Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа, не относящихся к главному комплексу гистосовместимости, с патологией суставов у детей в Республике Беларусь

Яцкив А.А. [1], **Сукало А.В.** [2], **Гончарова Р.И.** [1]

1 — ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»
220072, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27

2 — УО «Белорусский государственный медицинский университет»
220116, Республика Беларусь, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

Разнообразие причин возникновения суставного синдрома (СС) и сходство его клинической картины при многих заболеваниях значительно осложняют проведение дифференциальной диагностики. Для ювенильного идиопатического артрита (ЮИА) до сих пор не существует высокоспецифичных лабораторных тестов, при этом прогноз течения и эффективность терапии зависят от своевременной постановки диагноза. Цель: изучить ассоциации полиморфных вариантов генов, продукты которых вовлечены в регуляцию и реализацию функций иммунной системы, с риском развития различных подтипов ЮИА и другой патологии суставов у детского населения Республики Беларусь. В трех группах детей (275 пациентов с ЮИА, 230 – с патологией суставов различного генеза, за исключением ЮИА, 291 – без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний (контроль)) методами real-time PCR и PCR-RFLP был проведен молекулярно-генетический анализ 11 полиморфных локусов 8 генов: *STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029), *IL-6* (rs1800795), *IL-6R* (rs2228145, rs4845618), *RUNX1* (rs9979383), *FOXP3* (rs3761548, rs2232365), *TRAF1/C5* (rs3761847). Установлено, что гомозиготы СС в локусе rs1800795 гена *IL-6* ассоциированы с ЮИА в целом (OR 1,75 [1,18–2,58], p=0,0058), а гомозиготы GG в локусе rs3761847 гена *TRAF1/C5* – с системной формой ЮИА (OR 2,79 [1,29–6,06], p=0,01). Показано, что генотип GG по локусу rs3761847 гена *TRAF1/C5* (p=0,04; OR 1,66 [1,03–2,68]), генотип СС (p=0,0002; OR 2,26 [1,47–3,47]) и аллель С (p=0,006; OR 2,01 [1,14–3,52]) по локусу rs1800795 гена *IL6* ассоциированы с дебютом ЮИА в возрасте до 5 лет. Олигоартрит, серонегативный полиартрит и системный ЮИА различаются между собой по частотам распространенности аллельных вариантов в локусах rs3761847 гена *TRAF1/C5* и rs7574865 гена *STAT4*. Группа пациентов с ЮИА в целом значительно отличается от группы пациентов с СС по индивидуальным локусам генов *IL-6R* (rs2228145, rs4845618), *FOXP3* (rs2232365), *TRAF1/C5* (rs3761847), а также по частотам 33 парных комбинаций генотипов исследуемых полиморфных вариантов. Среди пациентов с ЮИА выявлены зависимые от пола особенности распространения генотипов по полиморфным вариантам генов *IL-6R* (rs2228145, rs4845618) и *RUNX1* (rs9979383). Полученные данные о генетически обусловленных различиях отдельных подтипов ЮИА, а также ЮИА и СС при другой патологии суставов могут служить основой для разработки дополнительных критериев дифференциальной диагностики заболеваний суставов у детей.

Ключевые слова: суставной синдром, ювенильный идиопатический артрит, воспаление, гены иммунного ответа, генетическая предрасположенность

Для цитирования: Яцкив А.А., Сукало А.В., Гончарова Р.И. Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа, не относящихся к главному комплексу гистосовместимости, с патологией суставов у детей в Республике Беларусь. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 25-36.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.25-36

Автор для корреспонденции: *Яцкив Анна Андреевна*; **e-mail:** a.yatskiv@igc.by
Финансирование. Представленные результаты получены в рамках выполнения задания 6.4 С-Г НТП Союзного государства «ДНК-идентификация» 2017–2021.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Поступила: 15.07.2020.

Polymorfic loci of the non-hla immune and inflammatory response genes and the risk of the joint pathology development in children in the Republic of Belarus

Yatskiu H.A.[1], Sukalo A.V.[2], Goncharova R.I.[1]

1 — Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus
Akademicheskaya Str. 27, Minsk, 220072, Republic of Belarus

2 — Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Dzerzhinski Ave. 83, Minsk, 220116, Republic of Belarus

The variety of causes of the articular syndrome (AS) and the similarity of its clinical manifestation in many diseases significantly complicate the differential diagnosis. Despite the prognosis of the juvenile idiopathic arthritis (JIA) depends on the early diagnosis, there are still no highly specific laboratory tests. Objective: to assess the association of the polymorphic loci of the genes involved into the regulation and implementation of the immune system functions with predisposition to the JIA and other joint pathology in children in the Republic of Belarus. Three groups of children: 275 patients with JIA, 230 patients with joint pathology of various origins, with the exception of JIA and 291 children without autoimmune and chronic inflammatory diseases (control) were genotyped for 11 polymorphic loci of 8 genes: *STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029), *IL-6* (rs1800795), *IL-6R* (rs2228145, rs4845618), *RUNX1* (rs9979383)) *TRAF1/C5* (rs3761847) using real-time PCR and PCR-RFLP. It was found that CC genotype at the rs1800795 locus of the *IL-6* gene is associated with the JIA in the general (OR 1.75 [1.18 – 2.58], p = 0.0058), and GG genotype at the rs3761847 locus of the *TRAF1/C5* gene – with the systemic JIA (OR 2.79 [1.29 – 6.06], p = 0.01). GG genotype at the rs3761847 locus of the *TRAF1/C5* (p = 0.04; OR 1.66 [1.03 – 2.68]) gene and CC genotype (p = 0.0002; OR 2.26 [1.47 – 3.47]) as well as C allele (p = 0.006; OR 2,01 [1.14 – 3.52]) at the rs1800795 locus of the *IL-6* gene are associated with early-onset JIA (≤ 5 years). The most common JIA subtypes (oligoarthritis, seronegative polyarthritis, systemic arthritis) differ in the prevalence of allelic variants at the rs3761847 loci of the *TRAF1/C5* gene and rs7574865 of the *STAT4* gene. JIA patients differ significantly from the AS patients at the following loci: *IL-6R* (rs2228145, rs4845618), *FOXP3* (rs2232365), *TRAF1/C5* (rs3761847), as well by the frequencies of 33 paired genotype combinations of the studied polymorphisms. Among JIA patients, sex-dependent features of the genotype distribution in polymorphic variants of the *IL-6R* (rs2228145, rs4845618) and *RUNX1* (rs9979383) genes were revealed. **Conclusion.** The data obtained indicate genetically determined differences between JIA subtypes as between JIA and AS in case of other joint pathology. This can be used as a basis for the additional criteria development for the differential diagnosis of joint diseases in children.

Keywords: articular syndrome, juvenile idiopathic arthritis, inflammation, immune response genes, genetic predisposition

For citation: Yatskiu H.A., Sukalo A.V., Goncharova R.I. Polymorfic loci of the non-HLA immune and inflammatory response genes and the risk of the joint pathology development in children in the Republic of Belarus. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 25-36. (In Rus).
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.25-36

Corresponding author: *Yatskiu Hanna*; **e-mail:** a.yatskiv@igc.by
Funding. The presented results were obtained within the scientific and technical program of the Union State "DNA identification", task 6.4 S-G, 2017–2021.
Conflict of Interest. Authors declare no conflict of interest.
Accepted: 15.07.2020.

Введение

Поражения суставов, сопровождающиеся болью, признаками воспаления, деформацией и ограничением подвижности, или так называемый суставной синдром (СС), могут являться частью клинической картины более 200 болезней и синдромов [1].

Среди ревматических болезней у детей наиболее распространены ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), реактивные артропатии и системные заболевания соединительной ткани [2]. ЮИА представляет собой хроническое воспалительное заболевание суставов неизвестной этиологии длительностью более 6 недель, развивающееся у детей в возрасте до 16 лет при исключении другой патологии суставов. Заболевание характеризуется сложным аутоиммунным патогенезом, неуклонно прогрессирующим течением, возможным вовлечением в воспалительный процесс внутренних органов и высокой вероятностью инвалидизации детей. Многообразие вариантов дебюта ЮИА, а также отсутствие высокоспецифичных лабораторных тестов значительно осложняют проведение дифференциальной диагностики, что в 27,5% случаев может приводить к ошибочной постановке диагноза даже через год от начала заболевания [3]. При этом прогноз течения ЮИА напрямую зависит от своевременной постановки диагноза и начала терапии на этапе, когда деструктивные изменения в суставе минимальны или отсутствуют.

В активации иммуновоспалительных реакций при ЮИА задействованы все звенья иммунной системы, при этом нарушения клеточного звена иммунного ответа тесно связаны с цитокиновой регуляцией. Аутоим-

мунный ответ при ЮИА опосредован Т-лимфоцитами и связан с преобладанием провоспалительных Th1-цитокинов над противовоспалительными [4]. Считается, что именно провоспалительные цитокины ответственны за хронизацию воспалительного процесса и деструкцию костной ткани [5].

Нарушение функции иммунного ответа при ЮИА в значительной степени обусловлено взаимодействием генетических факторов и неблагоприятных факторов окружающей среды. Исследования генетической составляющей оценивают вклад генов главного комплекса гистосовместимости HLA на уровне 13–17% [6]. Это позволяет предположить, что значительная часть генетических факторов риска ЮИА определяется вариациями других генов. С развитием технологий в молекулярной генетике список генов-кандидатов, не относящихся к системе HLA и ассоциированных с ЮИА, существенно расширился и включает около 200 генов, многие из которых связаны с другими аутоиммунными заболеваниями (ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа, целиакия и т.д.). Тем не менее, существует проблема валидации ранее полученных результатов при изучении популяций различного этнического происхождения.

Установление генетической основы ЮИА позволит вывести на новый уровень возможность ранней диагностики заболевания и будет способствовать улучшению качества жизни пациентов. В связи с тем, что в Республике Беларусь эта проблема практически не исследована, целью работы стало изучение ассоциаций полиморфных локусов генов, продукты которых принимают участие в регуляции дифференциации Т-клеток и передаче цитокиновых сигналов – *STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029), *IL-6* (rs1800795), *IL-6R* (rs2228145, rs4845618), *RUNX1* (rs9979383) *FOXP3* (rs3761548, rs2232365), *TRAF1/C5* (rs3761847) – с риском развития ЮИА и его отдельных подтипов, а также другой патологии суставов у детского населения.

Материалы и методы

Общая выборка численностью 822 человека в возрасте от 1 до 17 лет представлена тремя группами детей: 275 (м/ж: 76/158) пациентов с ЮИА, 230 (м/ж: 118/112) пациентов с патологией суставов различного генеза, за исключением ЮИА и 291 (м/ж: 159/132) пациент без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний (контроль) со средним возрастом 8,76 ± 4,71; 8,8 ± 4,93 лет и 14,08 ± 2,66 лет, соответственно. Сбор биологического материала (венозная кровь) осуществлялся медицинскими работниками на базе УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска, УЗ «4-я городская детская клиническая больница» г. Минска, УЗ «Гомельская областная детская клиническая больница» и УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» после получения письменного информированного согласия родителей. Пациенты с ЮИА были стратифицированы по подтипам заболевания в соответствии с критериями ILAR [7] **(рис.1)**.

Среди пациентов с СС наиболее распространены постинфекционный артрит (35,2%), реактивный артрит (22,2%), артралгии (17,8%) и посттравматический артрит (12,2%). Группа контроля в основном представлена пациентами с вегетативной дисфункцией (68,7%), и нейроциркуляторной дистонией (7,2 %).

Экстракцию тотальной геномной ДНК осуществляли фенол-хлороформным методом. Выбор молекулярных маркеров для анализа основан на известных функциях продуктов генов, задействованных в реализации иммунного и воспалительного ответа **(табл. 1)**.

Молекулярно-генетический анализ полиморфных локусов *STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029), *IL-6* (rs1800795), *IL6-R* (rs2228145, rs4845618), *RUNX1* (rs9979383), *TRAF1/C5* (rs3761847) проводили, как описано ранее [16, 17].

Генотипирование по полиморфному локусу rs2232365 гена *FOXP3* осуществляли методом ПЦР в ре-

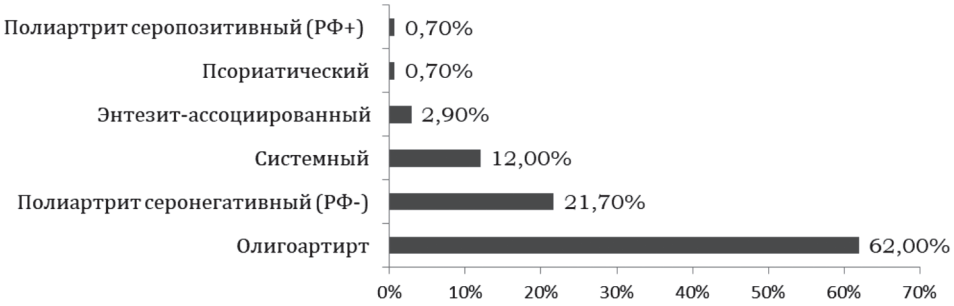

Рис. 1. Состав группы пациентов с ЮИА по подтипам заболевания.

альном времени с флуоресцентно мечеными TaqMan-зондами производства ОДО «Праймтех» (прямой праймер AGTCCAGGAGTGTGATCATG, обратный праймер AATTGGGGTGAACTCTGATG, зонд к G-аллелю FAM–CAGCTCAAGAGACCCCGTCT–BHQ1; зонд к A-аллелю ROX–CAGCTCAAGAGACCCCATCT–BHQ2) Программа амплификации на приборе CFX96 (Bio-Rad) включала начальную денатурацию (10 мин при 95°C) и 40 циклов денатурации (15 сек при 95°C), отжига (30 сек при 60°C) и элонгации с детекцией флуоресценции на каждом цикле (30 сек при 72°C). Для визуализации и интерпретации результатов использовали программное обеспечение Bio-Rad CFX Maestro 1.0.

Анализ полиморфного локуса rs3761548 гена *FOXP3* проводили методом ПЦР-ПДРФ с использованием прямого CTTAACCAGACAGCGTAGAAGG и обратного CATCATCACCACGCTCTGG праймеров (ОДО «Праймтех»). Амплификацию фрагмента гена проводили в приборе C1000 (Bio-Rad) при следующих условиях: 94ºC – 5 мин; 35 циклов: 94°C – 30 с, 62°C – 40 с, 72°C – 1 мин; конечная элонгация в течение 5 мин при 72°C. Ампликоны, подвергали обработке эндонуклеазой рестрикции *PstI* (New England Biolabs) с последующим электрофоретическим разделением продуктов в 8%-м полиакриламидном геле, окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ IBM SPSS v 22 и онлайн-сервиса VassarStats [18]. Для установления достоверности различий исследуемых групп по частоте распространенности аллелей и генотипов применяли двусторонний точный критерия Фишера и рассчитывали показатели отношения шансов (odds ratio, OR) с 95% доверительным интервалом (95% Confidential Interval, CI).

Результаты и обсуждение

В трех исследуемых группах – «ЮИА», «Контроль» и «СС» – были определены частоты генотипов и аллелей по 11 однонуклеотидным полиморфизмам 8 генов иммунного и воспалительного ответа (*STAT4*, *CTLA4*, *FOXP3*, *PTPN2*, *IL6*, *IL6R*, *RUNX1, TRAF1/C5*).

Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа с риском развития ЮИА и СС при другой патологии суставов

По большинству изученных генетических вариантов (*STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs234029), *RUNX1* (rs9979383), *FOXP3* (rs3761548)) группы детей с ЮИА, СС и контроля не отличались друг от друга. Статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов по ряду локусов представлены в **табл. 2**.

Таблица 1

Функциональная характеристика исследуемых генов и их продуктов

Ген, локализация	Функция	Ссылка
STAT4 2q32.2–2q32.3	Транскрипционный фактор, регулирует передачу цитокиновых сигналов, приводя к дифференциации Т-хелперов, активации моноцитов и продукции интерферона-гамма	[8]
CTLA4 2q33	Принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, является негативным регулятором Т-клеточного ответа	[9]
PTPN2 18p11.21	Представитель семейства тирозиновых фосфатаз, негативный регулятор JAK-STAT сигнального пути, играющего важную роль в осуществлении иммунных реакций	[10]
IL-6 7p15.3	Цитокин с широким спектром биологических функций, необходим для дифференциации В-клеток и реализации реакций острой фазы воспаления и иммунного ответа	[11]
IL-6R 1q21.3	Субъединица рецепторного комплекса интерлейкина 6; участвует в активации тирозиновых протеинкиназ семейства JAK, с вовлечением в каскад реакций молекул семейства STAT и запуском MAPK-каскада	[12]
RUNX1 21q22.12	Транскрипционный фактор, контролирует экспрессию генов цитокинов, обеспечивает процесс нормальной дифференцировки Т-лимфоцитов и регуляцию их иммунологической толерантности	[13]
FOXP3 Xp11.23	Транскрипционный фактор, необходим для нормальной продукции и функционирования регуляторных Т-лимфоцитов	[14]
TRAF1/C5 9q33–34	Член семейства белков TRAF, опосредующих проведение сигнала от рецепторов семейства TNFR к компонентам различных сигнальных путей. Пятый компонент комплемента C5 играет важную роль в процессах воспаления и гибели чужеродных клеток, участвует в передаче сигнала по воспалительным каскадам	[15]

Результаты, представленные в **табл. 2**, свидетельствуют об ассоциации гомозиготного генотипа CC в полиморфном локусе rs1800795 гена *IL-6* с ЮИА (OR 1,75 [1,18–2,58], p = 0,0058). Ген *IL-6* кодирует гликопротеин с плейотропным действием, который стимулирует экспансию популяции и активацию Т-лимфоцитов, дифференциацию В-лимфоцитов, регулирует реакции острой фазы воспаления [19]. Неоднократно показано, что у пациентов с РА и ЮИА уровень IL-6 в синовиальной жидкости пораженных суставов и в плазме крови обычно значительно выше, чем у здоровых индивидов и коррелирует со степенью активности заболевания и наличием эрозивных повреждений костной ткани [20–22].

Таблица 2

Статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов при сравнении групп пациентов с ЮИА, СС при другой патологии суставов и группы контроля

Генотип/аллель	ЮИА	Контроль	СС	ЮИА vs. Контроль		СС vs. Контроль		ЮИА vs. СС	
	n, (%)	n, (%)	n, (%)	p_1	OR_1 [95%CI]	P_2	OR_2 [95%CI]	P_3	OR_3 [95%CI]
-174G/C *IL-6* rs1800795									
GG	82 (29,8)	82 (28,2)	60 (26,1)		1,08 [0,75–1,55]		0,89 [0,63–1,35]		1,20 [0,81–1,78]
GC	112 (40,7)	153 (52,6)	114 (49,6)	**0,0058**	0,61 [0,44–0,86]	0,34	0,88 [0,60–1,32]	0,13	0,70 [0,49–1,00]
CC	81 (29,5)	56 (19,2)	56 (24,3)		**1,75 [1,18 – 2,58]**		1,35 [0,88–2,05]		1,30 [0,87–1,93]
***IL-6R* rs2228145**									
AA	116 (42,3)	124 (43,2)	105 (45,7)		0,96 [0,69–1,34]		1,10 [0,77–1,56]		0,87 [0,61–1,24]
AC	131 (47,8)	128 (44,6)	87 (37,8)	0,59	1,13 [0,81–1,58]	0,19	0,75 [0,53–1,07]	**0,02**	1,51 [1,05–2,15]
CC	27 (9,9)	35 (12,2)	38 (16,5)		0,78 [0,46 – 1,33]		1,42 [0,86–2,34]		**0,55 [0,33–0,94]**
***IL-6R* rs4845618**									
GG	71 (25,9)	76 (26,6)	59 (25,7)		0,98 [0,67–1,42]		0,96 [0,65–1,43]		1,01 [0,68–1,51]
GT	150 (54,8)	147 (50,9)	101 (43,9)	0,54	1,16 [0,84–1,62]	0,12	0,75 [0,53–1,07]	**0,01**	1,55 [1,09–2,20]
TT	53 (19,3)	66 (22,5)	70 (30,4)		0,81 [0,54–1,21]		1,48 [0,99–2,18]		**0,55 [0,36–0,83]**
GG+GT vs. TT	221 (80,7)	223 (77,2)	160 (69,6)	0,35	1,23 [0,82–1,85]	**0,056**	**0,67 [0,45–1,00]**	**0,004**	**1,82 [1,21–2,75]**
***TRAF1/C5* rs3761847**									
AA	107 (39,0)	112 (38,7)	72 (31,3)		1,01 [0,72–1,42]		0,72 [0,49–1,03]		1,4 [0,97–2,03]
AG	112 (40,9)	128 (44,3)	119 (51,7)	0,57	0,86 [0,62 – 1,21]	0,17	1,34 [0,95–1,90]	**0,05**	**0,64 [0,45–0,92]**
GG	55 (20,1)	49 (17)	39 (17,0)		1,23 [0,80–1,88]		1,00 [0,63–1,58]		1,23 [0,78–1,93]
***FOXP3* rs2232365**									
A	215 (47,4)	211 (50,6)	153 (55,8)	0,34	0,87 [0,67–1,14]	0,18	1,23 [0,91–1,67]	**0,03**	0,71 [0,53–0,96]
G	239 (52,6)	206 (49,4)	121 (44,2)		1,13 [0,87–1,48]		0,81 [0,59–1,10]		**1,40 [1,04–1,89]**

Примечание: выделены статистически значимые различия

Локализованный в промоторной области гена полиморфный вариант -174 G/C (rs1800795), обнаруженный Fishman с соавт., изначально был описан как вероятно функциональный: аллелль G показывал более высокую транскрипционную активность [23]. В дальнейшем было установлено, что частоты встречаемости аллелей по данному локусу значительно различаются в европейских и азиатских популяциях, а данные об их влиянии на вероятность развития ревматических заболеваний и уровень экспрессии цитокина противоречивы. В ряде исследований аллель G был ассоциирован с риском развития системного ЮИА [23, 24], а также с тяжестью повреждений суставов у пациентов с серопозитивным и АССР-позитивным артритом [5]. Альтернативные результаты, свидетельствующие о повышении риска развития РА у носителей аллеля C и гомозигот CC были получены Синявской с соавт. в белорусской популяции [25], Amr с соавт. [26] – в египетской, Li X. с соавт. [27] – в китайской и Dar с соавт. – у населения северной Индии [28]. Кроме того, по итогам мета-анализа Dar с соавт. заключили, что полиморфный локус 174 G/C (rs1800795) ассоциирован с риском развития РА в смешанной популяции и у азиатов в особенности. Назарова с соавт. также показали влияние аллеля C и соответствующих гомозигот на чувствительность к развитию двух клинических форм ЮИА (персистирующего олигоартрита и энтезит-ассоциированного ЮИА) у детского населения Российской Федерации [29], что согласуется с данными, полученными в нашем исследовании.

IL-6 реализует передачу сигнала посредством взаимодействия с рецептором двумя путями: классическим и транс-сигнальным. В первом случае IL-6 связывается с трансмембранным рецептором (IL-6R), что приводит к активации сигнала в целевой клетке, во втором случае цитокин образует комплекс с растворимой формой рецептора (sIL-6R). Полагают, что именно транс-сигналинг способствует преобразованию острого воспаления в хроническое, т.к. в этом случае могут вовлекаться клетки, не экспрессирующие IL-6R, что расширяет спектр потенциальных мишеней цитокина [30, 31]. На уровень циркулирующего sIL-6R, который повышен у пациентов с ЮИА в плазме и в синовиальных фибробластах и коррелирует с общими показателями активности заболевания [32], может оказывать влияние однонуклеотидная замена rs2228145, затрагивающая сайт протеолитического расщепления [33]. Исходя из этого, предполагалось, что полиморфизм гена рецептора IL-6 также может вносить вклад в генетическую предрасположенность к ЮИА, однако мы не выявили различий между пациентами с ЮИА и контрольной группой по частоте распространённости генотипов и аллелей в локусах rs2228145 и rs4845618 гена *IL-6R*.

В то же время, у детей с CC при отличной от ЮИА патологии суставов наблюдалось тенденция к увеличению частоты гомозигот TT в локусе rs4845618 (рецессивная модель: OR 1,48 [0,99–2,18], p=0,056) по сравнению с контролем.

Сведения о влиянии генетической изменчивости на риск возникновения CC практически не представлены в литературе. Большинство работ сконцентрированы на оценке уровня цитокинов и их соотношений в пораженных тканях. Наши данные показывают, что генетические факторы риска возникновения заболеваний суставов у детей различны: для ЮИА характерна ассоциация с полиморфным локусом rs1800795 гена *IL-6*, для CC при другой патологии – с локусом rs4845618 гена *IL-6R*.

Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа с возрастом дебюта ЮИА

В целом ЮИА развивается у детей в возрасте до 16 лет, однако в ряде работ по изучению генетической предрасположенности к ЮИА были установлены зависимые от возраста манифестации заболевания ассоциации [23, 24]. Для поиска генетических маркеров, ассоциированных с ранним дебютом ЮИА, выборка детей с наиболее распространенными подтипами ЮИА (олигоартикулярный, серонегативный полиартикулярный и системный) была стратифицирована по возрасту дебюта заболевания на две группы: «⩽ 5 лет» (n = 153) и « ⩾ 6 лет» (n = 110).

Сравнительный анализ частот распространенности генотипов и аллелей по исследуемым полиморфным вариантам генов иммунного и воспалительного ответа выявил маркеры, ассоциированные с риском развития ЮИА возрасте до 5 лет (генотип GG по локусу rs3761847 гена *TRAF1/C5* (p=0,04; OR 1,66 [1,03–2,68]), а также генотип CC (p=0,0002; OR 2,26 [1,47–3,47] и аллель C (p=0,006; OR 2,01 [1,14–3,52]) по локусу rs1800795 гена *IL6*). ЮИА с дебютом в возрасте после 6 лет был ассоциирован с гомозиготным генотипом GG по локусу rs1800795 гена *IL6* (p=0,04; OR 1,60 [1,01–2,53]).

Таким образом, нами получены данные о неравнозначном вкладе полиморфных вариантов генов TRAF1/C5 и IL6 в формирование предрасположенности к развитию ЮИА в зависимости от возраста начала заболевания, что позволяет предположить существование генетических различий, лежащих в основе раннего и более позднего ЮИА.

Сравнение генетических профилей ЮИА и СС при другой патологии суставов по набору изученных генов

При сравнении групп пациентов с ЮИА и СС **(табл. 2)** установлено, что гомозиготы СС в локусе rs2228145 и гомозиготы ТТ в локусе rs4845618 гена *IL-6R* значительно менее распространены среди детей с ЮИА (OR 0,55 [0,33–0,94], p=0,02 и OR 0,55 [0,36–0,83], p=0,01). Кроме того, обнаружено, что сравниваемые группы пациентов различались по частоте встречаемости гетерозигот AG в локусе rs3761847 гена *TRAF1/C5* (40,9% для детей с ЮИА и 51,7% для детей с СС при другой патологии суставов, OR 0,64 [0,45–0,92], p=0,05). Эффект полиморфных вариантов гена *TRAF1/C5* на его функциональную активность пока не установлен, тем не менее, есть сведения об их влиянии на восприимчивость к аутоиммунным болезням, включая РА взрослых и ЮИА [34–36].

Аллель G в полиморфном локусе rs2232365 промоторной области гена *FOXP3*, напротив, был более распространен в группе детей с ЮИА (OR 1,40 [1,04–1,89], p=0,03). FOXP3 является транскрипционным фактором, специфическим маркером T_{per} клеток, которые задействованы в подавлении аутоиммунного ответа. Аллельные варианты в полиморфных локусах *FOXP3* были ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы, диабетом 1-го типа, псориазом, витилиго, системным склерозом, болезнью Грейвза и РА. По данным Pereira с соавт. наличие аллеля G в полиморфном локусе rs2232365 снижает возможность взаимодействия с транскрипционным фактором GATA-3, необходимым для иммунного ответа Th2-типа, что, вероятно, вносит свой вклад в Th1/Th2 дисбаланс, имеющий место при ЮИА [37].

Таким образом, на примере полиморфных вариантов генов *IL-6R*, *TRAF1/C5* и *FOXP3* нами получены новые данные о существовании различий генетических профилей при ЮИА и СС при другой патологии суставов у детей.

Изучение межгенных взаимодействий как факторов, влияющих на риск развития ЮИА и СС в белорусской популяции

В связи с тем, что на восприимчивость к аутоиммунным заболеваниям оказывают влияние многочисленные факторы, анализ отдельных однонуклеотидных замен может оказаться недостаточным для прогнозирования риска их развития. Исходя из этого, на предмет ассоциаций с предрасположенностью к ЮИА или СС при другой патологии суставов у детей была проведена оценка парных сочетаний генотипов по исследуемым полиморфным вариантам генов иммунного и воспалительного ответа. Результаты этого анализа детально описаны ранее [16, 17]. Здесь они представлены схематически **(рис. 2).**

Было выявлено 48 комбинаций генотипов, влияющих на вероятность развития патологии суставов у детей. 11 сочетаний оказались ассоциированы с ЮИА, 16 – с СС при другой патологии суставов, причем эти группы не перекрываются, что может объясняться особенностями патогенеза этих двух групп заболеваний на генетическом уровне. Сравнение пациентов

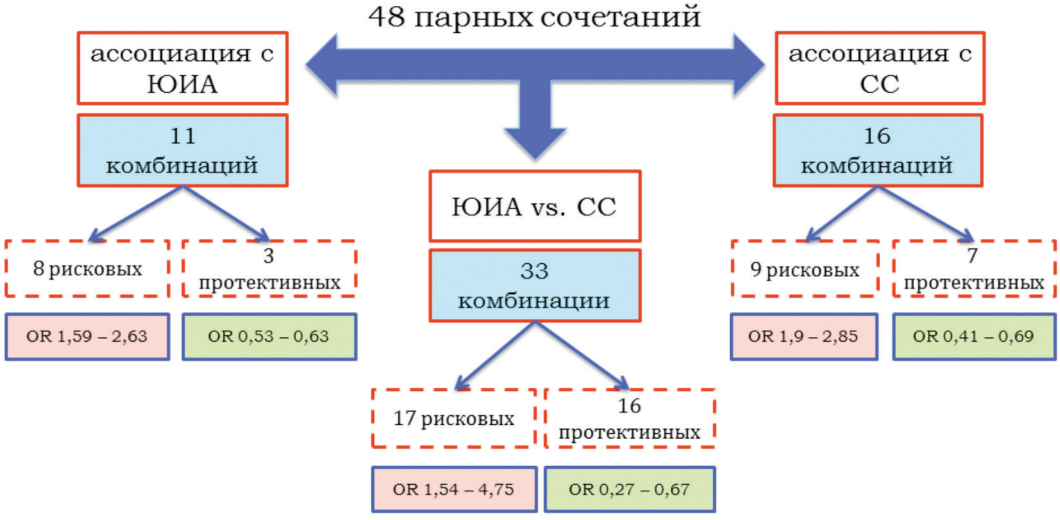

Рис. 2. Эффект парных сочетаний генотипов на вероятность развития ЮИА и СС при другой патологии суставов.

с ЮИА и СС между собой выявило существование значимых различий в частоте распространенности 33 сочетаний генотипов по исследуемым полиморфным локусам.

Риск развития ЮИА в наибольшей степени повышался под влиянием полиморфизма генов rs3761847 *TRAF1/C5*$_{GG}$ / rs9979383 *RUNX1*$_{TT}$ (OR 2,64 [1,28–5,45], p=0,009), наибольший защитный эффект наблюдался при сочетании rs2542151 *PTPN2*$_{GT}$ / rs1800795 *IL-6*$_{GC}$ (OR 0,54 [0,30–0,97], p = 0,04). В случае СС при патологии суставов, отличной от ЮИА, наибольшим рисковым потенциалом обладала комбинация rs2542151 *PTPN2*$_{GT}$ / rs4845618$_{TT}$ *IL6R* (OR 2,94 [1,41–6,14], p=0,004). Среди вариантов, влияющих на вероятность развития СС, наибольшим протективным эффектом обладало сочетание rs2228145 *IL-6R*$_{AA}$ / rs9979383 *RUNX1*$_{CC}$ (OR 0,41 [0,17–1,00], p=0,048).

Таким образом, показано, что структура ассоциаций парных межгенных взаимодействий при ЮИА отличается от таковой при СС, что имеет потенциальную практическую ценность для дифференциальной диагностики.

Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа с различными подтипами ЮИА

С учетом клинической гетерогенности ЮИА, в котором выделяют семь подтипов, был проведен поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа с отдельными, наиболее распространенными формами ЮИА – олигоартритом, серонегативным полиартритом и системным артритом. Ранее посредством HLA-типирования методом высокопроизводительного секвенирования нового поколения нами были установлены аллели, ассоциированные с олигоатритом, а также аллели, снижающие риск развития системной формы заболевания, свидетельствуя о том, что в формировании различных клинических форм ЮИА задействованы различные HLA-паттерны [38].

По большинству изученных генетических вариантов, не относящихся в системе HLA, (*RUNX1* (rs9979383), *STAT4* (rs7574865), *CTLA4* (rs231775), *PTPN2* (rs2542151, rs234029), *IL6R* (rs2228145, rs4845618) *FOXP3* (rs3761548, rs2232365)) выделенные группы пациентов с ЮИА не отличались от контроля.

Установлено, что наличие гомозиготного генотипа СС в локусе rs1800795 гена *IL-6* повышало риск развития трех подтипов заболевания: OR 2,39 [1,11–5,16], p=0,01 при системном ЮИА, а также с OR 1,65 [1,05–2,57], p = 0,028 и OR 1,93 [1,03–3,63], p=0,05 при рецессивной модели наследования для олиго- и полиартрита, соответственно. Таким образом, ассоциация, выявленная на общей выборке ЮИА, сохранялась, несмотря на уменьшение групп, связанное с проведенной стратификацией, что позволяет расценивать локус rs1800795 в качестве универсального фактора риска развития ЮИА в целом.

Для варианта rs3761847 гена *TRAF1/C5* обнаружено, что гомозиготы по аллелю G связаны с повышенной чувствительностью к системной форме ЮИА (OR 2,79 [1,29–6,06], p=0,01), в то время как гетерозиготный вариант AG, напротив, обладает защитным эффектом (OR 0,40 [0,17–0,92], p=0,03). При сравнении отдельных подтипов ЮИА между собой выявлено, что генотип GG в локусе rs3761847 гена *TRAF1/C5* при олиго- и полиартрите распространен значительно реже, чем при системном ЮИА (OR 0,62 [0,36–1,05], p= 0,024 и OR 0,44 [0,17–1,16], p=0,037 соответственно). Кроме того, генотипы, содержащие хотя бы один аллель T по полиморфизму rs7574865 гена *STAT4* значительно чаще встречались при серонегативном полиартрите, чем при олигоартрите (OR 1,94 [1,06–3,55], p=0,03).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о неравнозначном вкладе полиморфных вариантов генов *TRAF1/C5* и *STAT4* в формирование предрасположенности к различным подтипам ЮИА.

Ассоциация полиморфных вариантов генов иммунного и воспалительного ответа с ЮИА в зависимости от пола пациентов

Известно, что аутоиммунные заболевания, и ЮИА в частности, чаще распространены среди пациентов женского пола. В связи с этим была предпринята попытка оценить влияние изученных полиморфных вариантов генов на предрасположенность к развитию ЮИА отдельно у девочек и мальчиков **(табл. 3)**.

При сравнении групп мальчиков с ЮИА и мальчиков из контрольной группы выявлен протективный эффект гетерозигот GC в полиморфном локусе rs1800795 гена *IL-6* (OR 0,48 [0,27–0,85], p= 0,03), а также гомозигот СС в локусе rs2228145 гена *IL-6R* (0,16 [0,04–0,73], p=0,02). Негативная ассоциация гетерозигот по полиморфизму гена *IL6* с ЮИА ранее также была показана Ziaee с соавт. (OR 0,37 [0,18–0,73], p<0,01) на смешанной по полу выборке [39]. Гомозиготы СС и в групе мальчиков, и в группе девочек с ЮИА встречались чаще, чем в соответствующих контрольных группах, однако эти различия не достигли статистической значимости. Последнее, вероятно, объясняется вызванным стратификацией по полу уменьшением объема выборок.

Сравнение групп пациентов с ЮИА разного пола показало, что среди девочек с достоверно большей частотой встречаются гомозиготы CC в локусе rs2228145 гена *IL-6R* (OR 5,06 [1,15–22,3], p=0,03 с улучшением статистической значимости до p=0,02 при рецессивной модели) и гомозиготы GG в локусе rs4845618 *IL-6R* (OR 2,08 [1,05–4,12], p=0,03 при рецессивной модели). Напротив, гомозиготы CC по полиморфному локусу rs9979383 гена *RUNX1* были распространены значительно реже (OR 0,42 [0,20–0,90], p=0,02 при рецессивной модели).

Полученные данные позволяют предположить, что в зависимости от пола пациентов ЮИА развивается на фоне вовлеченности различных генетических факторов, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения на больших выборках пациентов).

Заключение

На примере детского населения Республики Беларусь установлено, что гомозиготный генотип CC в по-

Таблица 3

Статистически значимые различия в распределении генотипов при сравнении групп пациентов с ЮИА разного пола

Локус	Мальчики				Девочки				Девочки ЮИА vs. Мальчики ЮИА	
	ЮИА	Контроль	P_1	OR_1[95%CI]	ЮИА	Контроль	P_2	OR_2[95%CI]	P_3	OR_3[95%CI]
	n, (%)	n, (%)			n, (%)	n, (%)				
***IL6* rs1800795**										
GG	25 (32,9)	41 (25,8)		1,41 [0,77–2,56]	42 (26,6)	41 (31,1)		0,80 [0,48–1,33]		0,74 [0,41–1,34]
GC	29 (38,2)	89 (56,0)	**0,03**	**0,48 [0,27–0,85]**	69 (43,7)	64 (48,5)	0,19	0,82 [0,51–1,31]	0,59	1,26 [0,72–2,20]
CC	22 (28,9)	29 (18,2)		1,82 [0,96–3,45]	47 (29,7)	27 (20,4)		1,64 [0,95–2,83]		1,04 [0,57–1,90]
***IL-6R* rs2228145**										
AA	31 (40,8)	58 (36,7)		1,18 [0,67–2,08]	68 (43,0)	65 (50,8)		0,73 [0,45–1,17]		1,10 [0,63–1,91]
AC	43 (56,6)	78 (49,4)	**0,02**	1,33 [0,77–2,31]	71 (45,0)	50 (39,1)	0,42	1,27 [0,79–2,04]	**0,03**	0,63 [0,36–1,09]
CC	2 (2,6)	22 (13,9)		**0,16 [0,04–0,73]**	19 (12,0)	13 (10,1)		1,21 [0,57–2,55]		**5,06 [1,15–22,3]**
CC (рец.)	2 (2,6)	22 (13,9)	**0,02**	**0,16 [0,04–0,73]**	19 (12,0)	13 (10,1)	0,70	1,21 [0,57–2,55]	**0,02**	**5,06 [1,15–22,3]**
***IL-6R* rs4845618**										
GG	13 (17,1)	31 (19,5)		0,85 [0,42–1,74]	48 (30,0)	45 (34,6)		0,81 [0,49–1,33]		2,08 [1,05–4,12]
GT	48 (63,2)	90 (56,6)	0,66	1,31 [0,75–2,30]	85 (53,1)	57 (43,8)	0,28	1,45 [0,91–2,31]	0,10	0,66 [0,38–1,16]
TT	15 (19,7)	38 (23,9)		0,78 [0,40–1,53]	27 (16,9)	28 (21,6)		0,74 [0,41–1,33]		0,83 [0,41–1,66]
GG (рец.)	13 (17,1)	31 (19,5)	0,72	0,85 [0,42–1,74]	48 (30,0)	45 (34,6)	0,45	0,81 [0,49–1,33]	**0,03**	**2,08 [1,05–4,12]**
***RUNX1* rs9979383**										
TT	30 (39,5)	73 (45,9)		0,76 [0,44–1,33]	66 (41,8)	50 (38,2)		1,16 [0,72–1,86]		1,10 [0,63–1,92]
TC	30 (39,5)	66 (41,5)	0,23	0,91 [0,53–1,60]	76 (48,1)	62 (47,3)	0,48	1,03 [0,65–1,64]	0,07	1,42 [0,82–2,48]
CC	16 (21,0)	20 (12,6)		1,85 [0,89–3,82]	16 (10,1)	19 (14,5)		0,66 [0,32–1,35]		0,42 [0,20–0,90]
CC (рец.)	16 (21,0)	20 (12,6)	0,12	1,85 [0,89–3,82]	16 (10,1)	19 (14,5)	0,28	0,66 [0,32–1,35]	**0,02**	**0,42 [0,20–0,90]**

лиморфном локусе rs1800795 гена *IL-6* ассоциирован с ЮИА в целом, а генотип GG в локусе rs3761847 гена *TRAF1/C5* – с системной формой ЮИА. Показана ассоциация полиморфных вариантов в генах *TRAF1/C5* и *IL6* с ранним дебютом ЮИА в возрасте до 5 лет. Отдельные подтипы ЮИА различаются между собой по частотам распространенности аллельных вариантов в локусах rs3761847 гена *TRAF1/C5* и rs7574865 гена *STAT4*. Среди пациентов с ЮИА выявлены зависимые от пола особенности распространения генотипов по полиморфным вариантам генов *IL-6R* (rs2228145, rs4845618) и *RUNX1* (rs9979383). На уровне анализа индивидуальных однонуклеотидных замен, а также их парных комбинаций получены данные о различиях профилей генетической изменчивости ЮИА и СС при другой патологии суставов, что может иметь практическое значение для дифференциальной диагностики.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность к.м.н. Чижевской И. Д., к.м.н. Чичко А. М., Сечко Е. В., Мысливец М. Г. и Бильской Н. Л. за формирование групп исследования и сбор образцов биологического материала.

Литература

1. Ковальчук П.Н. Дифференциальный диагноз при поражении суставов. Особенности суставного синдрома при метаболических артритах и остеоартрозе. Гомель: ГомГМУ. 2014. 100 с.
2. Гриднева Р.И., Закиров М.М., Ковешникова Н.А., и др. Заболевания суставов у детей. *Вопросы организации и информатизации здравоохранения* 2016; (S): 103–105.
3. Бур'янов О.А., Задніченко М.О., Пшеничний Т.Є., Соболевський Ю.Л. Особливості ранньої діагностики ювенільного ревматоїдного артриту. *Український морфологічний альманах* 2010; 8(3): 17–19.
4. McInnes I.B., Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(6): 429–442. doi: 10.1038/nri2094.
5. Marinou I., Healy J., Mewar D., et al. Association of interleukin-6 and interleukin-10 genotypes with radiographic damage in rheumatoid arthritis is dependent on autoantibody status. *Arthritis Rheum* 2007; 56(8): 2549–2556. doi: 10.1002/art.22814.
6. Hinks A., Cobb J., Marion M.C., et al. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis. *Nat Gene*. 2013; 45(6): 664–669. doi: 10.1038/ng.2614.
7. Petty R.E., Southwood T.R., Manners P., et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004; 31(2): 390–392.
8. Севостьянов К.В., Алексеева Е.И., Чистяков Д.А. Ассоциация генов, не кодирующих компоненты главного комплекса гистосовместимости, с ювенильным идиопатическим артритом. *Вестник РАМН* 2014; 69(9–10): 83–94.
9. Yokosuka T., Kobayashi W., Takamatsu M., et al. Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity* 2010; 33(3): 326–339. doi:10.1016/j.immuni.2010.09.006.
10. Sharp R.C., Abdulrahim M., Naser E.S., Naser S.A. Genetic Variations of PTPN2 and PTPN22: Role in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes and Crohn's Disease. *Front Cell Infect Microbiol* 2015; 5:95. doi: 10.3389/fcimb.2015.00095.
11. Yao X., Huang J., Zhong H., et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol Ther* 2014; 141(2): 125–139. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.004.
12. Друцкая М.С, Носенко М.А, Атретханы К.-С.Н., и др. Интерлейкин 6 – от молекулярных механизмов передачи сигнала к физиологическим функциям и терапевтическим мишеням. *Молекулярная биология* 2015; 49(6): 937–943.
13. Hsu F.C., Shapiro M.J., Dash B., et al. An Essential Role for the Transcription Factor Runx1 in T Cell Maturation. *Sci Rep* 2016; 6:23533. *Available at:* www.nature.com/articles/srep23533
14. Gavin M.A., Rasmussen J.P., Fontenot J.D., et al. Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature* 2007; 445(7129): 771–775. doi: 10.1038/nature05543.
15. Kurreeman F.A.S., Goulielmos G.N., Alizadeh B.Z., et al. The *TRAF1-C5* region on chromosome 9q33 is associated with multiple autoimmune diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2010; 69: 696-699. doi: 10.1136/ard.2008.106567.
16. Yatskiu H.A., Savina N.V., Nikitchenko N.V., et al. Genetic susceptibility to juvenile idiopathic arthritis in the belarusian population: gene-gene interactions analysis. *Ecological genetics* 2019; 17(4): 65–76. doi: 10.17816/ecogen17465-76.
17. Яцкив А.А., Кужир Т.Д., Сечко Е.В., и др. Полиморфизм генов иммунного и воспалительного ответа у детей с суставным синдромом. *Молекулярная и прикладная генетика* 2019; 27: 5–16.
18. VassarStats: Website for Statistical Computation. [Электронный ресурс]. *Режим доступа*: http://vassarstats.net/index.html (дата обращения: 13.07.2020).
19. Hunter C.A., Jones S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease [published correction appears in Nat Immunol. 2017 Oct 18;18(11):1271]. *Nat Immunol* 2015; 16(5): 448–457. doi: 10.1038/ni.3153.
20. Hirano T., Matsuda T., Turner M., et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1988; 18(11): 1797–1801. doi: 10.1002/eji.1830181122.
21. Dasgupta B., Corkill M., Kirkham B., et al. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1992; 19(1): 22–25.
22. de Lima C.A.D, Rushansky E., Adelino J.E., et al. Are key cytokines genetic and serum levels variations related to rheumatoid arthritis clinical severity? *Gene* 2020; 722: 144098. *Available at:* https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111919307577
23. Fishman D., Faulds G., Jeffery R., et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102(7): 1369–1376. doi: 10.1172/JCI2629.
24. Ogilvie E.M., Fife M.S., Thompson S.D., et al. The -174G allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: a multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families. *Arthritis Rheum* 2003; 48(11): 3202–3206. doi: 10.1002/art.11300.
25. Siniauskaya E., Kuzhir T., Yagur V., Goncharova R. IL6 −174G/C (rs1800795) Polymorphism Rather than IL6R (rs2228145 and rs4845618) Polymorphisms is Associated with Susceptibility to Rheumatoid Arthritis in the Belarusian Population. *J Genet Genomic Sci* 2020; 5:015. *Available at*: https://www.heraldopenaccess.us/openaccess/il6-174g-c-rs1800795-polymorphism-rather-than-il6r-rs2228145-and-rs4845618-polymorphisms-is-associated-with-susceptibility-to-rheumatoid-arthritis-in-the-belarusian-population
26. Amr K., El-Awady R., Raslan H. Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) Interleukin 6 Gene

Polymorphisms in Egyptian Patients with Rheumatoid Arthritis. *Open Access Maced J Med Sci* 2016; 4(4): 574–577. doi: 10.3889/oamjms.2016.110.
27. Li X., Chai W., Ni M., et al. The effects of gene polymorphisms in interleukin-4 and interleukin-6 on the susceptibility of rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 265435. *Available at:* https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/265435/
28. Dar S.A., Haque S., Mandal R.K., et al. Interleukin-6-174G > C (rs1800795) polymorphism distribution and its association with rheumatoid arthritis: A case-control study and meta-analysis. *Autoimmunity* 2017; 50(3): 158–169. doi:10.1080/08916934.2016.1261833.
29. Nazarova L.S., Danilko K.V., Malievsky V.A., et al. The role of the immune response mediator genes polymorphism in the predisposition to juvenile idiopathic arthritis. *Russian Open Medical Journal* 2019; 8: e0408. *Available at*: https://cyberleninka.ru/article/n/the-role-of-the-immune-response-mediator-genes-polymorphism-in-the-predisposition-to-juvenile-idiopathic-arthritis
30. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther* 2006; 8 (Suppl 2): S3. *Available at*: https://link.springer.com/article/10.1186/ar1917
31. Hurst S.M., Wilkinson T.S., McLoughlin R.M., et al. Il-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001; 14(6): 705–714. doi: 10.1016/S1074-7613(01)00151-0.
32. Peake N.J., Khawaja K., Myers A., et al. Interleukin-6 signalling in juvenile idiopathic arthritis is limited by proteolytically cleaved soluble interleukin-6 receptor. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(12): 1485–1489. doi: 10.1093/rheumatology/kel154.
33. Reich D., Patterson N., Ramesh V., et al. Admixture mapping of an allele affecting interleukin 6 soluble receptor and interleukin 6 levels. *Am J Hum Genet* 2007; 80(4): 716–726. doi:10.1086/513206.
34. Zhu J., Zhang D., Wu F., et al. Single nucleotide polymorphisms at the TRAF1/C5 locus are associated with rheumatoid arthritis in a Han Chinese population. *BMC Med Genet* 2011; 12: 53. doi: 10.1186/1471-2350-12-53.
35. Behrens E.M., Finkel T.H., Bradfield J.P., et al. Association of the TRAF1-C5 locus on chromosome 9 with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(7): 2206–2207. doi: 10.1002/art.23603.
36. Song G.G., Bae S.C., Kim J.H., Lee Y.H. Associations between TRAF1-C5 gene polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Immunol Invest* 2014; 43(2): 97–112. doi: 10.3109/08820139.2013.837917.
37. Pereira L.M.S, Gomes S.T.M, Ishak R., Vallinoto A.C.R. Regulatory T Cell and Forkhead Box Protein 3 as Modulators of Immune Homeostasis. *Front Immunol* 2017; 8:605. Available at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00605/full
38. Яцкив А.А., Злотникова М.В., Сукало А.В., Гончарова Р.И. Характерные особенности спектров HLA-аллелей классов I и II у пациентов с различными клиническими формами ювенильного идиопатического артрита в Республике Беларусь. *Доклады НАН Беларуси* 2020; 64(2): 209–216. doi: 10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216.
39. Ziaee V., Maddah M., Moradinejad M.H., et al. Association of interleukin-6 single nucleotide polymorphisms with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rheumatol* 2017; 36(1): 77–81. doi: 10.1007/s10067-016-3407-6.

References

1. Koval'chuk P.N. Differentsial'nyy diagnoz pri porazhenii sustavov. Osobennosti sustavnogo sindroma pri metabolicheskikh artritakh i osteoartroze. [Differential diagnosis of joint damage. Features of joint syndrome in metabolic arthritis and osteoarthritis] *Gomel': GomGMU [Gomel: Gomel State Medical University]* 2014. (In Russ.)
2. Gridneva R.I., Zakirov M.M., Koveshnikova N.A., i dr. Zabolevaniya sustavov u detey [Joint diseases in children]. *Voprosy organizatsii i informatizatsii zdravookhraneniya [Issues of organization and Informatization of healthcare]* 2016; (S): 103–105. (In Russ).
3. Bur'yanov O.A., Zadnichenko M.O., Pshenichniy T.Є., Sobolevs'kiy Yu.L. Osoblivosti rann'oї diagnostiki yuvenil'nogo revmatoїdnogo artritu. [Features of early diagnosis of juvenile rheumatoid arthritis]. *Ukraїns'kiy morfologichniy al'manakh [Ukrainian morphological almanac]* 2010; 8(3): 17–19. (In Ukr).
4. McInnes I.B., Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(6): 429–442. doi: 10.1038/nri2094.
5. Marinou I., Healy J., Mewar D., et al. Association of interleukin-6 and interleukin-10 genotypes with radiographic damage in rheumatoid arthritis is dependent on autoantibody status. *Arthritis Rheum* 2007; 56(8): 2549–2556. doi: 10.1002/art.22814.
6. Hinks A., Cobb J., Marion M.C., et al. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis. *Nat Gene*. 2013; 45(6): 664–669. doi: 10.1038/ng.2614.
7. Petty R.E., Southwood T.R., Manners P., et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004; 31(2): 390–392.
8. Sevost'yanov K.V., Alekseeva E.I., Chistyakov D.A. Assotsiatsiya genov, ne kodiruyushchikh komponenty glavnogo kompleksa gistosovmestimosti, s yuvenil'nym idiopaticheskim artritom [Contribution OF Non-HLA Genes to Juvenile Idiopathic Arthritis Susceptibility]. *Vestnik RAMN [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]* 2014; 69(9–10): 83–94. (In Russ.)
9. Yokosuka T., Kobayashi W., Takamatsu M., et al. Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity* 2010; 33(3): 326–339. doi:10.1016/j.immuni.2010.09.006.
10. Sharp R.C., Abdulrahim M., Naser E.S., Naser S.A. Genetic Variations of PTPN2 and PTPN22: Role in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes and Crohn's Disease. *Front Cell Infect Microbiol* 2015; 5:95. doi: 10.3389/fcimb.2015.00095.
11. Yao X., Huang J., Zhong H., et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol Ther* 2014; 141(2): 125–139. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.004.
12. Drutskaya M.S, Nosenko M.A, Atretkhany K.-S.N., i dr. Interleykin 6 – ot molekulyarnykh mekhanizmov peredachi signala k fiziologicheskim funktsiyam i terapevticheskim mishenyam [Interleukin 6 – from molecular mechanisms of signal transmission to physiological functions and therapeutic targets]. *Molekulyarnaya biologiya [Molecular biology]* 2015; 49(6): 937–943. (In Russ.)
13. Hsu F.C., Shapiro M.J., Dash B., et al. An Essential Role for the Transcription Factor Runx1 in T Cell Maturation. *Sci Rep* 2016; 6:23533. *Available at:* www.nature.com/articles/srep23533
14. Gavin M.A., Rasmussen J.P., Fontenot J.D., et al. Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature* 2007; 445(7129): 771–775. doi: 10.1038/nature05543.
15. Kurreeman F.A.S., Goulielmos G.N., Alizadeh B.Z., et al. The *TRAF1-C5* region on chromosome 9q33 is associated with multiple autoimmune diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2010; 69: 696-699. doi: 10.1136/ard.2008.106567.
16. Yatskiu H.A., Savina N.V., Nikitchenko N.V., et al. Genetic susceptibility to juvenile idiopathic arthritis in the belarusian population: gene-gene interactions analysis. *Ecological genetics* 2019; 17(4): 65–76. doi: 10.17816/ecogen17465-76.
17. Yatskiu H.A., Kuzhir T.D., Sechko E.V., i dr. Polimorfizm genov immunnogo i vospalitel'nogo otveta u detey s sustavnym sindromom. [Polymorphism Of Immune And Inflammatory Response Genes In Children With Articular Syndrome]. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika [Molecular and applied genetics]* 2019; 27: 5–16. (In Russ.)

18. VassarStats: Website for Statistical Computation. *Available at*: http://vassarstats.net/index.html *Accessed*: 13.07.2020.
19. Hunter C.A., Jones S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease [published correction appears in Nat Immunol. 2017 Oct 18;18(11):1271]. *Nat Immunol* 2015; 16(5): 448–457. doi: 10.1038/ni.3153.
20. Hirano T., Matsuda T., Turner M., et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1988; 18(11): 1797–1801. doi: 10.1002/eji.1830181122.
21. Dasgupta B., Corkill M., Kirkham B., et al. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1992; 19(1): 22–25.
22. de Lima C.A.D, Rushansky E., Adelino J.E., et al. Are key cytokines genetic and serum levels variations related to rheumatoid arthritis clinical severity? *Gene* 2020; 722: 144098. *Available at:* https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111919307577
23. Fishman D., Faulds G., Jeffery R., et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102(7): 1369–1376. doi: 10.1172/JCI2629.
24. Ogilvie E.M., Fife M.S., Thompson S.D., et al. The -174G allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: a multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families. *Arthritis Rheum* 2003; 48(11): 3202–3206. doi: 10.1002/art.11300.
25. Siniauskaya E., Kuzhir T., Yagur V., Goncharova R. IL6 −174G/C (rs1800795) Polymorphism Rather than IL6R (rs2228145 and rs4845618) Polymorphisms is Associated with Susceptibility to Rheumatoid Arthritis in the Belarusian Population. *J Genet Genomic Sci* 2020; 5:015. *Available at*: https://www.heraldopenaccess.us/open-access/il6-174g-c-rs1800795-polymorphism-rather-than-il6r-rs2228145-and-rs4845618-polymorphisms-is-associated-with-susceptibility-to-rheumatoid-arthritis-in-the-belarusian-population
26. Amr K., El-Awady R., Raslan H. Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) Interleukin 6 Gene Polymorphisms in Egyptian Patients with Rheumatoid Arthritis. *Open Access Maced J Med Sci* 2016; 4(4): 574–577. doi: 10.3889/oamjms.2016.110.
27. Li X., Chai W., Ni M., et al. The effects of gene polymorphisms in interleukin-4 and interleukin-6 on the susceptibility of rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 265435. *Available at:* https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/265435/
28. Dar S.A., Haque S., Mandal R.K., et al. Interleukin-6-174G > C (rs1800795) polymorphism distribution and its association with rheumatoid arthritis: A case-control study and meta-analysis. *Autoimmunity* 2017; 50(3): 158–169. doi:10.1080/08916934.2016.1261833.
29. Nazarova L.S., Danilko K.V., Malievsky V.A., et al. The role of the immune response mediator genes polymorphism in the predisposition to juvenile idiopathic arthritis. *Russian Open Medical Journal* 2019; 8: e0408. *Available at*: https://cyberleninka.ru/article/n/the-role-of-the-immune-response-mediator-genes-polymorphism-in-the-predisposition-to-juvenile-idiopathic-arthritis
30. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther* 2006; 8 (Suppl 2): S3. *Available at*: https://link.springer.com/article/10.1186/ar1917
31. Hurst S.M., Wilkinson T.S., McLoughlin R.M., et al. Il-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001; 14(6): 705–714. doi: 10.1016/S1074-7613(01)00151-0.
32. Peake N.J., Khawaja K., Myers A., et al. Interleukin-6 signalling in juvenile idiopathic arthritis is limited by proteolytically cleaved soluble interleukin-6 receptor. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(12): 1485–1489. doi: 10.1093/rheumatology/kel154.
33. Reich D., Patterson N., Ramesh V., et al. Admixture mapping of an allele affecting interleukin 6 soluble receptor and interleukin 6 levels. *Am J Hum Genet* 2007; 80(4): 716–726. doi:10.1086/513206.
34. Zhu J., Zhang D., Wu F., et al. Single nucleotide polymorphisms at the TRAF1/C5 locus are associated with rheumatoid arthritis in a Han Chinese population. *BMC Med Genet* 2011; 12: 53. doi: 10.1186/1471-2350-12-53.
35. Behrens E.M., Finkel T.H., Bradfield J.P., et al. Association of the TRAF1-C5 locus on chromosome 9 with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(7): 2206–2207. doi: 10.1002/art.23603.
36. Song G.G., Bae S.C., Kim J.H., Lee Y.H. Associations between TRAF1-C5 gene polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Immunol Invest* 2014; 43(2): 97–112. doi: 10.3109/08820139.2013.837917.
37. Pereira L.M.S, Gomes S.T.M, Ishak R., Vallinoto A.C.R. Regulatory T Cell and Forkhead Box Protein 3 as Modulators of Immune Homeostasis. *Front Immunol* 2017; 8:605. Available at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00605/full
38. Yatskiu H. A., Zlotnikova M. V., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Harakternye osobennosti spektrov HLA-allelej klassov I i II u pacientov s razlichnymi klinicheskimi formami juvenil'nogo idiopaticheskogo artrita v Respublike Belarus'. [Characteristic spectra of class I and II HLA-alleles in patients with different clinical forms of juvenile idiopathic arthritis in the Republic of Belarus]. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus]* 2020; 64(2): 209–216. doi: 10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216. (In Russ.)
39. Ziaee V., Maddah M., Moradinejad M.H., et al. Association of interleukin-6 single nucleotide polymorphisms with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rheumatol* 2017; 36(1): 77–81. doi: 10.1007/s10067-016-3407-6.