

6. Охотникова Е.Н., Шарикадзе Е.В. Бронхолегочная дисплазия как предиктор формирования хронической патологии органов дыхания у детей // Здоровье ребенка. - Киев, 2009. - № 5. - С. 20.

7. Самохин П.А., Четкина Ю.В. Морфологические аспекты бронхолегочной дисплазии: мат-лы V Межрегион. науч.-практ. конф. патологоанатомов Урала и Западной Сибири. - 2001.

Координаты для связи с авторами: *Игнатьева Анна Владимировна* – ассистент кафедры педиатрии ЧГМА, тел.: +7-(9145)-07-44-56, e-mail: annai78@yandex.ru; *Гаймоленко Инесса Никандровна* – профессор, доктор мед. наук, зав. кафедрой педиатрии ЧГМА; *Баранчугова Лариса Михайловна* – доцент кафедры гистологии ЧГМА; *Панченко Александра Сергеевна* – декан педиатрического факультета, канд. мед. наук, зав. кафедрой пропедевтики детских болезней ЧГМА.

8. Смагин А.Ю., Чернышев А.К. Бронхолегочная дисплазия у новорожденных // Анестезиология и реаниматология. - 2004. - № 1.- С. 71-74.

9. Шабалов Н.П. Современная терапия в неонатологии. - М.: МЕДпресс-информ, 2000.

10. Thomas W., Speer C.O. Bronchopulmonale Dysplasie. Fruehgeborener Epidemiologie, Pathogenese und Therapie // Monatsschrift Kinderheilkd. - 2005. - № 153. - С. 211-219.



УДК 612.017.11:616.61-002.3:616-053.37

Е.П. Батаева

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И СОДЕРЖАНИЯ СУБКЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ПОСТСТРЕПТОКОККОВЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ, ИМЕЮЩИХ В ГЕНОТИПЕ ПОЛИМОРФИЗМ C589T ГЕНА IL-4

Читинская государственная медицинская академия, 672090, ул. Горького, д. 39а, тел.: 8-(3022)-32-00-85, e-mail: pochta@medakadem.chita.ru, г. Чита

Резюме

Мы обследовали 24 ребенка с острым постстрептококковым гломерулонефритом, у которых определен полиморфизм C589T гена IL-4, а также выявлены содержание IL-4, субклассов иммуноглобулина G (G₁, G₂, G₃, G₄) и отмечены особенности клинического течения заболевания у носителей полиморфизма. Установлено, что полиморфизм C589T гена IL-4 обуславливает повышенный риск развития ОПГН у обладателей генотипа T/T. При ОПГН аллель C589T оказал влияние на степень тяжести заболевания и способствовал высокому риску возникновения осложнений. У детей с ОПГН в начальном периоде наблюдений увеличена концентрация IgG₃, снижено содержание IgG₁. У больных, имеющих в генотипе полиморфизм C589T гена IL-4, концентрация IgG₁, IgG₂ ниже, чем у детей, не имеющих полиморфных аллелей исследуемого гена, и сохраняется таковой в течение всего периода наблюдения.

Ключевые слова: острый постстрептококковый гломерулонефрит у детей, полиморфизм C589T гена IL-4, иммуноглобулины, клинический индекс.

Е.Р. Batayeva

CLINICAL COURSE CHARACTERISTICS AND SUBCLASSES IMMUNOGLOBULIN G CONCENTRATION IN CHILDREN WITH ACUTE POST-STREPTOCOCCAL GLOMERULONEPHRITIS WITH POLYMORPHISM OF GENOTYPE C589T OF IL 4 GENE

Chita state medical academy, Chita City

Summary

We studied 24 children with acute post-streptococcal glomerulonephritis, with polymorphism of IL 4 gene, and concentration of IL-4, subclasses immunoglobulin G (G₁, G₂, G₃, G₄) and particular clinical disease progression in children with polymorphism. In acute post streptococcal glomerulonephritis polymorphism aggravates severity of the disease and risk of its development. It was found out that C589T polymorphism of IL 4 gene increases the risk of development of acute post streptococcal glomerulonephritis in children with genotype T/T. In children with glomerulonephritis C589T polymorphism of IL-4 IgG₃ concentration increased, IgG₁ – decreased. In children with APSG at the beginning of the study there was a higher concentration of IgG₃, lower content of IgG₁. In patients with genotype polymorphism C589T gene IL-4, polymorphism alleles of the studied gene is observed, it remains stable throughout the period of the study.

Key words: acute post streptococcal glomerulonephritis in children, polymorphism C589T of IL-4 gene, immunoglobulins, clinical index.

Одним из современных подходов к предупреждению развития той или иной иммунопатологии является генетическое прогнозирование риска ее формирования. Для всех иммунокомпетентных молекул показан полипептидный и, соответственно, генетический полиморфизм. Несмотря на то, что для расшифровки генетического детерминирования мультифакториальных заболеваний более правильно использовать изучение генетических цепей, ассоциированных с основными звеньями патогенеза исследуемой патологии, поиск отдельных маркеров болезни также имеет практическое значение [2, 3]. Знание механизмов, посредством которых на клеточном и биохимическом уровне реализуется патологический эффект различных мутаций, является необходимым условием для выбора оптимальной стратегии идентификации соответствующих генных дефектов, понимания особенностей иммунопатогенеза и проявлений заболеваний, а также для профилактики и разработки новых эффективных методов лечения.

Известно, что в пределах каждой популяции у индивидуумов имеются наследственные вариации в последовательности ДНК, называемые полиморфизмами, которые встречаются в человеческом геноме с частотой 1 на 1000 пар оснований. Несмотря на столь высокую распространенность, лишь небольшая из них является функционально значимой, т.е. приводит к изменению продукции белков, тем самым определяя индивидуальный ответ организма на повреждающие факторы [9, 10].

Патогенез острого постстрептококкового гломерулонефрита (ОПГН, ОГН) продолжает оставаться предметом постоянных исследований в детской нефрологии, и в настоящее время рассматривается ряд гипотез о ведущих механизмах развития болезни, одной из них является гипотеза об участии IgG Fc-рецепторах – стрептококков группы А, относящихся к семейству М-белков вирулентности [5, 6, 11]. Заболевание возникает далеко не у каждого ребенка, перенесшего ангину или пиодермию, при этом течение острого гломерулонефрита может отличаться у больных одинаковых возрастных групп [8].

Целью исследования явилось изучение влияния полиморфизма С589Т гена IL-4 на особенности течения и содержание подклассов иммуноглобулинов G (G₁, G₂, G₃, G₄) у детей с острым постстрептококковым гломерулонефритом.

Материалы и методы

Обследовано 24 ребенка с ОПГН в возрасте от 4 до 15 лет (11 девочек и 13 мальчиков). Средние сроки лечения в стационаре составили 23 койко-дня. Диагноз был выставлен на основании анамнеза, принятых клинических и лабораторных критериев. Все больные находились на стандартной медикаментозной терапии. Исследуемым материалом для анализа явились цельная венозная кровь и буккальный эпителий. Забор крови проводился при поступлении в стационар, то есть в период активных проявлений, а также к моменту выписки – период обратного развития. Контрольную группу составили 96 здоровых детей соответствующего возраста и пола.

Исследован экзонный полиморфизм гена интерлейкина 4, влияющий не на структуру, а на функциональную активность этой иммунокомпетентной клетки, причем мутантным является Т-аллель, а С – диким. Мутация С589Т в гене IL-4 является точковой и затрагивает регуляторные последовательности.

Выделение ДНК осуществлялось при помощи наборов «ДНК-экспресс кровь» (НПФ «Литех», Москва). Детекция продуктов амплификации осуществлялась электрофоретическим способом.

Для оценки степени тяжести болезни нами были разработаны клинические индексы (КИ), в основу которых легла балльная оценка выраженности синдромов заболевания: отечный, болевой, артериальной гипертензии, мочевого, а также степень нарушения почечных функций (НПФ).

Определение концентрации подклассов IgG проводили методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Статистическая обработка полученных данных осуществлена при помощи электронной программы (Microsoft Office 2003 for Windows XP Professional, STATISTICA 6.0 (Stat. Soft. Inc. США) и с определением достоверности различий при значении $p < 0,05$. Для сравнения частот при нормальном распределении признака применялся критерий Стьюдента. Для оценки непараметрических не связанных между собой показателей использовали критерий Манна-Уитни, связанных – критерий Уилкоксона. При расчете корреляционных связей использовали коэффициент Пирсона. Соответствие наблюдаемых распределений частот генотипов, теоретически ожидаемым по уравнению Харди-Вайнберга, оценивали с использованием критерия χ^2 . Для оценки ассоциаций рассчитывали относительный риск (OR).

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что в группе больных ОПГН мутация С589Т в гене IL-4 выявлена в 7 случаях, из них 4 ребенка явились гетерозиготами и 3 – гомозиготами по данному аллелю. При оценке аллелей и генотипов у больных ОПГН и здоровых детей Забайкалья выявлен повышенный риск развития заболевания у обладателей генотипа Т/Т. В сравнении с группой контроля, встречаемость генотипа С/Т у больных оказалась существенно ниже, что расценено как фактор устойчивости к развитию данной патологии (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера С-589Т гена IL-4 у больных с острым гломерулонефритом в сравнении с контрольной группой

Генетический маркер	Контроль (n=66)	Больные ОПГН (n=23)	P	OR
Аллель С	0,788	0,792	>0,05	1,02
Аллель Т	0,212	0,208	>0,05	0,07
Генотип С/С	0,64	0,71	>0,05	1,39
Генотип С/Т	0,3	0,17	>0,05	0,46
Генотип Т/Т	0,06	0,12	<0,05	2,21

Нами установлено, что у детей с острым гломерулонефритом концентрация IL-4 превышала нормальные значения, и к концу госпитализации отмечалась тенденция к повышению его уровня ($50,6 \pm 4,8$ пкг/мл – при поступлении и $60,13,9$ пкг/мл – к моменту выписки в сравнении с $34,3 \pm 2,8$ пкг/мл у здоровых детей; $p < 0,001$). Причем увеличение показателя осуществлялось за счет пациентов, не имеющих мутантного гена, в то время как уровень интерлейкина у его носителей в начале заболевания оставался нормальным, умеренно нарастая к концу лечения ($40,5 \pm 7,0$ и $45,0 \pm 2,9$ пкг/мл соответственно).

Итак, наличие в промоторном регионе аллельного варианта C589T не повлияло на активацию синтеза контрвоспалительного IL-4 в условиях иммунного повреждения почечной паренхимы постстрептококковой природы. Предположительно, это связано с локализацией мутантного аллеля в промоторной области гена и, как следствие, с нарушением экспрессии лимфокина с последующим изменением синтеза иммуноглобулинов, а также торможением чувствительности клеточной мишеней к действию IL-4.

При оценке клинического течения гломерулонефрита выяснилось, что значения клинических индексов прямо пропорциональны степени тяжести состояния. Все дети с С/Т полиморфизмом в гене IL-4 имели комбинированные нарушения почечных функций (фильтрационной, водовыделительной и концентрационной), сопровождающиеся отеками различной степени выраженности, артериальной гипертензией во всех случаях; больные с Т/Т полиморфизмом исследуемого интерлейкина – почечную недостаточность острого периода. У одного ребенка наблюдались клинические и рентгенологические симптомы отека легкого. Среди пациентов, не имеющих в своем генотипе каких-либо полиморфных аллелей из исследуемых, 4 детей не имели осложнений и НПФ, 7 – парциальные или комбинированные нарушения и 5 – почечную недостаточность острого периода. Балльная оценка состояния пациентов показала, что у детей-носителей исследуемого полиморфизма КИ составил $7,1 \pm 0,6$, а у больных сравнимой группы $-5,4 \pm 0,5$ ($p = 0,046$).

Таким образом, идентификация наследственных предикторов, способствующих тяжелому течению заболевания, позволяет выделить среди больных группу высокого риска в возникновении осложнений ОПГН, что, вероятно, связано и с особенностями иммунологической реактивности таких пациентов. Являясь продуктом Т-лимфоцитов, IL-4 выступает в качестве антагониста Т-активирующих цитокинов, способствуя поляризации иммунного ответа в направлении гуморального типа реагирования.

Концентрация подкласса IgG₁ при ОПГН отличалась от контроля на протяжении всего периода исследования, причем у больных, имеющих мутантный ген IL-4, выявлено уменьшение уровня IgG₁ более чем в два раза в сравнении с группой, неотягощенной данным полиморфизмом. Сниженный показатель IgG₁ в сравнимой группе сохранялся до периода обратного развития (табл. 2).

Выявлено, что содержание IgG₂ при ОПГН оставалось нормальным в течение всего периода госпитализации,

составив $2,9 \pm 0,3$ и $3,05 \pm 0,3$ мг/мл соответственно ($p > 0,05$), однако у носителей полиморфизма в гене IL-4 концентрация его оказалась ниже, чем у детей, не имеющих мутации ($p < 0,005$). В конце наблюдения содержание IgG₂ повышалось в указанной группе, но все же оставалось ниже, чем у пациентов-носителей полиморфного гена ($p < 0,05$) (табл. 2). Данный подкласс имеет выраженную устойчивость к действию протеаз стрептококка в результате незначительного размера «шарнирной области». Больные, имеющие полиморфизм в гене IL-4, вероятно, отличались низкой способностью осуществления эффекторных функций IgG₂ вследствие его низких значений.

Таблица 2

Содержание подклассов иммуноглобулина G у детей с ОПГН, имеющих и не имеющих полиморфизм C589T в гене IL-4

Показатель	Контроль (n=30)	Больные ОПГН (n=24)		Больные без мутаций (n=16)		Мутация C589T в гене IL-4 (n=7)	
		в начале лечения	в конце лечения	в начале лечения	в конце лечения	в начале лечения	в конце лечения
IgG ₁	$6,3 \pm 0,4$	$3,4 \pm 0,3$ $p_1 < 0,05$	$3,9 \pm 0,5$ $p_1 < 0,005$	$4,7 \pm 0,4$ $p_1 < 0,05$	$5,0 \pm 0,5$ $p_1 > 0,05$	$2,0 \pm 0,6$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,005$	$2,8 \pm 0,2$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,005$
IgG ₂	$3,6 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,2$	$3,05 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,3$ $p_1 > 0,05$	$3,5 \pm 0,2$ $p_1 > 0,05$	$1,9 \pm 0,1$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,005$	$2,4 \pm 0,2$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,05$
IgG ₃	$0,4 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,2$ $p_1 < 0,001$	$0,75 \pm 0,1$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,05$	$1,3 \pm 0,2$ $p_1 < 0,001$	$0,8 \pm 0,2$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	$1,0 \pm 0,3$ $p_1 < 0,001$	$0,7 \pm 0,2$ $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
IgG ₄	$0,1 \pm 0,04$	$0,2 \pm 0,02$ $p_1 < 0,05$	$0,08 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,07$ $p_1 < 0,05$	$0,1 \pm 0,02$ $p_1 > 0,05$ $p_3 < 0,001$	$0,2 \pm 0,02$ $p_1 < 0,05$	$0,1 \pm 0,01$ $p_1 > 0,05$ $p_3 < 0,001$

Примечания. p_1 – достоверность различий в сравнении с контролем; p_2 – достоверность различий в сравнении с группой, не имеющей мутации; p_3 – достоверность различий в сравнении с началом заболевания.

Уровень IgG₃ в период активных проявлений повышался в три раза и снижался к моменту обратного развития симптомов заболевания в сравнении с показателем здоровых детей. IgG₃ умеренно коррелировал со степенью нарушения почечных функций и с выраженностью клинических синдромов – самые низкие показатели отмечались у больных, имеющих только мочевого синдром и отсутствие нарушения почечных функций ($r = 0,53$; $p < 0,04$). Значимых различий в содержании IgG₃ в зависимости от присутствия исследуемой мутации не обнаружено.

Уровень IgG₄ у пациентов с ОПГН в начале лечения повышался в два раза в сравнении со здоровыми детьми и не отличался внутри исследуемых групп. Показатель IgG₄ у всех пациентов в начале болезни повышался по сравнению с контрольным и не отличался внутри исследуемых групп. К концу заболевания уровень субкласса приходил к норме, что, вероятно, связано с необходимостью и способностью антител IgG₄ защищать поверхность эпителия гломерул от повреждающих эффектов, вызываемых комплемент-фиксирующими субклассами IgG и токсинами патологического агента,

которых в период активных проявлений значительно больше, чем в период обратного развития и выздоровления [1, 4]. Помимо антител-блокирующего, данный подкласс обладает анафилактическим действием, вызывая сенсibilизацию к антигенам, которая при завершении патологического процесса уменьшается [7].

Таким образом, ингибирующее влияние полиморфизма в гене IL-4 на концентрацию субклассов IgG в крови обследуемых пациентов можно считать результатом поляризации иммунного ответа в сторону клеточного звена. При этом снижение уровня IgG₁, IgG₃, возможно, является результатом снижения количества В-лимфоцитов, происходящего в результате недостаточной экспрессии противовоспалительного IL-4. Полученные данные свидетельствуют о влиянии полиморфизма C589T в гене IL-4 на некоторые показатели иммунитета при ОПГН и особенности течения заболевания у детей.

Выводы

1. Полиморфизм C589T гена IL-4 влияет на риск развития острого постстрептококкового гломерулонефрита, причем генотип T/T является фактором риска, а генотип C/T – фактором устойчивости в развитии данного заболевания.

2. Мутация C589T в гене IL-4 не изменяет концентрации в крови данного интерлейкина в период активных проявлений ОГН.

3. Полиморфизм C589T гена IL-4 (генотипы C/T и T/T) способствует более тяжелому течению и высокому риску возникновения осложнений при ОПГН.

4. У детей с ОПГН снижено содержание IgG₁ и повышено – IgG₃. У больных, имеющих в генотипе полиморфизм C589T гена IL-4, концентрация IgG₁, IgG₂ ниже, чем у детей, не имеющих полиморфных аллелей исследуемого гена, и сохраняется таковой в течение всего периода наблюдения.

Литература

1. Андросова, М.В., Годков М.А. Свойства, клиническая значимость субклассов IgG // Лабораторная диагностика. - 2006. - № 5. - С. 12-18.
2. Белоусова А.И., Витковский Ю.А., Логунов Н.А. и др. Полиморфизм гена P21 как фактор риска первичной открытоугольной глаукомы среди населения Забайкальского края // Забайкальский мед. вестник. - 2009. - № 3. - С 19-21.
3. Иллариошкин С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование. - М.: Мед. информ. агентство, 2004. - 207 с.
4. Офицеров В.И. Подклассы иммуноглобулина G: возможности использования в диагностической практике: метод. пособие. - Кольцово: Вектор-Бест, 2005. - 25 с.
5. Папаян А.В., Савенкова Н.Д. Клиническая нефрология детского возраста: рук-во для врачей. - СПб.: Левша, 2008. - 600 с.
6. Тоголян А.А., Бутова Л.А. Критический анализ предполагаемых механизмов патогенеза постстрептококкового гломерулонефрита // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2001. - Т. 3, № 4. - С. 316-323.
7. Чеботарева В.Д., Багдасарова И.В. Циркулирующие иммунные комплексы и показатели клеточного и гуморального иммунитета при пиело- и гломерулонефрите у детей // Педиатрия. - 2006. - № 6. - С. 11-13.
8. Шишкин А.Н. Гломерулонефрит. Часть II. Острый постстрептококковый гломерулонефрит у детей // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. - 2005. - № 3. - С. 19-25.
9. Arcos-Burgos M. Genetics of population isolates // M. Arcos-Burgos, M. Muenke // Clin. Genet. - 2002. - Vol. 61. - P. 233-247.
10. Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C / M. J. Bahr [et al.] // Liver Int. - 2003. - Vol. 23. - P. 420-425.
11. Pre-existing glomerular immune complexes induce polymorphonuclear cell recruitment through an Fc receptor-dependent respiratory burst: potential role in the perpetuation of immune nephritis / Y. Suzuki [et al.] // J. Immunol. - 2003. - Vol. 170. - P. 3243-3253.

Координаты для связи с автором: Батаева Елена Петровна – канд. мед. наук, ассистент кафедры педиатрии детских болезней ЧГМА, тел.: +7-924-384-71-00, e-mail: Bataeva73@mail.ru.

