

4. Дудникова Э.В., Харламова А.В. Эндогенная интоксикация у детей с хроническим гастроуденитом и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 2 (125). – С. 42-45.

5. Налётот А.В. Вплив токсигенних штамів *Helicobacter pylori* на тяжкість перебігу хронічної гастроуденальної патології у дітей // Здоров'я ребенка. – 2014. – № 8 (59). – С. 24-28.

6. Шадрин О.Г., Зайцева Н.Е., Гарынычева Т.А. *Helicobacter pylori* у детей: современные подходы к диагностике и пути оптимизации терапии // Современная педиатрия. – 2014. – Т. 5, № 61. – С. 119-127.

7. Opal S.M. Endotoxins and other sepsis triggers // Contrib. Nephrol. – 2010. – Vol. 167. – P. 14-24.

8. Sepulveda A.R. *Helicobacter*, Inflammation, and Gastric Cancer // Curr. Pathobiol. Rep. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 9-18.

Literature

1. Abdullina E.V. Peculiarities of chronic *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal pathology development in children depending on genetic peculiarities of the microorganism // Practical medicine. – 2012. – № 3 (58). – P. 41-44.

2. Bondarenko V.M., Likhoded V.G. Role of gut microorganisms endotoxin on the physiology and pathology in human organism // Bulletin of Orenburg scientific center YrO RAC. – 2013. – № 3. – P. 3.

3. Golbraikh V.A., Maskin S.S., Matyukhin V.V. Pathogenesis of endogenous intoxication syndrome in patients with acute intestinal obstruction // Astrakhan medical journal. – 2013. – Vol. 8, № 3. – P. 8-12.

4. Dudnikova E.V., Kharlamova A.V. Endogenous intoxication in children with chronic gastroduodenitis and

gastroesophageal reflux disease // Kuban scientific medical bulletin. – 2011. – № 2 (125). – P. 42-45.

5. Nalotov A.V. Вплив токсигенних штамів *Helicobacter pylori* на тяжкість перебігу хронічної гастроуденальної патології у дітей // Children health. – 2014. – № 8 (59). – P. 24-28.

6. Shadrin O.G., Zaitseva N.E., Garinicheva T.A. *Helicobacter pylori* in children: modern approach in diagnosis and ways of therapy optimization // Modern pediatry. – 2014. – Vol. 5, № 61. – P. 119-127.

7. Opal S.M. Endotoxins and other sepsis triggers // Contrib. Nephrol. – 2010. – Vol. 167. – P. 14-24.

8. Sepulveda A.R. *Helicobacter*, Inflammation, and Gastric Cancer // Curr. Pathobiol. Rep. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 9-18.

Координаты для связи с авторами: Налётот Андрей Васильевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры педиатрии и детских инфекций Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, тел. +3-(095)-123-49-99, e-mail: nalyotov-a@mail.ru.



УДК 612.017.11:616.61-002.3:616-053.37

Е.П. Батаева

УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА G308A В ГЕНЕ TNF-А

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

Резюме

Обследованы 36 детей, страдающих обструктивными и необструктивными пиелонефритами и 100 здоровых детей соответствующего возраста и пола, проживающих в Забайкальском крае. Проведена сравнительная характеристика частоты встречаемости полиморфизма G308A гена TNFα между здоровыми и больными детьми. Изучен уровень иммуноглобулинов А, М, подклассов G у представителей исследуемых групп, а также попытка выявить особенности клинического течения пиелонефритов в зависимости от факта носительства изучаемого полиморфизма. Исследования показали, что вариант AA исследуемого гена является фактором риска развития обструктивных пиелонефритов и нефросклероза. Полиморфизм гена TNFα (G308A) играет роль в повышенном содержании IgA в конце лечения. Одновременно влияния полиморфного аллеля на тяжесть состояния при пиелонефритах у детей не отмечено.

Ключевые слова: пиелонефрит у детей, полиморфизм генов цитокинов, генотип, иммуноглобулины, клинический индекс, нефросклероз, иммунитет.

IMMUNOGLOBULIN LEVEL IN PYELONEPHRITIS IN CHILDREN ACCORDING TO THE CONTENT OF POLYMORPHISM G308A IN GENE TNF-A

Chita State Medical Academy, Chita

Summary

The authors studied 36 children with obstructive and non obstructive and 100 healthy children of the corresponding age and sex, living in Zabaykalsky Krai. A comparative analysis of incidence of polymorphism G308A gene TNF-a between healthy and sick children was performed. The authors studied immunoglobulins rate A, M, subclasses G in both groups, with an attempt to educe peculiarity of pyelonephritis course depending on the studied polymorphism. The stud showed that the variant AA under investigation gene is a risk factor for development of obstructive pyelonephritis and nephrosclerosis. Polymorphism of genes TNF-a (G308A) plays a certain role in high concentration of IgA at the end of treatment. At the same time, influence polymorphous allele on severity resolution of pyelonephritis in children was not confirmed.

Key words: pyelonephritis in children, polymorphism of genes of cytokine genotype, a clinical index, nephrosclerosis.

Пиелонефриты продолжают занимать лидирующие позиции в структуре почечной патологии детского возраста. Высока вероятность перехода в хронический процесс с развитием нефросклероза и утратой функционального состояния почки. Важную роль в возникновении и прогрессировании мультифакториальных заболеваний играют сочетание вариантов генов, реализуемых полигенной системой, ответственной за формирование иммунного ответа в сочетании с воздействием разнообразия факторов внешней и внутренней среды [4]. Несмотря на высокую распространённость наследственных вариаций в последовательности ДНК, лишь небольшая из них является функционально значимой, т. е. может привести к изменению продукции белков, в частности иммуноглобулинов, тем самым, определяя индивидуальный ответ организма на повреждающие факторы [6].

Многообразие уже известных факторов, запускающих и индуцирующих склерозирование и фиброз почечной ткани, не снижают степень интереса исследователей к проблеме.

TNF α – провоспалительный и иммунорегуляторный цитокин, синтезируемый моноцитами, макрофагами и Т-клетками. Играет существенную роль в регуляции функционального состояния эндотелия, механизмов апоптоза, развития и поддержания воспалительной реакции, стимулируя продукцию провоспалительных интерлейкинов, активируя лейкоциты. Изучаемый полиморфизм G308A находится в промоторной области гена TNF α . Ген TNF α , секвенированный и клонированный в 1985 году, локализованный на коротком плече 6-й хромосомы, состоит из четырех экзонов, продолжает привлекать внимание генетиков и клиницистов [2, 3].

Целью работы явилось исследование риска развития, особенностей течения пиелонефритов, содержания иммуноглобулинов у детей при данной патологии с полиморфизмом G308A в гене TNF α .

Материалы и методы

Клиническую группу составили 36 детей с пиелонефритами обоего пола в возрасте от 3 до 12 лет (29 девочек и 7 мальчиков), проживающих в Забайкальском крае. Средние сроки лечения в стационаре составили 15 $\pm$ 2,0 дней. У 20 больных пиелонефритом при дополнительном обследовании выявлены нарушения нормальной гидродинамики мочи вследствие наличия

пузырно-мочеточникового-лоханочного рефлюкса, нефроптоза. Исследование уровня иммуноглобулинов А, М, подклассов G проводилось в активную стадию (до начала антибактериальной терапии) и периоде обратного развития. Материалом для исследования явились цельная венозная кровь и буккальный эпителий.

При определении концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови использовались наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) с помощью метода твердофазного ИФА. Идентификация аллелей полиморфных маркеров гена TNF α , проводилась с использованием полимеразной цепной реакции с использованием реактивов «Литех» (Москва). Детекция продуктов амплификации осуществлялась электрофоретическим способом. Нами исследован экзонный полиморфизм гена TNF α , при этом аллель G – является диким аллелем, а А – мутантным.

С целью оценки выраженности воспалительного процесса были разработаны клинические индексы (КИ), в основу которых положена балльная шкала (от 0 до 3) степени выраженности синдромов заболевания: интоксикации, поясничных и/или абдоминальных болей, мочевого синдрома (лейкоцитурия, бактериурия, гематурия, протеинурия), дизурические расстройства и степень выраженности нарушения почечных функций.

Контрольную группу составили 100 здоровых детей, проживающих в Забайкальском крае и соответствующих по возрасту и полу клинической группе.

Статистическая обработка полученных данных осуществлена при помощи электронной программы (Microsoft Office 2003 for Windows XP Professional, STATISTICA 6.0 (Stat. Soft. Inc. США)) с определением достоверности различий при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Для сравнения частот при нормальном распределении признака применялся критерий Стьюдента. При ненормальном распределении признака для не связанных и связанных между собой признаков использовались критерии Манна-Уитни и Уилкоксона (U-тест) соответственно. Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий Пирсона. Соответствие наблюдаемых распределений частот генотипов, теоретически ожидаемым по уравнению Харди-Вайнберга оценивали с использованием критерия χ^2 . При попарном сравнении частот генотипов и аллелей между собой использовали точный критерий Фишера. Для оценки ассоциаций рассчитывали относительный риск (OR).

Результаты и обсуждение

Установлено, что среди здоровых детей, проживающих в Забайкальском крае, частота встречаемости полиморфизма TNF α (G308A) составила 20 % – все они явились носителями гетерозиготного варианта, гомозиготных вариантов выявлено не было (табл. 1). Различий по половому и возрастному признакам в распределении частот и генотипов не выявлено.

Среди больных пиелонефритами 7 детей оказались носителями полиморфного маркера G308A гена TNF α , что составило 19,4 %, при этом 5 пациентов явились обладателями гетерозиготных вариантов (13,9 %), а у 2 больных (5,55 %) установлено гомозиготное носительство полиморфизма изучаемого гена. Расчёт отношения шансов (OR) выявил отрицательную ассоциацию аллеля G и генотипа G/A с пиелонефритами ($p < 0,05$), что было расценено, как фактор резистентности к развитию заболевания. Учитывая отсутствие гомозиготных вариантов по данному аллелю в группе контроля, отмечена положительная ассоциация генотипа A/A в развитии обструктивных пиелонефритов, что дало основание обозначить его, как фактор риска развития данной патологии у детей (табл. 1). Наблюдения показали, что в течение достаточно небольшого срока у пациентов-носителей варианта A/A гена TNF α выявилось и прогрессировало сморщивание почек, несмотря на регулярное наблюдение и выполнение своевременно назначенных рекомендаций, что дает право рассматривать данный генотип в качестве маркера нефросклероза при обструктивных нефропатиях. Полученные факты дают основание предполагать прогрессию заболевания у больных с нарушением уродинамики за счет экспрессии генов, кодирующих повышенную продукцию факторов роста, с последующей моноклеарной инфильтрацией интерстиция, накопления свободных радикалов и перекиси водорода в ткани, усиления внутрисосудистых нарушений с повреждением клеток почек под влиянием провоспалительных цитокинов, провоцируя фиброгенез [2].

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера G308A гена TNF α у больных с пиелонефритами в сравнении с контрольной группой

Генетический маркер	Контрольная группа (n=70)	Больные ПН (n=36)	P	OR
Аллель G	0,9	0,12	$>0,05$	0,77
Аллель A	0,1	0,87	$<0,05$	1,28
Генотип G/G	0,8	0,80	$>0,05$	0,90
Генотип G/A	0,2	0,13	$>0,05$	0,64
Генотип A/A	0	0,05	$<0,05$	10,2

Примечание. p – значимость различий по отношению к группе контроля.

Уровень сывороточного IgA у больных пиелонефритами, имеющих полиморфизм G308A в гене TNF α , при поступлении сохранялся на нормальных цифрах в сравнении с детьми, не имеющих полиморфизма, однако в периоде стихания показатель заметно нарастал до $3,7 \pm 0,3$ мг/мл в сравнении с началом лечения ($p < 0,05$), в отличие от значений контрольной группы (табл. 2). Учитывая физиологическую значимость

иммуноглобулина, оставаясь на высоких цифрах в периоде обратного развития заболевания, IgA продолжает агрессию против бактерий, их токсинов, иммунных комплексов, несмотря на активную этиотропную терапию, и данный механизм можно расценить, как фактор прогрессии хронического воспаления в почечной ткани у данной категории больных [1, 5].

Обнаружено, что в активную стадию заболевания и периоде обратного развития концентрация IgM оказалась повышенной, в сравнении с содержанием иммуноглобулина в сыворотке крови у здоровых детей ($2,8 \pm 0,2$ мг/мл и $2,45 \pm 0,15$ мг/мл соответственно) ($p < 0,001$) (табл. 2). Данный иммуноглобулин в числе первых осуществляет борьбу с антигенами, и, оставаясь на высоких цифрах до конца лечения, продолжает осуществлять нейтрализацию токсинов, опсонизацию, агглютинацию, лизис бактерий с помощью системы комплемента, что особенно актуально в условиях отрицательной динамики мочи и повышенного внутрилоханочного давления [2, 7]. Полиморфный аллель GA в положении 308 гена TNF α не оказал влияния на содержание иммуноглобулина у исследуемых пациентов, как в начале, так и конце исследования.

Обнаружено, что концентрация подкласса IgG₁ при пиелонефритах отличалась от контроля в начале и конце периода наблюдения, оставаясь повышенной и, составив $2,9 \pm 0,2$ мг/мл и $4,4 \pm 0,3$ мг/мл соответственно ($p < 0,0005$). Уровень IgG₁ обратно коррелировал со степенью тяжести состояния больного ($r = -0,53$, $p = 0,02$). Полиморфизм C308A в гене TNF α не повлиял на содержание данного иммуноглобулина в сравниваемых группах детей (табл. 2).

Содержание IgG₂ при пиелонефритах оказалось сниженным в начале и конце лечения – $1,9 \pm 0,1$ мг/мл $2,7 \pm 0,2$ мг/мл ($p_1 < 0,001$). Однако у носителей полиморфизма в гене TNF α (C308A) концентрация IgG₂ не отличалась от показателя пациентов группы, не имеющей исследуемой мутации.

Обнаруженные низкие цифры IgG₁, IgG₂ при обструктивном пиелонефрите свидетельствуют о воздействии длительной антигенной стимуляции на развитие переменного иммунодефицита при бактериальном поражении почки в условиях хронического нарушения нормального движения мочи. Для первичных пиелонефритов снижение подклассов IgG имеет принципиальное значение, поскольку, общепризнано являясь маркерами тяжелых инфекций, препятствуют хронизации бактериальной инфекции в случае отсутствия нарушения ламинарного тока мочи. Недостаточное содержание подклассов IgG₁, IgG₂ не могут адекватно обеспечить работу комплемента, по какому-то бы ни было пути, и это является одной из причин снижения скорости фагоцитарных реакций микроорганизмов [1, 7]. Снижение содержания подклассов IgG₁, IgG₂ в группах детей с пиелонефритами можно использовать в качестве раннего диагностического критерия перехода в хронический процесс, либо подвергнуть сомнению «первичность» пиелонефрита.

Содержание IgG₃ у детей при пиелонефритах не отличалось от контрольных значений и внутри исследуемых групп.

Содержание иммуноглобулинов у детей при пиелонефритах, имеющих и не имеющих полиморфизм G308A в гене TNF α

Ig (мг/мл)	Контроль (n=30)	Больные пиелонефритами (ПН) (n=36)		Больные ПН, не имеющие мутации в гене TNF α (n=29)		Больные ПН, содержащие мутацию в гене TNF α (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	2,9 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001)	4,4 $\pm$ 0,3 (p ₁ <0,005, p ₃ <0,05)	3,4 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001)	4,2 $\pm$ 0,4 (p ₁ <0,05)	3,2 $\pm$ 0,5 (p ₁ <0,001, p ₂ >0,05)	3,9 $\pm$ 0,4 (p ₁ <0,005)
IgG ₂	3,6 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,1 (p ₁ <0,001)	2,7 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001)	2,0 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001)	2,7 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,05, p ₂ >0,05)	2,6 $\pm$ 0,25 (p ₁ <0,05, p ₂ >0,05)
IgG ₃	0,4 $\pm$ 0,05	0,6 $\pm$ 0,08	0,5 $\pm$ 0,06	0,8 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,05)	0,5 $\pm$ 0,08	0,7 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1 (p ₁ <0,05, p ₄ <0,01)
IgG ₄	0,1 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,02	0,1 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,02
IgA	3,1 $\pm$ 0,7	2,8 $\pm$ 0,2	3,25 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,4	3,4 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,2	3,7 $\pm$ 0,3 p ₃ <0,05
IgM	1,5 $\pm$ 0,2	2,8 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001)	2,45 $\pm$ 0,15 (p ₁ <0,001)	2,45 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,05)	2,4 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,05)	3,2 $\pm$ 0,2 (p ₁ <0,001, p ₂ <0,05)	2,5 $\pm$ 0,35 (p ₁ <0,05, p ₃ <0,05)

Примечание. p₁ – достоверность в сравнении с контролем, p₂ – достоверность в сравнении с группой, неимеющей мутации, p₃ – достоверность в сравнении с началом заболевания.

Концентрация IgG₄ у больных соответствовала показателю здоровых детей. Ассоциаций полиморфизма G308A в гене TNF α и синтеза иммуноглобулина между сравниваемыми группами не наблюдалось.

При анализе клинического состояния больного установлено, что у носителей полиморфизма G308A в гене TNF α КИ составил 6,8 $\pm$ 0,8 (p=0,4), а у больных, не имеющих полиморфных вариантов гена цитокина – 5,9 $\pm$ 0,6, и указанная разница не является значимой.

Выводы

1. Вариант G/A полиморфизма G308A в гене TNF α встречается одинаково часто среди здоровых детей и больных пиелонефритами, проживающих в Забайкальском крае.

2. Вариант A/A полиморфизма G308A в гене TNF α является фактором риска развития обструктивных пиелонефритов, и маркером нефросклероза.

3. Присутствие аллельного варианта G308A гена TNF α у пациентов при пиелонефритах не оказывает влияния на уровень иммуноглобулинов в начале лечения.

4. Повышение концентрации IgA в конце лечения в группе больных-носителей полиморфизма гена TNF α (G308A) может явиться маркером прогрессирования хронического воспаления в почке.

5. Влияния мутации гена TNF α (G308A) на тяжесть клинических проявлений при пиелонефритах у детей не отмечено.

Литература

1. Андросов М.В., Годков М.А. Свойства и клиническая значимость субклассов IgG // Лабораторная диагностика. – 2006. – № 4. – С. 12-16.
2. Бехало В.А., Сысолятина Е.В., Нагурская Е.В. Регуляция врождённого иммунного ответа в очаге хронического воспаления // Иммунология. – 2009. – № 3. – С. 184-189.
3. Биктасова А.К. Роль белков-регуляторов программированной клеточной гибели в реализации проапоптотического эффекта фактора некроза опухоли альфа на лимфоциты крови : автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2010. – 25 с.
4. Гончарова И.А. Влияние промоторного полиморфизма гена TNF α (G308A) на уровень фактора некроза опухоли альфа в сыворотке крови при хронических

- заболеваниях лёгких и печени: сборник научных трудов ГУ НИИ Медицинской генетики ТНЦ СО РАМН // Генетика человека и патология. – Томск. – 2008. – С. 67.
5. Емельянова А.Н., Емельянов А.С., Витковский Ю.А. Генетический полиморфизм промотора гена IL-2 (T330G) и его влияние на содержание интерлейкина 2 в крови больных рожей // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – № 2. – С. 42-48.
6. Иллариошкин С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 207 с.
7. Офицеров В.И. Подклассы иммуноглобулина G: возможности использования в диагностической практике: метод. пособие. – Кольцово: ЗАО Вектор-Бест, 2005. – 25 с.

Literature

1. Androsov M.V., Godkov M.A. Features and clinical significance on IgG subclasses // Laboratory diagnosis. – 2006. – № 4. – P. 12-16.
2. Bekhalo V.A., Sisolyatina E.V., Nagurskaya E.V. Regulation of congenital immune response in the chronic inflammation focus // Immunology. – 2009. – № 3. – P. 184-189.
3. Bikatasova A.K. Role of protein-regulators on the cell apoptosis in realization of proapoptotic effect

- of TNF- α on the lymphocytes: abstract of the candidate dissertation on medical sciences. – Novosibirsk, 2010. – P. 25.
4. Goncharova I.A. Influence of promotor polymorphism of TNF- α gene (G308A) on the concentration of the TNF- α in blood serum in patients with lungs and liver chronic diseases: collection of research papers pf GI SRI of Medical genetics TSC SB PAMS // Genetics of human and pathology. – Tomsk, 2008. – P. 67.

5. Emelyanova A.N., Emelyanov A.S., Vitkovskiy Yu.A. Genetic polymorphism of IL-2 promotor gene (T330G) and it influence on concentration of IL-2 in blood of patients with rose // Transbaikal medical bulletin. – 2014. – № 2. – P. 42-48.

6. Illarioshkin S.N. DNA-diagnosis and medical-genetic consulting. – M.: Medical information agency, 2004. – P. 207.

7. Ofitserov V.I. IgG subclasses: application in diagnosis of the diseases: guidance for physicians. – Kolzovo: ZAO Vector-Best, 2005. – P. 25.

Координаты для связи с авторами: Батаева Елена Петровна – канд. мед. наук, ассистент кафедры педиатрии детских болезней ЧГМА, e-mail: Bataeva73@mail.ru.

