

Лук'яненко Н.С.^{1,2}, Іськів М.Ю.¹, Кенс К.А.², Макух Г.В.¹¹ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», м. Львів, Україна²Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, м. Львів, Україна

Дисплазія сполучної тканини як провокуючий фактор важкості пієлонефриту в дітей

For cite: *Роски*. 2018;7(3):158-166. doi: 10.22141/2307-1257.7.3.2018.140199

Резюме. Актуальність. Останніми десятиріччями все більшу увагу привертає патологія різних органів і систем людини, асоційована з дисплазією сполучної тканини (ДСТ), через часте формування на її фоні патології різних систем організму, зокрема з боку нирок. **Мета дослідження** — з'ясування ролі недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ) у важкості перебігу пієлонефриту (ПН) у дітей та пошук можливих молекулярно-генетичних маркерів, асоційованих із порушенням фібриногенезу в дітей із різними варіантами перебігу ПН. **Матеріали та методи.** Обстежено 60 дітей із ПН. За результатами катанестичного спостереження вони були розподілені на 2 групи: I — 30 дітей із хронічним пієлонефритом (ХрПН), у катанезі яких діагностувались 3 епізоди рецидиву ПН і більше впродовж 2 років, II — 30 дітей із ПН, в яких впродовж 2 років не відмічалось рецидивів ПН. Контрольну групу становили 42 здорові дитини. Дітям проводилося рутинне обстеження, встановлювались клініко-лабораторні маркери порушення фібриногенезу (фенотипові ознаки ДСТ, вміст оксипроліну (Оп) у плазмі крові та сечі) та молекулярно-генетичне тестування локусів ТТ та СТ поліморфного локусу rs565470 гена COL4A2 та локусів АА та АГ поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1. **Результати.** У дітей із ХрПН вірогідно частіше відмічались фенотипові ознаки недиференційованої дисплазії сполучної тканини порівняно з даними дітей із гострим ПН (ГПН). Практично у всіх обстежених із ХрПН були вірогідно підвищені показники вільної та зв'язаної фракцій Оп у плазмі крові ($47,14 \pm 0,03$ мкмоль/л та $40,08 \pm 0,03$ мкмоль/л відповідно), вірогідно відрізняючись від даних дітей із ГПН ($17,65 \pm 0,01$ мкмоль/л та $17,22 \pm 0,02$ мкмоль/л), серед яких ці показники були підвищені тільки у 12,0 та 16,0 % дітей відповідно. У 97,0 % дітей із ХрПН визначався підвищений рівень Оп у сечі, що перевищувало частоту його виділення із сечею в дітей із ГПН (10 %). Установлена вірогідна вища частота «дикого» генотипу АА — rs605143 гена колагену COL4A1 у дітей із ХрПН порівняно з даними осіб загальнопопуляційної контрольної групи (21,4 проти 4,8 %, $p < 0,05$). Розрахунки показали, що носійство цього генотипу в п'ять разів збільшує ризик розвитку ХрПН (OR 5,105, 95% CI 0,12–0,87), а наявність у дитини генотипу ТТ поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 зменшує ризик розвитку рецидивування ПН (OR 0,14, 95% CI 0,02–1,19). **Висновки.** Наявність НДСТ у дитини відіграє важливу роль у процесі хронізації пієлонефриту, тому наявність ознак НДСТ є прогностично неблагополучною. З метою прогнозування генетично детермінованої схильності до хронізації ПН рекомендується проведення молекулярно-генетичного тестування генотипів АА та АГ поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 та генотипів ТТ та СТ поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2.

Ключові слова: діти; дисплазія сполучної тканини; порушення фібриногенезу; клініко-лабораторні та молекулярно-генетичні маркери дисплазії; оксипролін; колаген; пієлонефрит

Вступ

Останніми десятиріччями все більшу увагу лікарів-практиків привертає патологія різних органів і систем організму людини, що асоційована з дисплазією сполучної тканини (ДСТ). Значимість даної проблеми обумовлена значною поширеністю ДСТ,

системністю ураження, високою ймовірністю формування патології з боку різних органів та систем [1, 2].

ДСТ — це унікальна онтогенетична аномалія розвитку організму, що належить до числа складних, далеко не вивчених питань сучасної медицини. Безумовно, провідне значення в розвитку клініч-

них проявів ДСТ мають мутації генів, що кодують синтез і просторову організацію колагену та відповідають за формування компонентів екстрацелюлярного матриксу [3, 4]. За генетичною основою усі дисплазії сполучної тканини (СТ) поділяються на диференційовані та недиференційовані. Диференційовані ДСТ — це хвороби з мутаціями одного гена білка колагену. Вони зустрічаються рідко та мало залежать від зовнішніх факторів. У популяції частіше спостерігаються недиференційовані ДСТ (НДСТ), які характеризуються мутацією не одного гена, а нуклеотидним поліморфізмом [5]. ДСТ може бути пов'язана як із порушенням синтезу колагену під час фібрилогенезу, так і зі змінами його біодеградації, ферментопатіями, дефектами фібронектину, еластину, глікопротеїдів, протеогліканів, а також із дефіцитом різних кофакторів ферментів (магнію, цинку, міді), аскорбінової кислоти, ксенофілу, що беруть участь в утворенні ковалентних зв'язків, необхідних для стабілізації колагенових структур, в основі яких лежать мутації генів, що кодують синтез та просторову організацію елементів СТ [6, 7].

У літературі все частіше зустрічаються дані про роль екзогенних факторів у розвитку дезорганізації сполучної тканини [8]. Певну роль у прогресуванні НДСТ відіграють екологічні фактори, навколишнє середовище, свинець, алюміній, стронцій, кадмій, що затримують дозрівання сполучнотканинних структур; нераціональне харчування, що призводить до дефіцитних станів (магнію, аскорбінової кислоти, міді, селену, цинку, молібдену), як наслідок порушення обміну та дозрівання сполучної тканини, повна відсутність або нераціональна фізична активність [9].

Негативний вплив преморбідних чинників є своєрідним патогенетично обумовленим підґрунтям щодо стану здоров'я дітей із синдромом недиференційованої ДСТ і підвищує їх схильність до розвитку генералізованої диспластикозалежної патології в дітей [4].

СТ завдяки запрограмованій природою мінливості та поширеності в організмі (понад 85,0 % маси тіла) визначає поліорганність уражень при недиференційованій дисплазії сполучної тканини [9].

Унікальність структури та функцій сполучної тканини створює умови для виникнення великої кількості її аномалій та захворювань, викликаних хромосомними та генними дефектами, що мають певний тип успадкування або виникають у результаті зовнішніх мутагенних впливів у фетальному періоді [10]. Окрім великої кількості захворювань, в основі яких найчастіше лежать генні дефекти, нерідко виникають вроджені аномалії СТ мультифакторної природи [11, 12].

Нирки беруть участь у багатьох патологічних процесах, оскільки є одним з основних органів, що підтримують гомеостаз організму в будь-якому віці. Клінічні прояви багатьох захворювань у дітей значною мірою залежать від ступеня зрілості органів сечоутворення та сечовиділення [13, 14].

Багатьма дослідниками відмічається, що останнім часом клінічний перебіг піелонефриту в дітей характеризується збільшенням кількості латентних форм захворювання, підвищенням резистентності до традиційної антибактеріальної терапії, що призводить до хронізації і рецидивування патологічного процесу в нирках [2]. Згідно зі статистичними даними МОЗ України, за останні 5 років захворюваність на інфекції сечової системи збільшилась від 40 до 56 дітей на 1000 дитячого населення. Рецидивування інфекцій сечовивідних шляхів відмічається в 30–50 % пацієнтів [15].

При цьому в структурі нефропатій у дітей переважають захворювання вродженого та спадкового генезу, а також захворювання, пов'язані зі спадковою схильністю, що мають прихований початок та торпідний перебіг [16]. Особливої уваги заслуговують діти з проявами ДСТ [17].

На сьогодні загальні методи молекулярної медицини знаходять своє місце в клінічній практиці, розширюють діагностичні можливості та допомагають вирішувати питання розробки профілактичних заходів [18]. Усе більше дослідників останнім десятиріччям звертаються до питання генетичної обумовленості порушень стану здоров'я у дітей [19, 20].

Закордонними та вітчизняними дослідженнями доведено, що значна кількість соматичних захворювань характеризується поліморфізмом, при цьому виявляються суттєві популяційні, етнічні, расові варіації, пов'язані з історичними традиціями, відмінностями в харчуванні, географічним середовищем життєдіяльності, епідеміями інфекційних захворювань, особливостями забруднення довкілля тощо [21, 22]. Ці різноманітні фактори ризику розглядаються як епігенетичні фактори впливу на організм людини.

З огляду на вищевикладене залишається відкритим питання про роль дисплазії сполучної тканини при піелонефриті в дітей, ознаки якої все частіше зустрічаються серед хворих нефрологічної групи та можуть впливати на характер і перебіг захворювання, його виникнення, хронізацію та стійкість до терапії.

Мета — з'ясування ролі недиференційованої дисплазії сполучної тканини у важкості перебігу піелонефриту в дітей та пошук можливих молекулярно-генетичних маркерів, асоційованих із порушенням фібрилогенезу в дітей із різними варіантами перебігу піелонефриту.

Матеріали та методи

Обстежено 60 дітей віком від 3 до 18 років, які поступали на стаціонарне лікування з діагнозом «гострий піелонефрит» у I педіатричне відділення КЗ ЛОР ЛОДКЛ «ОХМАТДИТ» у 2016–2017 роках. За результатами спостереження за хворими в катамнезі 1–2 років вони були розподілені на 2 групи за частотою епізодів загострення запального процесу нирок упродовж 2 років: I група (I — ХрПН — 30 осіб) —

це діти з хронічним пієлонефритом, рецидивуючим перебігом, в яких діагностувалось 3 і більше епізодів рецидиву пієлонефриту впродовж 2 років, II група (II — ГПН — 30 дітей), у яких при поступленні в стаціонар був діагностований гострий пієлонефрит, а впродовж 2 років катамнестичного спостереження не відмічалось рецидивів захворювання.

Результати дослідження дітей основних груп порівнювали з результатами обстеження 42 соматично здорових дітей того ж віку (III — здорові — контроль), які були обстежені під час виїзду групи наукових співробітників в екологічно чисті райони Львівської області в межах виконання планової науково-дослідної роботи.

Усім дітям проводилося комплексне клініко-лабораторне обстеження згідно зі стандартними, загальноприйнятими в дитячій нефрології та педіатрії методами клінічного, лабораторного та інструментального обстеження.

При поступленні дітей здійснювалися:

— ретельне опитування дітей та їх батьків за спеціально розробленою анкетною для уточнення необхідних анамнестичних даних;

— клінічний огляд дітей та антропометричні вимірювання з акцентом на виявлення фенотипових ознак недиференційованої дисплазії сполучної тканини;

— визначення рутинних клінічних, лабораторних показників (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, біохімічний аналіз крові) та інструментальних методів обстеження (УЗД нирок, мікційна цистографія, екскреторна урографія);

— визначення фенотипових ознак недиференційованої дисплазії сполучної тканини за Брайтонівськими та модифікованими Мілковською — Димитровою і Каркашевою критеріями;

— визначення рівнів вільної та зв'язаної фракції оксипроліну в плазмі крові за методом Шараєва;

— дослідження рівня екскреції оксипроліну в сечі за методом Е.О. Юрьєвої, В.В. Длин у модифікації О.О. Добрик, С.Л. Няньковського, М.Ю. Іськів;

— проведення молекулярно-генетичного дослідження AA та AG генотипів/алелів поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 та TT і TC генотипів/алелів поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 за допомогою методу полімераз-

ної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестриктивних фрагментів.

Статистична обробка результатів дослідження здійснювалась із використанням програми Microsoft Excel та прикладного пакета Statistica 5.0 for Windows. Для обробки результатів, що потрапили під нормальний розподіл, використовувався статистичний метод із враховуванням середньої арифметичної (M), стандартного відхилення (SD). Розрахунки основних статистичних величин здійснювались за загальноприйнятими формулами [29].

Результати

Розподіл обстежених дітей за віком та статтю поданий у табл. 1.

Аналіз табличних даних вказує на можливість коректного порівняння результатів дослідження дітей із пієлонефритом обох груп, оскільки вони мало відрізнялись як за віком, так і за статтю (табл. 1).

З метою вивчення можливої ролі недиференційованої дисплазії сполучної тканини в перебігу пієлонефриту проаналізовано характер та частоту фенотипових проявів недиференційованої ДСТ в обстежених дітей двох груп (табл. 2).

Визначення частоти фенотипових проявів НДСТ в обстежених дітей вказує на те, що в дітей I групи вірогідно частіше відмічались фенотипові ознаки недиференційованої дисплазії сполучної тканини, чого не спостерігалось у дітей II групи та осіб групи контролю (табл. 2).

З метою уточнення наявності недиференційованої дисплазії сполучної тканини в дітей, у тому числі і як причини більш тяжчого перебігу пієлонефриту в дітей і схильності до хронізації процесу, а також із метою прогнозування частих рецидивів пієлонефриту усім дітям із пієлонефритом проведено визначення рівнів вільної та зв'язаної фракції оксипроліну в плазмі крові та сечі [25, 26] як показника підвищеного метаболізму колагену та порушення фібрилогенезу і, відповідно, загальноприйнятого маркера наявності дисплазії сполучної тканини. Отримані дані порівнювались із даними здорових дітей контрольної групи (табл. 3).

У практично всіх обстежених дітей обох груп показники підвищеного метаболізму колагену були вірогідно вищими від даних здорових дітей (табл. 3). Проте в дітей I групи підвищені показники вільної

Таблиця 1. Розподіл обстежених дітей за віком та статтю

Групи дітей	Кількість, n	Вік						Стать			
		4–6 років		7–12 років		12–16 років		Хлопчики		Дівчатка	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I — ХрПН	30	8	33,3*	12	40,0* **	10	33,3*	12	40,0*	18	60,0*
II — ГПН	30	11	36,7*	9	30,0*	10	33,3*	13	43,3*	17	56,6*
III — здорові — контроль	42	14	33,3	16	38,1	12	28,57	24	57,14	18	42,86

Примітки: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$; ** — вірогідна різниця показника між двома групами дітей із пієлонефритом, $p < 0,01$.

та зв'язаної фракції оксипроліну в плазмі крові діагностовані в більшій кількості дітей (87,0 та 78,0 % відповідно), які за середньоарифметичними даними вірогідно відрізнялись від даних дітей II групи (12,0 та 16,0 % відповідно), що свідчить про посилений обмін колагену в дітей із хронічним пієлонефритом та частими його рецидивами.

З метою вивчення інтенсивності процесів деградації колагену в дітей обох груп спостереження методом якісної реакції (за ступенем помутніння) було визначено рівень оксипроліну в сечі як показника патологічного метаболізму колагену в результаті порушення процесів фібрилогенезу. Результати екскреції оксипроліну з добовою сечею в дітей із пієлонефритом обох груп спостереження порівняно з даними здорових дітей подані в табл. 4.

Визначення рівня екскреції оксипроліну в сечі дітей із пієлонефритом (табл. 4) свідчить про посилення розпаду й екскрецію продуктів обміну кола-

гену в дитячому організмі в 97,0 % обстежених дітей I групи, що значно перевищує частоту виділення оксипроліну із сечею в дітей II групи (10,0 %) та в осіб контрольної групи (8,0 %), що вказує на порушення катаболізму сполучної тканини в практично всіх дітей із ХрПН із рецидивуючим перебігом.

З метою пошуку можливих генетичних маркерів, асоційованих із порушенням фібрилогенезу в дітей, за допомогою методів полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестракційних фрагментів проводили молекулярно-генетичне дослідження AA та AG генотипів/алелів поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 (табл. 5, 6).

Порівняльний аналіз розподілу генотипів AA та AG за поліморфним локусом rs605143 гена колагену COL4A1 у дітей із пієлонефритом проводили з особами, вибраними методом випадкової вибірки, що становили IV групу загальнопопуляційного контролю (ЗГПК).

Таблиця 2. Характер та частота фенотипових проявів в обстежених дітей

Виявлені фенотипові прояви НДСТ	Групи дітей					
	I — ХрПН, n = 30		II — ГПН, n = 30		III — здорові — контроль, n = 42	
	n	%	n	%	n	%
Гіпермобільність суглобів	16	53,0*, **	2	6,67	2	4,76
Астенічна тілобудова	17	56,67*, **	8	26,67*	7	16,67
Порушення зору	26	86,67*, **	11	36,67*	3	7,14
Арахнодактилія	1	0,33*, **	—	—	—	—
Деформація грудної клітки	13	43,33*, **	3	10,0*	2	4,76
Плоскостопість	6	20,0*, **	—	—	—	—
Сколіотична постава	16	53,33*, **	4	13,33*	2	4,76
Схильність до кровотеч	2	6,67*, **	—	—	—	—
Пупкова кіста	4	13,33*, **	1	3,33*	—	—

Примітки: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$; ** — вірогідна різниця показника між двома групами дітей із пієлонефритом, $p < 0,01$.

Таблиця 3. Показники розпаду колагену в крові дітей із пієлонефритом ($M \pm m$)

Показники	Групи дітей					
	I — ХрПН, n = 30		II — ГПН, n = 30		III — здорові — контроль, n = 42	
	$M \pm m$	q	$M \pm m$	q	$M \pm m$	q
Вільний оксипролін, мкмоль/л	47,14 ± 0,03*, **	0,87*, **	17,65 ± 0,01*	0,12*	12,64 ± 0,38	0,08
Зв'язаний оксипролін, мкмоль/л	40,08 ± 0,03*, **	0,78*, **	17,22 ± 0,02*	0,16*	8,30 ± 0,29	0,06

Примітки: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$; ** — вірогідна різниця показника між двома групами дітей із пієлонефритом, $p < 0,01$.

Таблиця 4. Вміст оксипроліну в сечі дітей із пієлонефритом ($M \pm m$)

Показники	Групи дітей					
	I — ХрПН, n = 30		II — ГПН, n = 30		III — здорові — контроль, n = 42	
	$M \pm m$	q	$M \pm m$	q	$M \pm m$	q
Оксипролін у сечі (+)	0,70 ± 0,02*, **	0,97*, **	0,13 ± 0,01*, **	0,10**	0,06 ± 0,01	0,08

Примітки: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$; ** — вірогідна різниця показника між двома групами дітей із пієлонефритом, $p < 0,01$.

Зареєстровано вірогідно нижчу частоту генотипу AG у дітей із хронічним перебігом пієлонефриту порівняно з результатами загальнопопуляційної групи контролю (39,3 проти 66,7 % відповідно, $p < 0,025$). Встановлена вірогідна вища частота «дикого» генотипу AA в дітей із хронічним пієлонефритом із частими рецидивами порівняно з даними осіб ЗГПК (21,4 проти 4,8 % у IV ЗГПК, $p < 0,05$). Доведено, що наявність у дитини генотипу AA поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 у п'ять разів збільшує ризик розвитку рецидивування хронічного пієлонефриту (OR 5,105, 95% CI 0,12–0,87) (табл. 5, 6).

З метою пошуку можливих генетичних маркерів, асоційованих із порушенням фібринолізу у дітей, також проводили молекулярно-генетичне дослідження TT та CT генотипів/алелів поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 за допомогою методів полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестракційних фрагментів (табл. 7, 8).

Зареєстровано вірогідно нижчу частоту генотипу TT у дітей із гострим перебігом пієлонефриту порівняно з результатами загальнопопуляційної групи

контролю (0,37 проти 21,4 % відповідно, $p < 0,05$). Таким чином, доведено, що наявність у дитини генотипу TT поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 зменшує ризик розвитку рецидивування пієлонефриту (OR 0,14, 95% CI 0,02–1,19) (табл. 8).

Обговорення

Висока частота проявів недиференційованої дисплазії сполучної тканини в дітей неодноразово продемонстрована даними ряду досліджень [6, 17, 23]. Однак частота фенотипових проявів у дітей із нефрологічною патологією вивчалась в основному в дітей із вродженими аномаліями розвитку сечовивідної системи [4, 13, 14]. За даними літератури, маркером лабораторного підтвердження порушення фібринолізу та, відповідно, недосконалого колагенового обміну є підвищення рівня оксипроліну в сироватці крові та сечі [24, 26].

За даними літератури, в дітей референтної групи рівень вільного та зв'язаного оксипроліну в плазмі крові дорівнює $12,20 \pm 0,49$ мкмоль/л і $8,60 \pm 0,34$ мкмоль/л відповідно. Чим вищий показник, тим більше посиленням вважається обмін колагену [30].

Таблиця 5. Аналіз розподілу генотипів за поліморфним локусом rs605143 гена COL4A1 серед дітей із хронічним пієлонефритом

Генотипи rs605143	ХрПН, n = 30			ЗГПК, n = 42			χ^2	p	OR (CI)
	n	%	HWE p = 0,32	n	%	HWE p = 0,007			
GG	11	39,3	0,347	12	28,6	0,383	0,874	> 0,05	1,62 (0,59–4,45)
AG	11	39,3*	0,484	28	66,7*	0,472	5,105	< 0,025	0,32 (0,12–0,87)
AA	8	21,4*	0,169	2	4,8	0,145	4,61	< 0,05	5,45 (1,01–29,36)

Примітка: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$.

Таблиця 6. Аналіз розподілу генотипів за поліморфним локусом rs605143 гена COL4A1 серед дітей із гострим пієлонефритом

Генотипи rs605143	ХрПН, n = 30			ЗГПК, n = 42			χ^2	p	OR (CI)
	n	%	HWE p = 0,32	n	%	HWE p = 0,007			
GG	14	53,8*	0,563	12	28,6*	0,383	4,344	< 0,05	2,92 (1,05–8,10)
AG	11	42,3*	0,375	28	66,7*	0,472	3,896	< 0,05	0,37 (0,13–1,01)
AA	1	0,38*	0,063	2	4,8*	0,145	0,032	> 0,05	0,80 (0,07–9,29)

Примітки: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$.

Таблиця 7. Аналіз розподілу генотипів за поліморфним локусом rs565470 гена COL4A2 серед дітей із хронічним пієлонефритом

Генотипи rs565470	ХрПН, n = 30			ЗГПК, n = 42			χ^2	p	OR (CI)
	n	%	HWE p = 0,46	n	%	HWE p = 0,03			
TT	7	23,3	0,267	9	21,4	0,300	0,037	> 0,05	1,12 (0,36–3,43)
CT	17	56,7*	0,499	28	66,7*	0,495	0,747	> 0,05	0,65 (0,25–1,72)
CC	6	20*	0,234	5	11,9*	0,205	0,886	> 0,05	1,85 (0,51–6,74)

Примітка: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із пієлонефритом та здорових групи контролю, $p < 0,01$.

За нашими даними, практично у всіх обстежених дітей обох груп показники підвищеного метаболізму колагену були вірогідно вищими від даних здорових дітей. Проте в дітей із ХрПН підвищені показники вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в плазмі крові діагностовані в більшій кількості дітей (87,0 та 78,0 % відповідно), ніж у дітей із ГПН (12,0 та 16,0 % відповідно), що за середньоарифметичними даними вірогідно відрізнялись від даних дітей із ГПН, що свідчить про посилений обмін колагену в дітей із хронічним піелонефритом та частими його рецидивами. Ці дані певною мірою збігаються з даними, отриманими Т.А. Криганою та В.В. Дліном [31], щодо зміни функціонального стану нирок залежно від ступеня вираженості дисплазії сполучної тканини в дітей із піелонефритом. За їх даними, ранній дебют піелонефриту відмічався в дітей із важким ступенем дисплазії сполучної тканини, а фільтраційна здатність нирок при легкому та середньому ступені ДСТ залишалась збереженою, тоді як її зниження відмічалось при тяжких вадах розвитку, поєднаних із міхурово-сечовідним рефлюксом [31].

Якісна реакція на виявлення оксипроліну в сечі дає можливість ранньої діагностики порушень обміну колагену [25, 26], що може застосовуватись як скринінг-тест у пацієнтів із піелонефритом. За результатами нашого дослідження, позитивні результати відмічались у 97,0 % обстежених дітей із ХрПН, що значно перевищувало частоту виділення оксипроліну з сечею в дітей із гострим піелонефритом (10,0 %) та в осіб контрольної групи (8,0 %), що вказує на порушення катаболізму сполучної тканини в практично всіх дітей із ХрПН із рецидивуючим перебігом. У дослідженні Г.О. Железної [32] отримані подібні дані, зокрема найбільш виражена оксипролінемія й оксипролінурія були відмічені при змішаному нетриманні сечі та спостерігались при ургентному і стресовому нетриманні сечі в жінок із дисплазією сполучної тканини, що свідчить про збільшення швидкості розпаду колагену в організмі жінок за наявності ДСТ, проте в дітей такі дослідження автори не проводили.

Закордонними та вітчизняними дослідженнями доведено, що значна кількість соматичних захворювань характеризується поліморфізмом, при цьому

виявляються суттєві популяційні, етнічні, расові варіації, пов'язані з історичними традиціями, відмінностями в харчуванні, географічним середовищем життєдіяльності, епідеміями інфекційних захворювань, особливостями забруднення довкілля тощо [21, 22]. Ці різноманітні фактори ризику розглядаються як епігенетичні фактори впливу на організм людини.

З метою пошуку можливих генетичних маркерів, асоційованих із порушенням фібрилогенезу в дітей, за допомогою методів полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестракційних фрагментів було проведено молекулярно-генетичне тестування локусів ТТ та СТ поліморфного локусу rs 565470 гена COL4A2 та локусів АА та АГ поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 [27, 28].

Показано, що наявність у дитини генотипу АА поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 у п'ять разів збільшує ризик хронізації піелонефриту з частими рецидивами (OR 5,105; 95% CI 0,12–0,87). Доведено, що наявність у дитини генотипу ТТ поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 зменшує ризик рецидивування піелонефриту, а отже, і його хронізацію (OR 0,14; 95% CI 0,02–1,19). У доступній авторам літературі аналогічних досліджень не зустрівся.

Отже, проаналізувавши результати клініко-параклінічного обстеження дітей із різними варіантами перебігу піелонефриту, можна зробити висновок, що недиференційована ДСТ відіграє важливу роль у процесі хронізації піелонефриту в дітей, а діти з проявами НДСТ мають важчий перебіг захворювання з частими рецидивами.

Проведене дослідження вказує на суттєву роль недиференційованої дисплазії сполучної тканини як причини більш важкого перебігу піелонефриту в дітей і схильності до хронізації процесу та провокує часті рецидиви піелонефриту в дітей. Отже, наявність ознак НДСТ у дитини з піелонефритом є прогностично неблагополучною щодо хронізації патологічного процесу, що змушує задуматись над необхідністю призначення метаболічної терапії, що здатна покращити біоенергетичні процеси в сполучній тканині, при перших епізодах виникнення піелонефриту в дітей за наявності в них клініко-лабораторних проявів НДСТ.

Таблиця 8. Аналіз розподілу генотипів за поліморфним локусом rs565470 гена COL4A2 серед дітей із гострим піелонефритом

Генотипи rs565470	ХрПН, n = 30			ЗГПК, n = 42			χ^2	p	OR (CI)
	n	%	HWE p = 0,0007	n	%	HWE p = 0,03			
ТТ	1	0,37*	0,198	9	21,4*	0,300	4,167	< 0,05	0,14 (0,02–1,19)
СТ	22	81,5*	0,494	28	66,7*	0,495	1,808	> 0,05	2,20 (0,69–7,04)
СС	4	14,8	0,309	5	11,9	0,205	0,123	> 0,05	1,29 (0,31–5,29)

Примітка: * — вірогідна різниця показника між даними дітей із піелонефритом та здорових групи контролю, p < 0,01.

Висновки

1. У дітей з хронічним пієлонефритом з частими рецидивами достовірно частіше, ніж в дітей з гострим пієлонефритом, відмічались фенотипові ознаки недиференційованої дисплазії сполучної тканини, такі як гіпермобільність суглобів (у 53,0 % дітей проти 6,67 %), астенічна тілобудова (56,67 проти 26,67 %), порушення зору (86,67 проти 36,67 %), деформація грудної клітки (43,33 проти 10,0 %), сколіотична постава (53,33 проти 13,33 %). Арахнодактилія та схильність до кровотеч відмічались лише у дітей з хронічним перебігом пієлонефриту (0,33 та 6,67 % відповідно).

2. У дітей із хронічним пієлонефритом із частими рецидивами встановлено підвищення показників вільної (87,0% обстежених) та зв'язаної фракції оксипроліну (78,0% осіб) в плазмі крові ($47,14 \pm 0,03$ мкмоль/л та $40,08 \pm 0,03$ мкмоль/л відповідно), що за середньоарифметичними даними вірогідно відрізнялось від даних дітей із гострим пієлонефритом ($17,65 \pm 0,01$ мкмоль/л та $17,22 \pm 0,02$ мкмоль/л), серед яких ці фракції оксипроліну були підвищені тільки у 12,0 та 16,0 % обстежених відповідно, що свідчить про посилений обмін колагену у дітей із хронічним пієлонефритом.

3. Визначення рівня оксипроліну в сечі в дітей із хронічним пієлонефритом із частими рецидивами свідчить про посилення розпаду й екскрецію продуктів обміну колагену в дитячому організмі в 97,0 % обстежених, яке значно перевищувало рівень виділення оксипроліну із сечею в дітей із гострим перебігом пієлонефриту (10,0 %), що вказує на виражене порушення катаболізму колагену в дітей, схильних до хронізації та рецидивування пієлонефриту.

4. Зареєстровано вірогідно нижчу частоту генотипу AG у дітей із хронічним перебігом пієлонефриту порівняно з результатами загальнопопуляційної групи контролю (39,3 проти 66,7 % відповідно, $p < 0,025$). Встановлена вірогідна вища частота «дикого» генотипу AA в осіб загальнопопуляційної контрольної групи порівняно з даними дітей із рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту (21,4 проти 4,76 % у III — ЗГПК, $p < 0,05$). Наявність у дитини генотипу AA поліморфного локусу rs605143 гена колагену COL4A1 у п'ять разів збільшує ризик хронізації пієлонефриту (OR 5,105; 95% CI 0,12–0,87).

5. Наявність у дитини генотипу TT поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 зменшує ризик розвитку хронічного пієлонефриту (OR 0,14; 95% CI 0,02–1,19).

6. З метою прогнозування в дітей генетично детермінованої схильності до хронізації та рецидивування пієлонефриту рекомендується проведення молекулярно-генетичного тестування генотипів AG та AA поліморфного локусу rs605143 гена COL4A1 та TT поліморфного локусу rs565470 гена колагену COL4A2 як інформативних маркерів, асоційованих із дисплазією сполучної тканини.

Біоетика. Під час проведення дослідження були дотримані біоетичні норми, пацієнти (батьки, опікуни) підписали добровільно інформовану згоду про проведення дослідження й обробку персональних даних.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів при підготовці даної публікації.

Рецензенти: проф. Беш Л.В., проф. Гнатейко О.З.

References

1. Lavrenchuk OV. Aktual'na diagnostyka, faktory progresuvannja ta likuvannja pijelonefrytu u ditej. Diss. dokt. med. nauk [Current diagnostics, factors of progression and treatment of pyelonephritis in children. Dr. med. sci. diss.]. Kyiv: Poligraf pljus; 2015. 37p. (in Ukrainian).
2. Ministry of Health of Ukraine. Order № 627 dated November 3, 2008. On the approval of the protocol for the treatment of children with urinary tract infections and tubulointerstitial nephritis. Available from: http://old.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20081103_627.html. Accessed: November 3, 2008. (in Ukrainian).
3. Pyantkovsky A. Analysis of the frequency of connective tissue dysplasia. Family medicine. 2016;(67):149-154. (in Ukrainian).
4. Frolova TV, Ohapkina OV, Sorokolat YuV, Koliushko KG. Risk of origins on the fibrillogenesis disorders in children at population. Experimental and clinical medicine. 2013;(58):131-135. (in Ukrainian).
5. Kovalchuk TA. Genetic aspects of heritable disorders of connective tissue of the heart in children. Achievements of clinical and experimental medicine. 2014;(2):81-86. (in Ukrainian).
6. Solejko OV, Rykalo NA, Osypenko IP, Solejko LP. Syndrom nedyferencijovanoi' dysplazii' spoluchnoi' tkanyny: vid koncepcii' patogenezu do strategii' likuvannja: navchal'nyj posibnyk [Syndrome of undifferentiated connective tissue dysplasia: from the concept of pathogenesis to the strategy of treatment: a textbook]. Vinnitsa: Nova Knyga; 2014. 166 p. (in Ukrainian).
7. Nazarenko LG. Connective tissue dysplasia: role in human pathology and gestational period problems (a review). Zhynchij likar'. 2010;(1):42-48. (in Ukrainian).
8. Albitsky VYu, Vinyarskaya IV. Possibilities of using the criteria for quality of life to assess children's health status. Rossiiskii Pediatricheskii Zhurnal. 2007;(5):54-56. (in Russian).
9. Makarchuk OM, Rymarchuk OM, Drogomyrec'kyj LV. Undifferentiated connective tissue dysplasia as a factor of likely gestational complications. Obstetrics. Gynecology. Genetics. 2015;(2):18-19. (in Ukrainian).
10. Zaremba EH, Rak NR. The manifestations of undifferentiated connective tissue dysplasia on the part of the cardiovascular system in patients with arterial hypertension. Acta medica Leopoliensia. 2015;21(2):14-18. (in Ukrainian).
11. Kazimirko VK, Ivaniitskaya LM, Dubkova AG, et al. Diagnostic difficultis in undifferentiated connective tissue dysplasia in rheumatologists clinical practice. Ukrainian journal of rheumatology. 2013;(53):96-100. (in Ukrainian).
12. Tymochko-Voloshyn R, Mukhin V. On the problem of connective tissue dysplasia in children: means of physical reha-

bilitation. *Physical activity health and sport*. 2014;(15):46-53. (in Ukrainian).

13. Povshedna TJu, Shevchuk DV, Kornijchuk NM. The role of timely treatment of congenital malformations of the urinary system in preventing chronic renal insufficiency in children. *Biological research. Collection of scientific works. Zhitomir: Ruta*; 2015. 423-429 pp. (in Ukrainian).

14. Lukyanenko NS, Kens KA, Petritsa NA. Evaluating the diagnostic value of the tissue hypoxia, membrane destruction and undifferentiated connective tissue dysplasia markers in young children with vesicourethral reflux. *Zdorov'e rebenka*. 2016;(74):86-92. doi: 10.22141/2224-0551.6.74.2016.82138. (in Ukrainian).

15. Maydannik VG, Kovalchuk IV. Modern aspects of pyelonephritis in children. *International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology*. 2016;9(3):17-40. (in Russian).

16. Ivanov DD, Korzh OM. *Nefrologija v praktyci simejnogo likarja: navchal'no-metodychnyj posibnyk [Nephrology in the practice of a family doctor: teaching aid]*. Donetsk: Publisher Zaslavsky OYu; 2014. 464p. (in Ukrainian).

17. Sinitska VO, Pavlyshyn GA, Chubata OB. Metabolic therapy in the complex treatment of connective tissue dysplasia syndrome. *Mystectvo likuvannja*. 2008;(54):89-90. (in Ukrainian).

18. Podol's'kyj VV. Female reproductive health is the most important problem of our time. *Zhinoche zdorov'ja*. 2003;(13):100-102. (in Ukrainian).

19. Baranov VS. Genetic foundations of predisposition to some common multifactorial diseases. *Medical Genetics*. 2004;3(3):102-112. doi: 10.18370/2309-4117.2015.22.58-61. (in Russian).

20. Tempfer CB, Simoni M, Destenaves B, Fauser BC. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: part II--endometriosis. *Hum Reprod Update*. 2009 Jan-Feb;15(1):97-118. doi: 10.1093/humupd/dmn040.

21. Nebert DV. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist? *Am J Hum Genet*. 1997 Feb;60(2):265-71.

22. Baranov VS, editor. *Genetic passport as the basis of individual and predictive medicine*. SPb: Publishing House H-L; 2009. 528 p. (in Russian).

23. Beighton P, de Paepe A, Danks D, et al. *International Nosology of Heritable Disorders of Connective Tissue*, Berlin, 1986. *Am J Med Genet*. 1988 Mar;29(3):581-94. doi: 10.1002/ajmg.1320290316.

24. Sharaev PN, Pishkov VN, Solov'eva NI, et al. Method of determination of bound and free hydroxyproline in blood serum. *Laboratornoe delo*. 1987;(5):330-332. (in Russian).

25. Iur'eva EA, Dlin VV. *Diagnosticheskiy spravochnik nefrologa [Diagnostic guide for nephrologist]*. Moscow: Overley; 2002. 95p. (in Russian).

26. Nyan'kovskiy SL, Dobrik OO, Is'kiv MYu. Metabolic therapy and its role in the complex treatment of connective tissue dysplasia in Pediatric Nephrology. *Sovremennaya pediatriya*. 2016;(73):131-136. doi:10.15574/SP.2016.73.131. (in Ukrainian).

27. Adi D, Xie X, Xiang Y, et al. Polymorphisms of COL4A1 gene are associated with arterial pulse wave velocity in healthy Han Chinese and Uygur subjects. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Feb 15;8(2):2693-701.

28. Adi D, Xie X, Ma YT, et al. Association of COL4A1 genetic polymorphisms with coronary artery disease in Uygur population in Xinjiang, China. *Lipids Health Dis*. 2013 Oct 25;12:153. doi: 10.1186/1476-511X-12-153.

29. Borovikov V. *Statistica: iskusstvo analiza dannyh na komp'yutere [Statistica. The art of data analysis on a computer]*. SPb: Piter; 2001. 656 p. (in Russian).

30. Kadurina TI, Gorbunova VN. *Displaziia soedinitel'noi tkani: rukovodstvo dlia vrachei [Connective tissue dysplasia: a guide for doctors]*. SPb: Elbi; 2009. 702p. (in Russian).

31. Kryganova TA, Dlin VV. The rate of urinary tract abnormalities and the functional state of kidneys in relation to the degree of connective tissue dysplasia in children. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii*. 2016;61(3):81-86. (in Russian).

32. Zhelezna GO. Biochemical features of collagen exchange in the treatment of urinary incontinence in women. *Mediko-sotsial'nye problemy sem'i*. 2012;(3-4):68-74. (in Ukrainian).

Отримано 15.03.2018

Отримано у виправленому вигляді 10.06.2018 ■

Лукьяненко Н.С.^{1,2}, Иськів М.Ю.¹, Кенс К.А.², Макух Г.В.¹

¹ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», г. Львов, Украина

²Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Дисплазия соединительной ткани как провоцирующий фактор тяжести пиелонефрита у детей

Резюме. Актуальность. В последние десятилетия все большее внимание привлекает патология различных органов и систем человека, ассоциированная с дисплазией соединительной ткани (ДСТ), из-за частого формирования на ее фоне патологии различных систем организма, в частности со стороны почек. **Цель** исследования — выяснение роли недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) в тяжести течения пиелонефрита (ПН) у детей и поиск возможных молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с нарушением фибриллогенеза у детей с различными вариантами течения ПН. **Материалы и методы.** Обследовано 60 детей с ПН. По результатам катamnестического наблюдения они были разделены на 2 группы: I — 30 детей с хроническим пиелонефритом

(ХрПН), в катamnезе которых диагностировались 3 эпизода рецидива ПН и более в течение 2 лет, II — 30 детей с ПН, у которых в течение 2 лет не отмечалось рецидивов ПН. Контрольную группу составили 42 здоровых ребенка. Детям проводилось рутинное обследование, устанавливались клинико-лабораторные маркеры нарушения фибриллогенеза (фенотипические признаки ДСТ, содержание оксипролина (Оп) в плазме крови и моче) и молекулярно-генетическое тестирование локусов ТТ и СТ полиморфного локуса rs565470 гена COL4A2 и локусов АА и АG полиморфного локуса rs605143 гена коллагена COL4A1. **Результаты.** У детей с ХрПН достоверно чаще отмечались фенотипические признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани по сравнению с

данными детей с острым ПН (ОПН). Практически у всех обследованных с ХрПН были достоверно повышенные показатели свободной и связанной фракций Оп в плазме крови ($47,14 \pm 0,03$ мкмоль/л и $40,08 \pm 0,03$ мкмоль/л соответственно), достоверно отличаясь от данных детей с ОПН ($17,65 \pm 0,01$ мкмоль/л и $17,22 \pm 0,02$ мкмоль/л), среди которых эти показатели были повышены только у 12,0 и 16,0 % детей соответственно. У 97,0 % детей с ХрПН определялся повышенный уровень Оп в моче, что превышало частоту его выделения с мочой у детей с ОПН (10 %). Установлена достоверная высокая частота «дикого» генотипа AA — rs605143 гена коллагена COL4A1 у детей с ХрПН сравнению с данными лиц общепопуляционной контрольной группы (21,4 против 4,8 %, $p < 0,05$). Расчеты показали, что носительство этого генотипа в пять раз увеличивает риск развития ХрПН (OR 5,105, 95% CI 0,12–0,87), а наличие у ребенка генотипа TT полиморфного ло-

куса rs565470 гена коллагена COL4A2 уменьшает риск развития рецидивирования ПН (OR 0,14, 95% CI 0,02–1,19).

Выводы. Наличие НДСТ у ребенка играет важную роль при хронизации пиелонефрита, поэтому наличие признаков НДСТ является прогностически неблагоприятным. С целью прогнозирования генетически детерминированной склонности к хронизации ПН рекомендуется проведение молекулярно-генетического тестирования генотипов AA и AG полиморфного локуса rs605143 гена коллагена COL4A1 и генотипов TT и TC полиморфного локуса rs565470 гена коллагена COL4A2.

Ключевые слова: дети; дисплазия соединительной ткани; нарушение фибрилlogenеза; клинико-лабораторные и молекулярно-генетические маркеры дисплазии; оксипролин; коллаген; пиелонефрит

N.S. Lukyanenko^{1,2}, M.Yu. Iskiv¹, K.A. Kens², H.V. Makuch¹

¹State Institution "Institute of Hereditary Pathology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Lviv, Ukraine

²Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Connective tissue dysplasia as a trigger of pyelonephritis severity in children

Abstract. Background. In recent decades, more and more attention of practitioners is attracted to the role of pathology of various organs and systems of the human body associated with connective tissue dysplasia, which leads to chronicity and relapse of the pathological process in the kidneys. The purpose of the research: to clarify the role of undifferentiated connective tissue disease in the severity of pyelonephritis in children and to search for possible molecular genetic markers associated with violations of fibrillogenesis in children with different clinical course of pyelonephritis. **Materials and methods.** There were examined 60 children with pyelonephritis aged 3–18 years. According to the results of follow-up, they were divided in 2 groups: I — 30 patients with chronic pyelonephritis, whose follow-up was characterized by 3 and more pyelonephritis relapses during 2 years, II — 30 children with pyelonephritis, who didn't have relapses within 2 years. The control group consisted of 42 somatically healthy children of the same age. All children underwent the routine comprehensive clinical and laboratory examination, clinical and laboratory markers of fibrillogenesis disorders were evaluated. There was conducted the molecular and genetic investigation of polymorphic loci rs605143 of collagen gene COL4A1 and rs565470 of collagen gene COL4A2. **Results.** In children with chronic pyelonephritis, phenotypic signs of undifferentiated connective tissue dysplasia were significantly more common as compared to that of children, who had only one episode of pyelonephritis a year. Virtually in all examined children with chronic pyelonephritis, the values of free and bound fractions of hydroxyproline in the blood plasma were significantly increased (47.14 ± 0.03 $\mu\text{mol/l}$ and 40.08 ± 0.03 $\mu\text{mol/l}$, respectively) indicating an increased

collagen exchange, and differed reliably from those in patients with acute pyelonephritis (17.65 ± 0.01 $\mu\text{mol/l}$ and 17.22 ± 0.02 $\mu\text{mol/l}$), whose hydroxyproline fractions were elevated only by 12.0 and 16.0 %, respectively. In 97.0 % of children with chronic pyelonephritis, elevated levels of urinary hydroxyproline were detected indicating an increase in the breakdown and excretion of collagen metabolism products, which significantly exceeds the rate of excretion of hydroxyproline in patients with acute pyelonephritis (10 %). The frequency of the wild AA genotype rs605143 of the COL4A1 collagen gene in children with recurrent chronic pyelonephritis was found to be higher than that of control group (21.4 vs. 4.8 %, $p < 0.05$). The presence in a child of AA genotype of the polymorphic rs605143 locus of the COL4A1 collagen gene five times increases the risk of chronic pyelonephritis recurrence (odds ratio (OR) 5.105, 95% confidence interval (CI) 0.12–0.87). On the contrary, as our studies have shown, the presence of TT genotype of the polymorphic locus rs565470 of the COL4A2 collagen gene reduces the risk of pyelonephritis recurrence (OR 0.14, 95% CI 0.02–1.19). **Conclusions.** The presence of undifferentiated connective tissue dysplasia in a child plays an important role in the course of chronic pyelonephritis. In order to predict genetically determined propensity to pyelonephritis relapse, it is recommended to carry out a molecular genetic testing of AA and AG genotypes of the polymorphic locus rs605143 of COL4A1 collagen gene, and TT and TS the genotypes of the rs565470 polymorphic locus of the COL4A2 collagen gene.

Keywords: children; connective tissue dysplasia; violations of fibrillogenesis; clinical laboratory and molecular genetic markers of dysplasia; hydroxyproline; collagen; pyelonephritis