

УДК 616.617-007.272-053.1-053.2-078.33:575

М.П. Разин, Г.А. Зайцева, Я.Ю. Иллек, М.А. Батуров
**ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОГЕНЕТИКИ В ДИАГНОСТИКЕ
ВРОЖДЕННЫХ ОБСТРУКТИВНЫХ УРОПАТИЙ У ДЕТЕЙ**

M.P. Razin, G.A. Zajceva, Ya.Yu. Illek, M.A. Baturov
**POTENCY OF IMMUNOGENETICS IN DIAGNOSTICS INNATE
OBSTRUCTIVE UROPATHY IN CHILDREN**

Кировская государственная медицинская академия

Авторами обследовано 136 русских детей от 5 до 15 лет с различными формами врожденных обструктивных уропатий. Больным было проведено иммуногенетическое обследование. Выявлена положительная и отрицательная ассоциативная связь определенных антигенов системы HLA, их фенотипических сочетаний и гаплотипических комбинаций с заболеванием в общей группе больных врожденными обструктивными уропатиями, у больных обструктивным пиелонефритом. Выявлена различная иммуногенетическая картина у больных врожденным гидронефрозом и детей с пиелоктазией. Различные закономерности распределения иммуногенетических маркеров в различных группах больных могут использоваться для дифференциальной диагностики, определения риска прогрессирования гидронефротической трансформации, осложнения течения обструктивной патологии вторичным инфекционным процессом и объективизации лечебной тактики у детей с этими заболеваниями.

Ключевые слова: иммуногенетика, врожденные обструктивные уропатии, дети.

136 Russian children from 5 till 15 years with various forms of innate obstructive uropathy were examined by authors. Immunogenetics investigation was performed in patients. Positive and negative associative relationship of certain antigens of HLA system was revealed, also its phenotypic conjunction and haplotypic combinations relate with morbidity in patients with obstructive uropathy and in obstructive pyelonephritis patients. The various immunogenetics picture in patients with innate hydronephrosis and children with pyelectasis was discovered. Various laws of distribution of immunogenetic markers in various groups of patients can be used for differential diagnostics, definition of risk of progressing of hydronephrotic transformation, complication of a current obstructive pathology by secondary infectious process and elaboration of medical tactics in children with these diseases.

Key words: immunogenetics, innate obstructive uropathy, children

Введение

Последние годы характеризуются увеличением удельного веса врожденной патологии в педиатрии, а также стойким ростом патологии мочевыделительной системы у детей [1,2] и особенно аномалий обструктивного характера [2,3]. Несмотря на то, что в свое время было выполнено немало работ, касающихся тех или иных аспектов врожденных обструктивных уропатий (ВОУ) [4,5,6,7], в настоящее время еще недостаточно изучены отдельные вопросы дифференциальной диагностики ВОУ с некоторыми схожими по проявлениям заболеваниями и состояниями, а также вопросы, касающиеся возможностей прогрессирования либо

регресса гидронефротической трансформации у детей. Некоторые авторы, например, усматривают возможность функциональной обструкции пиелоуретерального сегмента [8,9], связывая ее с периодом роста организма и вероятностью потенциального восстановления уродинамики по мере взросления новорожденного-ребенка-подростка [10]. Другие исследователи придерживаются более стратифицированного подхода к проблеме, говоря о встречаемости как функциональной, так и анатомической обструкции у новорожденных и о транзитном характере нарушений только в первой группе [11,12]. Мы считаем, что врачам приходится иногда решать довольно сложные задачи дифференциальной диагностики врожденного гидронефроза (самой распространенной обструктивной уропатии) с транзитной пиелозктазией новорожденных или вторичной гидронефротической трансформацией при мочекаменной болезни зачастую интуитивно, опираясь исключительно на свой личный практический опыт. Стремление объективизации выбора врачебной тактики в подобных случаях и побудило нас к проведению иммуногенетического исследования в группе больных различными формами БОУ.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находилось 136 русский детей от 5 до 15 лет с врожденными обструктивными уропатиями. Из них синдром Фрелея был диагностирован у 2 больных (1,5%), пиелозктазия – у 31 ребенка (22,8%), врожденный гидронефроз 2-3 степени – у 93 больных (68,4%), врожденный пузырно-мочеточниковый рефлюкс – у 6 (4,4%), врожденный обструктивный уретерогидронефроз – у 4 больных (2,9%). У 117 детей (86%) течение основной патологии осложнялось наслоением вторичного пиелонефрита. Нами изучались особенности распределения антигенов главного комплекса гистосовместимости, их фенотипических и гаплотипических комбинаций.

Идентификацию локусов HLA-A, HLA-B, HLA-C проводили у 136 больных в двухступенчатом микролимфоцитотоксическом тесте (Terasaki P. с соавт., 1970), локуса HLA-DR и локуса HLA-DQ – в пролонгированном тесте полимеразной цепной реакции (ПЦР) по коллекции типизирующих сывороток АО «Гисанс» (Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, г. Санкт-Петербург). CD22-лимфоциты для DR-типирования и DQ-типирования получали путем фильтрации лимфовзвеси через нейлоновое волокно. При этом в локусе HLA-A определяли 15 специфичностей, в локусе HLA-B – 28, в локусе HLA-C – 4, в локусе HLA-DR – 14 и в локусе HLA-DQ – 12 специфичностей.

Частоту встречаемости изучавшихся антигенов определяли как процентное отношение индивидов, несущих антиген, к общему числу обследованных в группе [13]. Частоту фенотипических сочетаний антигенов находили отдельно для локусов HLA-A и HLA-B, частоту гаплотипических сочетаний антигенов рассчитывали по формуле, предложенной Mattiuz P. с соавт. (1970). 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 таблиц критерий согласия χ^2 переводили в коэффициент достоверности различий (P). Для определения степени ассоциации различных форм врожденных обструктивных уropатий с иммуногенетическими параметрами вычисляли критерий относительного риска (RR) по формуле Sweigaard A., Rider L.P. (1994) [14]. Критерий относительного риска обнаруживает, как часто данное заболевание или состояние развивается у лиц, имеющих определенный HLA-антиген, по сравнению с теми, у кого его нет. 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 соответственно на резистентность индивида к данной патологии. Чтобы количественно охарактеризовать силу такой положительной либо отрицательной HLA-ассоциации, мы вычисляли величины соответственно этиологической фракции (EF) и превентивной фракции (PF) [14].

Математическую обработку результатов иммуногенотипирования больных и здоровых детей выполняли на компьютере с использованием специальной программы, составленной сотрудниками лаборатории иммуногематологии Кировского НИИ гематологии и переливания крови на основании вышеуказанных формул с помощью пакета Microsoft Excel. Контрольную группу в этих исследованиях составили 253 практически здоровых русский ребенка, проживающих в г. Кирове и в Кировской области.

Результаты

Исследования антигенов локуса HLA-C у детей с BOY не принесли значимых результатов, но у больных этой группы констатировалось наличие положительной ассоциативной связи заболевания с антигеном HLA-B8 (19,9% против 10,5% в контроле; $\chi^2=4,3$, $P<0,05$, $RR=2,1$, $EF=0,14$) и с межлокусными комбинациями антигенов первого класса HLA-A2-B17 (5,15% против 0,2% в контроле, $RR=8,49$) и HLA-A3-B13 (3,4% против 0,9% в контроле, $RR=3,1$). Также определялось наличие достоверной отрицательной ассоциативной связи врожденных обструктивных уropатий с наличием в тканях индивидов антигенов HLA-DRB1*07 (19,17% против 30,1% в контроле, $\chi^2=4,2$, $P<0,05$, $RR=0,39$, $PF=0,264$), HLA-DRB1*15(2) (25% против 37% в контроле, $\chi^2=4,3$, $P<0,05$, $RR=0,38$, $PF=0,328$) и HLA-DQB1*0302 (9,9% против 19,4% в контроле, $\chi^2=3,97$, $P<0,05$, $RR=0,47$, $PF=0,08$), а также фенотипических сочетаний антигенов HLA-A1-9 (0,7% против 3,9% в контроле, $\chi^2=4,6$, $P<0,05$, $RR=0,25$), HLA-A9-11 (0,7% против 4,6% в контроле, $\chi^2=5,5$, $RR=0,22$) и гаплотипических комбинаций HLA-A3-B7 (8,1% против 84,1% в контроле, $RR=0,02$), HLA-A11-B35 (2,9% против 29,9% в контроле, $RR=0,08$), HLA-A19-B27 (1,5% против 13,4% в контроле, $RR=0,12$). Характер полиморфизма наиболее часто

встречающихся у больных врожденными обструктивными уropатиями антигенов системы HLA и гаплотипических комбинаций представлен на рисунке 1.

В течении врожденных обструктивных уropатий, в выраженности клинических проявлений заболевания наблюдается явная зависимость от осложненности основной патологии вторичным инфекционным процессом. Поэтому представлялось важным выяснить, существуют ли иммуногенетические маркеры вторичного хронического обструктивного пиелонефрита, можно ли прогнозировать присоединение вторичной инфекции? С этой целью мы провели иммуногенетические исследования в группе детей, больных БОУ, осложненными вторичным хроническим обструктивным пиелонефритом. Выяснилось, что у больных с обструктивным пиелонефритом отмечалась достоверная положительная ассоциация заболевания с наличием в тканях межлокусной комбинации антигенов HLA-A11-B27 (0,85% против 0,01% в контроле, $RR=2,7$). Также были выявлены и признаки главного комплекса гистосовместимости, свидетельствующие о резистентности индивидуумов к данной патологии: наличие в тканях антигенов HLA-DRB1*07 (16% против 30,1% в контроле, $\chi^2=6,5$, $P<0,05$, $RR=0,45$, $PF=0,163$), HLA-DRB1*09 (0% против 2% в контроле, $\chi^2=4,4$, $P<0,05$, $RR=0,21$, $PF=0$), HLA-DRB1*15(2) (22% против 36,9% в контроле, $\chi^2=6,15$, $P<0,05$, $RR=0,49$, $PF=0,186$), внутрилокусного антигенного сочетания HLA-A9-11 (0,85% против 7% в контроле, $X^2=4,6$, $P<0,05$, $RR=0,25$), а также гаплотипических комбинаций HLA-A2-B12 (8,6% против 62% в контроле, $RR=0,06$), HLA-A3-B7 (7,7% против 84,1% в контроле, $RR=0,02$), HLA-A11-B35 (2,6% против 29,9% в контроле, $RR=0,07$). Характер полиморфизма наиболее часто встречающихся у больных обструктивным пиелонефритом фенотипических комбинаций антигенов системы HLA представлен на рисунке 2.

В ходе исследования нами была предпринята попытка выяснить, имеются ли особенности в представительстве иммуногенетических маркеров в зависимости от нозологической формы патологии, от формы обструктивной уropатии. С этой целью была проанализирована группа детей, больных самой распространенной врожденной обструктивной уropатией – врожденным гидронефрозом. Было обнаружено, что у больных врожденным гидронефрозом достоверно чаще встречается антиген HLA-B8 (21,5% против 10,4% в контроле, $\chi^2=4,8$, $P<0,05$, $RR=2,32$, $EF=0,1$) и антиген HLA-DRB1*17(3) (31,6% против 14,6% в контроле, $\chi^2=6,4$, $P<0,05$, $RR=2,7$, $EF=0,15$), а также фенотипическая комбинация HLA-B8-35 (5,4% против 0,65%, $X^2=3,86$, $P<0,05$, $RR=6,32$). Кроме того, у больных этой группы отмечена положительная ассоциативная связь с гаплотипическими сочетаниями HLA-A1-B27 (4,3% против 1,9% в контроле, $RR=2,05$), HLA-A2-B17 (3,2% против 0,2% в контроле, $RR=5,5$), HLA-A2-B35 (11,8% против 1% в контроле, $RR=9,22$). Была проанализирована и возможная резистентность индивидуумов при наличии определенных маркеров системы

HLA к врожденному гидронефрозу. Выяснено, что достоверная отрицательная ассоциативная связь выявляется при носительстве антигенов HLA-A11 (4,3% против 11,7% в контроле, $\chi^2 = 4,9$, $P < 0,05$, $RR = 0,37$, $PF = 0,063$) и HLA-DQB1*0302 (6,8% против 19,4% в контроле, $\chi^2 = 4,7$, $P < 0,05$, $RR = 0,34$, $PF = 0,05$). Также резистентность к данной патологии выявлена у носителей фенотипических сочетаний антигенов HLA-A2-9 (4,3% против 11,8% в контроле, $\chi^2 = 4,9$, $P < 0,05$, $RR = 0,37$) и гаплотипических комбинаций HLA-A2-B7 (7,5% против 33,9% в контроле, $RR = 0,17$), HLA-A2-B12 (5,4% против 62% в контроле, $RR = 0,04$). Характер полиморфизма наиболее часто встречающихся у больных врожденным гидронефрозом антигенов HLA, внутрилокусных и межлокусных комбинаций главного комплекса гистосовместимости представлен на рисунке 3.

Нас интересовало, имеются ли отличия в представительстве маркеров системы HLA у больных пиелозктазией, которая долгое время ассоциировалась некоторыми исследователями с первой степенью развития гидронефротической трансформации. В ходе обследования детей старше пяти лет с этим заболеванием было выяснено, что для больных данной группы характерна достоверная положительная ассоциативная связь с носительством HLA-антигена B-8 (30,3% против 10,5% в контроле, $\chi^2 = 8,4$, $P < 0,01$, $RR = 4,07$, $EF = 0,075$) и гаплотипических комбинаций антигенов HLA-A2-B17 (12,9% против 0,2% в контроле, $RR = 21,9$) и HLA-A1-B5 (3,23% против 0,5% в контроле, $RR = 3,83$). Так же были установлены и своеобразные маркеры резистентности индивидуумов к данной патологии. Таковыми оказалось носительство антигенов HLA-DRB1*01 (9,7% против 31,1% в контроле, $\chi^2 = 6,8$, $P < 0,01$, $RR = 0,27$, $PF = 0,075$), HLA-DRB1*11(5) (9,7% против 25,2% в контроле, $\chi^2 = 4,37$, $P < 0,05$, $RR = 0,36$, $PF = 0,05$) и гаплотипической комбинации антигенов HLA-A3-B7 (9,7% против 84,1% в контроле, $RR = 0,02$). Характер полиморфизма наиболее часто встречающихся у больных пиелозктазией антигенов HLA и межлокусных комбинаций антигенов первого класса главного комплекса гистосовместимости представлен на рисунке 4.

Обсуждение

Резюмируя данные, полученные в этом исследовании, следует отметить, что для больных врожденными обструктивными уropатиями характерна положительная ассоциативная связь заболевания с антигеном HLA-B8 и гаплотипическими комбинациями антигенов HLA-A2-B17 и HLA-A3-B13. Носительство этих иммуногенетических маркеров увеличивает риск развития обструктивных уropатий в 2,1 – 8,5 раз ($RR = 2,1 - 8,5$). Резистентностью к развитию данной патологии обладают индивидуумы с антигенами HLA-DRB1*07, HLA-DRB1*15(2), HLA-DQB1*0302, фенотипов HLA-A1-9, HLA-A9-11, и гаплотипических сочетаний HLA-A3-B7, HLA-A11-B35, HLA-A19-B27.

Для больных обструктивным пиелонефритом установлена достоверная

положительная ассоциативная связь заболевания с межлокусной комбинацией антигенов HLA-A11-B17. Носительство этого иммуногенетического маркера увеличивает риск развития заболевания в 2,7 раза ($RR=2,7$). Резистентностью к развитию данной патологии обладают индивидуумы с антигенами HLA-DRB1*07, HLA-DRB1*09, HLA-DRB1*15(2), фенотипом HLA-A9-11 и гаплотипическими сочетаниями HLA-A2-B12, HLA-A3-B7, HLA-A11-B35.

В группе больных с врожденным гидронефрозом – наиболее часто встречающейся обструктивной уропатией – установлено наличие достоверной положительной ассоциативной связи заболевания с присутствием в тканях индивидуумов антигена HLA-B8, HLA-DRB1*17(3), фенотипической комбинации антигенов HLA-B8-35 и гаплотипических комбинаций HLA-A1-B27, HLA-A2-B17, HLA-A2-B35. Носительство этих иммуногенетических предикатов увеличивало риск развития заболевания в 2,3 – 9,2 раза ($RR=2,3 – 9,2$). Выявлена резистентность к развитию данной патологии у индивидуумов, обладающих антигенами HLA-A11 и HLA-DQB1*0302, фенотипическими сочетаниями антигенов HLA-A2-9, HLA-A9-11, гаплотипическими комбинациями HLA-A2-B7, HLA-A2-B12.

В ходе исследования была выявлена достоверная положительная ассоциативная связь с определенными иммуногенетическими параметрами и в группе больных пиелозктазией. Так, носительство антигена HLA-B8 и гаплотипических комбинаций HLA-A2-B17, HLA-A1B5 увеличивало риск развития этого состояния в 3,8 – 21,9 раз ($RR=3,8 – 21,9$). Резистентностью к развитию данной патологии обладают индивидуумы с антигенами HLA-DRB1*01, HLA-DRB1*11(5) и гаплотипической комбинацией антигенов HLA-A3-B7. Своеобразная иммуногенетическая характеристика больных пиелозктазией по сравнению с характеристиками больных с врожденным гидронефрозом не позволяют считать ее (пиелозктазию) у детей данного возраста первой стадией развития гидронефротической трансформации, но свидетельствуют в пользу пиелозктазии, как самостоятельной нозологической единицы – минорной аномалии мочевой системы.

Заключение. Наличие определенных иммуногенетических детерминантов у детей с различными ВОУ определяет возможность использования методов иммуногенотипирования для дифференциальной диагностики ВОУ со схожими по проявлениям заболеваниями и состояниями, для определения риска прогрессирования гидронефротической трансформации, осложнения течения обструктивной патологии вторичным инфекционным процессом и объективизации врачебной тактики у детей с ВОУ.

Список литературы:

1. Гидронефроз / Карпенко В.С., Хрипта Ф.П., Романенко А.М. и др. Киев.: Здоровья; 1991. 239 с.

2. Папаян А.В., Савенкова Н.Д. Клиническая нефрология детского возраста: Руководство. – СПб; 1997. 718 с.
3. Greenfield S., Salem Y., Seidel F., Feld L. Optimal Timing of Initial Postnatal Ultrasonography in Newborn with Prenatal Hydronephrosis // Child. Nephrol. Urol. 1990. №10. P.44-48.
4. Иллек Я.Ю., Зайцева Г.А., Разин М.П. и др. Иммуногенетика врожденного гидронефроза // Урология. 2001. №2. С. 42-45.
5. Пугачев А.Г., Кудрявцев Ю.В., Ларионов И.Н., Чумаков А.М. Выбор вида операции при гидронефрозе у детей // Урология и нефрология. 1996. №3. С. 3-5.
6. Krueger R.P., Ash, Silver M.M. et all. Primary hydronephrosis, assessment of diuretic Renography, pelvic perfusion, operative findings and renal ureteral histology // Urol. Clin. North Am. 1980. №7. P. 231–242.
7. Mandell J., Kinard H.V., Mittlestoedt C.A., Seeds J.W. Prenatal diagnosis of unilateral hydronephrosis with early postnatal obstruction // J. Urol. 1984. №123. P. 303.
8. Казанская И.В., Ростовская В.В. Новые методы диагностики нарушения проходимости пиелоуретерального сегмента при гидронефрозе у детей // Обструктивные уropатии у детей. Материалы Всероссийского симпозиума детских хирургов-урологов. Казань, 1998. С. 6-7.
9. Ростовская В.В., Вишневский Е.Л., Казанская И.В. и др. Современные подходы к лечению гидронефроза у детей // Современные технологии в оценке отдаленных результатов лечения урологической патологии у детей. Материалы научно-практ. конф. детских урологов, посвященной 35-летию отдела урологии Московского НИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ. Москва, 2001. С. 120-124.
10. Пугачев А.Г. Эволюция функции почек и верхних мочевых путей после оперативной коррекции гидронефроза у детей (ребенок, подросток, взрослый человек). Там же. С. 110-111.
11. Гельдт В.Г., Дончак А.А., Зарубина С.А. и др. Транзиторная пиелоэктазия у новорожденных // Обструктивные уropатии у детей. Материалы Всероссийского симпозиума детских хирургов-урологов. Том II. Казань, 1998. С. 4-5.
12. Разливинских Л.Н., Новикова Э.Д., Никонов В.М. Сравнительный анализ пиелоэктазии плода и новорожденного с последующим динамическим наблюдением. Там же. С. 14-15.
13. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М.: Медицина, 1983. 196с.
14. Sweigaard A., Ryder L.P. HLA and disease associations: Detecting the strongest association // Tissue Antigens. 1994, № 43. P. 18–27.

Сведения об авторах:

Разин Максим Петрович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой детской хирургии Кировской ГМА, 610050, г.Киров, ул.Менделеева, д.16, ДОКБ. Тел. (8332) 51-26-79, E-mail: mprazin@yandex.ru

;

Зайцева Галина Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории иммуногематологии Кировского НИИ гематологии и переливания крови;

Иллек Ян Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии Кировской ГМА;

Батуров Максим Александрович – врач-интерн кафедры детской хирургии Кировской ГМА

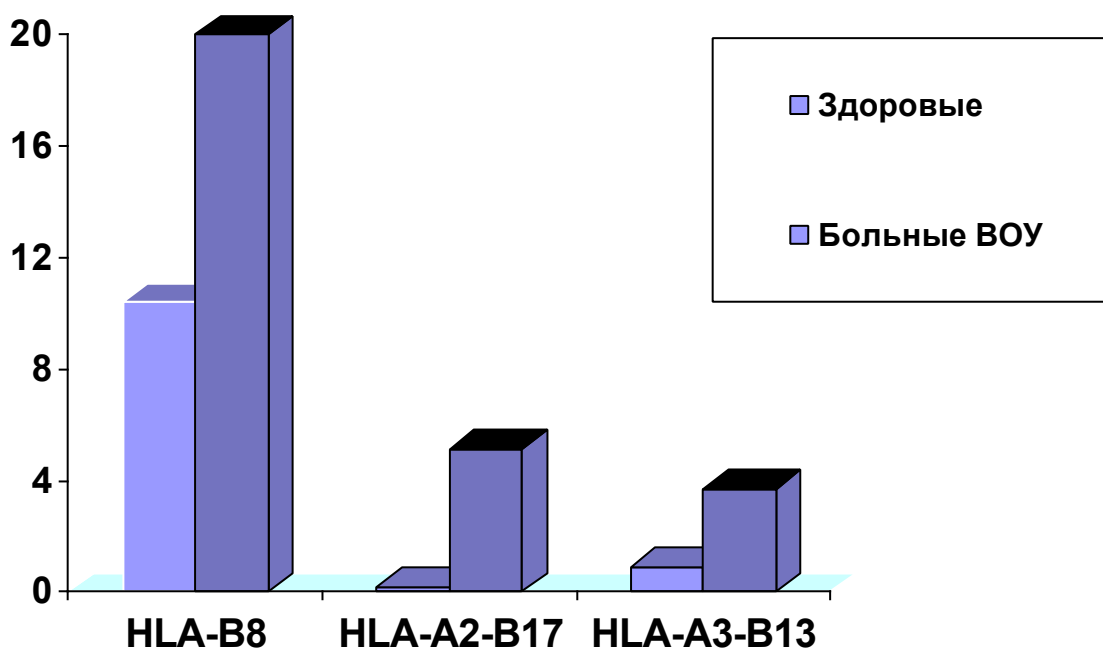


Рисунок 1. Частота встречаемости антигенов и гаплотипических сочетаний системы HLA, наиболее характерных для больных БОУ, по сравнению со здоровыми.

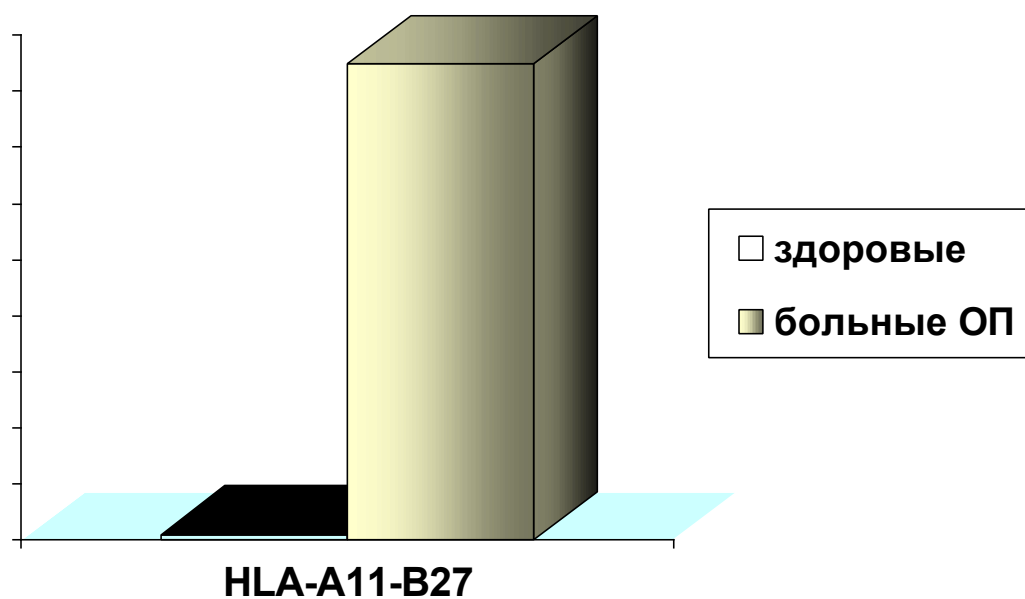


Рисунок 2. Частота встречаемости гаплотипической комбинации HLA-A11-B27 у здоровых и у больных обструктивным пиелонефритом.

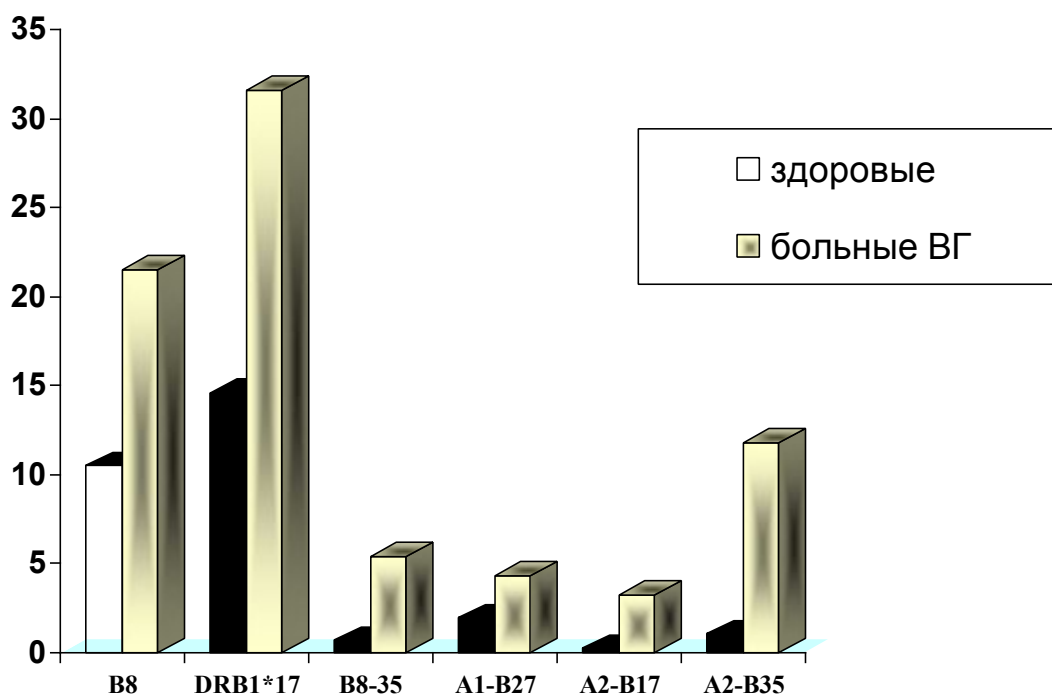


Рисунок 3. Частота встречаемости антигенов HLA, фенотипических и гаплотипических комбинаций, наиболее характерных для больных врожденным гидронефрозом, по сравнению со здоровыми.

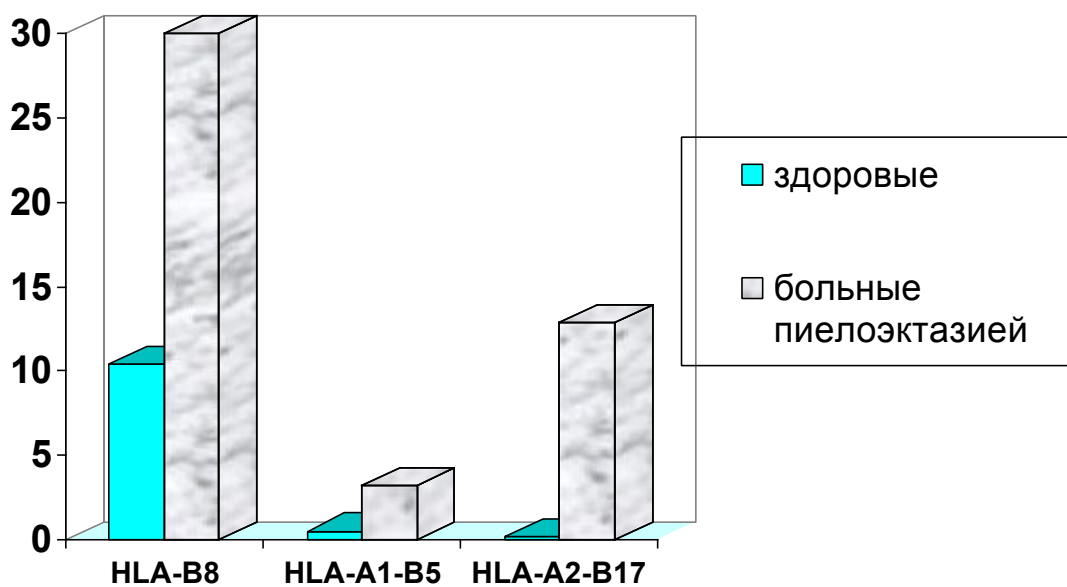


Рисунок 4. Частота встречаемости наиболее характерных для пиелозктазии HLA-антигенов и межлокусных комбинаций.