

УДК: УДК: 616.61-002.3-053.3:616-056.7-07
DOI: 10.24061/2413-4260.VII.4.26.2017.14

ВПЛИВ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ -509
СС ТА +869 ТТ ГЕНА TGF В1 НА ПЕРЕБІГ
ПІЄЛОНЕФРИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

**Н. І. Токарчук, І. В. Одарчук,
Ю.В. Вижга, Т.І. Антонець,
Л.С. Старинець**

Вінницький медичний університет ім. М. І. Пирогова
(м. Вінниця, Україна)

Резюме

Вступ. Серед факторів, що призводять до утворення рубцевих змін в нирковій паренхімі виділяють генетичні. Дані літератури вказують на схильність до підвищеної продукції трансформуючого фактора росту (TGF-В1). Згідно поодиноких досліджень поліморфізм гена TGF-В1 зустрічається у 82% пацієнтів з рефлюкс-нефропатією.

Мета дослідження: вивчити вплив алельних поліморфізмів гена TGF-В1 (-509 С/Т, +869 Т/С) на перебіг пієлонефриту у дітей раннього віку.

Матеріали та методи. У роботі нами використані матеріали, отримані у ході обстеження 100 дітей раннього віку хворих на пієлонефрит. Першу підгрупу склали 50 дітей хворих на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу та другу підгрупу - 50 дітей хворих на пієлонефрит без ознак міхурово-сечовідного рефлюксу. Група контролю нараховувала 50 практично здорових дітей.

Верифікація діагнозу проводилась на підставі поглибленого обстеження згідно наказу МОЗ України № 627 від 03.11.2008р. «Про лікування дітей з інфекціями сечової системи і тубулоінтерстиційним нефритом»

Результати дослідження та їх обговорення. При співставленні розподілу генотипів та алелей поліморфізму -509 гена TGF – В1 між дітьми основної групи та групи порівняння, було відмічено достовірне підвищення частоти носіїв генотипу СС у дітей основної групи (34 випадки - 68±4,86%) порівняно з частотою гомоносіїв алеля С у групі порівняння (7 випадків - 14±1,41%), $p < 0,01$. Встановлено, що діти групи порівняння (20 респондентів - 40±3,43%), достовірно частіше є гомоносіями алелю Т, аніж обстежені із пієлонефритом на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу (9 дітей - 18±1,89%), $p < 0,01$. Отже, можна припустити, що діти-гомозиготи СС частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж носії генотипу С-509Т та гетерозиготи СТ.

Характеристика генотипів поліморфного варіанта +869 гена TGF – В1, у хворих на пієлонефрит дітей засвідчила, що гомозиготи мутантного алеля Т склали найбільшу питому частку, яка була достовірно вищою, ніж частота гетерозигот та гомозигот по алелю С ($p < 0,05$).

У подальшому проведено співставлення розподілу генотипів та алелей поліморфізму +869 гена TGF – В1 між дітьми основної групи та групи порівняння. Відмічено, що частота мажорного алеля Т із значною перевагою спостерігалась в основній групі порівняно з відсотком аналогічного алеля в групі порівняння (67,79±6,24% проти 38,07±4,01 %, $p < 0,05$). Отже, можна припустити, що діти-носії генотипу ТТ частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж носії генотипу С+869Т та гетерозиготи СТ.

Аналіз ступеня тяжкості пієлонефриту залежно від поліморфізму С >Т в позиції -509 гена TGF – В1 у дітей основної групи виявив, що частота вторинного пієлонефриту III ступеня важкості у гомозигот мутантного алеля (80,1±11,12%, 95% ДІ: 65,79 - 87,68) була достовірно вищою, ніж у гомозигот основного алеля (10,01±4,46%, 95% ДІ: 5,25 – 13,23) та гетерозигот (9,9±2,51%, 95% ДІ: 5,13 – 14,67), $p < 0,01$.

Щодо поліморфізму С >Т в позиції +869 гена TGF – В1 у дітей основної групи, то III ступінь активності запального процесу достовірно частіше мали носії генотипу ТТ (65,02±6,74%, 95% СІ: 52,72 – 74,81%) у порівнянні із гетерозиготами (19,97±4,28%, 95% СІ: 13,62 – 24,95%), та гомоносіями алелю С (15,03±2,71%, 95% СІ: 8,59 – 19,42%), $p < 0,01$.

Висновки. Таким чином, проведені нами дослідження показали, що діти раннього віку, які є носіями генотипу С-509С (34-68±4,86%) та Т+869Т (29-58±4,46) достовірно частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж гетерозиготи С-509Т (7-14±1,13%) та Т+869Т (13-26±1,92%), а також гомозиготи Т-509Т (9-18±1,89%) і С+869С (8-16±1,86%), $p < 0,01$. У достовірної більшості гомозигот С-509С (80,1±11,12%) та Т+869Т (65,02±6,74%) відмічався пієлонефрит із III ступенем активності запального процесу.

Ключові слова: пієлонефрит; міхурово-сечовідний рефлекс; діти раннього віку; трансформуючий фактор росту В1; поліморфізм гена.

Вступ

Фактори, які впливають на формування незворотніх змін у паренхімі нирок при пієлонефриті на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу у дітей раннього віку, ефективність терапевтичної відповіді, залишаються на сьогоднішній день дискусійними та не в повній мірі з'ясованими. Відповідь на дані запитання, ймовірно, лежать в основі генетичних механізмів. Визначення генетичних факторів, що впливають на виникнення незворотніх змін

у нирках дітей, має важливе значення в розумінні механізмів розвитку фіброзоутворення при пієлонефриті на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу.

Незважаючи на велику кількість робіт, присвячених в останнє десятиліття вивченню патогенезу тубулоінтерстиційного фіброзу, потребують уточнення питання, пов'язані з механізмами ініціації нефросклерозу у дітей раннього віку з міхурово-сечовідним рефлюксом (МСР).

Дебати про патогенез склеротичних змін нир-

кової паренхіми у дітей з МСР тривають. З одного боку, немає сумнівів у ключовій ролі бактеріального пієлонефриту у формуванні рубцювання, але з іншого - гострий запальний процес призводить до нефросклерозу не у всіх пацієнтів [1, 2]. Слід зазначити, що навіть у фазі латентного запалення має місце підвищення рівня прозапальних цитокінів в різних біологічних середовищах, що прогресує у фазі активного запалення паралельно з посиленням морфо-функціональних розладів і маніфестацією клінічних проявів патології [2]. Крім того, деякі автори відмічають розвиток склерозу паренхіми нирок ще внутрішньоутробно внаслідок вад розвитку сечовидільної системи [3].

Серед факторів, що призводять до утворення рубцевих змін в нирковій паренхімі виділяють генетичні. Дані літератури вказують на схильність до підвищеної продукції трансформуючого фактора росту (TGF- β 1) [5, 10]. TGF- β 1 виробляється різними клітинами тканин: мезангіальними клітинами, моноцитами, макрофагами, тромбоцитами, тубулоепітеліальними клітинами. Цей цитокін, поряд з іншими прозапальними цитокінами, що підтримують персистенцію екстрацелюлярного матриксу, являється важливим паракринним компонентом [4]. Він активує утворення компонентів позаклітинного матриксу - колагену, фібронектину, протеогліканів. Ген, що кодує TGF- β 1 розміщений на довгому плечі 19 хромосоми [8, 11].

Згідно поодиноких досліджень поліморфізм гена TGF- β 1 зустрічається у 82% пацієнтів з рефлюкс-нефропатією [7]. Найбільше описаний поліморфізм у промоторній ділянці гена TGF- β 1 в позиціях 509 та 869. Дослідження показали, що атипівні варіанти алелі TGF- β 1 (-509 CC та +869 TT) спричиняють підвищену транскрипцію гена порівняно із типовими варіантами алелі TGF- β 1 (+509 TT та -869 CC), що призводить до підвищення секреції та збільшення концентрації даного фактора в крові [6, 8].

Мета дослідження: вивчити вплив алельних поліморфізмів гена TGF- β 1 (-509 C/T, +869 T/C) на перебіг пієлонефриту у дітей раннього віку.

Матеріали та методи

У роботі нами використані матеріали, отримані у ході обстеження 100 дітей раннього віку хворих на пієлонефрит, які знаходились на лікуванні у нефрологічному відділенні Хмельницької обласної дитячої лікарні. Основна група дітей раннього віку була розподілена на 2 підгрупи. Так, першу підгрупу склали 50 дітей хворих на пієлонефрит на тлі МСР (вторинний пієлонефрит (ВПН)) та другу підгрупу - 50 дітей хворих на пієлонефрит без ознак міхурово-сечовидільного рефлюксу (МСР) (первинний пієлонефрит (ППН)). Група контролю нараховувала 50 практично здорових дітей.

Верифікація діагнозу проводилась на підставі поглибленого обстеження згідно наказу МОЗ України № 627 від 03.11.2008р. «Про лікування дітей з інфекціями сечової системи і тубулоінтерстиціальним нефритом». Всі діти, які були залучені до дослідження, пройшли ретельне клінічне, лабораторне та інструментальне обстеження. Діагноз пієлонефриту встановлювався на основі

клінічних даних, результатів біохімічного, бактеріологічного, ультразвукового, рентгенологічного (мікційна цистографія) досліджень. У ході роботи при проведенні мікційної цистографії у 32 хворих (47%) було виявлено міхурово-сечовидільний рефлюкс. Із них I ст. МСР був у 13 (40,62 \pm 2,17%), II ст. мали 10 (31,25 \pm 2,76%) дітей та III ст. МСР реєструвався у 9 (28,12 \pm 3,17%) обстежених.

Визначення поліморфізмів гена TGF β 1 (C-508T та T+869C) проводили шляхом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх за допомогою електрофорезу в 2,5%-му агарозному гелі.

Статистичну обробку результатів дослідження виконували стандартними методами біометрії на персональному комп'ютері у рамках статистичних пакетів Excel 2013, Statistika 2010. Різниця між показниками різних груп вважалась достовірною при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

У ході дослідження нами було вивчено поліморфізм гена TGF - β 1 у позиції (-509) та (+869). Генотипування за поліморфізмом C>T в позиції -509 гена TGF - β 1 дало змогу встановити частоту, з якою зустрічалися окремі варіанти цього гена.

Нами виявлено наступний розподіл генотипів поліморфного варіанту-509 у обстежених дітей із пієлонефритом: перша група - носії генотипу CC - 41 дитина (41 \pm 2,41%, 95% ДІ: 32,35 - 44,52), друга група носії із генотипом CT - 30 осіб (30 \pm 1,53%, 95% ДІ: 25,16 - 33,09), третя включала 29 дітей (29 \pm 0,93%, 95% ДІ: 25,13 - 31,43) із генотипом TT.

Характеристика генотипів поліморфного варіанта-509 гена TGF - β 1, у хворих на пієлонефрит дітей засвідчила, що в структурі даного захворювання гомозиготи мутантного алеля C склали найбільшу питому частку, яка була достовірно вищою, ніж частота гетерозигот та гомозигот по алелю T ($p < 0,05$).

Відповідно, частота алеля C у обстежених осіб із пієлонефритом складала -55,86 \pm 4,26% (95% ДІ: 49,3 - 61,19), що було у 1,2 рази вище від відсотка поширеності алеля T - 44,01 \pm 3,48% (95% ДІ: 38,13 - 50,53, $p < 0,01$).

У подальшому нами проведений розподіл генотипів поліморфного варіанту C-509T у дітей основної групи, групи порівняння та контрольної групи.

При порівняльному аналізі нами встановлено, що у дітей контрольної групи відсоток носіїв генотипу CC (9 дітей - 18 \pm 1,78%, 95% ДІ: 14,43 - 21,02) був достовірно нижчим, ніж питома вага осіб з генотипом CT (20 обстежених -40 \pm 4,13%, 95% ДІ: 37,23 - 44,25), та генотипом TT (21 дітей - 42 \pm 3,92%, 95% ДІ: 38,47 - 45,32), ($p < 0,01$). Відповідно, частота мінорного алеля T в групі контролю (61,96 \pm 6,2%) зустрічалась вірогідно частіше, ніж питома вага мажорного алеля C (38,04 \pm 6,1%, $p < 0,05$).

При подальшому співставленні розподілу генотипів та алелей поліморфізму -509 гена TGF - β 1 між дітьми основної групи та групи порівняння, було відмічено достовірне підвищення частоти носіїв генотипу CC у дітей основної групи (34 випадки - 68 \pm 4,86%) порівняно з частотою гомозиготів алеля C у групі порівняння (7 випадків - 14 \pm 1,41%), $p < 0,01$. Подальший аналіз показав,

що гетерозиготи достовірно частіше зустрічалися при ППН (23 дитини - $46 \pm 2,86\%$), аніж при ВПН (7 дітей - $14 \pm 1,13\%$), $p < 0,01$. Окрім того, встановлено, що діти групи порівняння (20 респондентів - $40 \pm 3,43\%$), достовірно частіше є гомоносіями алелю Т, аніж обстежені із пієлонефритом на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу (9 дітей - $18 \pm 1,89\%$), $p < 0,01$. При порівнянні частотного розподілу алелей між дітьми основної групи та групи порівняння виявлено, що у дітей, хворих на ППН, питома вага мінорного алеля Т була вищою, ніж у когорті дітей із ВПН ($64,26 \pm 6,3\%$ проти $25,97 \pm 3,4\%$, $p < 0,05$). І, навпаки, частота мажорного алеля С із значною перевагою спостерігалась в основній групі порівняно з відсотком аналогічного алеля в групі порівняння ($74,03 \pm 7,5\%$ проти $35,74 \pm 4,2\%$, $p < 0,05$).

Отже, можна припустити, що діти-гомозиготи СС частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж носії генотипу С-509Т та гетерозиготи СТ.

Подальше генотипування хворих на пієлонефрит за поліморфізмом С>Т в позиції +869 гена TGF – В1 дало змогу встановити частоту, з якою зустрічалися окремі варіанти даного гена.

У ході дослідження нами встановлено наступний розподіл генотипів поліморфного варіанту +869 у дітей обстежених дітей із пієлонефритом: перша група – носії генотипу СС – 31 дитина ($31 \pm 2,21\%$, 95% ДІ: 27,56 – 34,64), друга група носіїв із генотипом СТ – 30 осіб ($30 \pm 3,52\%$, 95% ДІ: 24,86 – 34,19), третя включала 39 дітей ($39 \pm 2,93\%$, 95% ДІ: 35,83 – 42,15) із генотипом ТТ.

Характеристика генотипів поліморфного варіанта +869 гена TGF – В1, у хворих на пієлонефрит дітей засвідчила, що гомозиготи мутантного алеля Т склали найбільшу питому частку, яка була достовірно вищою, ніж частота гетерозигот та гомозигот по алелю С ($p < 0,05$).

Відповідно, частота алеля Т в основній групі обстежених осіб склала $53,64 \pm 5,16\%$ (95% ДІ: 47,14 – 59,33), що було достовірно вищим від відсотка поширеності алеля С $46,24 \pm 4,18\%$ (95% ДІ: 40,23 – 51,83, $p < 0,05$).

У подальшому нами проведений частотний розподіл генотипів поліморфного варіанту +869 у обстежених дітей. При порівняльному аналізі нами встановлено, що у дітей контрольної групи відсоток носіїв генотипу ТТ (10 дітей - $20 \pm 2,92\%$, 95% ДІ: 17,43 – 23,42) був достовірно нижчим, ніж питома вага осіб з генотипом СТ (16 обстежених - $32 \pm 2,53\%$, 95% ДІ: 28,45 – 36,15), та генотипом СС (24 дитини - $48 \pm 1,18\%$, 95% ДІ: 43,27 – 51,14), ($p < 0,01$). Відповідно, частота мінорного алеля С в групі контролю ($63,87 \pm 6,43\%$) зустрічалась вірогідно частіше, ніж питома вага мажорного алеля С ($36,13 \pm 3,4\%$), $p < 0,05$.

У подальшому проведено співставлення розподілу генотипів та алелей поліморфізму +869 гена TGF – В1 між дітьми основної групи та групи порівняння. Так, нами відмічено достовірне підвищення частоти носіїв генотипу ТТ у дітей основної групи (29 дітей - $58 \pm 4,46\%$) порівняно з частотою гомоносіїв алеля Т у групі порівняння (10 випадків - $20 \pm 2,43\%$), $p < 0,01$. Подальший аналіз вказав на відсутність достовірної різниці між кількістю гетерозигот у обстежених групах. Натомість, встановлено що діти основної групи

достовірно рідше є групи гомоносіями алелю С (8 дітей - $16 \pm 1,86\%$) аніж обстежені із первинним пієлонефритом (23 обстежених - $46 \pm 3,86\%$), $p < 0,01$. При порівнянні частотного розподілу алелей між дітьми основної групи та групи порівняння відмічено, що у дітей, хворих на ВПН, питома вага мінорного алеля С була нижчою, ніж у когорті дітей із ППН ($32,21 \pm 3,05\%$ проти $61,93 \pm 6,12\%$, $p < 0,05$). І, навпаки, частота мажорного алеля Т із значною перевагою спостерігалась в основній групі порівняно з відсотком аналогічного алеля в групі порівняння ($67,79 \pm 6,24\%$ проти $38,07 \pm 4,01\%$, $p < 0,05$). Разом з тим, проведений порівняльний аналіз частот генотипів СС, СТ, ТТ та алелей С, Т між представниками групи порівняння та контрольної групи достовірних відмінностей не виявив.

Отже, можна припустити, що діти-носії генотипу ТТ частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж носії генотипу С+869Т та гетерозиготи СТ.

У подальшому нами проведений аналіз впливу алельних варіантів гена TGF – В1 на ступінь тяжкості пієлонефриту у дітей раннього віку.

Так, аналіз ступеня тяжкості пієлонефриту залежно від поліморфізму С >Т в позиції -509 гена TGF – В1 у дітей основної групи виявив, що частота вторинного пієлонефриту III ступеня важкості у гомозигот мутантного алеля ($80,1 \pm 11,12\%$, 95% ДІ: 65,79 – 87,68) була достовірно вищою, ніж у гомозигот основного алеля ($10,01 \pm 4,46\%$, 95% ДІ: 5,25 – 13,23) та гетерозигот ($9,9 \pm 2,51\%$, 95% ДІ: 5,13 – 14,67), $p < 0,01$. Також реєструвалась достовірно частіше II ступінь активності запального процесу серед дітей основної групи у носіїв генотипу СС ($81,25 \pm 15,24\%$, 95% ДІ: 66,01 – 96,49), аніж серед гетерозигот ($6,25 \pm 1,67\%$, 95% ДІ: 4,58 – 8,92) та гомозигот алеля ТТ ($12,5 \pm 3,24\%$, 95% ДІ: 9,01 – 16,74), $p < 0,01$. Разом з тим, I ступінь активності реєструвався у практично однакової кількості дітей та не мав достовірної різниці між носіями генотипу ТТ, гетерозиготами та гомоносіями СС, $p > 0,05$ (рис. 1).

Щодо групи порівняння, то III ступінь активності реєструвався у однакової кількості носіїв генотипу СТ ($44,44 \pm 9,71\%$, 95% ДІ: 34,73 – 54,15) та томозигот ($44,44 \pm 9,71\%$, 95% ДІ: 34,73 – 54,15), $p > 0,05$. Достовірно меншою була частка носіїв мутантного алеля СС ($11,11 \pm 3,21\%$, 95% ДІ: 7,9 – 14,32), $p < 0,05$. Достовірно частіше реєструвався II ступінь активності запального процесу первинного пієлонефриту у гетерозигот ($47,61 \pm 11,41\%$, 95% ДІ: 36,2 – 59,02) та носіїв генотипу ТТ ($42,85 \pm 8,67\%$, 95% ДІ: 34,2 – 51,56), аніж серед носіїв мутантного алеля СС ($9,52 \pm 1,96\%$, 95% ДІ: 7,56 – 11,48), $p < 0,05$. Первинний пієлонефрит I ступеню активності також визначався у практично однакової частки гомоносіїв алелю ТТ ($32,12 \pm 7,47\%$, 95% ДІ: 24,65 – 39,59) та гетерозигот ($39,98 \pm 8,07\%$, 95% ДІ: 31,91 – 48,05). Натомість, достовірно меншою була частка носіїв мутантного алеля СС ($20,01 \pm 4,93\%$, 95% ДІ: 15,08 – 24,94), $p < 0,05$.

Щодо поліморфізму С >Т в позиції +869 гена TGF – В1 у дітей основної групи, то III ступінь активності запального процесу достовірно частіше мали носії генотипу ТТ ($65,02 \pm 6,74\%$, 95% ДІ: 52,72 – 74,81%) у порівнянні із гетерозиготами ($19,97 \pm 4,28\%$, 95% ДІ: 13,62 – 24,95%), та

гомонасіями алелю С (15,03±2,71%, 95% СІ: 8,59 – 19,42%), $p<0,01$. Також II ступінь активності запального процесу реєструвалась достовірно частіше серед дітей основної групи у носіїв генотипу ТТ (50,02±11,51%, 95% ДІ: 38,51 – 61,53), аніж серед гетерозигот (31,52±8,17%, 95% ДІ: 23,35 – 39,69) та гомозигот алеля С (18,75±4,31%,

95% ДІ: 14,04 – 23,06), $p<0,05$. Разом з тим, I ступінь активності достовірно частіше реєструвався у носіїв генотипу ТТ (57,14±11,82%, 95% ДІ: 45,32 – 68,96%) у порівнянні із гетерозиготами (28,57±8,63%, 95% ДІ: 19,94 – 37,2) ($p<0,05$) та гомонасіями алелю СС (14,28±4,13%, 95% ДІ: 10,15 – 18,41) ($p<0,01$), (рис.2).

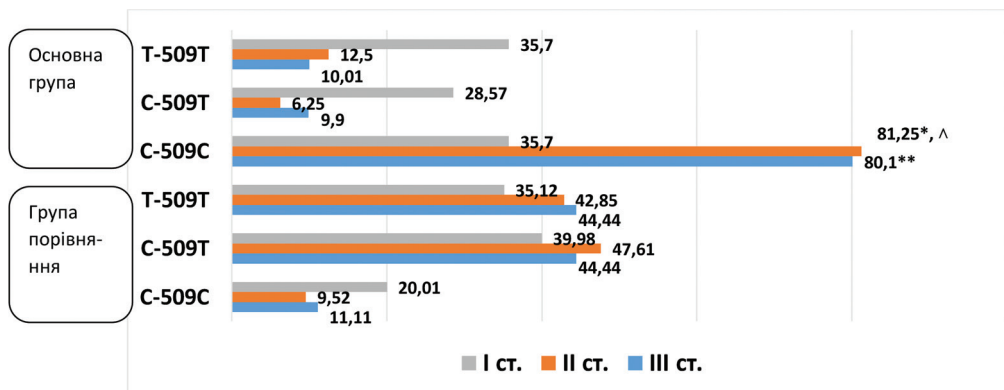


Рис 1. Аналіз ступеня тяжкості пієлонефриту залежно від поліморфізму С >Т в позиції -509 генаTGF – В1(%)

Примітки: * - вірогідні відмінності щодо гетерозигот, гомозигот ТТ основної групи та гомозигот СС групи порівняння $p<0,01$;

^ - позначені вірогідні відмінності щодо гетерозигот та гомозигот Т-509Т групи порівняння, $p<0,05$;

** - позначені вірогідні відмінності щодо гетерозигот, гомозигот ТТ основної групи та гомозигот СС групи порівняння $p<0,01$.

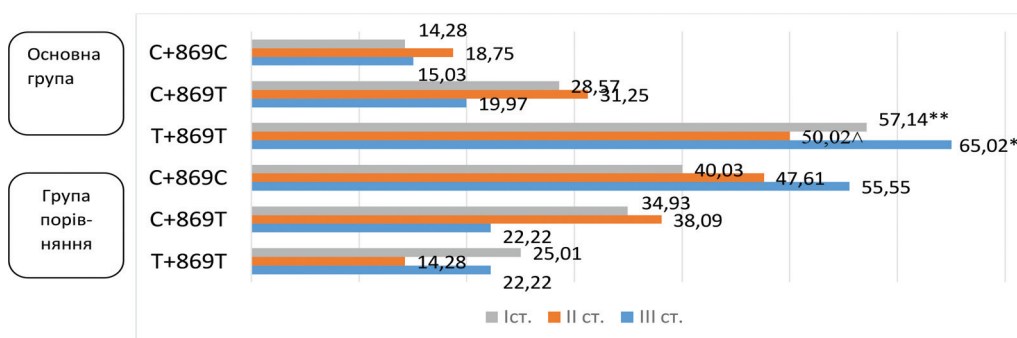


Рис 2. Аналіз ступеня тяжкості пієлонефриту залежно від поліморфізму С >Т в позиції +869 генаTGF – В1(%)

Примітки: * - вірогідні відмінності щодо гетерозигот, гомозигот СС основної групи та гомозигот ТТ та гетерозигот групи порівняння $p<0,01$;

^ - позначені вірогідні відмінності щодо гетерозигот та гомозигот ТТ групи порівняння та гомонасіїв алелю С основної групи, $p<0,05$;

** - позначені вірогідні відмінності щодо гетерозигот, гомозигот ТТ основної групи та гомозигот СС групи порівняння, $p<0,01$.

При вивченні розподілу генотипів серед дітей групи порівняння залежно від ступеня тяжкості у дітей раннього віку нами встановлено що III ступінь активності достовірно частіше визначався у гомонасіїв алелю С (55,55±11,46%, 95% ДІ: 42,09 – 67,01), аніж серед гетерозигот (22,22±5,76%, 95% ДІ: 16,47 – 27,98) та носіїв мутантного алелю Т (22,22±5,76%, 95% ДІ: 16,47 – 27,98), $p<0,05$.

Також нами встановлено що II ступінь активності запального процесу мали 47,61±8,56% (95% ДІ: 37,05 – 56,71) діти-носії генотипу СС та 38,09±7,16% (95% ДІ: 30,93 – 45,25) гетерозигот, що було достовірно більшим, ніж частка носіїв мутантного алелю Т (14,28±4,06%, 95% ДІ: 10,22 – 18,34), $p<0,05$. Разом з тим, I ступінь активності реєструвався також достовірно рідше у дітей із генотипом ТТ (25,01±7,15%, 95% ДІ: 17,86 – 32,16) у порівнянні із відсотком гетерозигот (34,93±9,02, 15%, 95% ДІ: 25,91 – 43,95) та гомозигот СС (40,03±10,21%, 95% ДІ: 29,82 – 50,24), $p<0,05$.

Вищим був відсоток дітей-гетерозигот (31,25±3,61%, 95% СІ: 22,57-39,84%, $p>0,05$) та достовірно більшою була частка гомонасіїв алелю Т (50,02±6,18%, 95% СІ: 42,63-54,25%), $p<0,05$. Натомість, у групі порівняння найбільшу питому вагу становили гетерозиготи (47,61±5,52%, 95% СІ: 32,61 – 54,12) та гомозиготи алеля Т (42,85±6,91%, 95% СІ: 34,31 – 56,14), $p>0,05$. Тоді як, частота гомонасіїв алеля С у групі порівняння була достовірно нижчою (9,52±3,12%, 95% СІ: 5,67 – 16,82, $p<0,01$).

У подальшому проведений аналіз визначення вірогідності ризику розвитку пієлонефриту на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу у обстежених дітей залежно від розподілу генотипу. Аналіз показав, що наявність генотипу С-509С поліморфізму гена TGF – В1 у хворих на ВПН достовірно збільшує вірогідність розвитку захворювання у 5,56 рази порівняно з генотипом СТ (OR=5,56, S=0,69,

95% CI: 1,92 – 13,23). Нами також встановлено, що наявність генотипу CC достовірно підвищує вірогідність виникнення пієлонефриту в 2,52 рази порівняно з генотипом TT (OR=2,52, S=0,66, 95% CI: 0,98 – 10,6). Наявність генотипу TT-509 при ВПН у дітей достовірно збільшує вірогідність розвитку пієлонефриту у 1,84 рази (OR=1,84, S=0,61, 95% CI: 0,53 – 5,8). У подальшому нами встановлено, що у носіїв генотипу T+869T поліморфізму гена TGF – B1 ризик розвитку запального процесу в 3,82 (OR=3,82, S=0,6995% CI: 1,43 – 12,01) рази вищий, ніж у дітей гетерозигот C/T+869. А наявність генотипу CC+869 достовірно збільшує вірогідність розвитку пієлонефриту у 1,03 рази (OR=1,03, S=0,58, 95% CI: 0,46 – 5,5).

Висновки

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що діти раннього віку, які є носіями генотипу C-509C (34-68±4,86%) та T+869T (29-

58±4,46) достовірно частіше хворіють на пієлонефрит на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу, ніж гетерозиготи C-509T (7-14±1,13%) та T+869T (13-26±1,92%), а також гомозиготи T-509T (9-18±1,89%) і C+869C (8-16±1,86%), $p < 0,01$, що свідчить про генетичну детермінованість вторинного генезу захворювання.

Також, нами встановлено виражену залежність ступеня активності запального процесу від поліморфних варіантів гена TGF – B1. Адже, у достовірної більшості гомозигот C-509C (80,1±11,12%) та T+869T (65,02±6,74%) відмічався пієлонефрит із III ступенем активності запального процесу. Виявлене поєднання вказаних генотипів та важкого перебігу захворювання на тлі міхурово-сечовідного рефлюксу у дітей раннього віку свідчить про генетичну схильність до розвитку патологічного запального процесу у даної групи малюків.

Конфлікт інтересів: автори не заявляли будь-якого конфлікту інтересів.

Література

1. Буднік ТМ. Мікробно-запальні захворювання органів сечової системи у дітей та підлітків. Методичні рекомендації. Луганськ; 2014. 37 с.
2. Триндюк ЮС. Деякі аспекти діагностики пієлонефритів у дітей. Здоров'я ребенка. 2011;5:36-9.
3. Морозов ДА, Моррисон ВВ, Морозова ОЛ, Лакомова ДЮ. Патогенетические основы и современные возможности ранней диагностики нефросклероза у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом. Саратовский научно-медицинский журнал. 2011;7(1):151-7.
4. Sanaa M Abdel Salam, Safaa HA Saleh, Eman E El-Shahawy, Hanaa Abdel Moety. Assessment of plasma and urinary transforming growth factor beta 1 (TGF-β1) in children with lupus nephritis. Egypt J Pediatr Allergy Immunol. 2011;9(1):21-7.
5. Merrikhi A, Bahraminia E. Association of urinary transforming growth factor-β1 with the ureteropelvic junction obstruction. Adv Biomed Res. 2014 May 28;3:123. doi: 10.4103/2277-9175.133196.
6. Hussein A, Askar E, Elsaied M, Schaefer F. Functional polymorphisms transforming growth factor-beta-1(TGF B-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) genes modify risk of renal parenchymal scarring following childhood urinary tract infection. Nephrol Dial Transplant. 2010 Oct;25:779-85. doi: 10.1093/ndt/gfp532.
7. Yim HE, Bae IS, Yoo KH, Hong YS, Lee JW. Genetic Control of VEGF and TGF-β1 Gene Polymorphisms in Childhood Urinary Tract Infection and Vesicoureteral Reflux. Pediatric Research. 2007 Mar;62:183-7; doi: 10.1203/PDR.0b013e31809871f1.
8. Syukri M, Sja'bani M, Soesatyo M HNE, Astuti I, Imran I, Harapan H. The promoter region (G-800A and C-509T) polymorphisms of transforming growth factor-β1 gene among young women with recurrent urinary tract infection. Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2014 Apr;15(2):125-130. doi: 10.1016/j.ejmhg.2014.02.003.
9. Sager C, Lopez JC, Duran V, Burek C, Perazzo E. Transforming growth factor-beta1 in congenital ureteropelvic junction obstruction: diagnosis and follow-up. Int Braz J Urol. 2009 May-Jun;35(3):315-23.
10. Goumenos DS, Tsakas S, Nahas AM El, Alexandri S, Oldroyd S, Kalliakmani P. Transforming growth factor β1 in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. Nephrol Dial Transplant. 2002 Dec;17(12):2145-52.
11. Khalil MS, El Nahas AM, Blakemore AIF. Transforming Growth Factor-β1 SNPs: Genetic and Phenotypic Correlations in Progressive Kidney Insufficiency. Nephron Exp Nephrol. 2012;101:31-41. doi: 10.1159/000086227.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ -509 CC И +869 TT ГЕНА TGF B1 НА ТЕЧЕНИЕ ПИЕЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Н. И. Токарчук, И. В. Одарчук, Ю.В. Вижга, Т.И. Антонец, Л.С. Старинец

Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова
(г. Винница, Украина)

Резюме

Введение. Среди факторов, приводящих к образованию рубцовых изменений в почечной паренхиме, выделяют генетические. Данные литературы указывают на склонность к повышенной продукции трансформирующего фактора роста (TGF-B1) [5, 10]. Согласно редких исследований полиморфизм гена TGF-B1 встречается у 82% пациентов с рефлюкс-нефропатией [7].

Цель исследования: изучить влияние аллельных полиморфизмов гена TGF-B1 (-509 C / T, +869 T / C) на течение пиелонефрита у детей раннего возраста.

Материалы и методы. В работе нами использованы материалы, полученные в ходе обследования

INFLUENCE OF POLYMORPHIC OPTIONS -509 CC and +869 TT TGF B1 GENE IN PATIENTS WITH PYLEONEPHRITIS IN CHILDREN OF EARLY AGE

N. I. Tokarchuk, I. V. Odarchuk, Y.V. Vyzhga, T.I. Antonec, L.S. Starineca

National Pirogov Memorial Medical University,
Ministry of Health of Ukraine
(Vinnitsa, Ukraine)

Summary

Introduction. Among the factors that lead to the formation of cicatricial changes in the renal parenchyma are genetic ones. Data from the literature indicate a tendency toward increased production of the transforming growth factor (TGF-B1) [5, 10]. According to rare studies, polymorphism of the TGF-B1 gene occurs in 82% of patients with reflux-nephropathy [7].

Objective to study: the effect of allelic polymorphisms of the gene TGF-B1 (-509 C / T, +869 T / C) on the course of pyelonephritis in young children.

Materials and methods. In the work we used materials obtained during the survey of 100 young children with pyelonephritis. The first subgroup

100 дітей раннього віку хворих пиєлонефритом. Першу підгрупу склали 50 дітей хворих пиєлонефритом на фоні бульбозно-мочеточникового рефлюкса і другу підгрупу - 50 дітей хворих пиєлонефритом без ознак бульбозно-мочеточникового рефлюкса. Група контролю налічувала 50 практично здорових дітей.

Верифікація діагнозу проводилась на основі углибоного обстеження згідно з наказом МЗ України № 627 від 03.11.2008р. «О ліченні дітей з інфекціями мочової системи і тубулоінтерстиціальнм нефритом

Результати дослідження і їх обговорення. При порівнянні розподілу генотипів і алелів поліморфізму -509 гена TGF - B1 між дітьми основної групи і групи порівняння, було відмічено достовірне підвищення частоти носіїв генотипу CC у дітей основної групи (34 випадки - $68 \pm 4,86\%$) порівняно з частотою гомосіїв алеля C в групі порівняння (7 випадків - $14 \pm 1,41\%$), $p < 0,01$. Встановлено, що діти групи порівняння (20 респондентів - $40 \pm 3,43\%$), достовірно частіше є гомосіївами алеля T, ніж обстежувані з пиєлонефритом на фоні бульбозно-мочеточникового рефлюкса (9 дітей - $18 \pm 1,89\%$), $p < 0,01$. Слідовательно, можна передположити, що діти-гомозиготи CC частіше болять пиєлонефритом на фоні бульбозно-мочеточникового рефлюкса, ніж носіїви генотипу C-509T і гетерозиготи CT.

Характеристика генотипів поліморфного варіанта +869 гена TGF - B1, у хворих пиєлонефритом дітей показала, що гомозиготи мутантного алеля T склали найбільшу частину, яка була достовірно вище, ніж частота гетерозигот і гомозигот по алелю C ($p < 0,05$).

В подальшому проведено порівняння розподілу генотипів і алелів поліморфізму +869 гена TGF - B1 між дітьми основної групи і групи порівняння. Відмічено, що частота мажорного алеля T з значительним переваженням спостерігалась в основній групі порівняно з частотою аналогічного алеля в групі порівняння ($67,79 \pm 6,24\%$ проти $38,07 \pm 4,01\%$), $p < 0,05$). Слідовательно, можна передположити, що діти-носіїви генотипу TT частіше болять пиєлонефритом на фоні бульбозно-мочеточникового рефлюкса, ніж носіїви генотипу C + 869T і гетерозиготи CT.

Аналіз ступеня тяжкості пиєлонефриту в залежності від поліморфізму C> T в позиції -509 гена TGF - B1 у дітей основної групи виявив, що частота вторинного пиєлонефриту III ступеня тяжкості у гомозигот мутантного алеля ($80,1 \pm 11,12\%$, 95% ДІ: 65,79 - 87,68) була достовірно вище, ніж у гомозигот основного алеля ($10,01 \pm 4,46\%$, 95% ДІ: 5,25 - 13,23) і гетерозигот ($9,9 \pm 2,51\%$, 95% ДІ: 5,13 - 14,67), $p < 0,01$.

По поліморфізму C> T в позиції +869 гена TGF - B1 у дітей основної групи, то III ступінь активності запального процесу достовірно частіше мали носіїви генотипу TT ($65,02 \pm 6,74\%$, 95% ДІ: 52,72 - 74,81%) порівняно з гетерозиготами ($19,97 \pm 4,28\%$, 95% ДІ: 13,62 - 24,95%) і гомосіївами алеля C ($15,03 \pm 2,71\%$, 95% ДІ: 8,59 - 19,42%), $p < 0,01$.

Висновки: Таким образом, проведенные нами исследования показали, что дети раннего возраста, являются носителями генотипа C-509C ($34-68 \pm 4,86\%$) и T + 869T ($29-58 \pm 4,46$) достовірно частіше болять пиєлонефритом на фоні бульбозно-мочеточникового рефлюкса, ніж гетерозиготи C-509T ($7-14 \pm 1,13\%$) і T + 869T ($13-26 \pm 1,92\%$), а також гомозиготи T-509T ($9-18 \pm 1,89\%$) і C 869C ($8-16 \pm 1,86\%$), $p < 0,01$.

В достовірній більшості гомозигот C-509C ($80,1 \pm 11,12\%$) і T + 869T ($65,02 \pm 6,74\%$) відмічалась пиєлонефрит з III ст. активності запального процесу.

Ключевые слова: пиєлонефрит; бульбозно-мочеточниковый рефлекс; діти раннього віку; трансформуючий фактор росту B1; поліморфізм гена.

comprised 50 children with pyelonephritis on the background of vesicoureteral reflux and the second subgroup consisted of 50 children with pyelonephritis without evidence of vesicoureteral reflux. The control group consisted of 50 practically healthy children.

Verification of the diagnosis was carried out on the basis of an in-depth examination according to the order of the Ministry of Health of Ukraine N. 627 of 03.11.2008. "On the treatment of children with urinary tract infections and tubulointerstitial nephritis

Results of the study and their discussion: When comparing the distribution of genotypes and alleles of the polymorphism -509 of the TGF-B1 gene between the children of the main group and the comparison group, a significant increase in the frequency of carriers of the HS genotype in children of the main group (34 cases - $68 \pm 4.86\%$) was observed compared to the frequency of the allele homo-carriers C in the comparison group (7 cases - $14 \pm 1.41\%$), $p < 0.01$. It was found that the children of the comparison group (20 respondents - $40 \pm 3.43\%$) are significantly more likely to be the homo-carriers of the T allele than those examined with pyelonephritis against vesicoureteral reflux (9 children - $18 \pm 1.89\%$), $p < 0,01$. Therefore, it can be assumed that children homozygotes of CC often suffer from pyelonephritis against a background of vesicoureteral reflux than carriers of genotype C-509T and heterozygotes of CT.

Characteristics of the genotypes of the polymorphic variant +869 of the TGF-B1 gene in children with pyelonephritis of children showed that the homozygotes of the mutant T allele were the highest, which was significantly higher than the frequency of heterozygotes and homozygotes over the C allele ($p < 0.05$).

Further, the distribution of the genotypes and alleles of polymorphism +869 of the TGF-B1 gene was compared between the children of the main group and the comparison group. It was noted that the frequency of the major T allele with significant advantage was observed in the main group as compared with the percentage of the similar allele in the comparison group ($67.79 \pm 6.24\%$ vs. $38.07 \pm 4.01\%$), $p < 0.05$). Therefore, it can be assumed that the children of the TT genotype often suffer from pyelonephritis against the background of vesicoureteral reflux than carriers of the genotype C + 869T and heterozygotes of the CT.

Analysis of the degree of severity of pyelonephritis, depending on the polymorphism C> T in position -509 of the TGF-B1 gene in the children of the main group, found that the frequency of secondary pyelonephritis of III degree of severity in the homozygotes of the mutant allele ($80.1 \pm 11.12\%$, 95% CI: 65.79 - 87.68) was significantly higher than in homozygotes of the main allele ($10.01 \pm 4.46\%$, 95% CI: 5.25-13.23) and heterozygotes ($9.9 \pm 2.51\%$ 95% CI: 5.13 - 14.67), $p < 0.01$.

According to the polymorphism C> T in the +869 position of the TGF-B1 gene in the children of the main group, the third degree of activity of the inflammatory process was significantly more likely to have carriers of the TT genotype ($65.02 \pm 6.74\%$, 95% CI: 52.72 - 74,81%) compared with heterozygotes ($19.97 \pm 4.28\%$, 95% CI: 13.62 - 24.95%) and the allele C homo-carriers ($15.03 \pm 2.71\%$, 95% CI: 8.59 - 19.42%), $p < 0.01$.

Conclusions: Thus, our studies have shown that children of early age, carriers of the genotype C-509C ($34-68 \pm 4.86\%$) and T + 869T ($29-58 \pm 4.46$) are more likely to suffer from pyelonephritis against the background of vesicoureteral disease, ureter reflux than the heterozygotes C-509T ($7-14 \pm 1.13\%$) and T + 869T ($13-26 \pm 1.92\%$), as well as the homozygotes T-509T ($9-18 \pm 1.89\%$) and C 869C ($8-16 \pm 1.86\%$), $p < 0.01$.

In a significant majority of homozygotes C-509C ($80,1 \pm 11,12\%$) and T + 869T ($65,02 \pm 6,74\%$) there was pyelonephritis from the III century. activity of the inflammatory process.

Key words: Pyelonephritis; Vesiculo-Urethral Reflux; Infants, Transforming Growth Factor B1; Ppolymorphism of the Gene.

Контактна інформація:

Токарчук Надія Іванівна - д.мед.н, професор кафедри педіатрії №1 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)
Контактна адреса: вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна.
Контактний телефон: +380674963472.
e-mail: nadia_tokarchuk@ukr.net

Одарчук Ірина Володимирівна - асистент кафедри педіатрії факультету післядипломної освіти Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (м.Вінниця, Україна).
Контактна адреса: вул. Кам'янецька, 94; м. Хмельницький, Україна.
Контактний телефон: +380632961848.
e-mail: ira-vlad@ukr.net.
ORCID: orcid.org/0000-0002-6484-1525

Вижга Юлія Віталіївна – асистент кафедри педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (м.Вінниця, Україна).
Контактна адреса: вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна.

Антонець Тетяна Іванівна – асистент кафедри пропедевтики дитячих захворювань Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (м.Вінниця, Україна).
Контактна адреса: вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна.

Старинець Людмила Сергіївна – завідувач відділення для дітей раннього віку Вінницької обласної дитячої лікарні (м. Вінниця, Україна)
Контактна адреса: вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна.

© «Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина», 2017
© Н. І. Токарчук, І. В. Одарчук, Ю.В. Вижга, Т.І. Антонець, Л.С. Старинець, 2017

Контактная информация:

Токарчук Надежда Ивановна - д.мед.н, профессор кафедры педиатрии №1 Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова (г. Винница, Украина)
Контактный адрес: ул. Пирогова, 56, г.Винница, 21018, Украина.
Контактный телефон: +380674963472.
e-mail: nadia_tokarchuk@ukr.net

Одарчук Ирина Владимировна - ассистент кафедры педиатрии факультета последипломного образования Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова (г. Винница, Украина).
Контактный адрес: ул. Каменецкая, 94; г. Хмельницкий, Украина.
Контактный телефон: +380632961848.
e-mail: ira-vlad@ukr.net
ORCID: orcid.org/0000-0002-6484-1525

Вьжга Юлия Витальевна - ассистент кафедры педиатрии №2 Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова (г.Винница, Украина).
Контактный адрес: ул. Пирогова, 56, г. Винница, 21018, Украина.

Антонец Татьяна Ивановна - ассистент кафедры пропедевтики детских болезней Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова (г.Винница, Украина).
Контактный адрес: ул. Пирогова, 56, г. Винница, 21018, Украина.

Старинець Людмила Сергеевна - заведующая отделением для детей раннего возраста Винницкой областной детской больницы (г. Винница, Украина)
Контактный адрес: ул. Пирогова, 56, г. Винница, 21018, Украина.

© «Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine», 2017
© N.I. Tokarchuk, I.V. Odarchuk, Y.V. Vyzhga, T.I. Antonec, L.S. Starinec, 2017

Contact Information:

Tokarchuk Nadezhda - MD, Professor of the Department of Pediatrics N1 of the National Pirogov Memorial Medical University (Vinnitsa, Ukraine)
Contact address: st. Pirogova, 56, Vinnitsa, 21018, Ukraine.
Contact phone: +380674963472.
e-mail: nadia_tokarchuk@ukr.net

Odarchuk Irina - Assistant of the Department of Pediatrics, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University (Vinnitsa, Ukraine).
Contact address: st. Kamenetskaya, 94; Khmelnitsky, Ukraine.
Contact phone: +380632961848.
e-mail: ira-vlad@ukr.net
ORCID: orcid.org/0000-0002-6484-1525

Vyzhga Yulia - Assistant of the Department of Pediatrics N2 of the National Pirogov Memorial Medical University (Vinnitsa, Ukraine).
Contact address: st. Pirogova, 56, Vinnitsa, 21018, Ukraine.

Antonec Tatyana - Assistant professor of propaedeutics of children's diseases of the National Pirogov Memorial Medical University (Vinnitsa, Ukraine).
Contact address: st. Pirogova, 56, Vinnitsa, 21018, Ukraine.

Starinec Lyudmila - head of the department for young children of Vinnytsia regional children's hospital (Vinnitsa, Ukraine)
Contact address: st. Pirogova, 56, Vinnitsa, 21018, Ukraine.

Надійшло до редакції 15.07.2017
Підписано до друку 03.12.2017