



УДК 616.61-002.3-036.12-053.2:575

КРЮЧКО Т.А., ОСТАПЕНКО В.П., КУШНЕРЕВА Т.В.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 — ПРЕДИКТОР СКЛОННОСТИ К РЕЦИДИВИРУЮЩЕМУ ТЕЧЕНИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ

**Резюме.** Цель исследования: изучить роль полиморфизма Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 в реализации склонности к хроническому пиелонефриту, проанализировать его ассоциацию с основными проявлениями заболевания и оценить влияние на синтез интерлейкина-6 в крови больных детей.

**Методы.** Обследована группа детей с хроническим пиелонефритом в активной стадии в возрасте 1–15 лет ( $n = 55$ ). Группу контроля составили 95 практически здоровых людей. **Результаты.** Выявлена достоверно более высокая распространенность полиморфизма гена TLR4 Asp299Gly среди детей с хроническим пиелонефритом ( $n = 55$ ), определена статистически значимая связь мутантных генотипов Asp299Gly, Gly299Gly с манифестацией заболевания до 3-летнего возраста, частыми эпизодами острой респираторной вирусной инфекции, торpidным мочевым синдромом, нестойкой ремиссией и повышением секреции интерлейкина-6 ( $p < 0,001$ ). Таким образом, генетически детерминированный полиморфизм Asp299Gly Toll-подобного рецептора 4 является маркером, определяющим высокий риск ранней манифестации хронического воспалительного процесса в интерстиции почек и затяжное рецидивирующее течение заболевания у детей.

**Ключевые слова:** ген, полиморфизм, Toll-подобный рецептор 4, хронический пиелонефрит, дети.

Пиелонефрит (ПН) является классическим примером мультифакторной патологии, которая реализуется при взаимодействии многочисленных факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. Реакция иммунной системы при ПН начинается с момента контакта с инфекционным агентом-антителом (при остром воспалении) или с момента повышения количества микробных тел выше «уровня прорыва» (микробное число мочи более 100 000). Возможность распознавания микроорганизмов, с которыми постоянно контактирует организм человека, является ключевым стартовым механизмом, реализующим развертывание адаптационно-приспособительных реакций макроорганизма.

Определение важной роли врожденного иммунитета пришло вместе с идентификацией паттерн-распознающих рецепторов (ПРР, pattern recognition receptors), а именно семейства эволюционно консервативных рецепторов, известных в современной научной литературе как семейство Toll (Toll-подобные рецепторы, TLR),

которые играют решающую роль в ранней защите организма от патогенов. Согласно современным знаниям, Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) является центральным структурно-молекулярным элементом многоуровневой системы образ-распознающих рецепторов (OPR), поскольку отвечает за связывание молекулярных паттернов патогенов и формирование защитного ответа при взаимодействии с липополисахаридом-экстракеллюлярным компонентом наружной мембранны грамотрицательных бактерий. Активация TLR4 начинается после взаимодействия с комплексом LPS/CD14/MD-2. Образующийся комплекс сопровождается конформационными изменениями и запускает интрацеллюлярный каскад реакций; на конечном этапе происходит инициация транскрипции генов, регулирующих синтез провоспалительных цитокинов.

© Крючко Т.А., Остапенко В.П., Кушнерева Т.В., 2013

© «Здоровье ребенка», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

Дефекти в системе Toll-подобных рецепторов, такие как полиморфизм генов, кодирующих TLR-4, могут определять уровень концентрации воспалительных и противовоспалительных цитокинов и, соответственно, обуславливать степень проявления воспалительного ответа. Подобный механизм может играть решающую роль в формировании хронического воспалительного процесса и выступать фактором риска развития хронического воспаления, в частности хронического пиелонефрита (ХП).

**Цель исследования:** изучить роль полиморфизма Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 в реализации склонности к хроническому пиелонефриту, проанализировать его ассоциации с основными проявлениями заболевания и оценить влияние на синтез интерлейкина-6 в крови больных детей.

## Материалы и методы исследования

Проведено клинико-лабораторное обследование 55 детей в возрасте 1–15 лет, больных хроническим пиелонефритом в стадии обострения, которые находились на стационарном лечении в педиатрическом отделении № 2 Полтавской областной детской клинической больницы. Группу контроля составили 95 практически здоровых лиц.

Материалом для исследования была периферическая венозная кровь. Генотипирование полиморфного участка Asp299Gly осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием олигонуклеотидных праймеров. Определение содержания IL-6 в сыворотке крови детей с ХП проводилось с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

## Результаты

Выявлена достоверно более высокая распространенность полиморфизма гена TLR4 Asp299Gly среди детей с хроническим пиелонефритом. Так, у больных детей гетерозиготный генотип AG почти в 3 раза превышал показатели контрольной группы (11,67 и 3,2 % соответственно,  $p < 0,05$ ). Изучение распространенности нормальной и мутантной аллели 299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 в обследуемых группах показало, что мутантный аллель Gly более чем в 4 раза чаще выявлялся у детей с хроническим пиелонефритом (7,5 %) по сравнению с группой контроля (1,58 %) ( $\chi^2 = 4,576$ ; ОШ = 1,059; ДИ = 0,9989–1,122,  $p = 0,049$ ).

В ходе исследования была выявлена статистически значимая связь мутантных генотипов Asp299Gly, Gly299Gly с манифестацией заболевания до 3-летнего возраста ( $\chi^2 = 15,2$ ,  $p = 0,0001$ ), частыми эпизодами острой респираторной вирусной инфекции ( $\chi^2 = 4,03$ ,  $p = 0,0001$ ), торpidным течением мочевого синдрома ( $\chi^2 = 6,19$ ,  $p = 0,0001$ ), нестойкой ремиссией ( $\chi^2 = 8,0$ ,  $p = 0,0001$ ) и повышенным синтезом интерлейкина-6 в крови больных детей ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, генетически детерминированный полиморфизм Asp299Gly Toll-подобного рецептора 4 является маркером высокого риска ранней манифестации хронического воспалительного процесса в интерстиции почек с длительным и рецидивирующим течением заболевания у детей.

## Список литературы

1. Features treatment of pyelonephritis among children at the present stage // Current Pediatrics. — 2003. — Vol. 2, № 1. — P. 317.
2. Ignatov M.S. Solved and unsolved problems of childhood econephrology / M.S. Ignatov, E.A. Harina, V. Long // Pediatrics. — 1997. — № 6. — P. 54-57.
3. Malchenko L.A. The immune system in various forms of microbial and inflammatory diseases of the urinary tract of children / L.A. Malchenko, A.D. Petrushina, S.L. Morgunov // II Congress of Pediatric Nephrology Russia: Proceedings of the Congress. — Moscow, 2000. — P. 34.
4. Dasaeva L.A. The modern concept of the etiology and pathogenesis of urinary stones / L.A. Dasaeva, E.M. Shilov, S.N. Shatokhina // Nephrology and Dialysis. — 2003. — Vol. 5, № 2. — P. 128-133.
5. Izmaylova I.V. Researchment of polymorphisms genes TLR2 ARG753GLN that TLR4 ASP299GLY, THR399ILE in urogenital infections / I.V. Izmaylova, O.A. Shlikova, I.P. Kaidashev // Zh. Academy of Medical Sciences of Ukraine. — 2010. — Vol. 16. — P. 72-73.
6. Izmaylova O.V. The role of Toll — polymorphisms like receptor 4 Asp299Gly in the development of bacterial infections that are transmitted by sex pathways / O.V. Izmaylova, O. Shlikova, N.O. Bobrova, I.P. Kaidashev // Problems of Ecology and Medicine. — 2009. — Vol. 13, № 5-6. — P. 3-6.
7. Kryuchko T.A. Clinic-genetic aspects of chronic pyelonephritis among children: structure propensity and initial prognosis / T.A. Kryuchko, V.P. Ostapenko, T.V. Kushnereva // Child Health. — 2013. — № 3 (46). — P. 59-64.
8. Kryuchko T.O., Ostapenko V.P., Kajdashev I.P. New look at the etiology of chronic pyelonephritis among children with polymorphism of TLR2 gene / T.O. Kryuchko, V.P. Ostapenko, I.P. Kajdashev // Pediatrics East. Europe. — 2013. — № 3 (03). — C. 42-51.
9. Ferwerda B. Functional Consequences of Toll-like Receptor 4 Polymorphisms / B. Ferwerda, M.B. McCall, K. Verheijen, B.J. Kullberg // Mol. Med. — 2008. — 14 (5-6). — P. 346-352.
10. Garcia-Rodriguez C. Toll-like receptor 4-dependent pathways as sensors of endogenous «danger» signals. New evidences and potential therapeutic targets / C. Garcia-Rodriguez // Immunology. — 2007. — Vol. 26, № 4. — P. 210-215.
11. Hollingsworth J.W. TLR4 signaling attenuates ongoing allergic inflammation / J.W. Hollingsworth, G.S. Whitehead, K.L. Lin, H. Nakano, M.D. Gunn, D.A. Schwartz // Immunology. — 2006. — № 176. — P. 5856-62.
12. Holloway J.W. Genetics of allergic disease / J.W. Holloway, I.A. Yang, S.T. Holgate // Allergy Clinical Immunology. — 2010. — № 125. — P. 81-94.
13. Kim H.M. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran / H.M. Kim et al. // Cell. — 2007. — 130. — P. 906-17.
14. Krishnan J. Toll-like receptor signal transduction / J. Krishnan, K. Selvarajoo, M. Tsuchiya, G. Lee, S. Choi // Experimental Mol. Med. — 2007. — 39. — 421-38.
15. Rallabhandi P. Analysis of TLR4 polymorphic variants: new insights into TLR4/MD-2/CD14 structure, and signaling / P. Rallabhandi, J. Bell, M.S. Boukhvalova // J. Immunology. — 2006. — Vol. 177. — P. 322-332.
16. Schroder N.W. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease / N.W. Schroder, R.R. Schumann // Lancet Infect. Dis. — 2005. — Vol. 5. — P. 156-164.

Получено 20.09.13 □

Крючко Т.О., Остапенко В.П., Кушнерева Т.В.  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»,  
м. Полтава

**ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗM TOLL-ПОДІБНОГО  
РЕЦЕПТОРА 4 — ПРЕДИКТОР СХИЛЬНОСТІ  
ДО РЕЦИДИВУЮЧОГО ПЕРЕБІGU ХРОНІЧНОГО  
ПІЕЛОНЕФРИTU В ДІТЕЙ**

**Резюме.** Мета дослідження: вивчити роль поліморфізму Asp299Gly гена Toll-подібного рецептора 4 у реалізації схильності до хронічного піелонефриту, проаналізувати його асоціацію з основними проявами захворювання й оцінити вплив на синтез інтерлейкіну-6 у крові хворих дітей.

**Методи.** Обстежена група дітей із хронічним піелонефритом в активній стадії у віці 1–15 років (n = 55). Групу контролю склали 95 практично здорових людей.

**Результати.** Виявлено вірогідно вищу поширеність поліморфізму гена TLR4 Asp299Gly серед дітей із хронічним піелонефритом (n = 55), визначено статистично значимий зв'язок мутантних генотипів Asp299Gly, Gly299Gly з маніфестацією захворювання до 3-річного віку, частими епізодами гострої респіраторної вірусної інфекції, торпідним перебігом сечового синдрому, нестійкою ремісією і підвищеннем секреції інтерлейкіну-6 (p < 0,001). Таким чином, генетично детермінований поліморфізм Asp299Gly Toll-подібного рецептора 4 є маркером високого ризику ранньої маніфестації хронічного запального процесу в інтерстиції нирок і тривалого рецидивуючого перебігу захворювання в дітей.

**Ключові слова:** ген, поліморфізм, Toll-подібний receptor 4, хронічний піелонефрит, діти.

Kryuchko T.A., Ostapenko V.P., Kushnereva T.V.  
Higher State Educational Institution of Ukraine «Ukrainian  
Medical Stomatological Academy», Poltava, Ukraine

**GENETIC POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 —  
PREDICTOR OF SUSCEPTIBILITY TO RECURRENT COURSE  
OF CHRONIC PYELONEPHRITIS IN CHILDREN**

**Summary.** Objective of investigation: to study the role of Toll-like receptor 4 Asp299Gly gene polymorphism in the implementation of susceptibility to chronic pyelonephritis, to analyze its association with the major manifestations of the disease and to assess the impact on the synthesis of interleukin-6 in the blood of sick children.

**Methods.** We examined a group of children aged 1–15 years with chronic pyelonephritis in the active stage (n = 55). Control group consisted of 95 apparently healthy people.

**Results.** There were revealed significantly higher prevalence of Toll-like receptor 4 Asp299Gly gene polymorphism among children with chronic pyelonephritis (n = 55), identified a statistically significant correlation of mutant genotypes Asp299Gly, Gly299Gly with manifestation of the disease before the age of 3, and frequent episodes of acute respiratory viral infections, torpid urinary syndrome, unstable remission and increased secretion of interleukin-6 (p < 0.001). Thus, genetically determined Toll-like receptor 4 Asp299Gly gene polymorphism is a marker of high risk of early manifestation of chronic inflammation in the kidney interstitium and prolonged recurrent clinical course of the disease in children.

**Key words:** gene, polymorphism, Toll-like receptor 4, chronic pyelonephritis, children.