

Суслов И.Н., Безус Е.В., Иллек Я.Ю.,
Зайцева Г.А.

HLA-АССОЦИИИ И ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ У ДЕТЕЙ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ДВЕНАДЦАТИПЁРСТНОЙ КИШКИ

ГОУ ВПО Кировская ГМА Росздрава, г. Киров
Кировский НИИ ГиПК

Введение.

Язвенная болезнь является полиэтиологическим заболеванием и среди многих факторов, обуславливающих её формирование, особенно важное значение придаётся наследственной предрасположенности, генетически обусловленному повышению агрессивности желудочного сока, инфекции *Helicobacter pylori*, расстройству локального и системного иммунитета. У больных язвенной болезнью выявляется ассоциативная связь с определёнными антигенами главного комплекса гистосовместимости (HLA-антигены I класса B5, B12, B15), обнаруживаются нарушения иммунологической реактивности, отмечается более быстрая положительная динамика клинико-лабораторных показателей и параметров иммунитета при включении в комплексное лечение иммуностимулирующих и иммуномодулирующих препаратов [4, 2, 5, 3, 1, 6].

Однако необходимо отметить, что исследование иммуногенетических параметров при язвенной болезни было выполнено, в основном, у взрослых лиц и проводилось, как правило, без учёта локализации язвенных дефектов (желудок и/или двенадцатипёрстная кишка, двойная локализация язвы), а данные литературы о глубине и характере сдвигов показателей иммунитета при язвенной болезни разноречивы. В этой связи мы поставили перед собой цель исследовать особенности распределения антигенов HLA-комплекса I и II класса, дать характеристику изменениям параметров иммунологической реактивности у детей с язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки.

Материал и методы исследования.

Под наблюдением в городской детской клинической больнице и областной детской клинической больнице г. Кирова в период с 2003 по 2007 г. находилось 68 детей (38 мальчиков и 30 девочек) русской национальности в возрасте 12-15 лет, страдающих язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки (ЯБДК). Продолжительность болезни у пациентов колебалась от 2 до 4 лет, рецидивы заболевания возникали 1-2 раза в год.

Типирование лимфоцитов у больных язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки по антигенам HLA-комплекса I класса выполнялось в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте с помощью гистотипирующих сывороток, выпускаемых ЗАО «Гисанс» (г. Санкт-Петербург), которые позволяют идентифицировать 15 антигенов локуса A и 32 антигена локуса B. Молекулярное типирование HLA-генов локусов DRB1 и DQB1 проводилось методом полимеразной цепной реакции с набором сиквенс-праймеров (НПФ «ДНК-Технология», г. Москва), который включает в себя серию амплификаций различных участков HLA-генов II класса и позволяет выявлять 14 аллелей гена DRB1, 12 аллелей и групп аллелей гена DQB1.

Расчёт иммуногенетических параметров у больных ЯБДК осуществляли с помощью формул, принятых в популяционной генетике. Частоту встречаемости изучавшихся антигенов определяли как процентное отношение индивидов, несущих антиген, к общему числу обследованных в группе. Частоту внутриллокусных сочетаний антигенов находили отдельно для локусов A и B, частоту межлокусных сочетаний антигенов рассчитывали по формуле Mattius P. с соавт. Для установления существенности различий в характере распределения антигенов в сравниваемых группах определяли критерий согласия (χ^2) с поправкой на непрерывность вариаций; с помощью специальных математических формул χ^2 переводили в коэффициент достоверности различий (p). Для определения степени ассоциации ЯБДК с иммуногенетическими параметрами вычисляли критерий относительного риска (RR); при нулевом значении одного из составляющих величину RR рассчитывали по формуле Haldane J. Принято считать, что при RR, равном 2,0 и больше, существует положительная ассоциация признака с заболеванием (предрасположенность к развитию болезни), тогда как значения RR меньше 1,0 указывают на резистентность индивида к данной патологии. Вместе с тем, у больных ЯБДК рассчитывали этиологическую фракцию (EF), характеризующую силу положительной HLA-ассоциации, и превентивную фракцию (PF), характеризую-

ющую силу отрицательной HLA-ассоциации. Математическую обработку результатов HLA-типирования у больных ЯБДК выполняли на персональном компьютере с использованием специальной программы, составленной сотрудниками лаборатории иммуногематологии Кировского НИИ ГиПК на основании указанных выше формул. Контрольную группу в этих исследованиях составили 795 практически здоровых лиц – доноров крови.

Для оценки показателей иммунологической реактивности у больных ЯБДК исследовали содержание CD3-, CD4-, CD8- и CD22-лимфоцитов в крови (метод непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами), уровни иммуноглобулинов (Ig) классов G, A, M (метод радиальной иммунодиффузии с использованием моноспецифических антисывороток) и концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови (унифицированный метод преципитации с раствором полиэтиленгликоля), фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарный индекс (ФИ) и тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест в цитоплазме нейтрофилов (с использованием частиц латекса), уровни интерлейкина-1бета (ИЛ-1β) и фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-α) в сыворотке крови (метод иммуноферментного анализа). Данные, полученные у больных ЯБДК при исследовании показателей иммунитета, обрабатывали методом вариационной статистики на персональном компьютере в программе Microsoft Excel-2007. Контрольную группу в этих исследованиях составили 118 практически здоровых детей того же возраста, проживающих в г. Кирове и Кировской области.

Результаты и их обсуждение.

У большинства наблюдаемых детей с язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки (68%) была выявлена наследственная отягощённость в отношении гастродуоденальной патологии и 28% родителей этих пациентов сами страдали язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки или желудка. Все наблюдаемые пациенты поступали в стационар с типичными клиническими проявлениями обострения язвенной болезни. У них отмечались изменения гемограммы, свойственные воспалительному процессу: увеличение общего количества лейкоцитов, увеличение абсолютного количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов, повышение СОЭ. У всех больных отмечались положительные или резко положительные результаты уреазного дыхательного теста, выявлялось присутствие специфических IgG-антител к *Helicobacter pylori* в сыворотке крови. При фракционном исследовании у пациентов обнаруживались признаки повышения кислотообразующей функции желудка. При эндоскопическом исследовании у 85% пациентов обнаруживался единичный язвенный дефект диаметром 6-8 мм на передней или задней стенке луковицы двенадцатипёрстной кишки, гораздо реже (15%) выявлялись множественные язвенные дефекты (2-5) среднего размера на слизистой оболочке луковицы двенадцатипёрстной кишки; вместе с тем, у всех пациентов отмечались признаки дуоденита, а у 17% больных – эрозии слизистой оболочки луковицы двенадцатипёрстной кишки.

Результаты, полученные в ходе иммуногенетических исследований, позволили выделить HLA-антигены и их комбинации, с которыми ассоциировался высокий относительный риск развития язвенной болезни двенадцатипёрстной кишки у детей (таблица 1).

Таблица 1

HLA-ассоциации у детей с ЯБДК

HLA-антигены и их комбинации	Частота встречаемости, %:		χ^2	p	RR	EF	PF
	здоровые лица, n = 795	больные ЯБДК, n = 68					
DRB1*01	22,7	39,5	5,46	<0,02	2,22	0,31	-
B5-B7	0,6	2,9	7,36	<0,01	4,63	0,02	-
A1-B13	0,4	2,3	-	-	5,71	-	-
A1-B27	0,0	2,4	-	-	2,35	-	-
A2-B18	0,3	1,6	-	-	4,57	-	-
A9-B18	0,1	3,2	-	-	4,70	-	-
A19-B15	0,3	2,6	-	-	7,79	-	-
DRB1*02	41,7	23,3	4,97	<0,02	0,43	-	-
DQB1*602-8	38,3	20,5	3,72	<0,05	0,42	-	0,29
A2-A9	11,8	7,3	4,95	<0,05	0,06	-	-
A2-B16	2,1	0,0	-	-	0,01	-	-

Установлено (таблица 1), что представительство HLA-антигена II класса DRB1*01, внутрилокусной комбинации HLA-антигенов I класса B5-B7, межлокусных комбинаций HLA-антигенов I класса A1-B13, A1-B27, A2-B18, A9-B18 и A19-B15 ассоциировалось с повышением относительного риска (в 2,22-7,79 раза) развития язвенной болезни двенадцатипёрстной кишки у детей (RR = 2,22-7,79). Вместе с тем, проведенные исследования позволили выделить HLA-антигены II класса (DRB1*02 и DQB1*602-8), внутрилокусную комбинацию HLA-антигенов I класса (A2-A9) и межлокусную комбинацию HLA-антигенов I класса (A2-B16), с которыми ассоциировалась определённая резистентность к возникновению этого заболевания у детей (RR = 0,43-0,01).

У наблюдаемых больных язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки отмечались выраженные сдвиги показателей иммунологической реактивности (таблица 2).

Изменения клеточного звена иммунитета у детей с ЯБДК в фазе обострения заболевания (таблица 2) проявлялись в увеличении относительного и абсолютного количества CD3-лимфоцитов ($p < 0,001$, $p < 0,001$), абсолютного количества CD4-лимфоцитов ($p < 0,001$) и CD8-лимфоцитов ($p < 0,001$) в крови, а изменения гуморального звена иммунитета проявлялись в увеличении абсолютного количества CD22-лимфоцитов ($p < 0,001$) в крови, повышение уровней иммуноглобулинов G ($p < 0,001$) и M ($p < 0,001$) в сыворотке крови. Наряду с этим, у детей с язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки в фазе обострения заболевания обнаруживались признаки нарушения неспецифической резистентности, проявляющиеся в значительном снижении показателей фагоцитарной активности нейтрофилов ($p < 0,001$), фагоцитарного индекса ($p < 0,001$) и НСТ-теста ($p < 0,001$), а также резко выраженное повышение уровней провоспалительных цитокинов (интерлейкин-1бета и фактор некроза опухолей-альфа) в сыворотке крови ($p < 0,001$, $p < 0,001$).

Таблица 2

Показатели иммунологической реактивности у детей ЯБДК ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые дети, n = 118	Больные ЯБДК, n = 60
CD3-лимфоциты, %	64,10 $\pm$ 1,25	73,98 $\pm$ 1,31*
CD3-лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,49 $\pm$ 0,07	1,81 $\pm$ 0,09*
CD4-лимфоциты, %	49,50 $\pm$ 1,34	46,43 $\pm$ 1,03
CD4-лимфоциты, 10 ⁹ /л	0,73 $\pm$ 0,03	0,86 $\pm$ 0,05*
CD8-лимфоциты, %	25,73 $\pm$ 1,47	26,05 $\pm$ 0,76
CD8-лимфоциты, 10 ⁹ /л	0,38 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,03*
Индекс CD4/CD8	1,93 $\pm$ 0,12	1,95 $\pm$ 0,09
CD22-лимфоциты, %	9,90 $\pm$ 0,77	10,52 $\pm$ 0,86
CD22-лимфоциты, 10 ⁹ /л	0,17 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,02*
IgG, г/л	9,78 $\pm$ 0,15	11,89 $\pm$ 0,65*
IgA, г/л	1,24 $\pm$ 0,07	1,28 $\pm$ 0,09
IgM, г/л	1,25 $\pm$ 0,07	1,91 $\pm$ 0,12*
ЦИК, ед. опт. пл.	0,070 $\pm$ 0,003	0,068 $\pm$ 0,003
ФАН, %	72,90 $\pm$ 1,51	51,73 $\pm$ 1,91*
ФИ	10,50 $\pm$ 0,21	8,38 $\pm$ 0,17*
НСТ-тест, %	22,00 $\pm$ 0,90	12,13 $\pm$ 1,62*
ИЛ-1 β , пкг/мл	16,26 $\pm$ 1,13	140,11 $\pm$ 23,24*
ФНО- α , пкг/мл	8,06 $\pm$ 1,02	73,42 $\pm$ 23,34*

Примечание: «*» - $p < 0,001$ по сравнению с показателями у здоровых детей.

Выводы.

1. Идентификацию антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II классов рекомендуется использовать для выявления лиц, предрасположенных к развитию язвенной болезни. В качестве иммуногенетического маркера язвенной болезни двенадцатипёрстной кишки у детей может служить повышенная частота встречаемости антигена HLA-комплекса DRB1*01, внутрилокусного сочетания антигенов B5-B7, межлокусных сочетаний антигенов A1-B13, A1-B27, A2-B18, A9-B18, A19-B15.

2. В качестве характерного признака обо-

стрения язвенной болезни двенадцатипёрстной кишки у детей может служить совокупность изменений следующих параметров иммунологической реактивности: увеличение относительного и абсолютного количества CD3-лимфоцитов, абсолютного количества CD4-, CD8-, CD22-клеток в крови, повышение уровней IgG и IgM в сыворотке крови, снижение показателей ФАН, ФИ и НСТ-теста, повышение уровней ИЛ-1 β и ФНО- α в сыворотке крови.

3. Наличие выраженных иммунных нарушений у детей с язвенной болезнью двенадцатипёрстной кишки служит показанием для

включения иммуномодулирующей терапии в комплексное лечение больных. С этой целью могут быть использованы иммуномодуляторы нового поколения – имунофан и полиоксидоний, которые, наряду с иммунокорректирующим действием, обладают противовоспалительным, мембраностабилизирующим и антиоксидантным свойствами, не вызывают развития осложнений и побочных реакций.

Литература.

1. Иллек Я.Ю., Зайцева Г.А., Суслова Е.В., Суслов И.Н. Влияние комплексного лечения с включением имунофана на клинико-эндоскопические показатели и состояние иммунитета у детей с язвенной болезнью// Нижегородский медицинский журнал.-2007.-№6.-с.50-53.
2. Маев И.В., Нефедова Ю.Ф., Вьючнова Е.С., Нефедова Е.А. Использование иммунокорректоров в лечении хронических эрозий желудка// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.-1998.-№4.-с.33-37.
3. Нестерова И.В., Капранова Н.П., Роменская В.А. Интерферон в комплексной терапии язвенной болезни// Вопросы детской диетологии.-2006.-т.4.-№1.-с.70-72.
4. Фролькис А.В. Заболевания желудочно-кишечного тракта и наследственность.-Санкт-Петербург,1995.-285 с.
5. Шкадова М.Г. Влияние иммуномодулирующей терапии на показатели местного иммунитета у больных с дуоденальной язвой// Физиология и патология иммунной системы.-2004.-т.6.-№1.-с.9-13.
6. Uibo R., Parik J., Samloff I.M. Alpha-I-antitrypsin allo- and phenotypes gastric and duodenal ulcer// Scand.J.Gastroenterol.-1991.-v01.26.-suppl.186.-p.105-107.

Холматов Д.Н., Алимджанов И.И. **ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НАРУШЕНИЙ РИТМА И ПРОВОДИМОСТИ СЕРДЦА У ДЕТЕЙ** *Андижанский государственный медицинский институт*

За последние годы произошли существенные изменения взглядов на природу болезней сердца у детей [1, 2, 6, 8]. Появились убедительные научные данные, свидетельствующие о том, что в формировании аритмии сердца у детей существенное место занимают генетические факторы [3, 4]. В отечественной кардиоревматологии не уделяется должного внимания диагностике наследственных синдромов и болезней, одним из проявлений которых является аритмия сердца. Известно, что наиболее часто аритмии сердца сочетаются с неполноценнос-

тью (дисплазиями) соединительной ткани организма [5, 7].

Цель исследования – провести клико-эпидемиологический анализ 66 внешних проявлений дизморфии (пороки развития) и микроаномалий у детей с нарушением ритма (НРС) и проводимости сердца (НПС).

Материалы и методы. Исследования проводились среди школьников Избаскентского района Андижанского вилоята в возрасте 7-14 лет. Проводились общеклинические, электрокардиографические, и морфометрические исследования школьников.

Результаты. В работе проводятся основные внешние проявления (дизморфия) нарушений ритма и проводимости сердца. Показана ассоциативность дизморфии с отдельными видами НРС и НПС у детей.

Результаты и обсуждение. После углубленного клинического обследования школьники с различными видами нарушения ритма и проводимости сердца классифицировались по форме заболевания в зависимости от возраста и пола. Изучение удельного веса дизморфии по частям тела больных с НРС и проводимости сердца показали, что наибольшая доля дизморфий концентрирована в области лица (глаз), носогубного треугольника, нижних конечностей и кожи. Установлено, что дети с дизритмиями отличаются по накоплению частостей дизморфии в области носогубного треугольника, нижних конечностей, а так же на коже и ее производных ($p < 0,05-0,01$). Предстояло изучить, насколько ассоциируется те или иные нарушения ритма и проводимости сердца у детей с дизморфиями в отдельных частях тела (таблица 1).

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что с дизморфиями в области черепа ассоциируются 5 нарушений ритма и проводимости, в области глаз - 1, носогубного треугольника - 4, нижних конечностях - 9, коже - 6, с ростом и развитием детей - 8.

Наибольшая ассоциативность нарушений ритма и проводимости сердца с дизморфиями в области черепа обнаруживается при АВБ ($X^2=7,99$, $p < 0,01$), в орбитальной части лица при синусовой тахикардии ($X^2=12,3$, $p < 0,001$), в области носогубного треугольника при синусовой тахикардии ($X^2=15,5$, $p < 0,001$), ПВЖ ($X^2=14,9$, $p < 0,001$), синусовой аритмии ($X^2=12,8$, $p < 0,001$), в нижних конечностях при синусовой брадикардии ($X^2=17,6$, $p < 0,001$), синусовой аритмии ($X^2=24,5$, $p < 0,001$), СРРЖ ($X^2=26,5$, $p < 0,001$), тахикардиях ($X^2=12,9$, $p < 0,01$). На коже и ее придатки при синусовой тахикардии ($X^2=33,4$, $p < 0,001$), ПВЖ ($X^2=18,3$, $p < 0,001$), с нарушением роста и развития при МВР ($X^2=14,65$, $p < 0,001$), ПВЖ ($X^2=28,6$, $p < 0,001$), синусовой тахикардии ($X^2=29,2$, $p < 0,001$), синусовой аритмии ($X^2=30,4$, $p < 0,001$) и брадикардиях ($X^2=13,1$, $p < 0,001$).