи рецесивен модел (GG/GA+AA) на влияние в *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 върху неврологичната симптоматика. На фигури 35 и 36 детайлно е представена асоциацията на -197GG генотипа и -197G алела с неврологичното засягане. Както беше отбелязано, носителството им е свързано съответно с 4.83 и 3.8 пъти по-голям риск за неврологична изява на болестта (виж OR по-горе).



Фигура 35. Рecessивен модел на влияние на полиморфизма *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 върху неврологичната симптоматика при пациенти със СЛЕ/ЛН. Представена е асоциацията на -197GG генотипа с неврологичното засягане при пациенти със СЛЕ.



Фигура 36. Асоциация на -197G алела от полиморфизма *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 с неврологичното засягане при пациенти със СЛЕ.

3.2. Влияние на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН.

Получените резултати относно генотипните и алелни честоти за *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма при пациентите със СЛЕ/ЛН и сред здравите лица са обобщени в таблица 26. Както се вижда от таблицата, генотипното и алелно разпределение между пациентите и контролите не показва значими различия.

Таблица 26. Алелни и генотипни честоти на полиморфизма rs708567 в гена *IL-17RC* (+6313C/T) при пациентите със СЛЕ/ЛН и здрави лица.

Ген/ Полимор- физъм	Генотипи и Алели		Група, брой (%)		OR	95% CI	p-стойност (<i>Fisher's exact test</i>)
			СЛЕ /ЛН (59)	Контроли (95)			
<i>IL-17RC</i> rs708567	Генотип и	СС	17 (28.8)	21 (22.1)	1.00	0.9 – 4	0.1
		СТ	24 (40.7)	43 (45.3)	0.08	0.4 – 1.6	0.6
		ТТ	18 (30.5)	31 (32.6)	0.9	0.4 – 1.6	0.9
	Алели	С	58 (49.2)	85 (44.7)	1.2	0.8 – 1.9	0.5
		Т	60 (50.8)	105 (55.3)			

Алелно и генотипно влияние на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма върху клиничните признаци при СЛЕ и ЛН

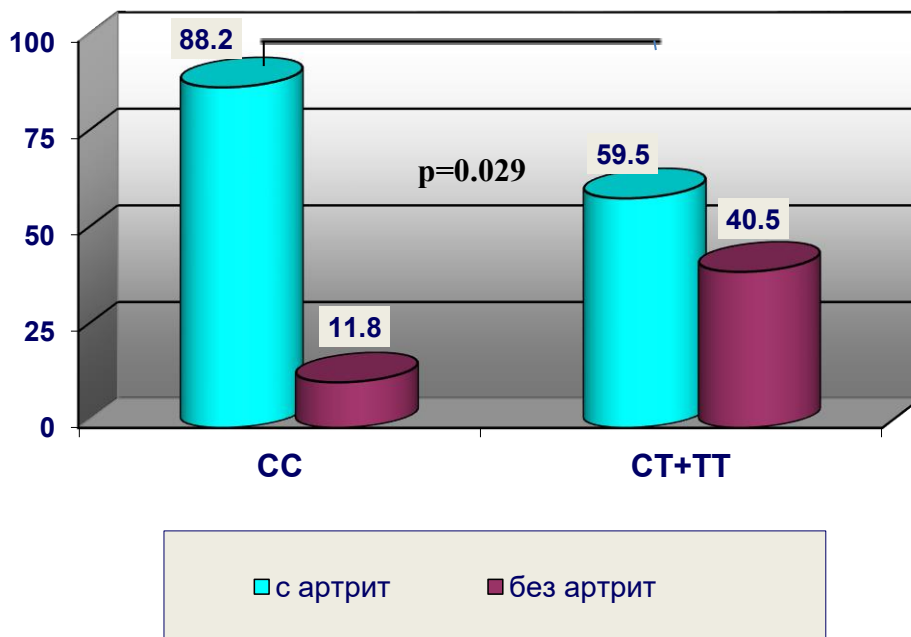
При проучването на връзката между изследвания полиморфизъм и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН, бе установена единствено асоциация на носителството на *IL17RC* +6313СС генотипа (p=0.029, OR 5.1, 95% CI 1-25.2) и +6313 алела (p=0.017, OR 2.6, 95%CI 1.2-5.42;) с наличието на артрит. Обобщените данни са представени в таблица 27.

Таблица 27. Генотипно разпределение на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма при СЛЕ и ЛН спрямо клиничните признаци.

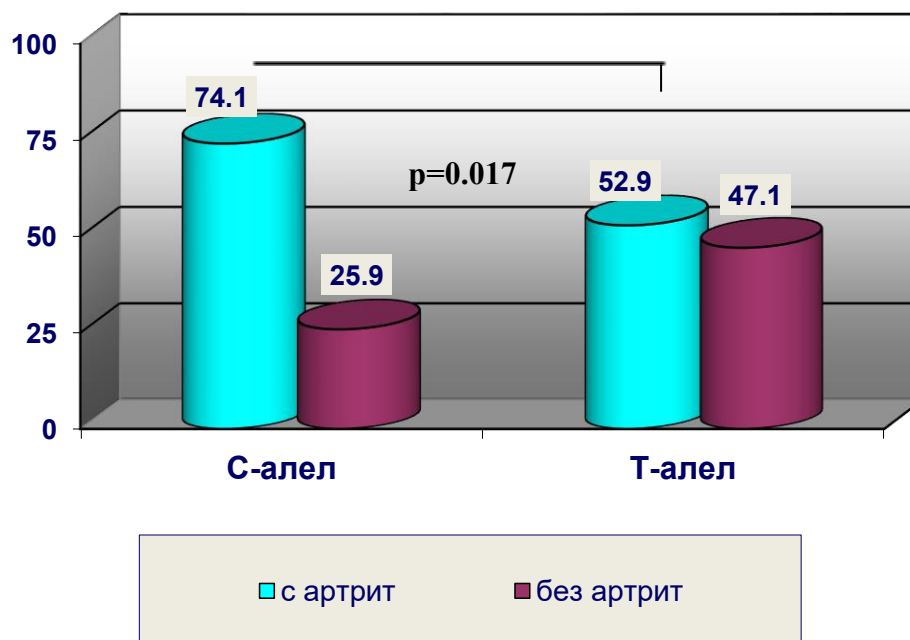
<i>Генотип</i>	<i>CC (n=17)</i>	<i>CT (n=24)</i>	<i>TT(n=18)</i>	<i>р-стойност</i>
<i>Клиничен признак</i>				<i>Fisher's exact test</i>
Малариен обрив	11 (64.7%)	13 (54.2%)	11 (61.1%)	NS*
Дискоиден обрив	3 (17.6%)	6 (25.0%)	3 (16.7%)	NS
Фоточувствителност	8 (47.1%)	13 (54.2%)	11 (61.1%)	NS
Афтоза	2 (11.8%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	NS
Артрит	15 (88.2%)	13 (54.2%)	12 (66.7%)	СС генотип р=0.029
				С алел р=0.017
Серозит	6 (35.3%)	2 (8.3%)	5 (27.8%)	NS
Бъбречно засягане	17(100.0%)	24 (100.0%)	18(100.0%)	-
Неврологично засягане	4 (23.5%)	5 (20.8%)	3 (16.7%)	NS
Хематологично засягане	10 (58.8%)	7 (29.2%)	6 (33.3%)	0.07
АНА	16 (94.1%)	24 (100.0%)	16 (88.9%)	NS
Имунологично засягане (анти-двДНК, анти-Sm, АФА, други)	11 (64.7%)	20 (83.3%)	13 (72.2%)	NS

*NS- статистически незначим резултат

От направения анализ се установи рецесивен модел (СС/СТ+ТТ) на влияние в *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 върху изявата на артрит. На фигури 37 и 38 детайлно е представена асоциацията на +6313СС генотипа и +6313С алела с артрит. Както беше посочено, носителството на +6313С алела се свързва с 2.5 пъти по-висок риск от развитие на артрит, а при носителството на +6313СС генотипа, този риск при пациентите със СЛЕ е петкратно по-голям (виж OR по-горе).



Фигура 37. Рecessивен модел на влияние на полиморфизма *IL-17RC (+6313C/T) rs708567* върху изявата на артрит при пациенти със СЛЕ/ЛН. Представена е асоциацията на +6313CC генотипа с артрит при пациенти със СЛЕ.



Фигура 38. Асоциация на +6313C алела от полиморфизма *IL-17RC (+6313C/T) rs708567* с артрит при пациенти със СЛЕ.

3.3. Влияние на *TGF-β (-509C/T) rs1800469* върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН.

От всички изследвани полиморфизми единствено *TGF-β C/T* полиморфизмът показва статистически значима разлика между групата на пациентите със СЛЕ/ЛН и контролната група. Наблюдаваните алелни и генотипни честоти при изследваните пациенти със СЛЕ/ЛН и здрави лица са представени в таблица 28. Установено беше, че честотата на -509ТТ генотипа сред пациентите със СЛЕ е по-висока (25.4%) в сравнение с контролите (14.7%), което се свързва с повишен риск от развитие на болестта от 1.8 пъти, без да се достига до статистическа значимост (OR 1.8; 95%CI 0.8-4.1; p=0.19). Направеният анализ показва, че Т-алелът от *TGF-β rs1800469* полиморфизма се наблюдава със значимо по-висока честота (p=0.04) сред пациентите със СЛЕ и ЛН (49.2%) в сравнение със здравите лица (38.4%). Наличието на високопродукцията -509Т алел самостоятелно води до 1.5 пъти по-висок риск за развитие на лупусен нефрит и показва статистически значима асоциация със заболяването (OR 1.5, 95%CI 1-2.5; p=0.04) (таблица 28).

Таблица 28. Алелни и генотипни честоти на полиморфизма *rs1800469* в гена *TGF-β (-509C/T)* при пациентите със СЛЕ/ЛН и здрави лица.

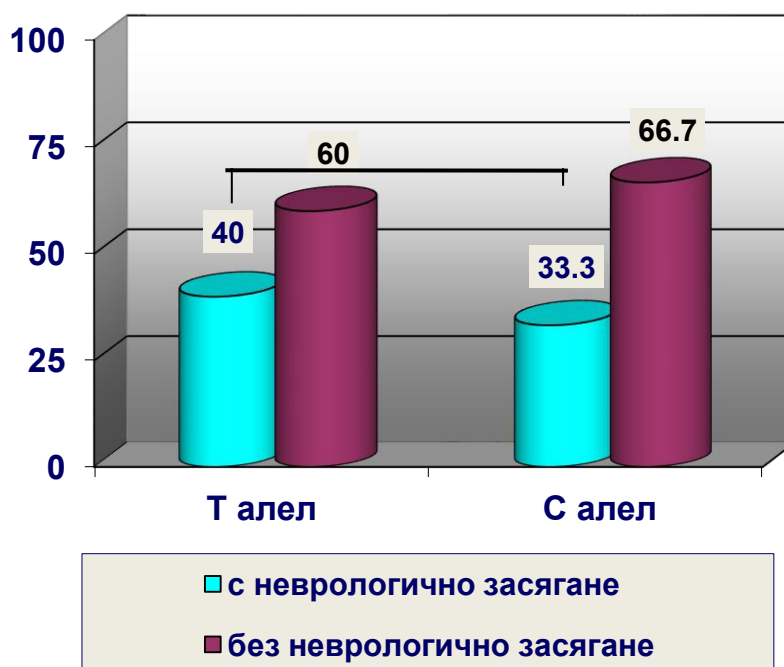
Ген/ полимор- физъм	Генотипи и Алели		Група, брой (%)		OR	95% CI	p-стойност (<i>Fisher's exact test</i>)
			СЛЕ/ЛН (59)	Контроли (95)			
<i>TGF-β rs1800469</i>	Генотипи	CC	16 (27.1)	36 (37.9)	0.6	0.3 – 1.2	0.2
		CT	28 (47.5)	45 (47.4)	1	1 – 2.1	1
		TT	15 (25.4)	14 (14.7)	1.8	0.8 – 4.1	0.19
	Алели	C	60 (50.8)	117 (61.6)	1.5	1 – 2.5	0.04
		T	58 (49.2)	73 (38.4)			

Алелно и генотипно влияние на *TGF-β (-509C/T) rs1800469* полиморфизма върху клиничните признаци при СЛЕ и ЛН

Резултатите от анализа на полиморфизма *TGF-β (-509C/T) rs1800469* за клиничните прояви при СЛЕ/ЛН са обобщени в таблица 29. Статистически значима асоциация беше установена единствено между -509Т алела (p=0.04, OR 2.5, 95%CI 1-6.4;) и наличието на неврологично засягане (фигура 39).

Таблица 29. Алелни и генотипни честоти на полиморфизма rs1800469 в гена *TGF-β* при пациентите със СЛЕ/ЛН и здрави лица.

<i>Генотип</i>	<i>CC (n=16)</i>	<i>CT (n=28)</i>	<i>TT(n=15)</i>	<i>р-стойност</i>
<i>Клиничен признак</i>				<i>Fisher's exact test</i>
Малариен обрив	10 (62.5%)	17 (60.7%)	8 (53.3%)	NS*
Дискоиден обрив	3 (18.8%)	5 (17.9%)	4 (26.7%)	NS
Фоточувствителност	15 (55.6%)	15 (53.6%)	3 (75.0%)	NS
Афтоза	2 (12.5%)	0 (0.0%)	2 (13.3%)	NS
Артрит	12 (75.0%)	19 (67.9%)	9 (60.0%)	NS
Серозит	3 (18.8%)	6 (21.4%)	4 (26.7%)	NS
Бъбречно засягане	16 (100.0%)	28 (100.0%)	15 (100.0%)	-
Неврологично засягане	2 (12.5%)	4 (14.3%)	6 (40.0%)	Т алел p=0.04
Хематологично засягане	7 (43.8%)	12 (42.9%)	4 (26.7%)	NS
АНА	16 (100.0%)	26 (92.9%)	14 (93.3%)	0.05
Имунологично засягане (анти-двДНК, анти-Sm, АФА, други)	14 (87.5%)	21 (75.0%)	9 (60.0%)	NS



Фигура 39. Асоциация на -509Т алела от полиморфизма *TGF-β* (-509C/T) rs1800469 с неврологично засягане при пациенти със СЛЕ.

ГЛАВА V. ОБСЪЖДАНЕ

Ролята на цитокините като медиатори на имунния процес ги превръща във фокус на интензивни проучвания от страна на съвременната имунология и имуногенетика. Понастоящем подходът при генетичните изследвания включва едновременното изследване на про- и антивъзпалителни цитокини поради комплексния характер на цитокиновата мрежа и автоимунните болести. Въпреки множеството проведени проучвания, данните относно участието на единичните нуклеотидни полиморфизми в патогенезата на автоимунните болести остават противоречиви. Търсят се нови подходи за тяхната оценка, които включват анализ на локуси на количествени белези, епистатични и хипостатични ефекти в генната експресия, хаплотипи, механизми на активация или инхибиция на downstream сигналните пътища. Въпреки това се установяват значителни популационни вариации, а изясняването на механизмите на влияние на единичните нуклеотидни полиморфизми върху автоимунния процес продължават да бъдат предизвикателство за съвременната наука.

Настоящата работа е насочена към изясняване на ролята на сигналния път на Th17/IL-17A/IL17R за развитието на СЛЕ и ЛН, като се изследва ролята на полиморфизми в цитокиновите гени върху протеиновата продукция, предразположението и протичането на болестта.

1. СЕРУМНИ НИВА НА ИНТЕРЛЕВКИН - 17А (IL-17A) - РОЛЯ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА СЛЕ И ЛН

Изследването на серумните нива на IL-17A би могло да даде отговор в няколко насоки: участието на протеина в патогенезата на болестта, възможността да се използва като маркер за активност на автоимунната болест и прогноза, възможност за селектиране на пациенти подходящи за терапия с IL-17A инхибитори. Проучванията в тази област са предмет на широка дискусия, а резултатите често са противоречиви. Поради това настоящата работа има за задача да оцени влиянието на серумните нива на IL-17A за развитието на СЛЕ и ЛН и клиничните им прояви, да уточни влиянието на единичните нуклеотидни полиморфизми върху продукцията на IL-17A, с което да се създаде основа за комплексна оценка на ролята на Th17IL-17A/ IL-17R сигналния път в автоимунния процес.

Предполага се, че Th17 клетките и техните ефекторни цитокини като IL-17A и IL-17F биха могли да играят важна роля за възприемчивостта към СЛЕ, протичането на заболяването и неговото лечение, но все още данните в литературата не са еднозначни. Настоящото проучване е първото, което изследва нивата на IL-17A сред пациенти със СЛЕ и ЛН в българската популация. Много автори съобщават за повишени нива на IL-17A сред пациентите със СЛЕ и ЛН [206, 210, 217], но има и немалко проучвания, които не доказват подобна връзка [212, 213]. Ето защо настоящата работа има за цел да оцени значението на серумните нива на IL-17A за развитието на СЛЕ и ЛН и активността на заболяването сред българската популация. Въпреки установената по-висока средна на IL-17A в абсолютна стойност в групата на СЛЕ/ЛН в сравнение с контролите, поради асиметричното разпределение, беше използван непараметричен U тест на Mann Whitney, който показва, че разликите в медианите не достигат статистическа значимост. Този резултат на пръв поглед подкрепя становището, че IL-17A не участва в патогенезата на СЛЕ и ЛН, но установената положителна корелация между цитокиновите нива и индекса за активност на заболяването (SLEDAI-2K), посочват необходимостта от по-задълбочен анализ и търсене на възможни причини, които да обяснят получените различия в литературата. Наблюдаваните разнопосочни резултати биха могли да се дължат на разликите в използваните класификационни критерии при подбора на пациентите, активността на заболяването, броят включени лица и съответно силата на статистическия анализ, както и използваната методика за определяне на нивата на IL-17A. Част от тези различия са коментирани в наскоро излязъл метаанализ [262]. Сравнителен анализ между нашите резултати и други проучвания е представен в таблица 30.

Както се вижда от таблицата, серумните нива на IL-17A варират в широки граници при различните проучвания. Получените в настоящата работа резултати със средни стойности за нивата на IL-17A от 7.24 pg/mL в групата на СЛЕ/ЛН и 5.76 pg/mL при контролите са много сходни с данните на A. Cavalcanti и сътр. и Schmitz и сътр. сред бразилската популация, както и Jin и сътр. сред китайската, независимо от използваната методика. Вероятно обяснение за липсата на статистическа значимост в настоящото проучване е, че голяма част от пациентите провеждат лечение (вкл. 39% на поддържаща терапия) и имат ниска болестна активност при изчислена средна за SLEDAI-2K от 9.9 за цялата група, както и необходимост от използването на непараметричен статистически метод за оценка поради неправилното разпределение на променливата.

Таблица 30. Сравнение на серумните концентрации на IL-17A при СЛЕ сред различни популационни групи

Референция	Популация	Брой пациенти/ контроли	Концентрация IL-17A СЛЕ	Концентрация IL-17A контроли	Метод	p
Настоящо проучване	България	59/95	7.24	5.76	ELISA	NS*
Wong и сътр. 2008[263]	Китай	80/40	23.51	6.55	ELISA	<0.001
Zhao X и сътр. 2010 [217]	Китай	57/30	23.55	16.98	ELISA	<0.001
Мак и сътр. 2013[264]	Сингапур	54/54	6.15	9.51	IA**	NS
Zhao и сътр. 2013[265]	Китай	22/18	63	60	ELISA	<0.05
Ballantine и сътр. 2014[266]	Обединено кралство	19/18	21.5	7.2	ELISA	<0.05
Boghdadi & Eleva 2014 [267]	Египет	40/30	37	6.75	ELISA	<0.001
Shahin и сътр. 2016	Египет	57/42	48	24.6	ELISA	<0.001
Schmitz и сътр. 2015[268]	Бразилия	17/17	5.7	1.3	ELISA	NS
Cavalcanti и сътр. 2017	Бразилия	51/47	4.93	4.04	ELISA	NS
Raymond и сътр. 2017[212]	Австралия	102/31	28.4	28.4	IA	NS
Jin и сътр. 2018[269]	Китай	55/55	4.67	4.13	ELISA	<0.05
Zecovic и сътр. 2018	Сърбия	55/25	49	28	ELISA	<0.05
Shaharom и сътр. 2023 [270]	Иран	36/40	536	110	ELISA	<0.001

NS* = несигнификантно **IA = Immunoassay

Резултатите относно връзката между нивата на IL-17A и клиничните признаци на СЛЕ са още по-хетерогенни и силно варират в отделните проучвания (таблица 31). Така например F. Vincent и сътр. намират асоциация между високите нива на IL-17A и неврологичната проява на болестта [216]. За разлика от тях, въпреки че намират значима разлика относно нивата на IL-17A между пациенти със СЛЕ и здрави лица, X. Zhao и сътр. не установяват връзка между нивата на IL-17A и клиничните и

лабораторни параметри при СЛЕ, включително и по отношение на ЛН, подобно на нашите резултати [217].

Таблица 31. Серумни нива на IL-17A - връзка със СЛЕ и ЛН, клиничко-лабораторни асоциации

Референция	Популация	Брой пациенти / контроли	Асоциация на IL-17A със СЛЕ	Асоциация на IL-17A с ЛН	Клинични асоциации на IL-17A при СЛЕ
Настоящо проучване	българи	59/95	липсва	липсва	Протеинурия
Vincenti сътр. 2013[216]	азиатци + бяла раса	39+57/39	-	липсва	Неврологично засягане
Zhao и сътр. 2010[217]	китайци	57/30	да	липсва	липсва
Nordin и сътр. 2019 [271]	малайзийци	120/-	-	да	Хематологичен скор по BILAG
Mostafa и сътр. 2022[272]	египтяни	60/60	да	липсва	Протеинурия, анти-двДНК
Chaharom и сътр. 2023[270]	иранци	36/40	да	да	Неврологично засягане

Подобно на нашите резултати, J. Reynolds и сътр. също не установяват статистически значима разлика между нивата на IL-17A сред здрави лица и пациенти със СЛЕ [273]. Когато обаче, под внимание се вземе активността на заболяването, техният екип, както и повечето автори се обединяват около становището, че IL-17A се асоциира с активните форми на заболяването, в това число и с активен лупусен нефрит [207, 213, 274]. Получените от нас резултати за установената положителна корелация между серумните нива на IL-17A и индекса за активност на заболяването SLEDAI-2K са в пълен унисон с тези данни и подкрепят тезата, че IL-17A може да бъде използван като маркер за мониторинг на активността на заболяването. Има автори, които установяват значима връзка между нивата на IL-17A и протеинурията [233, 234], което се потвърждава и от установената от нас положителна корелация между тези два параметъра. Макар и индиректно, установената корелация би могла да бъде белег за неблагоприятното влияние на IL-17A върху подоцитите при ЛН, подобно на това описано при мембранозна нефропатия. От друга страна връзката с протеинурията може да се дължи и на стимулираната от IL-17A ендокапилярна пролиферация. Chen и сътр. отчитат сигнификантно по-високи нива на IL-17A при пролиферативните III и IV клас лупусен нефрит, което съвпада напълно с резултатите

от настоящото проучване. Така нашите данни подкрепят становището на A. Zickert и сътр. [207] и Larosa и сътр. [42], че високите нива на IL-17 се свързват с неблагоприятен хистологичен тип и биха могли да бъде маркер за тежестта на ЛН. Установените от нас по-ниски нива на IL-17 при клас V, вероятно се дължат на провежданата индукционна терапия, тъй като по-детайлен анализ в групата на пациентите с ЛН клас V, показва, че при голяма част от тях (66%) е провеждана индукционна терапия по време на изследването. Така ниските нива на IL-17 биха могли да отразяват отговора към лечение, но малкият брой пациенти не позволи да бъде проведен достоверен статистически анализ, за да се провери хипотезата на J. Thurman и сътр. [240] и J. Santacruz и сътр. [241], които считат, че IL-17 би могъл да бъде комплексен биомаркер за диагностика, мониторинг, оценка на активността и предикация относно отговора на лечение при ЛН.

2. ГЕНОТИПНО ВЛИЯНИЕ НА ЕДИНИЧНИТЕ НУКЛЕОТИДНИ ПОЛИМОРФИЗМИ ВЪРХУ ПРОДУКЦИЯТА НА IL-17A ПРИ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЗДРАВИ И БОЛНИ ЛИЦА

2.1. Роля на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма върху нивата на IL-17A

Ролята на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма върху нивата на IL-17A също е обект на дискусия. Едно проучване показва, че носителите на мутантния A алел имат по-ниски нива на IL-17A [26]. От друга страна *in vitro* стимулирани T клетки от здрави доброволци, носители на -197A алела показват значително по-висока продукция на IL-17A в сравнение с тези, при които този алел липсва [27]. Подобно на нашите резултати, две други проучвания не установяват влияние на *IL-17A* rs2275913 полиморфизма върху плазмените нива на IL-17A сред пациенти със СЛЕ и ревматоиден артрит [15, 28]. Получените резултати в настоящото проучване за липса на значимо влияние на полиморфизма *IL-17A* rs2275913 върху секрецията на IL-17A при здрави лица определя необходимостта от търсене на други функционално активни фактори, имащи отношение към протеиновата продукция, включително епигенетични влияния. Липсата на значими различия в IL-17A по генотип в групата на СЛЕ, както и при сравнението със здрави лица, показва, че в условията на

болестния процес *IL-17A* rs2275913 полиморфизмът не променя своята функционалност и не води до патологична изменения в секрецията на IL-17A.

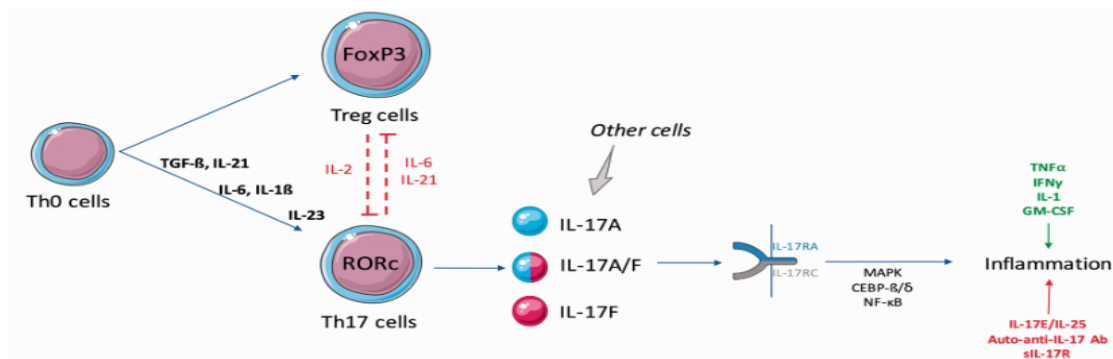
2.2. Роля на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизма върху нивата на IL-17A

Установено е, че полиморфизмът rs708567 C/T в гена *IL-17RC* представлява мисенс (missense) мутация, за която се предполага, че играе важна роля в дисфункцията на рецептора [120]. Дали този процес стимулира или потиска секрецията на IL-17A по пътя на обратната връзка, засега остава неизяснен въпрос. С оглед неимунологичните свойства на IL-17 фамилията, първоначалната насока на изследване е свързана с костния метаболизъм. Т. Dhaouadi и сътр. за първи път изследват влиянието на този полиморфизъм върху нивата на IL-17A при пациенти с ревматоиден артрит, но не потвърждават значението му [121]. При пациенти с анкилозиращ спондилит също не се установява връзка между полиморфизма rs708567 и нивата на IL-17A [122]. Нашите резултати са първите в световен мащаб, които изследват влиянието на този полиморфизъм върху нивата на IL-17A при пациенти със СЛЕ и ЛН. Подобно на посочените две проучвания настоящата работа също не потвърждава функционалната значимост и роля на полиморфизма за секрецията на IL-17A, както при здрави лица, така и в патологични условия при пациенти със СЛЕ и ЛН.

2.3. Роля на *TGF-β* (-509C/T) rs1800469 полиморфизма върху нивата на IL-17A

Повечето съвременни проучвания подкрепят значението на TGF-β за началния етап на Th17 клетъчната диференциация [275, 276]. Тъй като има данни, че TGF-β -509C/T (rs1800469) полиморфизмът има функционално значение за продукцията на TGF-β и респективно диференциацията на Th17, този полиморфизъм също попадна във фокуса на настоящото проучване, за да се оцени ролята му в сигналния път на IL-17. Нашите данни индиректно също потвърждават връзката между TGF-β и оста Th17/IL-17A/IL17-RC. При изследването на TGF-β rs1800469 полиморфизма, ние установихме, че TT генотипът, който по литературни данни се свързва с по-високи нива на TGF-β, се асоциира и с по-високи нива на IL-17A. Според повечето автори причината -509T алелът да се асоциира с повишени нива на TGF-β е, че той предотвратява свързването на супресорния транскрипционен фактор AP1 в

промоторния регион [123]. Повишените нива на TGF- β стимулират прекурсорите в посока на диференциация към Th17 (за сметка на Treg) и съответно към производството на характерния за тази популация клетки цитокин - IL-17A (фиг. 40).



Фигура 40. Схематично представяне на етапите от сигналния път Th17/IL-17/IL17R по М. Robert и Р. Miossec. [128]

По този механизъм TGF- β (-509C/T) rs1800469 полиморфизмът би могъл да оказва влияние върху серумните нива на IL-17A и развитието на автоимунния процес. Предвид установената от нас значима връзка между -509T алела и лупусния нефрит, би могло да се предполага, че алелът осъществява своя патологичен ефект именно чрез влияние върху цитокиновата мрежа включително и върху серумните нива на IL-17A.

3. АЛЕЛНА И ГЕНОТИПНА ЧЕСТОТА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОЛИМОРФИЗМИ СРЕД БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ

Практическото значение на популационни честоти се свързва с определяне на възможността на полиморфните алели да оказват влияние върху унаследяването на полигенните заболявания, както и да се обяснят популационните различия, които често се наблюдават в генетичните асоциативни проучвания. Всички изследвани в настоящата работа полиморфизми показват честота над 5% сред българската популация, което показва теоретичен потенциал да участват в патологични процеси. В настоящото проучване за пръв път се изследва честотата на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 и *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизмите сред българи.

Установената от нас алелна честота от 68.9% за G алела спрямо 31.1% за A алела в *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма, съответства на тази посочена в базата данни на dbGaP (NCBI ALFA) www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2275913 сред

европейци. Кумулативният брой на изследваните лица от европейски произход е 89 442, като получените алелни честоти са съответно 65.1% за G алела спрямо 34.9%

за A алела. Почти напълно сходни с нашите данни са и резултатите от проучването на R. Lopez Mejias и сътр. върху кавказката популация, които установяват алелна честота от 66.8% за G алела и 33.2% за A алела. Друг български екип през 2022 г. също изследва този полиморфизъм в насока колоректален карцином [277]. Данните за контролната група показват сходни с нашите резултати, като се наблюдава по-висока честота на -197A алела и -197AA генотипа. Това различие може да се дължи отчасти и на използваната методика. За разлика от проучването на Александрова и сътр., които използват RFLP, в настоящото проучване е използван автоматизиран TaqMan анализ. В проучване в суданската популация (с преобладаващ арабски етнос) се установява, значимо по-висока честота на A алела - 64.7 спрямо 35.3 за G алела. Обратно сред афроамериканците и латиноамериканци се наблюдава значимо по-висока честота на -197G алела до 90.8% за афроамериканците и 76.9%-78.2 за латиноамериканците. Алелните и генотипни популационни честоти за полиморфизма *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 са систематизирани в таблица 32.

Таблица 32. Алелни и генотипни популационни честоти за полиморфизма *IL-17A* (-197G/A) rs2275913

Референция	Популация	Брой изследвани здрави лица	Алелна честота <i>IL-17A</i> rs2275913		Генотипна честота <i>IL-17A</i> rs2275913		
			-197G	-197A	GG	GA	AA
Настоящо проучване	българи	95	65.1	34.9	45.3	47.3	7.4
Nordang и сътр. 2009[278]	норвежци	899	74.0	26.0	55.0	38.0	7.0
Mohammadipour сътр. 2019 [279]	иранци	200	69.5	30.5	48.5	42	9.5
Pashai сътр. 2019[247]	египтяни	80	69.4	30.6	50.0	38.7	11.3
Lopez Mejias и сътр. 2020 [280]	кавказка раса	1003	66.8	33.2	44.8	44.2	11.1
Zhang и сътр. 2020[281]	китайци	312	61.7	38.3	37.8	47.8	14.4
Mohamed и сътр. 2020 [282]	судански арабски етнос	418	35.3	64.7	4.5	61.4	34.0
Lopez Mejias и сътр. 2020 [280]	кавказка раса	1003	66.8	33.2	44.8	44.2	11.1
Mazurek-Mochol и сътр. 2021 [283]	поляци	159	62.3	37.7	40.3	44.0	15.7
Rushdy и сътр. 2022 [284]	египтяни	17	68.8	31.2	43.8	50.0	6.3
Александрова и сътр. 2022 [277]	българи	106	61.0	39.0	34.0	55.0	11.1

Получените от нас резултати относно алелната честота на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 от 55.3% за Т алела спрямо 44.7% за С алела отново съответстват напълно с тази, посочена в базата данни на dbGaP (NCBI ALFA) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs708567>. При изследваните 101102 лица от европейски произход, 54.0% са носители на Т алела спрямо 46.0% за С алела, за разлика от мономорфната изява на полиморфизма *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 сред китайци от популацията Хан и азиатските етноси, където значимо преобладава С алелът. Резултатите от настоящото проучване показват, че сред българи той е полиморфен, като установената от нас алелна честота, е най-сходна с резултатите, получени в полската популация (таблица 33). Така представените данни очертават наличието на значими популационни различия.

Таблица 33. Алелни и генотипни популационни честоти за полиморфизма *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567

Референция	Популация	Брой изследвани здрави лица	Алелна честота на <i>IL-17RC</i> rs708567		Генотипна честота на <i>IL-17RC</i> rs708567		
			+6313C	+6313T	СС	СТ	ТТ
Настоящо проучване	българи	95	44.7	55.3	22.1	45.3	32.6
Zhou и сътр. 2012 [120]	китайци	512	92.8	7.2	85.6	14.4	0
Dhaouadi и сътр. 2018 [277]	тунизийци	106	61.0	39.0	37.4	50.5	12.1
Wielinska и сътр. 2021 [122]	поляци	189	45.8	54.2	58.7	45.8	24.9

Полиморфизмът *TGF-β* (-509C/T) rs1800469 е изследван от няколко български екипа в различни насоки - първите му проучвания са в контекста на идиопатична адолесцентна сколиоза [285] и колоректален карцином [286], а впоследствие и при ревматоиден артрит [287] (таблица 34). Нашите резултати относно популационната алелна и генотипна честота на този полиморфизъм сред здрави лица напълно съвпадат с данните на Г. Василев и сътр. [287], които използват методика описана от С. Станилова и сътр. от 2018 г. [286] (таблица 34). Различията в резултатите между отделните проучвания биха могли да се обяснят с хетерогенността на българската популация, както и с индивидуалните особености на изследваните лица. Данните от настоящото проучване за алелната честота на този полиморфизъм в най-голяма степен се доближават до кумулативните данни за 239138 лица от европейската

популация, където се съобщава за алелна честота от 67.7 % за С алела към 32.3% за Т алела (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1800469>).

Таблица 34. Алелна и генотипна честота за полиморфизма *TGF-β* (-509C/T) rs1800469 сред българската популация.

Референция	Популация	Брой изследвани здрави лица	Алелна честота <i>TGF-β</i> rs1800469		Генотипна честота <i>TGF-β</i> rs1800469		
			-509C	-509T	CC	CT	TT
Настоящо проучване	българи	95	61.6	38.4	37.9	47.4	14.7
Станилова и сътр. 2018 [286]	българи	210	55.0	45.0	31.0	46.0	22.1
Николова и сътр. 2018 [285]	българи	254	57.0	43.0	18.1	49.6	32.3
Василев и сътр. 2022 [287]	българи	155	61.0	39.0	35.5	50.3	14.2

4. ВЛИЯНИЕ НА НУКЛЕОТИДНИТЕ ПОЛИМОРФИЗМИ ВЪРХУ ВЪЗПРИЕМЧИВОСТТА И КЛИНИЧНОТО ПРОТИЧАНЕ НА СИСТЕМНИЯ ЛУПУС ЕРИТЕМАТОЗУС И ЛУПУСНИЯ НЕФРИТ

4.1. Влияние на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН.

От всички SNPs в *IL-17A* гена най-голяма дискусия предизвиква -197G/A полиморфизмът. Както беше посочено, проведените асоциативни проучвания, касаещи участието на този полиморфизъм в патогенезата на автоимунните заболявания, водят до разделение в мненията на изследвателските екипи. Наскоро излязъл метаанализ показва асоциация между *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма и СЛЕ, според който болестта се среща значително по-често при носителите на AA генотипа спрямо GG генотипа и комбинацията GG+GA [246]. Въпреки това данните от анализа показват, че А алелът самостоятелно не може да бъде рисков фактор за развитие на СЛЕ [246]. Сред иранската популация хетерозиготите (AG) показват тенденция към развитие на болестта, а носителството на А алела се определя като рисков за развитие на СЛЕ [245]. Обратно други автори изказват мнение, че *IL-17A* G алела и GG генотипа биха могли да оказват патологичен ефект като допринасят за развитието на СЛЕ като част от комплексни

генотипи - rs2275913GG/rs763780AG/rs2397084A или хаплотипи - rs2275913G/rs763780G/rs2397084A [288] и rs8193036T/rs3819024A/rs2275913G/rs8193037A [248].

От друга страна, също наскоро излязъл метаанализ, не установява връзка между посочения полиморфизъм и развитието на СЛЕ [249], което съвпада и с нашите данни.

Предвид разнопосочните данни и хетерогенността на самото заболяване с различните му форми, в настоящото проучване е направен опит за изследване на похомогенна група, като всички изследвани пациенти са с доказан ЛН. Данните в тази насока в световната литература са доста оскъдни. Проучванията по темата са систематизирани в таблица 35. Две от проучванията обхващат пациенти с ювенилен ЛН в египетската популация, при което се установява асоциация с А алела и АА генотипа [247, 289]. В три други проучвания, проведени сред мексиканци, индонезийци и отново сред египетски пациенти с ювенилен СЛЕ не се установява сигнификантна разлика в разпределението на алелните и генотипни честоти между пациенти с ЛН и контролната група [113]. Подобно на тези проучвания, получените от нас резултати не потвърждават ролята на *IL-17A* (-197G/A) полиморфизма за развитието на ЛН сред българската популация. Едно от проучванията изследва връзката на полиморфизма с класа бъбречно засягане, като не доказва неговото значение за тежестта на протичане на заболяването [113]. Друго от проучванията е насочено към изследване на връзката на полиморфизма с индексите на активност и хроничност и общата преживяемост. При него също не се установяват асоциации между изброените показатели и полиморфизма [250].

Относно останалите клинично-лабораторни прояви на СЛЕ, повечето автори не откриват връзка между полиморфизма и другите клинични признаци на болестта (таблица 35), с изключение на Pasha и сътр., които установяват връзка на -197AA генотипа с кожнолигавично и хематологично засягане. Ние установихме, че в българската популация -197GG генотипът, както и -197G алелът самостоятелно, са рискови фактори за развитието на неврологична симптоматика.

Таблица 35. Асоциация на *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизма със СЛЕ, ЛН и клиничните прояви на болестта сред различни популационни групи.

Референция	Популация	Брой пациенти/ контроли	Асоциация със СЛЕ	Асоциация със ЛН	Асоциация с други клинични прояви на болестта
Настоящо проучване	българи	59/95	липсва	липсва	-197GG и -197G с неврологично засягане
Gunawan и сътр. 2016[113]	индонезийци	30/20	липсва	липсва	липсва
Hammad и сътр. 2015 [250]	египтяни	115/259	липсва с ювенилен	липсва	липсва
Rashai сътр. 2019[247]	египтяни	80/80	-197A	-197AA	-197AA с кожнолигавично и хематологично засягане
Elkoumi и сътр. 2020 [289]	египтяни	320/320	-197AA и -197A с ювенилен СЛЕ	-197AA и -197A	липсва
Montufar Robles и сътр. 2018 [248]	мексиканци	268/351	липсва	липсва	не се съобщава
Sharifzadeh и сътр. 2018 [245]	иранци	102/141	-197A със СЛЕ	не се съобщава	не се съобщава

4.2 Влияние на *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН

Сигналната трансдукция на *IL-17A* изисква присъствието на хетеродимерни рецептори от А и С рецепторните субединици. Тъй като нови данни показват значима роля на С рецепторната субединица при имуномедиирани бъбречни заболявания [82], а тя досега не е изследвана при СЛЕ и лупусен нефрит, същата е обект на настоящото проучване. Установено е, че полиморфизмът *IL-17RC* rs708567 се асоциира с ювенилна идиопатична сколиоза. Едва наскоро започна проучването му в насока унаследяване и развитие на автоимунни заболявания с проучването на Т. Dhaoudi и сътр. [121]. Макар да не откриваме асоциации на *IL-17RC* rs708567 полиморфизма със СЛЕ и ЛН по подобие на резултатите на Dhaoudi и сътр. за ревматоиден артрит, нашият екип е първият, който изяснява ролята на полиморфизма за развитието на

СЛЕ и ЛН в световен мащаб. Проучванията върху ролята му за развитието на автоимунните заболявания продължават. В тази насока са и разработките на J. Wielinska и сътр., които установяват, че при анкилозиращ спондилит хомозиготите по Т алела (представени в статията, като идентичния АА генотип) имат по-ранно начало на заболяването [122].

Данните в литературата сочат, че мРНК на IL-17RC mRNA е силно експресирана в ставите [35], което може да бъде обяснение защо наблюдаваме асоциация на *IL-17RC* +6313С алела и +6313СС генотипа с лупусния артрит. Тези наши резултати съответстват и на други проучвания, които показват връзка на същия полиморфизъм с клинично-лабораторни прояви при ревматоиден артрит [290].

4.3. Влияние на *TGF-β* (-509С/Т) rs1800469 С/Т върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН.

Асоциативното проучване върху *TGF-β* (-509С/Т) rs1800469 показва, че Т алелът, асоцииран с високите нива на IL-17А, е рисков фактор и за развитието на лупусен нефрит сред българската популация. Тези наши данни съответстват напълно с данните, получени сред други славянски народи [126]. Наред с установената асоциацията на -509ТТ генотипа и -509Т алела със СЛЕ в полската популация, Paradowska-Gorycka и сътр. описват и връзка на полиморфизма с нивата на хемоглобина, С-реактивния протеин (CRP), активираното парциално тромбoplastиново време (aPTT), INR и наличието на анти-Ro и анти-Sm антитела. На базата на тези данни авторите заключават, че *TGF-β* (-509С/Т) rs1800469 полиморфизмът може да бъде използван като генетичен маркер за СЛЕ, което се потвърждава и от нашите данни. Засега механизмът, по който *TGF-β* (-509С/Т) rs1800469 полиморфизмът оказва своя патологичен ефект остава неясен, но получените от нас данни сочат, че е възможно той да се дължи на индиректното му влияние върху серумните нива на IL-17А посредством продукцията на *TGF-β* и значението му за ранните етапи на Th17 диференциацията.

Установихме, че *TGF-β* (-509С/Т) rs1800469 полиморфизмът модулира значимо и неврологичната изява на болестта в българската популация, като -509Т алелът е рисков за развитието на неврологична симптоматика. Възможно е тези наблюдения да се дължат на описаната връзка между -509Т алела и повишения сърдечносъдов риск [291]. Известно е, че голяма част от неврологичните промени при СЛЕ имат съдова генеза [292].

Няколко причини могат да се изтъкнат относно наблюдаваните различия в отделните проучвания, касаещи едни и същи полиморфизми. Едно от ограниченията на повечето проучвания, включително и настоящото, е относително малкият брой пациенти. Друга причина за разликата в резултатите е хетерогенността на изследваните популации и техния генетичен фонд, както и разнообразието в клиничното протичане на заболяването. В този контекст настоящата работа спомага за идентифицирането на подгрупи от пациенти със СЛЕ и ЛН и нарушения в IL-17 оста, което би могло да спомогне за селектирането на "подходящи" пациенти за лечение с анти-IL-17 медикаменти.

Получените от нас резултати относно връзката между *TGF- β* (-509C/T) rs1800469 и серумните нива на IL-17A, обаче дават и нова насока за изследвания и анализ на кръстосаните взаимодействия на цитокините следствие от различни цитокинови генни полиморфизми. Те биха могли да дадат отговор на въпроса защо протеиновата продукция на даден цитокин невинаги може да бъде използвана като предикативен маркер на отговор към терапия, както и да обяснят защо цитокини, които на пръв поглед нямат отношение към провежданото биологично лечение, могат да корелират с отговора на терапия. Предвид многобройните алелни варианти са необходими допълнителни проучвания и вероятно разработването на софтуерни платформи за анализ на получените база данни.

ГЛАВА VI. ОБОБЩЕНИЕ

В настоящата работа бяха проведени изследвания в три насоки - 1. определяне ролята на серумните нива на IL-17A в патогенезата на СЛЕ и ЛН. 2. определяне на значението на нуклеотидните полиморфизми от сигналния път на IL-17 (rs2275913, rs708567 и rs1800469) за секрецията на IL-17A и 3. определяне ролята на посочените полиморфизми за възприемчивостта и клиничното протичане на СЛЕ и ЛН.

В настоящата работа за пръв път в България бяха проучени серумните нива на IL-17A сред пациенти със СЛЕ и ЛН, при което се установи корелация между този цитокин, индекса за активност на заболяването SLEDAI-2K, протеинурията, както и асоциация с пролиферативните класове ЛН. Практическата стойност на получените резултати се свързва с възможността IL-17A да служи като допълнителен неинвазивен маркер за мониторинг на активността на заболяването и тежестта на лупусния нефрит.

От изследваните нуклеотидните полиморфизми от сигналния път на IL-17 (rs2275913, rs708567 и rs1800469), единствено *TGF- β* (-509C/T) rs1800469 показва асоциация със серумните нива на IL-17A. Установено беше, че -509 TT генотипът, който по литературни данни се свързва с по-високи нива на TGF- β , се асоциира и с по-високи нива на IL-17A. Вероятната причина за наблюдаваната асоциация е влиянието на TGF- β върху ранните етапи на Th17 клетъчна диференциация. Предвид установената от нас сигнификантна връзка между -509T алела и лупусния нефрит, би могло да се предполага, че алелът осъществява своя патологичен ефект именно чрез влияние върху цитокиновата мрежа, включително върху серумните нива на IL-17A.

Асоциативното проучване върху *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 и *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 не показва асоциация с възприемчивостта към СЛЕ и ЛН, но се установи, че и двата полиморфизма модулират клиничната изява на болестта. *IL-17A* -197G алелът и GG генотипът преобладават сред пациентите с неврологична симптоматика и се свързват с повишен риск за неврологична изява на болестта сред българската популация, а *IL-17RC* +6313C алелът и CC генотипът определят появата на артрит. Въпреки че не откриваме асоциация между *IL-17RC* rs708567 полиморфизма и възприемчивостта към СЛЕ и ЛН, трябва да се подчертае, че нашият екип е първият, който изяснява ролята на този полиморфизъм за развитието на СЛЕ и ЛН в световен мащаб.

Участието на цитокините за развитието на автоимунните болести е безспорно и се потвърждава и от настоящото проучване. *TGF- β* (-509C/T) rs1800469 полиморфизмът показва, че T-алелът, асоцииран с по-високи нива на IL-17A, е рисков фактор за развитието на ЛН, като модулира значимо и неврологичната изява на болестта. Подобни резултати показват, че откриването на конкретни генетични дефекти би могло да спомогне за селектирането на пациенти с оглед прилагането на определен вид терапевтична стратегия, като се приложи индивидуално-ориентиран подход на лечение на базата на генетичния профил на изследвания индивид.

ГЛАВА VII. ИЗВОДИ

Въз основа на данните от настоящето проучване могат да бъдат направени следните изводи:

1. Серумните нива на IL-17A корелират с индекса SLEDAI-2K, протеинурията и пролиферативните класове ЛН, поради което IL-17A може да служи като неинвазивен маркер за мониторинг на активността на заболяването и тежестта на лупусния нефрит, без оглед на възрастта и пола.

2. *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 и *IL-17RC* (+6313C/T) rs708567 полиморфизмите не влияят значимо върху секрецията на IL-17A, което определя необходимостта от търсене на други функционално активни фактори. За разлика от тях *TGF-β* (-509 C/T) rs1800469 полиморфизмът влияе индиректно върху серумните нива на IL-17A, вероятно чрез ролята му в ранната Th17-клетъчна диференциация.

3. *IL-17A* (-197G/A) rs2275913 полиморфизмът не е предразполагащ фактор за развитието на СЛЕ и ЛН сред българи, но модулира клиничната изява на болестта.

4. *IL-17RC* (+6313 C/T) rs708567 полиморфизмът не е предразполагащ фактор за развитието на СЛЕ и ЛН, но определя изявата на артрит.

5. *TGF-β* (-509C/T) rs1800469 полиморфизмът има отношение към Th17/ IL-17A/ IL17-RC оста чрез влияние върху серумните нива на IL-17A и е рисков фактор както за развитието на лупусен нефрит, така и за неврологична изява на болестта.

Българската популация показва специфични етнически особености по отношение ролята на изследваните параметри в патогенезата и развитието на СЛЕ и ЛН. Етническите и индивидуалните особености се срещат често, водят до хетерогенност на данните и обуславят необходимостта от провеждане на независими проучвания, както и индивидуална интерпретация на генетичните резултати.

ГЛАВА VIII. СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ

I. ТЕОРЕТИЧНИ (НАУЧНО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ) ПРИНОСИ

1. За първи път в световен мащаб е проучена ролята на *IL-17RC(+6313C/T)rs708567* полиморфизма при системен лупус еритематозус и лупусен нефрит.
2. За първи път в българската популация се определя значението серумните нивата на IL-17A за развитието и клиничната изява при СЛЕ и ЛН.
3. За първи път сред българи е изследван полиморфизма *IL-17A (-197G/A) rs2275913* и *IL-17RC(+6313C/T)rs708567*, което допринася за обогатяване на популационните база данни.
4. Проведено е за първи път асоциативно проучване на полиморфизми в гените *IL-17A (-197G/A) rs2275913*, *IL-17RC (+6313C/T) rs708567* и *TGF-β (-509C/T) rs1800469* сред български пациенти със СЛЕ.

II. ПРИЛОЖНИ (НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИ) ПРИНОСИ

1. Създадена е ДНК банка за системен лупус еритематозус и лупусен нефрит към Молекулярен център по медицина.
2. Въведен и оптимизиран е HRMA метод за анализ на полиморфизма *IL-17A (-197G/A) rs2275913*, който би могъл да се използват в рутинната практика при изследване и на други автоимунни и малигнени заболявания.
3. За първи път е установена асоциация на Т алела от *TGF-β (-509C/T) rs1800469* полиморфизма с лупусния нефрит, което би могло да има отношение при подбора на терапевтична стратегия.
4. За първи път е установена асоциация на СС генотипа и С алела от полиморфизма *IL-17RC (+6313C/T) rs708567* с лупусния артрит, което би могло да има отношение при избора на терапевтичен режим.

5. Серумните нива на IL-17A биха могли да бъдат допълнителен неинвазивен биомаркер за мониторинг на активността на СЛЕ и тежестта на ЛН, както и за преценка отговора към терапия.

ГЛАВА VIII. СПРАВКА ЗА ПУБЛИКАЦИИ, ЦИТИРАНИЯ И ДОКЛАДИ

ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Hristova M**, Kamenarska Z, Dzhebir G, Nikolova S, Hristova R, Mihova K, Vinkov A, Georgiev T, Pozharashka J, Kaneva R, Savov A, Koundurjiev A, Dourmishev L. *The role of IL-17 rs2275913, IL-17RC rs708567 and TGFβ1 rs1800469 SNPs and IL17A serum levels in patients with lupus nephritis*. *Rheumatol Int.* 2021;2205-2213 (IF2021=2.631) doi:10.1007/s00296-021-04996-z (5 цитата)
2. Kamenarska Z, **Hristova M**, Dzhebir G, Nikolova S, Vinkov A, Kaneva R, Dourmishev L. *Association of IL-17RC rs708567 with systemic lupus erythematosus*. *Madridge J Dermatol Res* 2018; 3(1):65 doi: 10.18689/mjdr-1000114 (1 цитат)
3. Kamenarska Z, **Hristova M**, Vinkov A, Dourmishev L. *Monoclonal antibody drugs for systemic lupus erythematosus*. *Folia Medica* 2015; 57 (2):89-92 doi: 10.1515/folmed-2015-0025) (2 цитата)

ЦИТИРАНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Wielinska J, Swierkot J, Kolossa K, et al. *Polymorphisms within genes coding for IL-17 A and F and their receptor as clinical hallmarks in Ankylosing Spondylitis*. **Mediators of Inflammation** 2021;1-9.
2. Padhi S, Sarangi S, Nayak Net al. *Interleukin-17 rs2275913 polymorphism is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus: A meta and trial sequential analysis* **Lupus** 2022;31(6) :096120332210901 doi:10.1177/09612033221090172
3. Ali HN, Alubaidi GT, Glorial FI, et al. *Disturbance in Serum Levels of IL-17 and TGF-β1 and in Gene Expression of ROR-γt and FOX-P3 Is Associated with Pathogenicity of Systematic Lupus Erythematosus*. **Prague Medical Report** 2022;123(3):166-180 doi: 10.14712/23362936.2022.15

4. Chen N, Dai Y, He J, Zhou M, Sun H, Lin L, Gao F, Lin H, Yan Q. *The association between C509T, T869C, G915C gene polymorphisms of transforming growth factor- β 1 and systemic lupus erythematosus risk: A meta-analysis.* **Medicine (Baltimore)** 2023;17:e33321 doi: 10.1097/MD.00000000000033321.

НАУЧНИ ДОКЛАДИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

9th Annual (Virtual) Meeting of the Lupus Academy 2020

Maria Hristova, Gyulnas Dzhebir, Lyubomir Dourmishev, Svetla Nikolova, Kalina Mihova, Anton Vinkov, Rozalia Hristova, Radka Kaneva, Zornitsa Kamenarska. *Association of IL-17A rs2275913, IL-17RCrs708567 and TGFB1 rs1800469SNPs with systemic lupus erythematosus in Bulgarian patients* nominated for Lupus Academy poster award 2020

ЛИТЕРАТУРА:

1. Matzinger, P., *Friendly and dangerous signals: is the tissue in control?* Nat Immunol, 2007. **8**(1): p. 11-3.
2. Shiozawa, S., *Cause of systemic lupus erythematosus: a novel self-organized criticality theory of autoimmunity*, in *Expert Rev Clin Immunol*. 2011. p. 715-7.
3. Medzhitov, R. and C.A. Janeway, Jr., *Innate immunity: impact on the adaptive immune response*. Curr Opin Immunol, 1997. **9**(1): p. 4-9.
4. Thornton, C.A. and G. Morgan, *Innate and adaptive immune pathways to tolerance*. Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program, 2009. **64**: p. 45-57; discussion 57-61, 251-7.
5. Novotny, G.W., et al., *Transcriptional and translational regulation of cytokine signaling in inflammatory beta-cell dysfunction and apoptosis*. Arch Biochem Biophys, 2012. **528**(2): p. 171-84.
6. Johnson, D.J. and P.S. Ohashi, *Molecular programming of steady-state dendritic cells: impact on autoimmunity and tumor immune surveillance*. Ann N Y Acad Sci, 2013. **1284**: p. 46-51.
7. Kunz, M. and S.M. Ibrahim, *Cytokines and cytokine profiles in human autoimmune diseases and animal models of autoimmunity*. Mediators Inflamm, 2009. **2009**: p. 979258.
8. Rouvier, E., et al., *CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene*. J Immunol, 1993. **150**(12): p. 5445-56.
9. Gaffen, S.L., *Recent advances in the IL-17 cytokine family*. Curr Opin Immunol, 2011. **23**(5): p. 613-9.
10. Yao, Z., et al., *Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor*. Immunity, 1995. **3**(6): p. 811-21.
11. Huang, X.D., H. Zhang, and M.X. He, *Comparative and Evolutionary Analysis of the Interleukin 17 Gene Family in Invertebrates*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0132802.
12. Infante-Duarte, C., et al., *Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells*. J Immunol, 2000. **165**(11): p. 6107-15.
13. Luzza, F., et al., *Up-regulation of IL-17 is associated with bioactive IL-8 expression in Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa*. J Immunol, 2000. **165**(9): p. 5332-7.
14. Albanesi, C., A. Cavani, and G. Girolomoni, *IL-17 is produced by nickel-specific T lymphocytes and regulates ICAM-1 expression and chemokine production in human keratinocytes: synergistic or antagonist effects with IFN-gamma and TNF-alpha*. J Immunol, 1999. **162**(1): p. 494-502.
15. Antonysamy, M.A., et al., *Evidence for a role of IL-17 in organ allograft rejection: IL-17 promotes the functional differentiation of dendritic cell progenitors*. J Immunol, 1999. **162**(1): p. 577-84.
16. Kotake, S., et al., *IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis*. J Clin Invest, 1999. **103**(9): p. 1345-52.
17. Miossec, P., *Update on interleukin-17: a role in the pathogenesis of inflammatory arthritis and implication for clinical practice*. RMD Open, 2017. **3**(1): p. e000284.
18. Bettelli, E., T. Korn, and V.K. Kuchroo, *Th17: the third member of the effector T cell trilogy*. Curr Opin Immunol, 2007. **19**(6): p. 652-7.
19. Gaffen, S.L., et al., *The IL-17 cytokine family*. Vitam Horm, 2006. **74**: p. 255-82.

20. Chen, K. and J.K. Kolls, *T cell-mediated host immune defenses in the lung*. *Annu Rev Immunol*, 2013. **31**: p. 605-33.
21. Kuwabara, T., et al., *The Role of IL-17 and Related Cytokines in Inflammatory Autoimmune Diseases*. *Mediators Inflamm*, 2017. **2017**: p. 3908061.
22. McGeachy, M.J., D.J. Cua, and S.L. Gaffen, *The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease*. *Immunity*, 2019. **50**(4): p. 892-906.
23. Chang, S.H. and C. Dong, *A novel heterodimeric cytokine consisting of IL-17 and IL-17F regulates inflammatory responses*. *Cell Res*, 2007. **17**(5): p. 435-40.
24. Wright, J.F., et al., *Identification of an interleukin 17F/17A heterodimer in activated human CD4+ T cells*. *J Biol Chem*, 2007. **282**(18): p. 13447-55.
25. Ishigame, H., et al., *Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoc epithelial bacterial infection and allergic responses*. *Immunity*, 2009. **30**(1): p. 108-19.
26. Deng, C., et al., *Roles of IL-25 in Type 2 Inflammation and Autoimmune Pathogenesis*. *Front Immunol*, 2021. **12**: p. 691559.
27. Borowczyk, J., et al., *IL-25 (IL-17E) in epithelial immunology and pathophysiology*. *J Allergy Clin Immunol*, 2021. **148**(1): p. 40-52.
28. Smith, K.A., et al., *Concerted IL-25R and IL-4Ralpha signaling drive innate type 2 effector immunity for optimal helminth expulsion*. *Elife*, 2018. **7**.
29. Amatya, N., A.V. Garg, and S.L. Gaffen, *IL-17 Signaling: The Yin and the Yang*. *Trends Immunol*, 2017. **38**(5): p. 310-322.
30. Bastid, J., et al., *The Emerging Role of the IL-17B/IL-17RB Pathway in Cancer*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 718.
31. Ramirez-Carrozzi, V., et al., *IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner*. *Nat Immunol*, 2011. **12**(12): p. 1159-66.
32. Peng, T., et al., *Keratinocytes produce IL-17c to protect peripheral nervous systems during human HSV-2 reactivation*. *J Exp Med*, 2017. **214**(8): p. 2315-2329.
33. Starnes, T., et al., *Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis*. *J Immunol*, 2002. **169**(2): p. 642-6.
34. Saddawi-Konefka, R., et al., *Nrf2 Induces IL-17D to Mediate Tumor and Virus Surveillance*. *Cell Rep*, 2016. **16**(9): p. 2348-58.
35. Ho, A.W. and S.L. Gaffen, *IL-17RC: a partner in IL-17 signaling and beyond*. *Semin Immunopathol*, 2010. **32**(1): p. 33-42.
36. Zhu, S. and Y. Qian, *IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential*. *Clin Sci (Lond)*, 2012. **122**(11): p. 487-511.
37. Huang, F., et al., *Requirement for both JAK-mediated PI3K signaling and ACT1/TRAF6/TAK1-dependent NF-kappaB activation by IL-17A in enhancing cytokine expression in human airway epithelial cells*. *J Immunol*, 2007. **179**(10): p. 6504-13.
38. Haudenschild, D., et al., *Soluble and transmembrane isoforms of novel interleukin-17 receptor-like protein by RNA splicing and expression in prostate cancer*. *J Biol Chem*, 2002. **277**(6): p. 4309-16.
39. Paquissi, F.C. and H. Abensur, *The Th17/IL-17 Axis and Kidney Diseases, With Focus on Lupus Nephritis*. *Front Med (Lausanne)*, 2021. **8**: p. 654912.
40. Garg, A.V., et al., *The deubiquitinase A20 mediates feedback inhibition of interleukin-17 receptor signaling*. *Sci Signal*, 2013. **6**(278): p. ra44.
41. Mills, K.H., *Induction, function and regulation of IL-17-producing T cells*. *Eur J Immunol*, 2008. **38**(10): p. 2636-49.

42. Larosa, M., et al., *IL-12 and IL-23/Th17 axis in systemic lupus erythematosus*. *Exp Biol Med* (Maywood), 2019. **244**(1): p. 42-51.
43. Capone, A. and E. Volpe, *Transcriptional Regulators of T Helper 17 Cell Differentiation in Health and Autoimmune Diseases*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 348.
44. Velikova, T., et al., *Alterations in cytokine gene expression profile in colon mucosa of Inflammatory Bowel Disease patients on different therapeutic regimens*. *Cytokine*, 2017. **92**: p. 12-19.
45. Lee, G.R., *The Balance of Th17 versus Treg Cells in Autoimmunity*. *Int J Mol Sci*, 2018. **19**(3).
46. Yamada, H., *Current perspectives on the role of IL-17 in autoimmune disease*. *J Inflamm Res*, 2010. **3**: p. 33-44.
47. Milovanovic, J., et al., *Interleukin-17 in Chronic Inflammatory Neurological Diseases*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 947.
48. Lock, C., et al., *Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis*. *Nat Med*, 2002. **8**(5): p. 500-8.
49. Manel, N., D. Unutmaz, and D.R. Littman, *The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgammat*. *Nat Immunol*, 2008. **9**(6): p. 641-9.
50. Brucklacher-Waldert, V., et al., *Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis*. *Brain*, 2009. **132**(Pt 12): p. 3329-41.
51. Schofield, C., et al., *Characterization of IL-17AA and IL-17FF in rheumatoid arthritis and multiple sclerosis*. *Bioanalysis*, 2016. **8**(22): p. 2317-2327.
52. Hedegaard, C.J., et al., *T helper cell type 1 (Th1), Th2 and Th17 responses to myelin basic protein and disease activity in multiple sclerosis*. *Immunology*, 2008. **125**(2): p. 161-9.
53. Korn, T., et al., *IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells*. *Nature*, 2007. **448**(7152): p. 484-487.
54. Wing, A.C., et al., *Interleukin-17- and interleukin-22-secreting myelin-specific CD4(+) T cells resistant to corticoids are related with active brain lesions in multiple sclerosis patients*. *Immunology*, 2016. **147**(2): p. 212-20.
55. Yin, Y., et al., *Hypoxia enhances stimulating effect of amyloid beta peptide (25-35) for interleukin 17 and T helper lymphocyte subtype 17 upregulation in cultured peripheral blood mononuclear cells*. *Microbiol Immunol*, 2009. **53**(5): p. 281-6.
56. Murphy, C.A., et al., *Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation*. *J Exp Med*, 2003. **198**(12): p. 1951-7.
57. Robert, M. and P. Miossec, *IL-17 in Rheumatoid Arthritis and Precision Medicine: From Synovitis Expression to Circulating Bioactive Levels*. *Front Med (Lausanne)*, 2018. **5**: p. 364.
58. Erdes, S., et al., *Primary efficacy of netakimab, a novel interleukin-17 inhibitor, in the treatment of active ankylosing spondylitis in adults*. *Clin Exp Rheumatol*, 2020. **38**(1): p. 27-34.
59. de Koning, A., et al., *Pathophysiology of axial spondyloarthritis: Consensus and controversies*. *Eur J Clin Invest*, 2018. **48**(5): p. e12913.
60. Zambrano-Zaragoza, J.F., et al., *Ankylosing spondylitis: from cells to genes*. *Int J Inflamm*, 2013. **2013**: p. 501653.
61. Appel, H., et al., *Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response*. *Arthritis Res Ther*, 2011. **13**(3): p. R95.

62. Mei, Y., et al., *Increased serum IL-17 and IL-23 in the patient with ankylosing spondylitis*. Clin Rheumatol, 2011. **30**(2): p. 269-73.
63. Liu, W., et al., *Elevated serum levels of IL-6 and IL-17 may associate with the development of ankylosing spondylitis*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(10): p. 17362-76.
64. Ivanova M , M.I., Ganeva M, et al., *Elevated serum levels of Th17-related cytokines in patients with ankylosing spondylitis*. Journal of the Balkan Tribological Association, 2016. **22**(3): p. 2244-2257.
65. Ebihara, S., et al., *Interleukin-17 is a critical target for the treatment of ankylosing enthesitis and psoriasis-like dermatitis in mice*. Autoimmunity, 2015. **48**(4): p. 259-66.
66. Ramiro, S., et al., *ASAS-EULAR recommendations for the management of axial spondyloarthritis: 2022 update*. Ann Rheum Dis, 2023. **82**(1): p. 19-34.
67. McGonagle, D.G., et al., *The role of IL-17A in axial spondyloarthritis and psoriatic arthritis: recent advances and controversies*. Ann Rheum Dis, 2019. **78**(9): p. 1167-1178.
68. Nestle, F.O., et al., *Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production*. J Exp Med, 2005. **202**(1): p. 135-43.
69. Boehncke, W.H. and M.P. Schon, *Psoriasis*. Lancet, 2015. **386**(9997): p. 983-94.
70. Zheng, Y., et al., *Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis*. Nature, 2007. **445**(7128): p. 648-51.
71. Akiyama, S. and A. Sakuraba, *Distinct roles of interleukin-17 and T helper 17 cells among autoimmune diseases*. J Transl Autoimmun, 2021. **4**: p. 100104.
72. Bouma, G. and W. Strober, *The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(7): p. 521-33.
73. Galvez, J., *Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD*. ISRN Inflamm, 2014. **2014**: p. 928461.
74. Ouyang, W., J.K. Kolls, and Y. Zheng, *The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation*. Immunity, 2008. **28**(4): p. 454-67.
75. Fujino, S., et al., *Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease*. Gut, 2003. **52**(1): p. 65-70.
76. Raza, A. and M.T. Shata, *Letter: pathogenicity of Th17 cells may differ in ulcerative colitis compared with Crohn's disease*. Aliment Pharmacol Ther, 2012. **36**(2): p. 204; author reply 205.
77. Bogaert, S., et al., *Differential mucosal expression of Th17-related genes between the inflamed colon and ileum of patients with inflammatory bowel disease*. BMC Immunol, 2010. **11**: p. 61.
78. Kim, S.W., et al., *Genetic polymorphisms of IL-23R and IL-17A and novel insights into their associations with inflammatory bowel disease*. Gut, 2011. **60**(11): p. 1527-36.
79. Fauny, M., et al., *Paradoxical gastrointestinal effects of interleukin-17 blockers*. Ann Rheum Dis, 2020. **79**(9): p. 1132-1138.
80. Paust, H.J., et al., *The IL-23/Th17 axis contributes to renal injury in experimental glomerulonephritis*. J Am Soc Nephrol, 2009. **20**(5): p. 969-79.
81. Odobasic, D., et al., *Interleukin-17A promotes early but attenuates established disease in crescentic glomerulonephritis in mice*. Am J Pathol, 2011. **179**(3): p. 1188-98.
82. Schmidt, T., et al., *IL-17 Receptor C Signaling Controls CD4(+) TH17 Immune Responses and Tissue Injury in Immune-Mediated Kidney Diseases*. J Am Soc Nephrol, 2021. **32**(12): p. 3081-3098.

83. Cremoni, M., et al., *Th17-Immune Response in Patients With Membranous Nephropathy Is Associated With Thrombosis and Relapses*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 574997.
84. Mertowska, P., et al., *Biological Role, Mechanism of Action and the Importance of Interleukins in Kidney Diseases*. *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(2).
85. Lin, J.R., et al., *Interleukin-17 promotes the production of underglycosylated IgA1 in DAKIKI cells*. *Ren Fail*, 2018. **40**(1): p. 60-67.
86. Biswas, P.S., *IL-17 in Renal Immunity and Autoimmunity*. *J Immunol*, 2018. **201**(11): p. 3153-3159.
87. Ramani, K. and P.S. Biswas, *Emerging roles of the Th17/IL-17-axis in glomerulonephritis*. *Cytokine*, 2016. **77**: p. 238-44.
88. McInnes, I.B., et al., *Secukinumab, a human anti-interleukin-17A monoclonal antibody, in patients with psoriatic arthritis (FUTURE 2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial*. *Lancet*, 2015. **386**(9999): p. 1137-46.
89. Mease, P.J., et al., *Secukinumab Inhibition of Interleukin-17A in Patients with Psoriatic Arthritis*. *N Engl J Med*, 2015. **373**(14): p. 1329-39.
90. Reich, K., et al., *Secukinumab, a fully human anti-interleukin-17A monoclonal antibody, exhibits low immunogenicity in psoriasis patients treated up to 5 years*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2019. **33**(9): p. 1733-1741.
91. Baraliakos, X., et al., *Long-term effects of interleukin-17A inhibition with secukinumab in active ankylosing spondylitis: 3-year efficacy and safety results from an extension of the Phase 3 MEASURE 1 trial*. *Clin Exp Rheumatol*, 2018. **36**(1): p. 50-55.
92. Baraliakos, X., et al., *Long-term efficacy and safety of secukinumab 150 mg in ankylosing spondylitis: 5-year results from the phase III MEASURE 1 extension study*. *RMD Open*, 2019. **5**(2): p. e001005.
93. Braun, J., et al., *Secukinumab shows sustained efficacy and low structural progression in ankylosing spondylitis: 4-year results from the MEASURE 1 study*. *Rheumatology (Oxford)*, 2019. **58**(5): p. 859-868.
94. Braun, J., et al., *Effect of secukinumab on clinical and radiographic outcomes in ankylosing spondylitis: 2-year results from the randomised phase III MEASURE 1 study*. *Ann Rheum Dis*, 2017. **76**(6): p. 1070-1077.
95. Liu, L., et al., *Generation and characterization of ixekizumab, a humanized monoclonal antibody that neutralizes interleukin-17A*. *J Inflamm Res*, 2016. **9**: p. 39-50.
96. Tsukazaki, H. and T. Kaito, *The Role of the IL-23/IL-17 Pathway in the Pathogenesis of Spondyloarthritis*. *Int J Mol Sci*, 2020. **21**(17).
97. Paul, C., *Ixekizumab or secukinumab in psoriasis: what difference does it make?* *Br J Dermatol*, 2018. **178**(5): p. 1003-1005.
98. Mease, P.J., et al., *Brodalumab in psoriatic arthritis: results from the randomised phase III AMVISION-1 and AMVISION-2 trials*. *Ann Rheum Dis*, 2021. **80**(2): p. 185-193.
99. Adams, R., et al., *Bimekizumab, a Novel Humanized IgG1 Antibody That Neutralizes Both IL-17A and IL-17F*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 1894.
100. Ritchlin, C.T., et al., *Bimekizumab in patients with active psoriatic arthritis: results from a 48-week, randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging phase 2b trial*. *Lancet*, 2020. **395**(10222): p. 427-440.
101. van der Heijde, D., et al., *Dual neutralisation of interleukin-17A and interleukin-17F with bimekizumab in patients with active ankylosing spondylitis: results from a 48-*

- week phase IIb, randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study.* Ann Rheum Dis, 2020. **79**(5): p. 595-604.
102. Beck, K.M. and J. Koo, *Brodalumab for the treatment of plaque psoriasis: up-to-date.* Expert Opin Biol Ther, 2019. **19**(4): p. 287-292.
 103. Pinter, A., et al., *Interleukin-17 receptor A blockade with brodalumab in palmoplantar pustular psoriasis: Report on four cases.* J Dermatol, 2019. **46**(5): p. 426-430.
 104. Lynde, C.W., et al., *Treating to Target(s) With Interleukin-17 Inhibitors.* J Cutan Med Surg, 2019. **23**(2_suppl): p. 3S-34S.
 105. Lu, Y., et al., *Association Between IL-17A +197 G/A Polymorphism and Cancer Risk: A Meta-analysis.* Genet Test Mol Biomarkers, 2016. **20**(1): p. 24-30.
 106. Yu, Z.G., et al., *Association between interleukin-17 genetic polymorphisms and tuberculosis susceptibility: an updated meta-analysis.* Int J Tuberc Lung Dis, 2017. **21**(12): p. 1307-1313.
 107. Jin, Y., et al., *IL-17 polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis of 11 single nucleotide polymorphisms.* J Asthma, 2015. **52**(10): p. 981-8.
 108. Agonia, I., et al., *IL-17, IL-21 and IL-22 polymorphisms in rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis.* Cytokine, 2020. **125**: p. 154813.
 109. Vecellio, M., et al., *The IL-17/IL-23 Axis and Its Genetic Contribution to Psoriatic Arthritis.* Front Immunol, 2020. **11**: p. 596086.
 110. Hayashi, R., et al., *Influence of IL17A polymorphisms (rs2275913 and rs3748067) on the susceptibility to ulcerative colitis.* Clin Exp Med, 2013. **13**(4): p. 239-44.
 111. Ponce-Gallegos, M.A., et al., *Genetic variants in IL17A and serum levels of IL-17A are associated with COPD related to tobacco smoking and biomass burning.* Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 784.
 112. Xie, M., et al., *Correlations of IL-17 and NF-kappaB gene polymorphisms with susceptibility and prognosis in acute respiratory distress syndrome in a chinese population.* Biosci Rep, 2019. **39**(2).
 113. Gunawan, A., *The association between G-197A gene polymorphism of IL-17A with changes in protein interaction of IL-17A, levels of urinary IL-17, and degree of lupus nephritis abnormality.* Comparative Clinical Pathology, 2016. **25**: p. 535-541.
 114. Bialecka, M., et al., *IL17A and IL17F Gene Polymorphism Association with Psoriasis Risk and Response to Treatment in a Polish Population.* Dermatology, 2016. **232**(5): p. 592-596.
 115. Xu, H., et al., *Association between IL17A and IL17F polymorphisms and risk of Henoch-Schonlein purpura in Chinese children.* Rheumatol Int, 2016. **36**(6): p. 829-35.
 116. Holster, A., et al., *IL-17A gene polymorphism rs2275913 is associated with the development of asthma after bronchiolitis in infancy.* Allergol Int, 2018. **67**(1): p. 109-113.
 117. Shu, Q., et al., *Interleukin-17 gene polymorphism is associated with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome but not with Behcet's disease in a Chinese Han population.* Hum Immunol, 2010. **71**(10): p. 988-91.
 118. Lang, X., et al., *IL-17A polymorphism (rs2275913) and levels are associated with preeclampsia pathogenesis in Chinese patients.* BMC Med Genomics, 2021. **14**(1): p. 5.
 119. Nesmond, S., et al., *Characteristic Pattern of IL-17RA, IL-17RB, and IL-17RC in Monocytes/Macrophages and Mast Cells From Patients With Bullous Pemphigoid.* Front Immunol, 2019. **10**: p. 2107.
 120. Zhou, S., et al., *A single-nucleotide polymorphism rs708567 in the IL-17RC gene is associated with a susceptibility to and the curve severity of adolescent idiopathic*

- scoliosis in a Chinese Han population: a case-control study*. BMC Musculoskeletal Disord, 2012. **13**: p. 181.
121. Dhaouadi, T., et al., *IL-17A, IL-17RC polymorphisms and IL17 plasma levels in Tunisian patients with rheumatoid arthritis*. PLoS One, 2018. **13**(3): p. e0194883.
 122. Wielinska, J., et al., *Polymorphisms within Genes Coding for IL-17A and F and Their Receptor as Clinical Hallmarks in Ankylosing Spondylitis*. Mediators Inflamm, 2021. **2021**: p. 3125922.
 123. Shah, R., C.K. Hurley, and P.E. Posch, *A molecular mechanism for the differential regulation of TGF-beta1 expression due to the common SNP -509C-T (c. -1347C > T)*. Hum Genet, 2006. **120**(4): p. 461-9.
 124. Vuong, M.T., et al., *Genetic variation in the transforming growth factor-beta1 gene is associated with susceptibility to IgA nephropathy*. Nephrol Dial Transplant, 2009. **24**(10): p. 3061-7.
 125. Iriyoda, T.M.V., et al., *TGFBI (rs1800470 and rs1800469) variants are independently associated with disease activity and autoantibodies in rheumatoid arthritis patients*. Clin Exp Med, 2022. **22**(1): p. 37-45.
 126. Paradowska-Gorycka, A., et al., *IL-6 and TGF-beta gene polymorphisms, their serum levels, as well as HLA profile, in patients with systemic lupus erythematosus*. Clin Exp Rheumatol, 2019. **37**(6): p. 963-975.
 127. Vasilev, G., et al., *Secretory factors produced by adipose mesenchymal stem cells downregulate Th17 and increase Treg cells in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients*. Rheumatol Int, 2019. **39**(5): p. 819-826.
 128. Robert, M. and P. Miossec, *Interleukin-17 and lupus: enough to be a target? For which patients?* Lupus, 2020. **29**(1): p. 6-14.
 129. Baleva M, N.K., Vinarova J, et al. , *The first retrospective and prospective database for immunological disease in Bulgaria "Imunolog"*. EMMIT 2007, 3rd, International Conference, 3–5 May Mangalia,, 2007. **Romania, Book of Abstracts**.
 130. Chehab, G., R. Fischer-Betz, and M. Schneider, *[Changes in mortality and morbidity in systemic lupus erythematosus]*. Z Rheumatol, 2011. **70**(6): p. 480-5.
 131. Galindo-Izquierdo, M., et al., *Characterization of Patients With Lupus Nephritis Included in a Large Cohort From the Spanish Society of Rheumatology Registry of Patients With Systemic Lupus Erythematosus (RELESSER)*. Medicine (Baltimore), 2016. **95**(9): p. e2891.
 132. Hanly, J.G., et al., *The frequency and outcome of lupus nephritis: results from an international inception cohort study*. Rheumatology (Oxford), 2016. **55**(2): p. 252-62.
 133. Mahajan, A., et al., *Systemic lupus erythematosus, lupus nephritis and end-stage renal disease: a pragmatic review mapping disease severity and progression*. Lupus, 2020. **29**(9): p. 1011-1020.
 134. Tektonidou, M.G., A. Dasgupta, and M.M. Ward, *Risk of End-Stage Renal Disease in Patients With Lupus Nephritis, 1971-2015: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis*. Arthritis Rheumatol, 2016. **68**(6): p. 1432-41.
 135. Mallavarapu, R.K. and E.W. Grimsley, *The history of lupus erythematosus*. South Med J, 2007. **100**(9): p. 896-8.
 136. Rampudda, M., P. Marson, and G. Pasero, *[The main stages in the history of systemic lupus erythematosus]*. Reumatismo, 2009. **61**(2): p. 145-52.
 137. Holubar, K. and S. Fatovic-Ferencic, *Cazenave, Kaposi and lupus erythematosus. A centennial and a sesquicentennial*. Dermatology, 2001. **203**(2): p. 118-20.
 138. Holubar, K., *History of lupus erythematosus*. Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat, 2006. **15**(4): p. 191-4.

139. Felten, R., et al., *The history of lupus throughout the ages*. J Am Acad Dermatol, 2020.
140. Smith, C.D. and M. Cyr, *The history of lupus erythematosus. From Hippocrates to Osler*. Rheum Dis Clin North Am, 1988. **14**(1): p. 1-14.
141. Cohen, A.S. and J.J. Canoso, *Criteria for the classification of systemic lupus erythematosus--status 1972*. Arthritis Rheum, 1972. **15**(5): p. 540-3.
142. Davis, P., et al., *Criteria for classification of S.L.E*. Br Med J, 1973. **3**(5871): p. 88-9.
143. Tan, E.M., et al., *The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 1982. **25**(11): p. 1271-7.
144. Hochberg, M.C., *Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 1997. **40**(9): p. 1725.
145. Mehrani, T. and M. Petri, *Association of IgA Anti-beta2 glycoprotein I with clinical and laboratory manifestations of systemic lupus erythematosus*. J Rheumatol, 2011. **38**(1): p. 64-8.
146. Petri, M., et al., *Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(8): p. 2677-86.
147. Aringer, M., K. Costenbader, and S.R. Johnson, *Assessing the EULAR/ACR classification criteria for patients with systemic lupus erythematosus*. Expert Rev Clin Immunol, 2022. **18**(2): p. 135-144.
148. Fanouriakis, A., et al., *Response to: Correspondence on "Update on the diagnosis and management of systemic lupus erythematosus" by Fanouriakis et al*. Ann Rheum Dis, 2021.
149. Gergianaki, I. and G. Bertsias, *Systemic Lupus Erythematosus in Primary Care: An Update and Practical Messages for the General Practitioner*. Front Med (Lausanne), 2018. **5**: p. 161.
150. Mikdashi, J. and O. Nived, *Measuring disease activity in adults with systemic lupus erythematosus: the challenges of administrative burden and responsiveness to patient concerns in clinical research*. Arthritis Res Ther, 2015. **17**: p. 183.
151. Karlson, E.W., et al., *Validation of a Systemic Lupus Activity Questionnaire (SLAQ) for population studies*. Lupus, 2003. **12**(4): p. 280-6.
152. Isenberg, D.A., C. Gordon, and B.G.B.I.L.A. Group, *From BILAG to BLIPS--disease activity assessment in lupus past, present and future*. Lupus, 2000. **9**(9): p. 651-4.
153. Mikdashi, J. and O. Nived, *Measuring disease activity in adults with systemic lupus erythematosus: the challenges of administrative burden and responsiveness to patient concerns in clinical research*. Arthritis Res Ther, 2015. **17**(1): p. 183.
154. Gladman, D.D., D. Ibanez, and M.B. Urowitz, *Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000*. J Rheumatol, 2002. **29**(2): p. 288-91.
155. Liang, M.H., et al., *Reliability and validity of six systems for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 1989. **32**(9): p. 1107-18.
156. Petri, M., et al., *Definition, incidence, and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. A prospective cohort study*. Arthritis Rheum, 1991. **34**(8): p. 937-44.
157. Chessa, E., et al., *Use of Physician Global Assessment in systemic lupus erythematosus: a systematic review of its psychometric properties*. Rheumatology (Oxford), 2020. **59**(12): p. 3622-3632.

158. Arora, S., D.A. Isenberg, and I. Castrejon, *Measures of Adult Systemic Lupus Erythematosus: Disease Activity and Damage*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2020. **72 Suppl 10**: p. 27-46.
159. Furie, R., et al., *What Does It Mean to Be a British Isles Lupus Assessment Group-Based Composite Lupus Assessment Responder? Post Hoc Analysis of Two Phase III Trials*. Arthritis Rheumatol, 2021. **73**(11): p. 2059-2068.
160. Gladman, D., et al., *The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 1996. **39**(3): p. 363-9.
161. Ghazali, W.S.W., et al., *Slicc damage index score in systemic lupus erythematosus patients and its associated factors*. Medicine (Baltimore), 2018. **97**(42): p. e12787.
162. Rabbani, M.A., et al., *Survival analysis and prognostic indicators of systemic lupus erythematosus in Pakistani patients*. Lupus, 2009. **18**(9): p. 848-55.
163. Wang, H., et al., *Performance of the 2019 EULAR/ACR systemic lupus erythematosus classification criteria in a cohort of patients with biopsy-confirmed lupus nephritis*. Lupus Sci Med, 2021. **8**(1).
164. Golder, V. and A.S.M.W.P. Tsang, *Treatment targets in SLE: remission and low disease activity state*. Rheumatology (Oxford), 2020. **59**(Suppl5): p. v19-v28.
165. Ruiz-Arruza, I., et al., *Glucocorticoids and irreversible damage in patients with systemic lupus erythematosus*. Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(8): p. 1470-6.
166. Siso, A., et al., *Outcomes in biopsy-proven lupus nephritis: evaluation of 190 white patients from a single center*. Medicine (Baltimore), 2010. **89**(5): p. 300-307.
167. Huong, D.L., et al., *Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center*. Medicine (Baltimore), 1999. **78**(3): p. 148-66.
168. Weening, J.J., et al., *The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited*. Kidney Int, 2004. **65**(2): p. 521-30.
169. Bajema, I.M., et al., *Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices*. Kidney Int, 2018. **93**(4): p. 789-796.
170. Giannico, G. and A.B. Fogo, *Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis?* Clin J Am Soc Nephrol, 2013. **8**(1): p. 138-45.
171. Hahn, B.H., et al., *American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012. **64**(6): p. 797-808.
172. Mosca, M., et al., *European League Against Rheumatism recommendations for monitoring patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice and in observational studies*. Ann Rheum Dis, 2010. **69**(7): p. 1269-74.
173. Fanouriakis, A., et al., *2019 Update of the Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of lupus nephritis*. Ann Rheum Dis, 2020. **79**(6): p. 713-723.
174. Anders, H.J., et al., *The management of lupus nephritis as proposed by EULAR/ERA 2019 versus KDIGO 2021*. Nephrol Dial Transplant, 2021.
175. Whittier, W.L. and S.M. Korbet, *Timing of complications in percutaneous renal biopsy*. J Am Soc Nephrol, 2004. **15**(1): p. 142-7.
176. Bandari, J., et al., *Renal biopsy for medical renal disease: indications and contraindications*. Can J Urol, 2016. **23**(1): p. 8121-6.
177. Wallace, D.J., et al., *Lupus nephritis. Experience with 230 patients in a private practice from 1950 to 1980*. Am J Med, 1982. **72**(2): p. 209-20.

178. Fries, J.F., J. Porta, and M.H. Liang, *Marginal benefit of renal biopsy in systemic lupus erythematosus*. Arch Intern Med, 1978. **138**(9): p. 1386-9.
179. Moroni, G., *Lupus nephritis: When and how often to biopsy and what does it mean?* Journal of Autoimmunity, 2016. **74**(27-40).
180. Almaani, S., A. Meara, and B.H. Rovin, *Update on Lupus Nephritis*. Clin J Am Soc Nephrol, 2017. **12**(5): p. 825-835.
181. Inderjeeth, C.A., Habib, P., Sharma, C., et al., *Systemic lupus erythematosus. Reducing life-threatening progression*. Medicine Today 2018. **19**(9): p. 31-41.
182. Chan, E.K.L., *Anti-Ro52 Autoantibody Is Common in Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases and Correlating with Worse Outcome when Associated with interstitial lung disease in Systemic Sclerosis and Autoimmune Myositis*. Clin Rev Allergy Immunol, 2022. **63**(2): p. 178-193.
183. Doria, A., et al., *SLE diagnosis and treatment: when early is early*. Autoimmun Rev, 2010. **10**(1): p. 55-60.
184. Vasilev, V.V., et al., *Functional Characterization of Autoantibodies against Complement Component C3 in Patients with Lupus Nephritis*. J Biol Chem, 2015. **290**(42): p. 25343-55.
185. Radanova, M., et al., *Autoantibodies against Complement Classical Pathway Components C1q, C1r, C1s and C1-Inh in Patients with Lupus Nephritis*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(16).
186. Shan, J., H. Jin, and Y. Xu, *T Cell Metabolism: A New Perspective on Th17/Treg Cell Imbalance in Systemic Lupus Erythematosus*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 1027.
187. Chen, M., X. Chen, and Q. Wan, *Altered frequency of Th17 and Treg cells in new-onset systemic lupus erythematosus patients*. Eur J Clin Invest, 2018. **48**(11): p. e13012.
188. De la Cruz-Mosso, U., et al., *MIF promotes a differential Th1/Th2/Th17 inflammatory response in human primary cell cultures: Predominance of Th17 cytokine profile in PBMC from healthy subjects and increase of IL-6 and TNF-alpha in PBMC from active SLE patients*. Cell Immunol, 2018. **324**: p. 42-49.
189. Crispin, J.C., et al., *Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances*. Trends Mol Med, 2010. **16**(2): p. 47-57.
190. Odendahl, M., et al., *Disturbed peripheral B lymphocyte homeostasis in systemic lupus erythematosus*. J Immunol, 2000. **165**(10): p. 5970-9.
191. Cappione, A., 3rd, et al., *Germinal center exclusion of autoreactive B cells is defective in human systemic lupus erythematosus*. J Clin Invest, 2005. **115**(11): p. 3205-16.
192. Liossis, S.N., et al., *B-cell kinase lyn deficiency in patients with systemic lupus erythematosus*. J Investig Med, 2001. **49**(2): p. 157-65.
193. Cornall, R.J., et al., *Polygenic autoimmune traits: Lyn, CD22, and SHP-1 are limiting elements of a biochemical pathway regulating BCR signaling and selection*. Immunity, 1998. **8**(4): p. 497-508.
194. Flores-Borja, F., et al., *Decreased Lyn expression and translocation to lipid raft signaling domains in B lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 2005. **52**(12): p. 3955-65.
195. Cervera, R., et al., *Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus*. Medicine (Baltimore), 1993. **72**(2): p. 113-24.
196. Weusten, J.J., et al., *Presence of oestrogen receptors in human blood mononuclear cells and thymocytes*. Acta Endocrinol (Copenh), 1986. **112**(3): p. 409-14.
197. Kelly, R.H. and F.T. Vertosick, Jr., *Systemic lupus erythematosus: a role for anti-receptor antibodies?* Med Hypotheses, 1986. **20**(1): p. 95-101.

198. Lu, Z.M., et al., *Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with cytokine genes expression in systemic lupus erythematosus*. Croat Med J, 2009. **50**(2): p. 117-23.
199. Fuseini, H., et al., *ERalpha Signaling Increased IL-17A Production in Th17 Cells by Upregulating IL-23R Expression, Mitochondrial Respiration, and Proliferation*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 2740.
200. Saber, N.Z., Maroof, S.H., Soliman, D.A., et al, *Expression of T helper 17 cells and interleukin 17 in lupus nephritis patients*. The Egyptian Rheumatologist, 2017. **39**(3): p. 151-157.
201. Walport, M.J., *Inherited complement deficiency--clues to the physiological activity of complement in vivo*. Q J Med, 1993. **86**(6): p. 355-8.
202. Seelen, M.A., L.A. Trouw, and M.R. Daha, *Diagnostic and prognostic significance of anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2003. **12**(6): p. 619-24.
203. Stoyanova, V., et al., *New insight into the autoimmunogenicity of the complement protein C1q*. Mol Immunol, 2011. **48**(4): p. 678-82.
204. Turner, M.W., *Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system*. Immunol Today, 1996. **17**(11): p. 532-40.
205. Vasilev, V.V., et al., *Autoantibodies Against C3b-Functional Consequences and Disease Relevance*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 64.
206. Wong, C.K., et al., *Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus*. Lupus, 2000. **9**(8): p. 589-93.
207. Zickert, A., et al., *IL-17 and IL-23 in lupus nephritis - association to histopathology and response to treatment*. BMC Immunol, 2015. **16**: p. 7.
208. Muhammad Yusoff, F., K.K. Wong, and N. Mohd Redzwan, *Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus*. Autoimmunity, 2020. **53**(1): p. 8-20.
209. Niewold, T.B., *Interferon alpha as a primary pathogenic factor in human lupus*. J Interferon Cytokine Res, 2011. **31**(12): p. 887-92.
210. Talaat, R.M., et al., *Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity*. Cytokine, 2015. **72**(2): p. 146-53.
211. Guimaraes, P.M., et al., *Cytokines in systemic lupus erythematosus: far beyond Th1/Th2 dualism lupus: cytokine profiles*. Immunol Cell Biol, 2017. **95**(9): p. 824-831.
212. Raymond, W., et al., *IL-17A levels in systemic lupus erythematosus associated with inflammatory markers and lower rates of malignancy and heart damage: Evidence for a dual role*. Eur J Rheumatol, 2017. **4**(1): p. 29-35.
213. Cavalcanti, A., et al., *Cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a cross-sectional and longitudinal study*. Braz J Med Biol Res, 2017. **50**(4): p. e5738.
214. al-Janadi, M., et al., *Cytokine profile in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other rheumatic diseases*. J Clin Immunol, 1993. **13**(1): p. 58-67.
215. Wong, C.K., et al., *Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity*. Clin Immunol, 2008. **127**(3): p. 385-93.
216. Vincent, F.B., et al., *Clinical associations of serum interleukin-17 in systemic lupus erythematosus*. Arthritis Res Ther, 2013. **15**(4): p. R97.
217. Zhao, X.F., et al., *Increased serum interleukin 17 in patients with systemic lupus erythematosus*. Mol Biol Rep, 2010. **37**(1): p. 81-5.

218. Dedong, H., et al., *Analysis of interleukin-17 and interleukin-23 for estimating disease activity and predicting the response to treatment in active lupus nephritis patients*. Immunol Lett, 2019. **210**: p. 33-39.
219. Abdel Galil, S.M., N. Ezzeldin, and M.E. El-Boshy, *The role of serum IL-17 and IL-6 as biomarkers of disease activity and predictors of remission in patients with lupus nephritis*. Cytokine, 2015. **76**(2): p. 280-287.
220. Zhang, Z., V.C. Kytтарыs, and G.C. Tsokos, *The role of IL-23/IL-17 axis in lupus nephritis*. J Immunol, 2009. **183**(5): p. 3160-9.
221. Ghali, J.R., S.R. Holdsworth, and A.R. Kitching, *Targeting IL-17 and IL-23 in Immune Mediated Renal Disease*. Curr Med Chem, 2015. **22**(38): p. 4341-65.
222. Zhai, S., et al., *IL-17 aggravates renal injury by promoting podocyte injury in children with primary nephrotic syndrome*. Exp Ther Med, 2020. **20**(1): p. 409-417.
223. Wen, Z., et al., *Interleukin-17 expression positively correlates with disease severity of lupus nephritis by increasing anti-double-stranded DNA antibody production in a lupus model induced by activated lymphocyte derived DNA*. PLoS One, 2013. **8**(3): p. e58161.
224. Summers, S.A., et al., *Endogenous interleukin (IL)-17A promotes pristane-induced systemic autoimmunity and lupus nephritis induced by pristane*. Clin Exp Immunol, 2014. **176**(3): p. 341-50.
225. Schmidt, T., et al., *Function of the Th17/interleukin-17A immune response in murine lupus nephritis*. Arthritis Rheumatol, 2015. **67**(2): p. 475-87.
226. Crispin, J.C., et al., *Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys*. J Immunol, 2008. **181**(12): p. 8761-6.
227. Lavozy, C., et al., *Interleukin-17A blockade reduces albuminuria and kidney injury in an accelerated model of diabetic nephropathy*. Kidney Int, 2019. **95**(6): p. 1418-1432.
228. Lee, H., et al., *Cln 3-requiring 9 is a negative regulator of Th17 pathway-driven inflammation in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis*. Am J Physiol Renal Physiol, 2016. **311**(3): p. F505-19.
229. Saleh, M.A., A.E. Norlander, and M.S. Madhur, *Inhibition of Interleukin 17-A but not Interleukin-17F Signaling Lowers Blood Pressure and Reduces End-organ Inflammation in Angiotensin II-induced Hypertension*. JACC Basic Transl Sci, 2016. **1**(7): p. 606-616.
230. Orejudo, M., et al., *Interleukin-17A induces vascular remodeling of small arteries and blood pressure elevation*. Clin Sci (Lond), 2020. **134**(5): p. 513-527.
231. Iyoda, M., et al., *IL-17A and IL-17F stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK1/2 and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: synergy with TNF-alpha and IL-1beta*. Am J Physiol Renal Physiol, 2010. **298**(3): p. F779-87.
232. An, J.N., et al., *NK1.1(-) natural killer T cells upregulate interleukin-17 expression in experimental lupus nephritis*. Am J Physiol Renal Physiol, 2021. **320**(5): p. F772-F788.
233. Cheng, Y., et al., *Analysis of expression levels of IL-17 and IL-34 and influencing factors for prognosis in patients with lupus nephritis*. Exp Ther Med, 2019. **17**(3): p. 2279-2283.
234. Yazici, M.U., et al., *Studying IFN-gamma, IL-17 and FOXP3 in pediatric lupus nephritis*. Pediatr Nephrol, 2014. **29**(5): p. 853-62.
235. Wang, N., et al., *Induction therapy downregulates the expression of Th17/Tfh cytokines in patients with active lupus nephritis*. Am J Clin Exp Immunol, 2018. **7**(4): p. 67-75.

236. Wang, Y., et al., *Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis*. Clin Exp Immunol, 2010. **159**(1): p. 1-10.
237. Susianti, H., et al., *Analysis of urinary TGF-beta1, MCP-1, NGAL, and IL-17 as biomarkers for lupus nephritis*. Pathophysiology, 2015. **22**(1): p. 65-71.
238. Sigdel, K.R., et al., *Serum Cytokines Th1, Th2, and Th17 Expression Profiling in Active Lupus Nephritis-IV: From a Southern Chinese Han Population*. Mediators Inflamm, 2016. **2016**: p. 4927530.
239. Chen, D.Y., et al., *The potential role of Th17 cells and Th17-related cytokines in the pathogenesis of lupus nephritis*. Lupus, 2012. **21**(13): p. 1385-96.
240. Thurman, J.M. and N.J. Serkova, *Non-invasive imaging to monitor lupus nephritis and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus*. F1000Res, 2015. **4**: p. 153.
241. Santacruz, J.C., et al., *Current Evidence for IL-17/23 Blockade for the Treatment of Lupus Nephritis*. Cureus, 2021. **13**(12): p. e20087.
242. Jakiela, B., et al., *Facilitated expansion of Th17 cells in lupus nephritis patients*. Clin Exp Immunol, 2018. **194**(3): p. 283-294.
243. Nakhjavani, M., Abediazar, S., Ghorbanihaghjo, A., et al., *Serum tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) and IL-17 levels are associated with disease activity in systemic lupus erythematosus patients with and without nephritis*. J Renal Inj. Prev., 2019. **8**(3): p. 204-210.
244. Kamanu, F.K., et al., *Mutations and binding sites of human transcription factors*. Front Genet, 2012. **3**: p. 100.
245. Sharifzadeh M, N.S., Nasiri M et al.) *IL-17A gene polymorphism at position G197A and systemic lupus erythematosus*. Rheumatology Research 2018. **3**(3): p. 107-112.
246. Padhi, S., et al., *Interleukin 17A rs2275913 polymorphism is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus: A meta and trial sequential analysis*. Lupus, 2022. **31**(6): p. 674-683.
247. Pasha, H.F., E.A. Tantawy, and M.A. Youssef, *Osteopontin and interleukin-17A genes polymorphisms in Egyptian systemic lupus erythematosus patients: A relation to disease activity and severity*. Gene, 2019. **702**: p. 107-113.
248. Montufar-Robles, I., et al., *IL-17A haplotype confers susceptibility to systemic lupus erythematosus but not to rheumatoid arthritis in Mexican patients*. Int J Rheum Dis, 2019. **22**(3): p. 473-479.
249. Lee, Y.H., Song, G.,G., *Associations Between Circulating Interleukin-17 Levels and Systemic Lupus Erythematosus and Between Interleukin-17 Gene Polymorphisms and Disease Susceptibility: A Meta-analysis*. Journal of Rheumatic Diseases 2020. **27**(1): p. 37-44.
250. Hammad, A., et al., *Interleukin-17A rs2275913, Interleukin-17F rs763780 and rs2397084 gene polymorphisms as possible risk factors in Juvenile lupus and lupus related nephritis*. Autoimmunity, 2016. **49**(1): p. 31-40.
251. Cameron, J.S., *Lupus nephritis*. J Am Soc Nephrol, 1999. **10**(2): p. 413-24.
252. Pollak, V.E., C.L. Pirani, and F.D. Schwartz, *The natural history of the renal manifestations of systemic lupus erythematosus*. 1964. J Am Soc Nephrol, 1997. **8**(7): p. 1189-98; discussion 1189-95.
253. Austin, H.A., 3rd, et al., *Therapy of lupus nephritis. Controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs*. N Engl J Med, 1986. **314**(10): p. 614-9.
254. Parikh, S.V. and B.H. Rovin, *Current and Emerging Therapies for Lupus Nephritis*. J Am Soc Nephrol, 2016. **27**(10): p. 2929-2939.
255. van Vollenhoven, R.F., et al., *Efficacy and Safety of Ustekinumab in Patients With Active Systemic Lupus Erythematosus: Results of a Phase II Open-label Extension Study*. J Rheumatol, 2022. **49**(4): p. 380-387.

256. *Study of safety, efficacy and tolerability of secukinumab versus placebo, in combination with SoC Therapy, in Patients With Active Lupus Nephritis (SELUNE)*. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04181762>. 2025, US National Library of Medicine. .
257. Satoh, Y., et al., *A case of refractory lupus nephritis complicated by psoriasis vulgaris that was controlled with secukinumab*. *Lupus*, 2018. **27**(7): p. 1202-1206.
258. Costa, R., et al., *Secukinumab on Refractory Lupus Nephritis*. *Cureus*, 2021. **13**(8): p. e17198.
259. Kaler, J. and G.S. Kaeley, *Secukinumab-Induced Lupus Erythematosus: A Case Report and Literature Review*. *J Clin Rheumatol*, 2021. **27**(8S): p. S753-S754.
260. Gasparotto, M., et al., *Lupus nephritis: clinical presentations and outcomes in the 21st century*. *Rheumatology (Oxford)*, 2020. **59**(Suppl5): p. v39-v51.
261. Koga, T., et al., *Current Insights and Future Prospects for Targeting IL-17 to Treat Patients With Systemic Lupus Erythematosus*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 624971.
262. Shen, H.H., et al., *Elevated Circulating Interleukin-17 Levels in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-analysis*. *Immunol Invest*, 2020. **49**(6): p. 662-675.
263. Santos, M.J., et al., *TNF promoter -308 G>A and LTA 252 A>G polymorphisms in Portuguese patients with systemic lupus erythematosus*. *Rheumatol Int*, 2012. **32**(8): p. 2239-44.
264. Mak, A., C.S. Tang, and R.C. Ho, *Serum tumour necrosis factor-alpha is associated with poor health-related quality of life and depressive symptoms in patients with systemic lupus erythematosus*. *Lupus*, 2013. **22**(3): p. 254-61.
265. Zhao, L., et al., *IL-22+CD4+ T-cells in patients with active systemic lupus erythematosus*. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013. **238**(2): p. 193-9.
266. Ballantine, L.E., et al., *The pro-inflammatory potential of T cells in juvenile-onset systemic lupus erythematosus*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2014. **12**: p. 4.
267. Boghdadi, G. and E.A. Elewa, *Increased serum APRIL differentially correlates with distinct cytokine profiles and disease activity in systemic lupus erythematosus patients*. *Rheumatol Int*, 2014. **34**(9): p. 1217-23.
268. Angelo, H.D., et al., *Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism -308 G/A in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus*. *Hum Immunol*, 2012. **73**(11): p. 1166-70.
269. Jin, L., et al., *Association of Serum T cell Immunoglobulin Domain and Mucin-3 and Interleukin-17 with Systemic Lupus Erythematosus*. *Med Sci Monit Basic Res*, 2018. **24**: p. 168-176.
270. Ebrahimi Chaharom, F., et al., *Association of IL-17 serum levels with clinical findings and systemic lupus erythematosus disease activity index*. *Immunol Med*, 2023: p. 1-7.
271. Nordin, F., et al., *Serum and urine interleukin-17A levels as biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus*. *Int J Rheum Dis*, 2019. **22**(8): p. 1419-1426.
272. Mostafa, A., Allah, A., Alwahed S., et al., *Interleukin 17 role as a biomarker in Systemic Lupus Erythematosus patients*. *Sohag medical journal*, 2022. **25**(1): p. 42-50.
273. Reynolds, J.A., et al., *Cytokine profiling in active and quiescent SLE reveals distinct patient subpopulations*. *Arthritis Res Ther*, 2018. **20**(1): p. 173.
274. Pelicari Kde, O., et al., *Serum interleukin-17 levels are associated with nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus*. *Clinics (Sao Paulo)*, 2015. **70**(5): p. 313-7.
275. Hatton, R.D., *TGF-beta in Th17 cell development: the truth is out there*. *Immunity*, 2011. **34**(3): p. 288-90.
276. Zhang, S., *The role of transforming growth factor beta in T helper 17 differentiation*. *Immunology*, 2018. **155**(1): p. 24-35.

277. Aleksandrova, E., et al., *Protective Role of IL7A-197 A/G Heterozygosity in the Development and Severity of Colorectal Cancer in the Bulgarian Population*. *Medicina (Kaunas)*, 2022. **58**(11).
278. Nordang, G.B., et al., *Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand*. *Rheumatology (Oxford)*, 2009. **48**(4): p. 367-70.
279. Mohammadipour, K., et al., *Investigation of Interleukin-17 Gene Polymorphisms and Serum Levels in Patients with Basal Cell Carcinoma of the Skin*. *Iran J Immunol*, 2019. **16**(1): p. 53-61.
280. Lopez-Mejias, R., et al., *Influence of IL17A gene on the pathogenesis of immunoglobulin-A vasculitis*. *Clin Exp Rheumatol*, 2020. **38 Suppl 124**(2): p. 166-170.
281. Zhang, S. and X. Wang, *The IL-17A rs2275913 polymorphism is associated with colorectal cancer risk*. *J Int Med Res*, 2020. **48**(12): p. 300060520979117.
282. Mohamed, N.S., et al., *Frequency distribution of IL-17A G197A (rs2275913) and IL-17F A7488G (rs763780) polymorphisms among healthy Sudanese population*. *BMC Res Notes*, 2020. **13**(1): p. 317.
283. Mazurek-Mochol, M., et al., *IL-17F Gene rs763780 and IL-17A rs2275913 Polymorphisms in Patients with Periodontitis*. *Int J Environ Res Public Health*, 2021. **18**(3).
284. Rushdy, M., et al., *IL-17A (rs2275913; G197A) gene polymorphism as predictor for disease severity and its correlation with IL-17 serum levels in COVID-19 patients*. *Egypt J Immunol*, 2022. **29**(3): p. 90-98.
285. Nikolova, S., et al., *Positive Association between TGFB1 Gene and Susceptibility to Idiopathic Scoliosis in Bulgarian Population*. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2018. **2018**: p. 6836092.
286. Stanilova, S., et al., *Transforming growth factor-beta1 gene promoter -509C/T polymorphism in association with expression affects colorectal cancer development and depends on gender*. *PLoS One*, 2018. **13**(8): p. e0201775.
287. Vasilev, G., et al., *Influence of IL10 and TGFB1 Promoter Polymorphisms on Serum Cytokine Levels in Development and Severity of RA*. *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(19).
288. Hammad, A., et al., *Serum interleukin-17 in Egyptian children with systemic lupus erythematosus: is it related to pulmonary affection?* *Lupus*, 2017. **26**(4): p. 388-395.
289. Elkoumi, M.A., et al., *Association of interleukin-17A gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus in Egyptian children and adolescents: a multi-centre study*. *Lupus*, 2020. **29**(7): p. 767-775.
290. Koper-Lenkiewicz, O.M., et al., *Proinflammatory Cytokines (IL-1, -6, -8, -15, -17, -18, -23, TNF-alpha) Single Nucleotide Polymorphisms in Rheumatoid Arthritis-A Literature Review*. *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(4).
291. Du, L., et al., *Contribution of the polymorphism rs1800469 of transforming growth factor beta in the development of myocardial infarction: meta-analysis of 5460 cases and 8413 controls (MOOSE-compliant article)*. *Medicine (Baltimore)*, 2019. **98**(26): p. e15946.
292. Wiseman, S.J., et al., *Cerebral Small Vessel Disease Burden Is Increased in Systemic Lupus Erythematosus*. *Stroke*, 2016. **47**(11): p. 2722-2728.

СЪДЪРЖАНИЕ:

ВЪВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	6
1. АВТОИМУНИТЕТ	6
2. ИНТЕРЛЕВКИН-17 - БИОЛОГИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ВИДОВЕРЕЦЕПТОРИ И МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ	7
2.1. Интерлекин -17 обща характеристика.....	8
2.2. Интерлекин -17 видове, биологични характеристики.....	8
2.3. Интерлекин -17 механизъм на действие и видове рецептори	10
2.4. Интерлекин -17 механизъм на сигнална трансдукция	12
2.5. Т хелперна клетъчна популация, продуцираща интерлекин -17 (Th17)	12
3. РОЛЯ НА Th17 и IL-17 ПРИ АВТОИМУННИТЕ ЗАБОЛЯВАНИЯ	13
3.1. Роля IL-17 при някои неврологични заболявания.....	13
3.2. Роля IL-17 при ревматоиден артрит	14
3.3. Роля IL-17 при анкилозиращ спондилит (АС).....	15
3.4. Роля IL-17 при дерматологични заболявания - псориазис и псориаатичен артрит	15
3.5. Роля IL-17 при възпалителните чревни заболявания.....	16
3.6. Роля IL-17 при гломерулонефрити	17
4. АНТИ-IL-17 МЕДИКАМЕНТИ И КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ	18
5. ЕДИНИЧНИТЕ НУКЛЕОТИЧНИ ПОЛИМОРФИЗМИ ОТ СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 - РОЛЯ ПРИ АВТОИМУННИТЕ ЗАБОЛЯВАНИЯ	21
5.1. Структурна организация на <i>IL-17A</i> гена и роля на полиморфизмите му при автоимунни заболявания	22
5.2. IL-17RC и автоимунни заболявания. Роля на полиморфизмите в кодиращия го ген.....	23
5.3. TGF- β - роля в оста Th17/IL-17/IL-17R и полиморфизми в кодиращия го ген при автоимунни заболявания.....	24
6. СИСТЕМЕН ЛУПУС ЕРИТЕМАТОЗУС И ЛУПУСЕН НЕФРИТ	26
6.1. Кратък исторически преглед	26
6.2. Диагноза, класификация и индекси за оценка на СЛЕ. Дефицитни за рецидив и ремисия	27
6.3. Епидемиология на лупусния нефрит.....	36
6.4. Класификация на лупусния нефрит	37
6.5. ПББ. Индикацията за ПББ при СЛЕ	42

6.6. Индекси за хроничност и активност на националния здравен институт (NIH)	44
6.7. Основни рискови фактори и предиктори за развитието на лупусен нефрит.....	45
6.8. Клинична картина и лабораторни промени при лупусен нефрит.....	46
6.9. Етиопатогенеза на СЛЕ и лупусен нефрит	46
6.9.1. Промени в хумаралния имунен отговор при СЛЕ и ЛН.....	47
6.9.2. Промени в клетъчните популации при СЛЕ и ЛН с акцент върху Th17	48
6.9.3. Хормонални фактори - роля при СЛЕ и ЛН	49
6.9.4. Системна на комплемента - роля при СЛЕ и ЛН	49
6.9.5. Цитокинов дисбаланс при СЛЕ и ЛН с акцент върху ролята на IL-17A	50
7. Th17, IL-17A И ПОЛИМОРФИЗМИ В ГЕНИ ОТ СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 – РОЛЯ ПРИ СЛЕ И ЛУПУСЕН НЕФРИТ	52
7.1. Th17 и IL-17A роля при СЛЕ и ЛН - от експерименталните модели до клиничната практика.....	52
7.2. Влияние на IL-17 върху бъбречните структури	53
7.3. IL-17-значение за клиничните параметри и тежестта на протичане на ЛН.....	54
7.4. Полиморфизми в гени, свързани с IL-17 сигналния път – роля при СЛЕи ЛН.....	56
8. ТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ ПРИ СЛЕ И ЛН. IL-17 СИГНАЛИЗАЦИЯТА КАТО ТЕРАПЕВТИЧНА МИШЕНА.....	57
9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	61
ГЛАВА II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	62
ГЛАВА III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	63
1. МАТЕРИАЛ.....	63
1.1. ИЗСЛЕДВАНИ ЛИЦА.....	63
1.2. БИОЛОГИЧЕН МАТЕРИАЛ	66
2. МЕТОДИ	68
2.1. СЕРОЛОГИЧНИ МЕТОДИ.....	68
2.1.1. Определяне на серумната концентрация на IL-17A.....	68
2.1.2. Определяне на антитела.....	69
2.2. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ.....	70
2.2.1. TaqMan количествена полимеразна верижна реакция (PCR).....	70
2.2.2. Анализ на топене с висока резолюция (HRMA).....	71
2.3. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ	72
ГЛАВА IV. РЕЗУЛТАТИ.....	74

1. СЕРУМНИ НИВА НА ИНТЕРЛЕВКИН -17А (IL-17А) - РОЛЯ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА СЛЕ И ЛН	74
1.1. Серумни нива на IL-17А при изследваните болни и здрави лица	74
1.2. Влияние на пола върху серумните нива IL-17А	75
1.3. Влияние на възрастта върху серумните нива IL-17А	76
1.4. Влияние на серумните нива IL-17А върху клиничните признаци на СЛЕ	77
1.5. Връзка на серумните нива IL-17А и активността на СЛЕ и ЛН	81
2. ГЕНОТИПНО ВЛИЯНИЕ ВЪРХУ ПРОДУКЦИЯТА НА IL-17А -ПРИ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЗДРАВИ И БОЛНИ ЛИЦА	84
2.1. Генотипно влияние на изследваните полиморфизми върху продукцията на IL-17А при здрави лица	84
2.2. Генотипно влияние на изследваните полиморфизми върху продукцията на IL-17А при пациенти със СЛЕ и ЛН	86
3. АСОЦИАТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ПОЛИМОРФИЗМИ, СВЪРЗАНИ СЪС СИГНАЛНИЯ ПЪТ НА IL-17 ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СЛЕ И ЛН	90
3.1. Влияние на <i>IL-17A</i> (-197G/A) rs2275913 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	90
3.2. Влияние на <i>IL-17RC</i> (+6313C/T) rs708567 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	93
3.3. Влияние на <i>TGF-β</i> (-509C/T) rs1800469 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	96
ГЛАВА V. ОБСЪЖДАНЕ	98
1. СЕРУМНИ НИВА НА ИНТЕРЛЕВКИН -17А (IL-17А) - РОЛЯ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА СЛЕ И ЛН	98
2. ГЕНОТИПНО ВЛИЯНИЕ НА ЕДИНИЧНИТЕ НУКЛЕОТИДНИ ПОЛИМОРФИЗМИ ВЪРХУ ПРОДУКЦИЯТА НА IL-17А ПРИ ЗДРАВИ И БОЛНИ ЛИЦА	102
2.1. Роля на <i>IL-17A</i> (-197G/A) rs2275913 полиморфизма върху нивата на IL-17А	102
2.2. Роля на <i>IL-17RC</i> (+6313C/T) rs708567 полиморфизма върху нивата на IL-17А	103
2.3. Роля на <i>TGF-β</i> (-509C/T) rs1800469 полиморфизма върху нивата на IL-17А	103
3. АЛЕЛНА И ГЕНОТИПНА ЧЕСТОТА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОЛИМОРФИЗМИ СРЕД БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ	104
4. ВЛИЯНИЕ НА НУКЛЕОТИДНИТЕ ПОЛИМОРФИЗМИ ВЪРХУ ВЪЗПРИЕМЧИВОСТТА И КЛИНИЧНОТО ПРОТИЧАНЕ НА СИСТЕМНИЯ ЛУПУС ЕРИТЕМАТОЗУС И ЛУПУСНИЯ НЕФРИТ	107

4.1. Влияние на <i>IL-17A</i> (-197G/A) rs2275913 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	107
4.2. Влияние на <i>IL-17RC</i> (+6313C/T) rs708567 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	109
4.3. Влияние на <i>TGF-β</i> (-509C/T) rs1800469 върху възприемчивостта и клиничните признаци при СЛЕ и ЛН	110
ГЛАВА VI. ОБОБЩЕНИЕ	112
ГЛАВА VII. ИЗВОДИ	114
ГЛАВА VIII. СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ	115
ГЛАВА IX. СПРАВКА ЗА ПУБЛИКАЦИИ, ЦИТИРАНИЯ И ДОКЛАДИ	117
ЛИТЕРАТУРА	119
СЪДЪРЖАНИЕ	134