

# ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ГОМОЦИСТЕЇНУ ТА С677Т ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА 5,10-МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРО-ФОЛАТРЕДУКТАЗИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЮВЕНІЛЬНИЙ РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

**І. В. Романкевич**

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

**Мета:** визначення рівня гомоцистеїну (ГЦ) у сироватці крові, поліморфізму гена МТГФР у дітей, хворих на ЮРА, як факторів ризику ендотеліальної дисфункції, та зв'язку їх з клінічною картиною захворювання.

**Пацієнти і методи.** Було обстежено 27 дітей, хворих на ЮРА, які проходили лікування в кардіоревматологічному відділенні у 2011–2012 рр., з них 12 (44%) хлопчиків і 15 (56%) дівчаток. Переважно суглобова форма спостерігалась у 24 (89%), суглобово-вісцеральна — у 3 (11%), моноартрит — у 2 (8%), олігоартрит — у 10 (37%), поліартрит — у 14 (55%) хворих. 21 (77,8%) хвора дитина отримувала метотрексат в середній дозі 17,5 мг/м<sup>2</sup>. Середня тривалість прийому препарату склала 3,7±1,2 року. Прийом метотрексату обов'язково супроводжувався прийомом 1 мг фолієвої кислоти. У зв'язку з високою активністю процесу пацієнти додатково отримували преднізолон (10 дітей) в середній дозі 1 мг/кг маси тіла. Середня тривалість захворювання склала 3,8±2,66 року. Групу контролю склали 18 здорових дітей, порівнянних за віком і статтю.

**Результати.** Середній рівень загального ГЦ у сироватці крові дітей з ЮРА склав 13,5±4,66 ммоль/л у порівнянні із 11,53±2,47 ммоль/л у здорових дітей (p=0,01). Виявлено підвищення ГЦ при поліартриті та олігоартриті, високій активності запального процесу та при системному перебігу захворювання. Гіпергомоцистеїнемія була виявлена у 5 (18,5%) дітей. В групі дітей, які отримували метотрексат, ГЦ становив у середньому 14,83±4,55 ммоль/л проти 8,16±1,66 ммоль/л у дітей, в схемі лікування яких цей препарат не включався (p=0,09). Варіант МНП С677С МТГФР спостерігався у 32%, МНТ С677Т — 68% дітей, не було виявлено Т677Т монозигот. С677Т-генотип переважав у дітей з поліартритом, високою активністю та в усіх випадках системного перебігу ЮРА.

**Висновки.** Виявлено достовірне підвищення ГЦ в крові дітей з ЮРА порівняно із показниками здорових дітей, рівень якого підвищується внаслідок застосування метотрексату. У дітей, хворих на ЮРА, алель С677Т зустрічається частіше (68%), ніж у загальній популяції (30–40%), а також асоціюється з розвитком поліартриту.

**Ключові слова:** ЮРА, гомоцистеїн, метилентетрагідрофолатредуктаза, ендотеліальна дисфункція.

## Вступ

Ювенільний ревматоїдний артрит (ЮРА) — одне з найпоширеніших ревматологічних захворювань дитячого віку, яке характеризується розвитком хронічного аутоімунного запалення з ураженням суглобів та внутрішніх органів.

Серцево-судинна патологія зустрічається значно частіше у хворих з ревматоїдним артритом порівняно із загальною популяцією і є провідною причиною смерті, тому вивчення ранніх ознак судинного ураження є надзвичайно важливим моментом в наданні медичної допомоги даній категорії пацієнтів [30]. Актуальним є виявлення ознак ендотеліальної дисфункції у хворих з РА та ЮРА на ранніх стадіях захворювання і в молодому віці з метою ранніх профілактичних заходів щодо розвитку судинних уражень. Загально визнаним є те, що ендотеліальна дисфункція — це початковий етап розвитку атеросклерозу [17].

Однією з причин виникнення ендотеліальної дисфункції є підвищення рівня гомоцистеїну (ГЦ) у хворих на ЮРА дітей [24].

Гомоцистеїн — сірковмісна амінокислота, яка є гомологом цистеїну. В реакціях перетворення ГЦ активну участь беруть фолієва кислота, вітаміни В6 та В12 [8]. Близько 1% ГЦ знаходиться в крові у вільному стані, 70% зв'язується з альбуміном, 25–30% утворює дисульфіді (гомоцистеїн-цистеїну та гомоцистеїн-гомоцистеїну (гомоцистину)) [4,5].

Першими можливий патологічний зв'язок розвитку серцево-судинної патології з ГЦ описали Carson і Neil у 1962 р. у дітей з гомоцистеїнуриєю. S. Mudd, T. Gerristen і H. Waismann назвали в 1964 р. ГЦ як одну з можливих причин розвитку раннього атеросклерозу та тромбоемболій. У 1969 р.

вперше після узагальнення наукових даних того часу була сформульована гомоцистеїнова теорія атеросклерозу.

Великою кількістю наукових та клінічних досліджень гіпергомоцистеїнемія визнана сильним незалежним фактором серцево-судинної патології [4,13,34].

Граничним рівнем ГЦ у крові здорових людей є 10 мкмоль/л. Підвищенню рівня амінокислоти сприяють паління, вживання великої кількості кави, алкоголю, жирна та м'ясна їжа. Патологічний вплив на організм здійснює не лише гіпергомоцистеїнемія. Підвищення рівня ГЦ на 5 мкмоль/л збільшує ризик розвитку ішемічної хвороби серця в 1,7 разу, судинних мозкових захворювань — у 1,5 разу та ураження периферичних судин — у 6,8 разу [1].

Основним пошкоджуючим механізмом ГЦ є пероксид водню, який утворюється внаслідок реакцій окислення ГЦ в гомоцистин [29]. Серед впливів ГЦ на судинну стінку можна виділити наступні: прямий пошкоджуючий вплив на ендотелій судини, зменшення утворення NO, простагліну, еластичності судинної стінки, оксидативний стрес, дисліпідемія, гіперкоагуляція, стимуляція проліферації гладком'язових клітин, підтримання запального процесу в судинній стінці, підвищення вмісту асиметричного диметиларгініну [3,20,22]. Через присутність SH-груп під час аутоокислення ГЦ утворюється велика кількість окислених ліпідів, які пошкоджують клітинні мембрани, модифікують ЛПНП, активують PAR4-рецептори, що сприяє ще більшому накопиченню реактивних форм кисню [4].

При мікроскопічному дослідженні судинної стінки у хворих з підвищеним рівнем ГЦ виявляють фіброз, проліферацію сполучної тканини, потовщення, розшарування, розриви та дезорганізацію еластичної мембрани, появу пінистих клітин [29].

Рівень ГЦ прямо корелює з рівнем ICAM-1 та тромбомодуліном — визнаними прозапальними маркерами активації ендотеліоцитів [18].

Виникненню підвищення ГЦ у хворих на РА та ЮРА можуть сприяти ряд факторів: спадкова гіпергомоцистеїнурія; недостатнє надходження вітамінів групи В в організм або порушення їх всмоктування; використання в терапії метотрексату або інших препаратів з антифолатною активністю (сульфаніламідні препарати, сульфасалазин); порушення обміну ГЦ внаслідок зниження активності ферменту 5,10-метилентетрагідрофолатредуктази (МТГФР).

Гомоцистеїнурія — спадкове захворювання, яке розвивається внаслідок недостатності ферменту цистадіон-β-синтетази і проявляється затримкою розумового розвитку, судомами, порушеннями зору, розвитком судинних уражень і тромбозів у дитячому віці. Захворювання належить до рідкісних, частота спадкової гомоцистеїнурії становить 1:200 000 в загальній популяції. Рівень ГЦ досягає до 100 ммоль/л, і пацієнти, як правило, не доживають до 30 років [34].

При гіповітамінозі вітамінів групи В, особливо фолієвої кислоти, в організмі спостерігається підвищення ГЦ.

Групою ризику щодо розвитку гіповітамінозу вітаміну В<sub>9</sub> становлять люди старшого віку, внаслідок сповільнення обміну речовин та реакцій метилювання, а також через гіповітаміноз вітамінів групи В, що розвивається внаслідок атрофічних змін слизової оболонки та зменшення їх всмоктування, синдром мальабсорбції, дисбіоз. Останні перелічені патологічні механізми можуть реалізуватись і у дитячому віці. Не виключене зменшення поступлення вітамінів з їжею.

Наступним фактором, що підвищує рівень ГЦ, є метотрексат, який є «золотим стандартом» для лікування ЮРА. Хоча дія метотрексату на МТГФР є непрямом, поліглутамат метотрексату знижує вміст тетрагідрофолату в клітині. Беручи до уваги вищезазначений шлях виникнення недостатності вітаміну В<sub>9</sub>, для профілактики його дефіциту хворі з РА та ЮРА отримують фолієву кислоту.

З розвитком гіпергомоцистеїнемії частково пов'язана токсичність метотрексату [16].

Фермент 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза (МТГФР) поряд з тимідилаксинтазою, метіонінсинтазою та метіонінсинтазредуктазою відповідають в людському організмі за обмін фолієвої кислоти і фолатів, відіграючи при цьому ключову роль [12,16,30] та є провідним в обміні ГЦ [2]. МТГФР відповідає за перенос метильних груп, незворотне утворення 5,10-метилентетрагідрофолату (первинний донор металних груп) в 5-тетрагідрофолат (активна форма вітаміну В<sub>9</sub>), синтез пурину та тимідину, перетворення гомоцистеїну (ГЦ) в метіонін, який бере участь у синтезі нуклеїнових кислот [12].

Рядом досліджень описано зв'язок мононуклеотидного поліморфізму (МНП) гена 5,10-метилентетрагідрофолатредуктази (МТГФР) з розвитком серцево-судинної патології (атеросклероз, інфаркт міокарда, інсульт, артеріотромбози), інсулінорезистентністю, невиношуванням та ускладненнями вагітності, онкологічними захворюваннями, іхтіозом, шизофренією, псоріазом [9,10].

Поряд з генами NO-синтази, ангіотензинперетворюючого ферменту, глутатіон-S-трансферази, НАДН/НАДФН-оксидази, ген МТГФР належить до генів ендотеліальної функції [7]. Ген МТГФР знаходиться в локусі р36.3 короткого плеча 1 хромосоми.

В літературі описано 15 варіантів поліморфізму та 34 мутації гена МТГФР [12,21]. Добре відомий вплив

двох варіантів мононуклеотидного поліморфізму МНП С667Т (заміна цитозину на тимін в 677 позиції) та А1298С (аденозин на місці цитозину в 1298 позиції) на активність ферменту. Варіант С667Т знижує активність МТГФР на 30–60%, а Т677Т призводить до майже повного зниження активності ферменту внаслідок збільшення його термолабільності. Самостійний МНП А1298С не має великого значення, але в поєднанні з С667Т та Т667Т призводить до різкого зниження (90%) активності ферменту [12]. Стан гіпометилювання, який при цьому виникає, може призводити до порушень синтезу ДНК, порушення мітозу та поділу клітин і підвищення рівня ГЦ [10].

Підвищення рівня ГЦ та розвиток гіпергомоцистеїнемії асоціюється у осіб з С667Т/ТТ типами поліморфізму порівняно з людьми, у яких присутній С667Т тип МТГФР [6,16]. Вказані варіанти МНП, через зменшення утворення метилентетрагідрофолату, призводять до порушення перетворення ГЦ в метіонін та збільшення його рівня в крові [6].

Також присутній зв'язок С667Т/ТТ типів МТГФР з розвитком токсичних реакцій при лікуванні метотрексатом [11,33], тромботичних ускладнень [6] та ефективністю лікування [30].

В проведених раніше дослідженнях деякими авторами не виявлено зв'язку варіантів С677Т/ТТ МТГФР з клінічними особливостями РА (рівнями ШОЕ, СРП, індексом DAS28, серопозитивністю, тривалістю захворювання та лікування, дозою і ефективністю Метотрексату), статтю [16].

З іншого боку, кількість гетерозигот С677Т та гомозигот Т677Т у загальній популяції складає близько 43% та 10% відповідно. Поширеність патологічних варіантів збільшується у певних категорій хворих, таких як пацієнти з інсультом, інфарктом, тромбозами [34]. Відповідно не в усіх людей зі зниженою активністю ферменту підвищується рівень ГЦ.

Зменшення кількості активних фолатів, внаслідок використання метотрексату у поєднанні з різними варіантами поліморфізму гена ферменту МТГФР створює умови для виникнення підвищення рівня ГЦ у хворих з ЮРА та РА [24,26].

Частиною науковців була виявлена залежність рівня ГЦ з функціональною недостатністю, показником ШОЕ та високим показником НАQ-S у хворих з анкілозуючим спондилоартритом [15], показником СРП та ШОЕ при РА [14].

У літературі є поодинокі дані про дослідження рівня ГЦ та поліморфізму МТГФР дітей, хворих на ЮРА, але часто вони містять суперечливі дані. Так, М. Huemer, С. Huemer, Н. Ulmer et al. при обстеженні дітей з ідіопатичним ювенільним артритом (ЮІА) не виявили підвищення рівня ГЦ у хворих дітей порівняно із здоровими, що автори пов'язали з високим показником фолієвої кислоти в крові та сприятливим розподілом варіантів генів метіонінсинтази, метіонінредуктази, метилентетрагідрофолатредуктази за МНП (2005) [20]. Проте жодна дитина з артритом не отримувала метотрексат. С.М. Summers, А.С. Cucchiara et al. також не знайшли відмінностей у розподілі гена МТГФР у хворих з РА та здорових людей (2008) [28]. Н. Schmeling, D. Biber et al. під час обстеження 58 дітей з ЮІА, які отримували метотрексат, виявили гіпергомоцистеїнемію у 3 дітей, яка не асоціювалася з певним генотипом МТГФР, але при С677Т/ТТ варіантах частіше спостерігались побічні ефекти на лікування (2005) [27]. В іншому дослідженні автори вказали на відсутність впливу доз метотрексату та фолієвої кислоти (1 мг/д) на ступінь підвищення ГЦ [19].

**Розподіл МНП-варіантів гена МТГФР у дітей, хворих на ЮРА, залежно від статі, форми та активності захворювання**

Показник	Хл.	Д.	Полі артрит	Оліго артрит	Моно артрит	ПСФ	СВФ	I ст.	II ст.	III ст.
С677С,%	40	26,7	14,3	44,4	100	40	-	35,7	25	-
С677Т,%	60	73,3	85,7	55,6	-	60	100	64,7	75	100

Примітка: хл. – хлопчики, д. – дівчатка, I ст. – перший ступінь активності, II ст. – другий ступінь активності, III ст. – третій ступінь активності запального процесу; ПСФ – переважно суглобова форма, СВФ – суглобово-вісцеральна форма.

У дослідженні M. Urban et al. рівень ГЦ у дітей з ЮРА був на рівні 8,2 ммоль/л порівняно з 6,05 ммоль/л у здорових дітей, вищі показники реєструвалися у дітей з поліартритом – 8,58 ммоль/л проти 7,88 ммоль/л при олігоартриті [31].

Беручи до уваги неоднозначність та невелику кількість результатів обстеження дітей з ЮРА, метою нашого дослідження було визначення рівня ГЦ у сироватці крові, поліморфізму гена МТГФР у дітей, хворих на ЮРА, як факторів ризику ендотеліальної дисфункції та зв'язок їх з клінічною картиною.

### Матеріал і методи дослідження

Було обстежено 27 дітей, які проходили лікування в кардіоревматологічному відділенні МДКЛ №1 м. Києва та Обласної дитячої лікарні (м. Боярка) у 2011–2012 рр., з них 12 (44%) хлопчиків і 15 (56%) дівчаток. Переважно суглобова форма спостерігалась у 24 (89%), суглобово-вісцеральна – у 3 (11%), моноартрит – у 2 (8%), олігоартрит – у 10 (37%), поліартрит – у 14 (55%) хворих. Найвищий ступінь активності був у 4 (14,8%), середній – у 9 (33%), мінімальний – у 14 (52,2%) пацієнтів. Ревматоїдний фактор був від'ємним у всіх дітей, за винятком однієї пацієнтки. Середня тривалість захворювання склала 3,8±2,66 року. Основними скаргами були болі, припухлість, обмеження рухів у колінних, гомілково-стопних суглобах, дрібних суглобах кистей то стоп, підвищення температури тіла, швидка втомлюваність. Під час огляду відмічались припухлість, підвищення термоактивності в ділянці уражених суглобів, обмеження амплітуди та болочистість при активних та пасивних рухах.

Групу контролю склали 18 здорових дітей, порівнянних за віком і статтю.

Відповідно до сучасних рекомендацій з лікування ЮРА, 21 (77,8%) хвора дитина отримувала метотрексат в середній дозі 17,5 мг/м<sup>2</sup>. Середня тривалість прийому препарату склала 3,7±1,2 року. Прийом метотрексату обов'язково супроводжувався прийомом 1 мг фолієвої кислоти. У зв'язку з високою активністю процесу, пацієнти додатково отримували преднізолон (10 дітей) в середній дозі 1 мг/кг маси тіла з поступовою відміною препарату. 2 дітей (8%) з важким та швидкопрогресуючим перебігом отримували терапію глюкокортикостероїдами, дипроспан – 2 (8%) хворих, НПЗЗ (диклофенак, ібупрофен, німесулід) – 18 (72%) дітей. Ремісії було досягнуто у 2 дітей.

Визначення рівня загального L-ГЦ у сироватці крові проводили за допомогою діагностичного набору для ІФА виробництва «Axis-Shield» (Великобританія) із забором крові вранці натще. Напередодні у хворих обмежувалась фізична активність, прийом м'ясної їжі. Гіпергомоцистеїнемія діагностувалась при підвищенні рівня ГЦ більше 15 ммоль/л. Генетичний аналіз проводили в Референс-центрі з молекулярної діагностики МОЗ України за допомогою методу ПЛР.

З метою статистичної обробки отриманих даних було використано  $\chi^2$  критерій Пірсона, двобічний критерій Фішера з додатковим визначенням співвідношення шансів.

### Результати дослідження та їх обговорення

Середній рівень загального ГЦ у сироватці крові склав 13,5±4,66 ммоль/л у дітей з ЮРА проти 11,53±2,47 ммоль/л у здорових дітей (p=0,01). Детальний аналіз особливостей клінічного перебігу встановив, що рівень ГЦ при поліартриті був у середньому 13,9±2,11 ммоль/л, олігоартриті – 11,58±7,7 ммоль/л, моноартриті – 10,7±3,5 ммоль/л. У хворих із системним перебігом захворювання не відмічалось достовірного підвищення ГЦ порівняно з хворими, в яких була переважно суглобова форма, – 16±3,39 ммоль/л проти 13,15±4,79 ммоль/л відповідно. Гіпергомоцистеїнемія була виявлена у 5 (18,5%) дітей, з них у 3 дівчаток з переважно суглобовою формою захворювання та у 2 хлопчиків, в одного з яких спостерігалась суглобово-вісцеральна форма захворювання. У дітей з різними ступенями активності процесу рівні ГЦ були: 10,27±3,23 ммоль/л при I ст., 14,56±1,17 ммоль/л при II ст. (p=0,039) та 16,73±2,8 ммоль/л при III ст. Не відмічалось гендерної статистичної відмінності між рівнями ГЦ. Так, у дівчаток його рівень був 14,6±4,98 ммоль/л, у хлопців – 12,18±4,21 ммоль/л.

Після аналізу можливого ятрогенного підвищення ГЦ було виявлено, що у хворих на ЮРА, які в процесі лікування отримували метотрексат, рівень ГЦ в середньому був на рівні 14,83±4,55 ммоль/л проти 8,16±1,66 ммоль/л у дітей, які даний препарат не отримували. Це свідчить про виникнення умов для розвитку ендотеліальної дисфункції з подальшим пошкодженням судин у хворих з ЮРА.

Результати генетичного дослідження показали присутність варіанту С677С МТГФР у 32% та МНТ С677Т у 68% хворих дітей. В нашому дослідженні не було виявлено Т677Т монозигот. Частота МНП С677Т у дітей з ЮРА була вищою, ніж загалом у популяції, в якій С677С спостерігається з частотою 50–55%, С677Т 30–40%, Т677Т 10–13% людей. Аallel С677Т домінував як у хлопчиків (60%), так і у дівчаток (73,3%) (табл.).

При детальному вивченні розподілу двох варіантів МНП гетерозиготний аallel С677Т виявлено у 12 дітей з поліартритом (85,7%) ( $\chi^2=4,59$ , p=0,0322; OR=7,2, 95% CI:1,07–48,64). Окрім того ризик розвитку поліартрити у хворих дітей-носіїв С677Т аallelю підвищується у 7,2 разу, в той час як генотип С677С має проєктивний характер (OR=0,14, 95% CI:0,02–0,94). При олігоартриті вони спостерігались з майже однаковою частотою: С667Т у 5 (55,6%) дітей проти 4 (44,4%) С677С. Як видно з таблиці, в усіх випадках суглобово-вісцеральної форми ЮРА спостерігався лише С677Т-генотип, тоді як при моноартриті було виявлено лише варіант С667С. Порівняння

розподілу алелей за ступенем активності захворювання показало, що при всіх ступенях активності переважав С677Т МНП, а саме І ст. активності у 9 (64,3%) дітей, ІІ ст. у 6 (75%), а при ІІІ ст. варіант С677С взагалі не виявлявся. Гомозиготи при І ст. активності склали 5 (35,7%) С677С, при ІІ ст. активності 2 (25%) хворих.

Також цікаві результати аналізу рівня ГЦ при різних МНП. Так, не було виявлено достовірної різниці рівнів ГЦ при різних генотипах. При С677С він був в середньому  $12,01 \pm 3,62$  ммоль/л проти  $13 \pm 4,3$  ммоль/л при С677Т.

Особливості розподілу МНП у дітей, хворих на ЮРА, вказують на зв'язок з особливостями клінічної картини та перебігу захворювання.

### Висновки

1. У хворих на ЮРА виявлено достовірне підвищення гомоцистеїну в крові порівняно із показниками здорових дітей.

2. У дітей, хворих на ЮРА, алель С677Т зустрічається частіше (68%), ніж у загальній популяції (30–40%), а також асоціюється з розвитком поліартриту.

### ЛІТЕРАТУРА

- Галютіна О. Ю. Рівень гомоцистеїну в крові хворих на ревматоїдний артрит: зв'язок з факторами ризику ІХС та перебігом захворювання / О. Ю. Галютіна, М. А. Станіславчук // Укр. ревматологіч. журн. — 2007. — № 4 (30). — С. 69–73.
- Вплив поліморфізму С677Т гена МТНFR на фолатний статус та рівень гомоцистеїну в сироватці крові у дітей з когнітивними розладами / Горовенко Н. Г., Ольхович Н. В., Россоха З. І. [та ін.] // Актуальні питання акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики : зб. наук. пр. — 2010. — Вип. 19. — С. 61–70.
- Мурашко Н. К. Гипергомоцистеинемия как фактор риска сосудистых событий / Н. К. Мурашко, П. П. Кравчун // Здоров'я України. — 2009. — № 6. — С. 66–67.
- Свінціцький І. А. Гомоцистеїн як один з ключових етіопатогенетичних чинників ризику розвитку ішемічної хвороби серця / І. А. Свінціцький, О. А. Лаврик // Укр. наук.-мед. молодіжн. журн. — 2009 — № 1. — С. 42–47.
- Вплив Нейровітану на рівень генетично обумовленої гіпергомоцистеїнемії, ліпідів крові та ендогенної інтоксикації при ішемічному інсульті / Шевага В. М., Білобрин М. С., Кульматицький А. В., Орлинська Х. М. // Міжнар. неврологіч. журн. — 2008. — № 6 (22). — С. 28–33.
- Шевчук С. В. Зв'язок мутації С677Т в гені 5,10-метилентетрагідрофолатредуктази у хворих на системний червоний вовчак з гіпергомоцистеїнемією, антифосфоліпідним синдромом і тромботичними ускладненнями / С. В. Шевчук, О. О. Пентюк // Укр. ревматологіч. журн. — 2008. — № 2 (32). — С. 53–56.
- Молекулярно-генетический полиморфизм маркеров генов, ответственных за функционирование эндотелиальной системы в связи с осложненным протеканием беременности / Спиридонова М. Г., Трифонова Е. А., Фадюшина С. В. [та ін.] // Мед. генетика. — 2007. — Т. 6, № 7. — С. 38–42.
- Наследственно обусловленная гипергомоцистеинемия в патогенезе ишемического инсульта у лиц молодого возраста / Суслина З. А., Зорилова И. В., Иллариошкин С. Н., Кистенев Б. А. // Міжнар. неврологіч. журн. — 2006. — № 2 (6). — С. 25–31.
- Полиморфизм С677Т гена МТНFR у больных псориазом / Федота А. М., Рыжко П. П., Рощенко Л. В. [и др.] // Вісн. Харківського нац. ун-ту імені В.Н. Каразіна. — 2010. — Вип. 12, № 920. — С. 37–41.
- Полиморфизм С677Т гена МТНFR у больных с ихтиозом / Федота А. М., Солодянкин А. С., Рыжко П. П. [и др.] // Вісн. проблем біології та медицини. — 2011. — Вип. 2, Т. 1. — С. 78–81.
- Becker M. L. Developmental Pharmacogenetics in Pediatric Rheumatology: Utilizing a New Paradigm to Effectively Treat Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis with Methotrexate / M. L. Becker, J. S. Leeder // Hum Genomics Proteomics — 2010 — Vol. 2, № 1. — P. 2571–2080.
- Clinical Pharmacogenetics of Methotrexate / Castaldo P., Magi S., Nasti A. A., Arcangeli S. [et al.] // Current Drug Metabolism. — 2011. — Vol. 12, P. 278–286.
- Prospective Study of Coronary Heart Disease Incidence in Relation to Fasting Total Homocysteine, Related Genetic Polymorphisms, and B Vitamins. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study / Folsom A. R., Nietro J., McGovern P. G., Tsai M. Y. [et al.] // Circulation. — 1998. — Vol. 98. — P. 204–210.
- Plasma total homocysteine level and methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T genetic polymorphism in Japanese patients with rheumatoid arthritis / Fujimaki C., Hayashi H., Tsuboi S., Matsuyama T. [et al.] // Biomarkers — 2009. — № 14 (1). — P. 49–54.
- Hyperhomocysteinemia in ankylosing spondylitis: prevalence and association with clinical variables / Gonzalez-Lopez L., Sanchez-Hernandez J. D., Aguilar-Chavez E. A. [et al.] // Rheumatology International. — 2008. — Vol. 28, № 12. — P. 1223–1228.
- Grabar P. B., Logar D., Lestan B., Genetic determinants of methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism;
- Halcox J. Childhood origins of endothelial dysfunction / J. Halcox, J. Deanfield // Heart. — 2005. — Vol. 91. — P. 1272–1274.
- Homocysteine is a risk factor for cerebral small vessel disease, acting via endothelial dysfunction / Hassan A., Hunt B. J., O'Sullivan M. [et al.] // Brain. — 2004. — Vol. 127 (1). — P. 212–219.
- Hyperhomocysteinemia in children with juvenile idiopathic arthritis is not influenced by methotrexate treatment and folic acid supplementation: a pilot study / Huemer M., Fodinger M., Huemer C. [et al.] // Clin. Exp. Rheumatol. — 2003. — Vol. 21 (2). — P. 249–255.
- No Evidence for Hyperhomocysteinemia or Increased Prevalence of Genetic Polymorphisms in the Homocysteine Pathway in Patients With Moderate Juvenile Idiopathic Arthritis / Huemer M., Huemer C., Ulmer H. [et al.] // The Journal of Rheumatology. — 2005. — Vol. 32, № 1. — P. 170–174.
- Leclerc D. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms / D. Leclerc, S. Sibani, R. Rozen // Landes Bioscience. — 2000.
- Total plasmatic homocysteine and von Willebrand factor in experimental diabetes mellitus / Lopes R. D., Neves L. B., D'Almeida V. [et al.] // Arg. Bras. Cardiol. — 2007. — Vol. 88, № 4. — P. 424–429.
- Plasma Homocysteine and Cardiovascular Disease / Mennen L. I., de Courcy G. P., Ducros V. [et al.] // American Journal of Clinical Nutrition. — 2002. — Vol. 76 (6). — P. 1279–1289.
- Pietrewicz E. Early atherosclerosis changes in children with juvenile idiopathic arthritis / E. Pietrewicz, M. Urban // Pol Merkur Lekarski. — 2007. — Vol. 22 (129). — P. 211–214.
- Ranganathan R. Race and Methotrexate Pharmacogenetics in Rheumatoid Arthritis / R. Ranganathan // J. Rheumatol. — 2010. — Vol. 37. — P. 5.
- Methotrexate (MTX) Pathway Gene Polymorphisms and Their Effects on MTX Toxicity in Caucasians and African American Patients with Rheumatoid Arthritis / Ranganathan R., Culverhouse R., Marsh S. [et al.] // The Journal of Rheumatology. — 2008. — Vol. 35 (4). — P. 572–579.
- Influence of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on efficacy and toxicity of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis / Schmeling H., Biber D., Heins S., Horneff G. // Journal of Rheumatology. — 2005. — Vol. 32 (9). — P. 1832–1836.
- Functional Polymorphisms of Folate-Metabolizing Enzymes in Relation to Homocysteine Concentrations in Systemic Lupus Erythematosus / Summers C. M., Cucchiara A. J., Nackos E. [et al.] // The Journal of Rheumatology. — 2008. — Vol. 35, № 35. — P. 2179–2186.
- Ueland P. M. Plasma Homocysteine and Cardiovascular Disease / P. M. Ueland, H. Refsum // Annual Review of Medicine. — 1998. — Vol. 49. — P. 31–62.

30. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses / Urano W., Taniguchi A., Yamanaka H. [et al.] // *Pharmacogenetics*. — 2002. — Vol. 12 (3). — P. 183—190.
31. Correlation between intima-media thickness in carotid artery and markers of epithelial cell dysfunction in patients with juvenile idiopathic arthritis / Urban M., Pietrewicz E., Girska A., Baran M. // *Med. Wieku. Rozwoj.* — 2009. — Vol. 13 (4). — P. 277—82.
32. Van Doorum S. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis? / S. Van Doorum, G. McColl, I. P. Wicks // *Arthritis and Rheumatism*. — 2003. — Vol. 46 (4). — P. 1571—1575.
33. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients / Van Ede A. E., Laan R. F., Blom H. J. [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 2001. — Vol. 44 (11). — P. 2525—2530.
34. Wald D. S. Homocysteine and cardiovascular disease; evidence on causality from a meta-analysis / D. S. Wald, M. Law, J. K. Morris // *BMJ*. — 2002. — Vol. 325. — P. 1202.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА И C677T ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА 5, 10-МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКАЗЫ У ДІТЕЙ, БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

*И.В. Романкевич*

Национальная академия последилового образования имени П.Л. Шупика, г. Киев

**Цель:** определение уровня гомоцистеина (ГЦ) в сыворотке крови, полиморфизма гена МТГФР у детей, больных ЮРА, как факторов риска эндотелиальной дисфункции, и их связи с клинической картиной заболевания.

**Пациенты и методы.** Было обследовано 27 детей, больных ЮРА, лечившихся в кардиоревматологическом отделении в 2011–2012 гг, из них 12 (44%) мальчиков и 15 (56%) девочек. Преимущественно суставная форма наблюдалась у 24 (89%), суставно-висцеральная — у 3 (11%), моноартрит — у 2 (8%), олигоартрит — у 10 (37%), полиартрит — у 14 (55%) больных. 21 (77,8%) больной ребенок получал метотрексат в средней дозе 17,5 мг/м<sup>2</sup>. Средняя продолжительность приема препарата составила 3,7±1,2 года. Прием метотрексата обязательно сопровождался приемом 1 мг фолиевой кислоты. В связи с высокой активностью процесса пациенты дополнительно получали преднизолон (10 детей) в средней дозе 1 мг/кг массы тела. Средняя продолжительность заболевания составила 3,8±2,66 года. Группу контроля составили 18 здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу.

**Результаты.** Средний уровень общего ГЦ в сыворотке крови составил 13,5±4,66 ммоль/л у детей с ЮРА против 11,53±2,47 ммоль/л у здоровых детей (p=0,01). Обнаружено повышение ГЦ при полиартрите и олигоартрите, высокой активности воспалительного процесса и при системном типе болезни. Гипергомоцистеинемия была обнаружена у 5 (18,5%) детей. В группе детей, принимавших метотрексат, ГЦ был на уровне 14,83±4,55 ммоль/л против 8,16±1,66 ммоль/л у детей, в схемы лечения которых данный препарат не включался (p=0,09). Вариант МНП C677C МТГФР определялся у 32%, МНТ C677T — 68% детей, не было обнаружено T677T монозигот. C677T-генотип доминировал у детей с полиартритом, высокой активностью и во всех случаях системного течения ЮРА.

**Выводы.** Обнаружено достоверное повышение ГЦ в крови детей с ЮРА по сравнению с показателями здоровых детей, уровень которого повышается вследствие применения метотрексата. У детей, больных ЮРА, аллель C677T встречается чаще (68%), чем в общей популяции (30–40%), а также ассоциируется с развитием полиартрита.

**Ключевые слова:** ЮРА, гомоцистеин, метилентетрагидрофолатредуктаза, эндотелиальная дисфункция.

#### STUDY OF HOMOCYSTEINE LEVEL AND C677T POLIMORFIZM GENE 5, 10-METHYLENE TETRAHYDRO FOLATE REDUCTASE IN CHILDREN WITH JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS

*I.V. Romankevich*

P.L. Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev

**Purpose:** The determination of the level of homocysteine in the blood serum, methylene tetrahydro folate reductase gene polymorphism in children with juvenile rheumatoid arthritis as risk factors of endothelial dysfunction and their relations with the clinical course of disease.

**Patients and methods.** The 27 children with juvenile rheumatoid arthritis the 12 of them (44%) boys and 15 (56%) girls were examined and treated in the cardiorheumatological department in 2011–2012yy. Mainly articular form were observed in 24 (89%), articular-visceral form — in 3 (11%), monoarthritis — in 2 (8%), oligoarthritis — in 10 (37%), polyarthritis — in 14 (55%) patients. The average dose of methotrexate 17.5 mg/m<sup>2</sup> is ordered to 21 (77.8%) of children. Average duration of agent administration 3,7±1,2 years. Methotrexate by all means was accompanied with administration of 1 mg of folic acid. Due to the high activity of the process patients additionally received prednisone (10 children) at an average dose 1 mg / kg body weight. Average duration of disease was 3,8 ± 2,66 years. The control group consisted of 18 healthy children of similar age and sex.

**Results.** The average level of total homocysteine in the blood serum was 13,5±4,66 mmol / L in children with juvenile rheumatoid arthritis against 11,53±2,47 mmol / L in healthy children (P = 0.01). Homocysteine increase during the polyarthritis and oligoarthritis, high inflammatory activity and a systemic type of disease were found. Hyperhomocysteinemia was detected in 5 (18.5%) children. In the group of children who were treated with methotrexate the level of homocysteine was at 14,83 ± 4,55 mmol / l versus 8,16 ± 1,66 mmol / L and (p = 0.09) in children in the treatment scheme of which this preparation was not included. Variant of mononucleotide polymorphism C677C methylene tetrahydro folate reductase detected in 32%, MNТ C677T — 68% of children, T677T monozigot is not found. The domination of C677T-genotype were in children with arthritis, high activity and in all cases of juvenile rheumatoid arthritis system course.

**Conclusions.** The significant increase of homocysteine in the blood in children with juvenile rheumatoid arthritis in comparison with healthy children is found, the level of which is increased due to the use of methotrexate. Children with juvenile rheumatoid arthritis, C677T allele is more common (68%) than in the general population (30–40%), and is also associated with the development of arthritis.

**Key words:** juvenile rheumatoid arthritis, homocysteine, methylene tetrahydro folate reductase, endothelial dysfunction.