

О.М. Муквіч
Л.І. Омельченко
А.М. Мацкевич

ДУ «Інститут педіатрії,
акушерства та гінекології
ім. академіка О.М. Лук'янової
НАМН України», Київ

Ключові слова: ювенільний
ідіопатичний артрит,
поліморфізм генів, вітамін D,
діти.

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВІТАМІН D-СТАТУСУ ПРИ ЮВЕНІЛЬНОМУ ІДІОПАТИЧНОМУ АРТРИТІ

Мета. Дослідити взаємозалежність між змінами нуклеотидної послідовності в генах вродженого імунітету і рівнем забезпеченості організму вітаміном D при ідіопатичному артриті у дітей. **Об'єкти і методи.** Обстежено 33 дитини з діагнозом ювенільного ідіопатичного артрити (ЮІА) віком від 1 до 17 років. Концентрацію 25OHD в сироватці крові визначали на імуноферментному фотоелектричному аналізаторі Рідер ER 500 № ER2J018E. Високопродуктивне панельне екзомне секвенування (NGS) проводилося на апараті Illumina's HiSeq (США). **Результати.** Зміни нуклеотидної послідовності в генах, які асоціюються з аутозапальними синдромами, виявлені у 26,4% пацієнтів з ЮІА: NOD2, ADA2, ELANE, MEFV, NLRP12, PSTPIP1, LPIN2. Варіативні зміни в гені NOD2 визначені у 18,1%, дітей що визначає статистично вірогідну різницю з популяційною частотою (відношення шансів 11,395; 95% довірчий інтервал 2,395–54,22). У всіх дітей з мутаціями в гені NOD2 встановлені знижені концентрації вітаміну D, що статистично достовірно у дітей без змін нуклеотидної послідовності у цьому гені (відношення шансів 0,097; 95% довірчий інтервал 0,030–0,307). У дітей з відсутністю змін нуклеотидної послідовності в гені NOD2 концентрація 25OHD в сироватці крові була достовірно вищою, $p=0,026$. **Висновки.** Встановлено, що у дітей з наявністю змін нуклеотидної послідовності в гені NOD2, відмічають достовірно більш низькі концентрації вітаміну D в сироватці крові порівняно з дітьми, що не мали подібних варіативних змін.

Ювенільний ідіопатичний артрит (ЮІА) — гетерогенна група запальних артритів невідомої етіології з початком хвороби до 16 років і мінімальною тривалістю 6 тиж після виключення інших відомих причин синовііту (ACR, 2019).

На сьогодні доведено, що до генетичних факторів, з якими асоціюється розвиток ЮІА, відносять наявність певних алелів генів у локусах HLA-DRB1, HLA-B27, HLA-B7, RTRN2 та ін. Однак природа поєднань цих генів з формуванням аутоімунного процесу залишається неясною (Frisell T. et al, 2016). Імовірно, що алелі генів HLA здатні впливати на пенетрантність основних генів захворювання, значно підвищуючи її, що й пояснює високу частоту «загальних епітопів» серед хворих. Однак під час оцінки кількісного внеску HLA-локусу в схильність до ЮІА визначено, що частка HLA-комплексу в загальній генетичній компоненті захворювання становить лише 30–37,0% (Hollenbach J.A. et al., 2010), тому пошук кандидатних генів постійно розширяється.

В останні роки ЮІА, як і більшість інших аутоімунних хвороб, розглядається як захворювання, що має полігенний тип наслідування. Загальногеномні до-

слідження GWAS у пацієнтів з ревматоїдним артритом виявили 377 генів-кандидатів в 100 локусах ризику, які регулюють численні ланки імунізапальних процесів, включаючи каспазу-8, каспазу-10, аутоімунний регулятор (autoimmune regulator — AIRE), рецептор інтерлейкіну (IL)-2α (CD25), тирозин-протеїнфосфатазу С рецепторного типу (CD45), білок 1, що активує рекомбінацію VDJ (RAG1), RAG2, CD40, серин-протеїназу ATM, неректорний тирозин-протеїназу TYK2, рецептор інтерферону-γ 2-го типу (IFN-γ 2) і регуляторний фактор інтерферону 8 (IRF8), транскрипційний ядерний фактор (NF)-κB, толл-подібний рецептор 4 (TLR4) та ін. (Ciccarelli F. et al., 2014).

На даний час зусилля вчених спрямовані на пошуки інших генів, які детермінують схильність до ЮІА. І в цьому плані ЮІА як аутоімунне захворювання, яке спричиняє дефекти адаптивного імунітету із втраченою толерантністю до аутоантигенів, має загальні клінічні прояви і перехресний зв'язок з аутозапальними синдромами, які характеризуються епізодичними запаленнями через невідповідну активацію вродженої імунної відповіді (Ciccarelli F.

et al., 2014). Обидва типи станів призводять до системного запалення за відсутності відомого тригера і передбачають істотне перекриття обох імунних шляхів (Arakelyan A. et al., 2017).

Разом з тим існують докази того, що в реалізації захворювання у кожного окремого індивідуума відіграють роль не лише генетичні чинники, а й фактори середовища, серед яких забезпеченість організму вітаміном D. Результати проведених нами за останні роки досліджень свідчать про зниження рівня 25OH₂D в сироватці крові у дітей з високою активністю та тяжким перебігом ЮІА. Враховуючи імунорегуляторні функції цього вітаміну, це може спричинити розвиток аутоімунного процесу в організмі (Плехова Н.Г., Каблуков Д.А., 2018).

Генетичні дослідження свідчать, що більшість кандидатних генів ЮІА, залучених у процеси імунної регуляції, знаходяться всередині або поблизу генів, які контролюють складний метаболізм вітаміну D. Функціональні аспекти таких генетичних асоціацій можуть бути пояснені втратою або посиленням функцій в асоційованому з вітаміном D гені, і, як наслідок, змінами регуляції експресії генів у певних типах імунних клітин (Lu M. et al., 2018).

Використання сучасних методів секвенування геному дозволило визначити, що зв'язок між вітаміном D та ЮІА може базуватися на широкому та характерно геномному зв'язуванні рецептора вітаміну D (Lu M et al, 2018).

Вплив вітаміну D і його активного метаболіту — альфакальцидіолу — на перебіг ЮІА та виявлення кореляція між концентрацією в сироватці крові 25OH₂D та активністю, тяжкістю клінічного перебігу і прогнозом хвороби визначає важливі для регуляції імунної системи функції вітаміну D, що, зокрема, сприяють зменшенню запального профілю цитокінів та співвідношення (Treg/Th17). Ефекти 1,25 (OH)₂D₃, ймовірно, — ключ до його потенційної здатності обмежити аутоімунітет через зниження активності, проліферації та регуляції функції Т-клітин (Lu M et al, 2018).

В організмі людини рецептор до кальційтриолу (VDR) кодується геном, локалізованим у 12-й хромосомі (12q13), специфічний поліморфізм якого визначає різні біологічні реакції на вітамін D (McAllister K. et al., 2011). Ген VDR складається з 11 екзонів і дотепер виявлено 510 його генетичних варіацій.

Рецептор вітаміну D (або NR111) належить до сімейства ядерних транскрипційних білків і бере участь не тільки в процесі транскрипції, а й у механізмах посттранскрипції, контрольованих мікро-РНК (McAllister K. et al, 2011). Регульована ендокринними, аутокринними і паракринними механізмами, гормональна форма вітаміну D (1,25(OH)₂D) для реалізації свого ефекту має бути пов'язана зі специфічним VDR, щоб надавати епігенетичні та генетичні ефекти, діючи як зв'язок між позаклітинними подразниками та геномною відповіддю клітин.

1,25-дигідроксिवітамін D (1,25(OH)₂D) відіграє свою роль у функціонуванні клітин-мішеней після зв'язування з кінцевим фрагментом VDR у цито-

золі, який наявний майже в усіх тканинах та імунних клітинах. Отриманий комплекс «рецептор — гормон» переходить в ядро і зв'язується з елементом відповіді на вітамін D (VDRE) в промоторі гена.

Поява загальнодоступних підходів до профілювання експресії генів призвела до ідентифікації численних генів, регульованих VDR. Описані дані про експресію рецепторів вітаміну D дендритними клітинами, макрофагами, синовіоцитами, хондроцитами, епітеліоцитами, що визначає ключовий ефект вітаміну D в регуляції вродженого імунітету. Вітамін D в дендритних клітинах змінює їх метаболічний профіль, сприяє продукції толерогенного фенотипу і посиленню секреції інтерлейкіну-10 та підвищенню рівня Treg (Mailhot G. et al., 2020).

Згідно із сучасними даними, виявлення поліморфізмів генів вродженого імунітету дає можливість підвищити ефективність діагностики, прогнозування та оцінки реакції організму на лікування ювенільних артритів. Крім очевидного впливу дефіциту вітаміну D на перебіг та прогноз захворювання, важливого значення набувають генетичні аспекти контролю над метаболізмом і станом імунної відповіді організму на дію різних факторів середовища.

Мета. Дослідити взаємозалежність між змінами нуклеотидної послідовності в генах вродженого імунітету та рівнем забезпеченості організму вітаміном D при ідіопатичних артритах у дітей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведені у 33 дітей з діагнозом ЮІА віком 1–17 років (16 хлопчиків, 17 дівчат), які спостерігалися у ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології ім. академіка О.М. Лук'янової Національної академії медичних наук України». Діагноз ЮІА встановлено згідно з критеріями Всесвітньої ліги ревматологічних асоціацій (International League of Associations for Rheumatology — ILAR) (Mailhot G. et al., 2020).

Пацієнти були стратифіковані за клінічними субтипами ЮІА: з олігоартритом — 15 (45,4%) хворих, у тому числі позитивні за HLA-B27-антигеном (ЮІА ентезит-асоційований, HLA-B27-позитивний) — 8 (24,2%) та переднім увеїтом (ЮІА-увеїт) — 2 (6,0%); поліартритом — 10 (30,3%); системним — 8 (24,2%) дітей. Середня тривалість хвороби становила 4,3±3,3 року (табл. 1).

Таблиця 1
Загальна характеристика пацієнтів з ЮІА

Показник	Значення показника
Кількість пацієнтів, абсолютне число	33
Вік, роки	9 (1–17)
Тривалість хвороби, роки	(4,3±3,3)
Стать (хлопчики/дівчата)	16/17
Субтип ЮІА, абсолютне число (%):	
ЮІА-олігоартрит	15 (45,4)
ЮІА-поліартрит	10 (30,3)
ЮІА-системний	8 (24,2)
Антинуклеарний фактор (АНФ) (+), абсолютне число (%)	18 (54,5)
АНФ (–), абсолютне число (%)	15 (45,4)
HLA-B27 (+), абсолютне число (%)	8 (24,2)
HLA-B27 (–), абсолютне число (%)	25 (75,7)

У дебюті захворювання у 19 (57,5%) дітей відмічали підвищені гострофазові показники (активність II ступеня); позитивними за АНФ (+) були 18 (54,5%) дітей, у 3 (9,0%) діагностовано селективний імунodefіцит IgA. Усі діти були серонегативними за ревматоїдним фактором (РФ) та не мали антитіл до циркулюючого віментину (А-ССР).

Поряд із загальноприйнятими методами обстеження згідно з уніфікованим клінічним протоколом медичної допомоги дітям, хворим на ювенільний артрит, рекомендованим МОЗ України, всім дітям проведено оцінку вітаміну D-статусу, за показниками 25-гідроксивітаміну D (25ОНD) в сироватці крові.

Концентрацію 25ОНD визначали з використанням імунферментного набору для кількісного визначення 25-гідроксивітаміну D та інших гідроксильованих метаболітів у сироватці або плазмі на імунферментному фотоелектричному аналізаторі Рідер ER 500 № ER2J018E.

Оцінювали статус вітаміну D за останньою класифікацією, згідно з якою дефіцит вітаміну D встановлюється за концентрації 25ОНD нижче 50 нмоль/л (20 нг/мл), недостатність вітаміну D — при показниках 25ОНD між 75 нмоль/л (30 нг/мл) та 50 нмоль/л (20 нг/мл). Концентрація 25ОНD 75 нмоль/л (30 нг/мл) і вище вважалася в межах норми (Ringold S. et al., 2019) і (Endocrine Society Task Force, 2011).

У всіх пацієнтів з ЮІА проведено панельне секвенування 207 генів, що регулюють імунні функції. Виконано забір злущеного епітелію ротової порожнини у пробірку Saliva Collection Kit Oragene™ згідно з інструкцією. Високопродуктивне панельне екзомне секвенування (next generation sequencing — NGS) нового покоління, яке базується на розшифровці фрагментів молекули ДНК, проводилося на апараті Illumina's HiSeq (виробництва США) в лабораторії Invitae (США), кожна зміна нуклеотидної послідовності секвенувалася за Сегнером. Генетичні зміни перевірені та розшифровані в генетичній базі даних ExAC.

Результати, що взяті для наукового дослідження, відповідають нормам біоетики та деонтології.

Отримані цифрові дані опрацьовані статистично за допомогою комп'ютерного пакету програм Microsoft Excel. Достовірність різниць оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Різницю між порівнюваними величинами вважали достовірною при $p < 0,05$. Використовували статистичний показник відношення шансів (ВШ), який дозволяє оцінити зв'язок між певним результатом і фактором ризику та порівняти групи досліджуваних за частотою виявлення певного фактору ризику.

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час проведення секвенування генів у всіх дітей з ЮІА виявлені зміни нуклеотидної послідовності в генах, які асоціюються з порушеннями імунної регуляції, з них у 13,2% пацієнтів мутації розцінені як патогенні (IL7R, RMRP, TREX1, SP110, MUTYH, WFS1). Поліморфізм генів, які асоціюються з аутозапальними синдромами, встановлено у 63,63% дітей:

NOD2, ADA2, ELANE, MEFV, NLRP12, PSTPIP1, LPIN2 (табл. 2). При цьому, одна дитина могла мати зміни нуклеотидної послідовності в 2–3 генах цієї групи, з найбільшою частотою (75,0%) — у дітей із системним ЮІА.

У всіх дітей, у яких відмічали поліморфізм генів, асоційованих з аутозапальним синдромом, базисна хворобомодифікуюча терапія не дозволила отримати стійкої стабілізації патологічного процесу, що проявлялося в повільному його прогресуванні. Ці пацієнти мали обтяжений анамнез (аутоімунні хвороби у родичів першого споріднення, завмерлі вагітності), часті бактеріальні та/або вірусні інфекції протягом життя. У всіх дітей в дебюті хвороби констатовані бактеріальні (*Campylobacter, Citrobacter, Escherichia, Helicobacter, Pseudomonas, Staphylococcus, Yersinia*) та часті вірусні інфекції. Терапія нестероїдними протизапальними препаратами у всіх цих дітей була малоефективна, а позитивну терапевтичну відповідь отримано при посиленні протизапальної дії за рахунок глюкокортикоїдів та/або біологічної терапії.

Таблиця 2

Частота змін нуклеотидної послідовності в генах, які асоціюються з аутозапальними синдромами, при різних субтипах ЮІА

Субтипи ЮІА	Назва генів	Частота змін нуклеотидної послідовності, %
Системний, n=8	<i>NOD2, IL10RA, TREX1, DOCK8, DCLRE1B, PSTPIP1</i>	75,0
Поліартрит, n=10	<i>G6PC3, ADA2, ACP5, MEFV, RAG1, SLC29A3, ELANE, RBCK1, NLRP12</i>	50,0
Олігоартрит, n=15	<i>RTEL1, RAG1, NOD2, LPIN2, STXBP2, MEFV, RNASEH2A, STAT3, G6PC3, IL10RA, CARD14</i>	66,6

У окремих хворих виявлено зміни нуклеотидної послідовності, що на даний момент не достатньо описані в базах даних і продовжують вивчатися: ATM, RTEL1, CASP10, CARD11, JAK3, IL21R, IL10RA, STAT3, NFKB2, IRAK4, IRF8.

Зниження концентрацій вітаміну D виявлено у 31 (93,9%) дитини з ЮІА, з них у 3 — виражений дефіцит. Усі діти з олігоартритом мали знижену забезпеченість вітаміном D, проте найбільш низькі концентрації вітаміну D відмічали у дітей з поліартрикулярним (25,22±0,97) нг/мл субтипом ЮІА, $p < 0,05$ (табл. 3).

Таблиця 3

Забезпеченість вітаміном D дітей з різними субтипами ЮІА

Субтипи ЮІА	Кількість дітей зі зниженою забезпеченістю вітаміном D, абсолютне число (%)	Концентрація 25ОНD, нг/мл
Системний, n=8	4 (50,0)	28,70±3,94
Поліартрит, n=10	7 (70,0)	25,22±0,97*
Олігоартрит, n=15	15 (100,0)	27,76±1,88

* $p < 0,05$ між поліартрикулярним та системним ЮІА.

У 6 (18,1%) дітей виявлено зміни нуклеотидної послідовності у гені *NOD2*: с.2104C>T (p.Arg702Trp), с.3019dupC (p.Leu1007Profs*2), з яких у 2 дітей

з системним ЮІА та 4 — з олігоартритом. Мутації гена *NOD2* класично асоціюються з підвищеним ризиком розвитку хвороби Крона (Ringold S., 2019), аутосомно-домінантним синдромом Блау (MedGen UID: 348835). Найбільш поширені варіативні зміни *NOD2*: с.2104С>Т (р.Arg702Trp), с.2722G>С (р.Gly908Arg) та с.3019dupС (р.Leu1007Profs*2). Слід зазначити, що жоден із наших пацієнтів на момент обстеження не мав ознак запального захворювання кишечника та у всіх відмічали нормальні концентрації кальпротектину.

Поліморфізм гену *NOD2* існує у 1–3% населення, що підвищує в 2–4 рази ризик клінічної маніфестації при гетерозиготному та в 7–9 разів — при гомозиготному стані (ExAC database). Виявлення майже у 20,0% пацієнтів з ЮІА варіативних змін визначає статистично вірогідну різницю з популяційною частотою (ВШ 11,395; 95% довірчий інтервал (ДІ) 2,395–54,22).

У всіх дітей з мутаціями в гені *NOD2* встановлені знижені концентрації вітаміну D — 17,2±3,29 нг/мл, з них у 3 — дефіцит у межах 14,78–16,53 нг/мл, а у дітей без змін нуклеотидної послідовності — лише у 23 (85,1%) дітей (ВШ= 0,097; ДІ 0,030–0,307). Отримані дані свідчать, що у дітей з відсутністю змін нуклеотидної послідовності в гені *NOD2* концентрація ВД була достовірно вищою — 26,68±2,34 нг/мл, р=0,026 (табл. 4).

Таблиця 4

Концентрація вітаміну D у дітей, хворих на ЮІА, з поліморфізмом гену *NOD2*

Показник	Значення показника у дітей зі зниженим рівнем вітаміну D, n=31 (нг/мл)	ВШ	ДІ	р
Виявлена мутація в <i>NOD2</i> , n=6	17,2±3,29	22,00	2,53–190,64	0,026
Відсутність мутації в <i>NOD2</i> , n=27	26,68±2,34			

Виходячи з того, що останні дослідження пов'язують ефекти вітаміну D з антибактеріальною активністю в моноцитах, важлива особливість цього нового погляду на вітамін D та імунологію полягає у здатності моноцитарних рецепторів розпізнавати патогени (PRR) і запускати локальний метаболізм попередника вітаміну D, 25-гідроксівітаміну D (25ОНD). Синтез 1,25 (ОН)₂D достатній для стимуляції внутрішньоклітинної активації відповіді VDR і супутньої індукції вродженого імунітету. Беручи до уваги той факт, що 25ОНD є основною циркулюючою формою вітаміну D, ці спостереження продемонстрували чіткий потенційний зв'язок між статусом вітаміну D та ефективністю імунної відповіді. Активізація та передача сигналів від PRR призводить до продукції антимікробних пептидів, цитокінів та хемокінів, які поширюють сигнал до інших компонентів імунної системи. Дослідження 1,25 (ОН)₂D-регульованої експресії генів у клітинах, які відповідають за функцію вродженого імунітету, показали, що сигналізація вітаміну D функціонує сильніше (активніше) за PRR для посилення імунної відповіді, ін-

дукції експресії CD14, кофактора TLK4 PRR, а також *NOD2* (нуклеотид-зв'язуючий білок домену олігомеризації) (Mailhot G., White J.H., 2020).

У разі збільшення експресії білка *NOD2* мононуклеарні клітини підвищують синтез фактора некрозу пухлини α (tumor necrosis factor α — TNFα), IL-8 та IL-1β, а при його зниженні — зменшуються концентрації прозапальних цитокінів, NF-KB, фактор F6, асоційованого з рецептором фактора некрозу пухлини (TNF receptor-associated factor 6 — TRAF6) та ІкВ кіназою (IkB kinase — IKK), що визначає роль *NOD2* в регуляції аутоімунного процесу. Ген *VDR*, зв'язаний з вітаміном D-гормонами 1,25(ОН)₂D₃, також безпосередньо стимулює транскрипцію генів, що кодують антимікробні пептиди, кателіцидин, антимікробний пептид (CAMP/LL37) та β-дефензин 2 людини, дефенсин В₄ (HBD₂/DEFB₄) (Yazdanyar S. et al., 2009; Wang T., 2010). Сигналізація вітаміну D також бере участь у регуляції як вродженого, так і адаптивного імунітету, зменшуючи запальну відповідь дендритних клітин (Mailhot G., White J.H., 2020), що сприяє пригніченню 1,25(ОН)₂D-запальних реакцій периферійних Т-клітин та посиленню синтезу Т-регуляторних (Treg) клітин (Mailhot G. et al, 2020; Dimitrov V. et al., 2016). Загальногеномний аналіз передачі сигналів вітаміну D показав, що *VDR* регулює транскрипцію і багатьох інших генів, залучених до функціонування імунної системи, таких як *NOD2*, *Nf-kB*, *Il-1,2,6* (Urry Z. et al, 2012).

Отже, отримані дані підтверджують, що організм фізіологічно здатний до продукування 1,25(ОН)₂D локально в клітинах вродженого імунітету у відповідь на патогени, а передача сигналів вітаміну D є ключовим компонентом багатьох аспектів імунорегуляторних процесів.

ВИСНОВКИ

1. Виявлення у 18,1% пацієнтів з ЮІА варіативних змін у гені *NOD2* визначає статистично вірогідну різницю з популяційною частотою (ВШ 11,395, ДІ 2,395–54,22).

2. У всіх дітей з мутаціями в гені *NOD2* встановлені знижені концентрації вітаміну D, з них у половини — його дефіцит, що статистично достовірно порівняно з 85,1% дітей без змін нуклеотидної послідовності у цьому гені (ВШ 0,097; ДІ 0,030–0,307). У дітей з відсутністю змін нуклеотидної послідовності в гені *NOD2* концентрація 25ОНD в сироватці крові була достовірно вищою, р=0,026.

3. Проведення генетичного секвенування та виявлення нових мутацій у генах, які асоціюються з порушенням функцій вродженого імунітету, дозволяє розширити уявлення про патогенетичні особливості ЮІА і його клінічних варіантів субтипів. Продовження дослідження, яке включатиме нові дані генетичного скринінгу потенційно може продемонструвати зв'язок між змінами в геномах при ЮІА із впливом поліморфізмів рецептора вітаміну D та уточнити механізми зв'язку між вітаміном D та функціональним станом імунних клітин. Постають нові питання щодо впливу гена *VDR*, його генотипів і алелів ризику на процеси диференціації імунних клітин і їх ролі при різних клінічних формах ЮІА.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Плехова Н.Г., Каблуков Д.А. (2018) Полиморфизм гена рецептора витамина D и регулирующие гормоны минерального обмена в оценке состояния костной системы у подростков приморского края. Современные проблемы науки и образования, 4, 616.71–007.1–053(571.63).
2. Arakelyan A., Nersisyan L., Poghosyan D. et al. (2017) Autoimmunity and autoinflammation: A systems view on signaling pathway dysregulation profiles. PLoS One. 3;12(11):e0187572.
3. American College of Rheumatology, Arthritis Care & Research (2019) 703–716.
4. Ciccarelli F., De Martinis M., Ginaldi L. (2014) An update on autoinflammatory diseases. Curr Med Chem., 21(3): 261–9.
5. Consensus vitamin D position statement, online: http://www.sunsmart.org.uk/prod_consump/groups/cr_common/@nre/@sun/documents/generalcontent/cr_052628.pdf.
6. Dimitrov V., White J.H. (2016) Species-specific regulation of innate immunity by vitamin D signaling. J. Steroid Biochem Mol. Biol., 164: 246–253.
7. Endocrine Society Task Force (2011) Evolution, treatment, and prevention of vitamin D deficiency, online: <http://www.endo-society.org/guidelines/final/upload/final-standalone-vitamin-dguideline.pdf>.
8. ExAC database. https://gnomad.broadinstitute.org/variant/16-50745926-C-T?dataset=gnomad_r2_1.
9. Frisell T., Saevarsdottir S., Askling J. (2016) Family history of rheumatoid arthritis: an old concept with new developments. Nat Rev Rheumatol, 12(6): 335–e43.
10. Hollenbach J.A., Teodorica L., Bugawan M.S. (2010) Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interaction and age of onset effects. Arthritis Rheum., 62(6): 1781–1791.
11. McAllister K., Eyre S., Orozco G. (2011): Genetics of rheumatoid arthritis: GWAS and beyond Open Access Rheumatol, 3: 31–46.
12. Mailhot G., White J.H. (2020) Vitamin D and Immunity in Infants and Children. Nutrients, 12(5): 1233.
13. Ming L., Bruce V.T., Körner H. (2018) Genomic Effects of the Vitamin D Receptor: Potentially the Link between Vitamin D, Immune Cells, and Multiple Sclerosis, 9: 477.
14. Ringold S., Sheila T., Han A., Beukelman T. (2019) American College of Rheumatology/Arthritis Foundation: Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis, Arthritis Care Res (Hoboken), 71(6): 717–734.
15. Urry Z., Chambers E.S., Xystrakis E. et al. (2012) The role of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines in the promotion of distinct Foxp3+ and IL-10+CD4+ T cells. Eur. J. Immunol., 42: 2697–2708.
16. Wang T.-T., Dabbas B., Laperriere D. et al. (2010) Direct and Indirect Induction by 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 of the NOD2/CARD15-Defensin β 2 Innate Immune Pathway Defective in Crohn Disease. J. Biol. Chem., 285: 2227–2231.
17. Yazdanyar S., Weischer M., Nordestgaard B.G. (2009) Genotyping for NOD2 genetic variants and crohn disease: a metaanalysis. Clin Chem., 55(11): 1950–7.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ
ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА
И ОСОБЕННОСТИ ВИТАМИН D-СТАТУСА
ПРИ ЮВЕНИЛЬНОМ ИДИОПАТИЧЕСКОМ
АРТРИТЕ**

**Муквич Е.Н., Омельченко Л.И.,
Мацкевич А.Н.**

ГУ «Институт педиатрии, акушерства
и гинекологии им. акад. Лукьяновой Е.М.
НАМН Украины», Киев

Резюме. Цель. Изучить взаимозависимость изменений нуклеотидной последовательности

в генах врожденного иммунитета и уровня обеспеченности организма витамином D при идиопатическом артрите у детей. **Объекты и методы.** Обследованы 33 ребенка с диагнозом ювенильного идиопатического артрита (ЮИА) в возрасте от 1 до 17 лет. Концентрацию 25OHD в сыворотке крови определяли на иммуноферментном фотоэлектрическом анализаторе Ридер ER 500 № ER2J018E. Высокопроизводительное панельное экзомное секвенирование (NGS) проводилось на аппарате Illumina's HiSeq (США). **Результаты.** Изменения нуклеотидной последовательности в генах, которые ассоциируются с аутовоспалительными синдромами, выявлены у 26,4% пациентов с ЮИА: NOD2, ADA2, ELANE, MEFV, NLRP12, PSTPIP1, LPIN2. Вариативные изменения в гене NOD2 определены у 18,1% детей, что определяет статистически достоверную разницу с популяционной частотой (отношение шансов 11,395; 95% доверительный интервал 2,395–54,22). У всех детей с мутациями в гене NOD2 выявлены сниженные концентрации витамина D, статистически достоверно у детей без изменений нуклеотидной последовательности в этом гене (отношение шансов 0,097; 95% доверительный интервал 0,030–0,307). У детей с отсутствием изменений нуклеотидной последовательности в гене NOD2 концентрация 25OHD в сыворотке крови была достоверно выше, $p = 0,026$. **Выводы.** Установлено, что у детей с наличием изменений нуклеотидной последовательности в гене NOD2, отмечают достоверно более низкие концентрации витамина D в сыворотке крови по сравнению с детьми, которые не имели подобных вариативных изменений.

Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит, полиморфизм генов, витамин D, дети.

**POLYMORPHISM OF INNATE
IMMUNITY GENES AND FEATURES
OF VITAMIN D-STATUS IN JUVENILE
IDIOPATHIC ARTHRITIS**

**Mukvich E.N., Omelchenko L.I.,
Matskevich A.N.**

State Institution «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician Lukyanova E.M. NAMS of Ukraine», Kyiv

Abstract. Purpose. To study the interdependence of changes in the nucleotide sequence in genes of innate immunity with the level of the body's supply of vitamin D in idiopathic arthritis in children. **Objects and methods.** Examined 33 children with a diagnosis of JIA at the age from 1 to 17 years. The concentration of 25OHD in the blood serum was determined using an enzyme-linked immunosorbent photoelectric analyzer Reeder ER 500 No. ER-2J018E. Next generation panel sequencing (NGS) was performed on an Illumina's HiSeq apparatus

(USA). **Results.** Changes in the nucleotide sequence in genes associated with autoinflammatory syndromes were found in 26.4% of patients with JIA: NOD2, ADA2, ELANE, MEFV, NLRP12, PSTPIP1, LPIN2. Variable changes in the NOD2 gene were identified in 18.1% of children, which determines a statistically significant difference with the population frequency [OR = 11.395, CI (2.395–54.22)]. All children with mutations in the NOD2 gene have lowered concentrations of vitamin D, statistically significant in children without changes in the nucleotide sequence in this gene [OR = 0.097; SI (0.030–0.307)]. In children with no changes in the nucleotide sequence in the NOD2 gene, the serum 25OHD concentration was significantly high-

er, $p = 0.026$. **Findings.** It was found that children with changes in the nucleotide sequence in the NOD2 gene have significantly lower concentrations of vitamin D in the blood serum compared to children who did not have such variable changes.

Key words: juvenile idiopathic arthritis, gene polymorphism, vitamin D, children.

Адреса для листування:

Муквіч Олена Миколаївна
Київ, вул. П. Майбороди, 8
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології ім. академіка О.М. Лук'янової НАМН України»

РЕФЕРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

Системний васкуліт: перспективи лікування

Підготувала Ю.В. Жарікова

Актуальність. Термін «системний васкуліт» об'єднує гетерогенну групу захворювань із реактивним запаленням судинної стінки, яке викликає імплантація в судинну стінку імунних комплексів, що містять гранулярні нейтрофіли та моноцити. Неспецифічне запалення, що виникає у результаті, спричиняє пошкодження судинної стінки та послідовно призводить до ішемії та/або некрозу тканин, які живляться від ураженої судини. Патогенез захворювання не вивчений. Однак у сучасних поглядах на механізм формування системного васкуліту увага приділяється інфекційно-або неінфекційно-індукованій альтернативній активації каскаду комплементу з послідовним розпадом білка C5 на фрагменти. Клінічний перебіг системного васкуліту відображає прогресуючу руйнацію судинної стінки внаслідок тривалого запалення, а симптоми васкуліту залежать від калібру вражених судин. Медичне значення проблеми полягає у наявності ознак АНЦА-васкуліту у 90% пацієнтів із гломерулонефритом, у 80% пацієнтів із хворобою Вегенера та у 40% пацієнтів з еозинофільним гранулематозним поліангітисом, який асоціюється з назальним поліпозом, алергічним риносинуситом та пізнім дебютом гормонозалежної форми бронхіальної астми. Традиційне лікування АНЦА-васкуліту полягає в застосуванні комбінації імуносупресивних препаратів із глюкокортикостероїдами (ГКС) [2]. Одним із клінічно значущих побічних ефектів тривалого застосування ГКС є підвищення ризику інфекційно ускладненого перебігу аутоімунних захворювань. У результаті пошуку фармакологічного рішення проблеми винайдено пероральний низькомолекулярний препарат авакопан, механізм дії якого полягає в селективному блокуванні рецептора-1 білка C5a системи комплементу (C5aR). Відсутність впливу на рецептори білка C5b потенційно означає повноцінне функціонування захисного MAC, яке виявляється у клінічно значущому зниженні частоти менінгіту, викликаного інкапсульованими бактеріями [3]. Лікувальну ефективність та безпеку авакопану досліджували фахівці з Лікарні Адденбрука на чолі з Девідом Джейном (Jaune D.) (м. Кембрідж, Велика Британія). Результати опубліковані в «New England Journal of Medicine» (Медичний часопис Нової Англії).

Результати дослідження. До рандомізованого дослідження було залучено 331 пацієнта з клініко-лабораторним симптомокомплексом АНЦА-васкуліту. Серед учасників переважали чоловіки, середній вік — 61 рік. Усі пацієнти отримували індуковане лікування відповідно до актуальних клінічних настанов, при цьому дози ГКС в обох групах були однаковими. Додатково учасники інтервенційної групи (166 пацієнтів) застосовували авакопан. Отримано такі результати. Наприкінці 52-го тижня дослідження показники оцінки клінічної активності васкуліту за індексом BVAS в обох групах становили 16 балів. Клінічна ремісія отримана у 72,3% пацієнтів інтервенційної групи, та у 70,1% — групи преднізолону (95% довірчий інтервал (ДІ) $-0,6...-12,8$, $p < 0,001$ для нижчої межі неефективності та $p = 0,24$ — для вищої межі ефективності). Стабільну ремісію захворювання на 52-й тиждень дослідження спостерігали у 65,7% пацієнтів інтервенційної групи та у 54,9% — групи преднізолону (95% ДІ 2,6–22,3, $p < 0,001$ для нижчої межі неефективності та $p = 0,007$ — для вищої межі ефективності). В інтервенційній групі порівняно з групою преднізолону виявлено покращення ширкової функції, опосередковане зростанням швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). На 26-му тижні ШКФ становила відповідно 5,8 мл/хв/1,73 м² проти 2,8 мл/хв/1,73 м², а на 52-му тижні — відповідно 7,8 мл/хв/1,73 м² та 4 мл/хв/1,73 м² ($p = 0,0259$). За винятком погіршення перебігу васкуліту, загалом небажані серйозні явища виникали у 37,3% пацієнтів інтервенційної групи та у 39% — групи преднізолону. Зниження глюкокортикоїдної токсичності відповідно до індексу токсичності ГКС відзначено в інтервенційній групі за показником кумулятивного погіршення, який становив 39,7% проти 56,6% у групі преднізолону ($p = 0,0002$), та показником сукупного покращення, який становив 11,2% — в інтервенційній групі проти 23,4% — у групі преднізолону ($p = 0,0082$).

Таким чином, з огляду на статистичну достовірність отриманих результатів, дослідники вважають, що авакопан не менш ефективний за ГКС, а за стійкістю ремісії вповодж 6 міс — перевершив ГКС.