

УДК 616.33/.342-053.2:575

СОРОКМАН Т.В., ПОПЕЛЮК М.-О.В.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

РОЗПОДІЛ АНТИГЕНІВ HLA-СИСТЕМИ В ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ

Резюме. З метою встановлення особливостей розподілу антигенів HLA-системи, їх внутрішньолокусних і міжлокусних комбінацій при виразковій хворобі дванадцятипалої кишки в дітей всім обстежуваним пацієнтам ($n = 120$) та особам контрольної групи ($n = 100$) було проведено HLA-типуння генів DRB1, DQA1 і DQB1 методом сиквенс-специфічного зонда, ампліфікації з послідовність-специфічними праймерами (SSP). Виразкова хвороба асоційована зі специфічностями DRB1*11, DRB1*13, алельним варіантом DQB1*0401/02, генотипом DQB1*0301,0302 і гаплотипами DRB1*07/DQA1*0301, DRB1*13/DQA1*0501, DRB1*11/DQB1*0501, DQA1*0102/DQB1*0401/02. Специфічність DRB1*15, алельний варіант DQB1*0201, генотип DQB1*0301,0301 і гаплотипи DRB1*15/DQA1*0101, DRB1*15/DQA1*0102, DRB1*01/DQB1*0201, DRB1*15/DQB1*0301, DQA1*0101/DQB1*0201, DQA1*0201/DQB1*0201 визначають резистентність до виникнення виразкової хвороби.

Ключові слова: діти, виразкова хвороба, HLA-система, алелі HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1.

Вступ

Натепер виразкова хвороба розглядається як мультифакторне захворювання з полігенним типом успадкування [4]. Мультифакторні захворювання складно піддаються генетичному аналізу, оскільки зумовлені мутаціями декількох генів, кожна з яких не призводить до хвороби, а їх прояви суттєво залежать від модифікаційного впливу факторів оточуючого середовища та якості життя дитини [3]. Єдина частина геному, асоційована з гастродуоденальною патологією, — це комплекс гістосумісності людини (Human Leucocyte Antigens — HLA), внесок якого оцінюють від 30 до 70 % від загального генетичного ефекту. Численні дослідження спрямовані на вивчення HLA-системи, комплекс генів якої знаходиться на короткому плечі 6-ї хромосоми та вміщує більше ніж 220 генів I, II, III класів [6].

Пошук генів схильності до виразкової хвороби призвів до розуміння наявності міжпопуляційних та міжетнічних особливостей алельного поліморфізму, що відображає своєрідні умови проживання та спосіб життя популяції в різних регіонах світу [2]. Це диктує необхідність генотипування як своєрідного етнічного контролю. Завдяки своєму унікальному алельному поліморфізму та компактності локалізації, безпосередній участі молекул HLA I та II класів у взаємодії з антигенними сайтами в складі макромолекулярного комплексу, тісному зв'язку із хвороба-

ми гени комплексу HLA набули великого значення як зручний інструмент для вивчення схильності та резистентності людини до цілого ряду захворювань.

Мета дослідження: дослідити особливості розподілу антигенів HLA-системи при виразковій хворобі дванадцятипалої кишки в дітей.

Матеріал та методи дослідження

Проведено комплексне клінічно-параклінічне обстеження 120 дітей, хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК), віком 10–18 років (середній вік — $14,3 \pm 2,6$ року), які проживали в м. Чернівці та Чернівецькій області та становили основну групу спостереження. Групу порівняння становили 100 практично здорових дітей відповідного віку (середній вік — $13,9 \pm 3,1$ року).

За допомогою фіброгастродуоденоскопа Pentax FG-24P здійснювали ендоскопічне дослідження для верифікації діагнозу відповідно до Сіднейської системи (1990) з урахуванням особливостей проведення цього дослідження в дітей (Долецький С.Я., 1984).

Адреса для листування з авторами:

Сорокман Таміла Василівна
E-mail: t.sorokman@gmail.com

© Сорокман Т.В., Попелюк М.-О.В., 2015

© «Здоров'я дитини», 2015

© Заславський О.Ю., 2015

Запально-дистрофічні зміни в слизовій оболонці (СО) шлунка та дванадцятипалої кишки (ДПК) оцінювалися за допомогою критеріїв П.Я. Григор'єва та співавт. (1985). Визначення гелікобактера проводили в біоптатах, що бралися безпосередньо під час ендоскопічного дослідження з тіла, антрального відділу шлунка та луковиці ДПК (Сіднейсько-Хьюстонська система, 1996). З цією ж метою використовували метод імуноферментного аналізу, що проводили за загальноприйнятою методикою з використанням набору реактивів фірми Vector Best, Росія.

HLA-типуння DRB1, DQA1, DQB1 проведено методом сиквенс-специфічного зонда, ампліфікації з послідовність-специфічними праймерами (SSP), що мають алейну специфічність. Були використані комерційні набори фірми «ДНК-технологія» (м. Москва). Для типуння використовувався термоциклер «Терцік-МС2» цієї ж фірми.

При статистичній обробці асоціацій HLA-антигенів із захворюванням використаний обов'язковий за сучасними вимогами імуногенетики критерій *p cor (corrected)*, який і визначає статистичну значущість знайдених асоціацій. Підраховували відносний ризик (ВР) і діагностичний коефіцієнт (ДК). Вірогідність відмінностей визначалася за допомогою точного методу Фішера. Критерієм статистичної вірогідності служив рівень $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Мешканцями сільської місцевості були 47,5 % дітей основної групи та 52 % дітей групи порівняння. Загальна кількість обстежених, що проживали в м. Чернівці, становила 50 % дітей, хворих на ВХ ДПК, та 48 % дітей групи порівняння. Серед обстежених дітей основної групи хлопчики становили 54,1 %, дівчатка — 45,9 %.

Больовий синдром спостерігався у всіх дітей, в основному мав ниючий характер та локалізувався переважно в епігастрії та пілородуоденальній зоні незалежно від тривалості захворювання. Біль, що з'являвся натще та через 1–1,5 год після їди, неза-

лежно від тривалості захворювання, був домінуючим за часом появи.

Провідним симптомом диспептичного синдрому серед хворих дітей була нудота. У дітей із тривалістю ВХ ДПК до року вірогідною виявилася схильність до закрепів, із тривалістю захворювання понад 3 роки — до проносу та зниження апетиту ($p < 0,05$).

При проведенні ендоскопічного дослідження встановлено, що найчастіше виразковий дефект локалізувався на передній, задній та передньозадній стінках луковиці ДПК (41, 21 та 27 % відповідно). Найбільш поширеною величиною виразкового дефекту був розмір 3–5 мм. У 84 % дітей діагностовано гелікобактерасоційовану ВХ ДПК, що збігається з даними джерел літератури [1, 2].

У дітей із гелікобактерною інфекцією спостерігалися такі ендоскопічні ознаки: гіперемія СО шлунка та ДПК, пастозність, легкоранимість, потовщення складок СО, капілярит за типом «манної крупи», вибухання СО у вигляді великої та дрібної «бруківки».

У 47 (39,2 %) дітей, хворих на ВХ ДПК, виявлено незадовільну евакуаторну функцію шлунка. Кислотоутворювальна функція шлунка в цих дітей була такою: у 53,3 % дітей визначена гіперацидність, у 46,7 % — нормаацидність.

Розподіл алелей DQA1 серед обстежених дітей представлено на рис. 1 і в табл. 1.

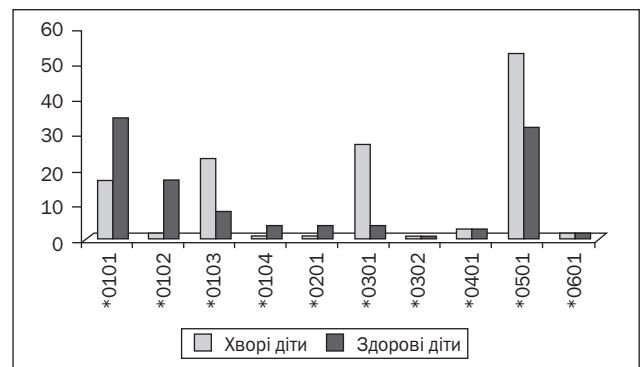


Рисунок 1. Частота алелей DQA1 серед обстежених дітей

Таблиця 1. Частота виявлення алелей гена HLA-DQA1 у дітей, хворих на ВХ ДПК

Алелі HLA-DQA1	Основна група, n = 120		Група порівняння, n = 100		P
	Абс.	%	Абс.	%	
*0101	16	13,3 ± 1,2	34	34,0 ± 3,1	0,092
*0102	1	0,8 ± 0,2	16	16,0 ± 1,9	0,001
*0103	22	18,3 ± 2,1	7	7,0 ± 1,2	0,501
*0104	0	0	3	3,0 ± 0,5	0,077
*0201	0	0	3	3,0 ± 0	0,077
*0301	26	21,6 ± 1,9	3	3,0 ± 0,5	0,003
*0302	0	0	0	0	1,0
*0401	2	1,6 ± 0,7	2	2,0 ± 0,4	0,472
*0501	52	43,3 ± 3,2	31	31,0 ± 2,6	0,336
*0601	1	0,8 ± 0,1	1	1,0 ± 0,1	0,361

Проведене дослідження показало, що при ВХ ДПК виявляється ряд вірогідних відхилень у частоті HLA-антигенів і їх внутрішньолокусних і міжлокусних комбінацій у бік значного переважання порівняно з групою контролю (табл. 2).

Вірогідно частіше у хворих дітей спостерігаються специфічності: DRB1*11 (BP = 2,16; ДК = 2,08), DRB1*13 (BP = 4,38), алейний варіант DQB1*0401/02 (BP = 6,13). Водночас генотип DQB1*0301,0302 і гаплотипи DRB1*07/DQA1*0301, DRB1*13/DQA1*0501, DRB1*11/DQB1*0501, DQA1*0102/DQB1*0401/02 відсутні серед умовно здорових осіб, що свідчить про високий ступінь асоціації ВХ ДПК із даними комбінаціями.

Вірогідно рідше серед хворих на ВХ ДПК спостерігаються специфічності DRB1*15, алейний варіант DQB1*0201, генотип DQB1*0301,0301 і гаплотипи DRB1*15/DQA1*0101, DRB1*15/DQA1*0102, DRB1*01/DQB1*0201, DRB1*15/DQB1*0301, DQA1*0101/DQB1*0201, DQA1*0201/DQB1*0201, що дає можливість оцінити ці поєднання як протективні щодо ВХ ДПК (табл. 3).

Генотип DQB1*301,0301 і гаплотип DRB1*5/DQB1*0301 були відсутні в групі хворих, що говорить про те, що ризик розвитку захворювання зна-

чно знижений за наявності зазначених генетичних маркерів.

При порівняльному аналізі зустрічальності генів у групах хворих хлопчиків і дівчаток виявлено, що серед хлопчиків вірогідно частіше спостерігаються алей DRB1*15 і гаплотипи DRB1*15/DQA1*0102 та DRB1*15/DQB1*0602/08. У групі дівчаток вірогідно частіше — алейний варіант DQB1*0301 і гаплотипи DRB1*01/DQA1*0102, DRB1*11/DQB1*0301, DQA1*0102/DQB1*0301 (табл. 4).

За результатами проведеного дослідження можна також припустити, що роль цих алелей як факторів схильності чи резистентності переважає над етнічними особливостями розподілу алелей HLA-DRB1, -DQA1 і -DQB1, оскільки подібні асоціації виявлено у пацієнтів, які мешкають в інших географічно-етнічних регіонах світу [3, 5, 6].

Висновок

Виразкова хвороба дванадцятипалої кишки асоційована зі специфічними антигенами HLA-системи. У дітей із спадковою схильністю до виразкової хвороби необхідно проводити HLA-типуння генів DRB1, DQA1 і DQB1 для прогнозування розвитку та перебігу хвороби.

Таблиця 2. Співвідношення алейних варіантів, генотипів, гаплотипів хворих на ВХ ДПК дітей та здорових дітей

Алейний варіант, генотип, гаплотип	Частота АВХ (%), n = 120	Частота АВЗ (%), n = 100	ДК	ВР	Р
DRB1*11	43,12	22,0	2,16	2,08	0,038
DRB1*13	23,37	7,0	4,38	3,32	0,031
DQB1*0401/02	16,11	3,0	6,13	4,61	0,035
DQB1*0301,0302	9,16	0,0	–	–	–
DRB1*07/DQA1*0301	9,16	0,0	–	–	–
DRB1*13/DQA1*0501	9,10	0,0	–	–	–
DRB1*11/DQB1*0501	9,10	0,0	–	–	–
DQA1*0102/DQB1*0401/02	9,10	0,0	–	–	–

Примітки: АВХ — алейний варіант (хворі); АВЗ — алейний варіант (здорові); ВР — відносний ризик; ДК — діагностичний коефіцієнт.

Таблиця 3. Співвідношення алейних варіантів, генотипів, гаплотипів здорових дітей і дітей, хворих на ВХ ДПК

Алейний варіант, генотип, гаплотип	Частота АВХ (%), n = 120	Частота АВЗ (%), n = 100	ДК	ВР	Р
DRB1*15	13,44	31,64	-3,74	-3,09	0,014
DQB1*0201	23,92	43,31	-2,23	-2,19	0,033
DQB1*0301,0301	0,00	11,04	–	–	–
DRB1*15/DQA1*0101	1,66	19,73	-8,55	-6,90	0,025
DRB1*15/DQA1*0102	9,86	26,19	-4,05	-3,05	0,025
DRB1*01/DQB1*0201	1,66	14,06	-8,30	-6,78	0,029
DRB1*15/DQB1*0301	0,00	8,62	–	–	–
DQA1*0101/DQB1*0201	1,66	11,04	-7,70	-6,67	0,048
DQA1*0201/DQB1*0201	13,46	25,45	-3,02	-2,30	0,047

Примітки: АВХ — алейний варіант (хворі); АВЗ — алейний варіант (здорові); ВР — відносний ризик; ДК — діагностичний коефіцієнт.

Таблиця 4. Частота алельних варіантів залежно від статі

Алельний варіант, генотип, гаплотип	Частота АВХ (%), n = 65	Частота АВД (%), n = 55	ДК	ВР	Р
DRB1*15	25,07	0,00	–	–	–
*DQB1*0301	18,76	48,13	–4,23	–4,23	0,019
*DRB1*01/DQA1*0102	0,00	17,35	–	–	–
DRB1*15/DQA1*0102	18,76	0,00	–	–	–
*DRB1*11/DQB1*0301	11,71	35,68	–5,91	–4,14	0,032
DRB1*15/DQB1*0602/08	25,07	0,00	–	–	–
*DQA1*0102/DQB1*0301	0,00	17,35	–	–	–

Примітки: АВХ — алельний варіант (хлопчики); АВД — алельний варіант (дівчатка); ВР — відносний ризик; ДК — діагностичний коефіцієнт.

Список літератури

1. Клінічні особливості перебігу виразкової хвороби в дітей / Т.В. Сорокман, С.В. Сокольник, Н.О. Попелюк, М.Г. Гінгуляк // Буковинський медичний вісник. — 2013. — Т. 17, № 3(67), ч. 2. — С. 75-78.
2. Соболев І.В. Результати HLA-типуювання генів схильності та резистентності до розвитку пептичних виразок / І.В. Соболев // Сучасні методи діагностики. — 2013. — № 1. — С. 55-57.
3. Суслов І.Н. Иммуногенетические параметры и состояние иммунологической реактивности у детей с язвенной болезнью / И.Н. Суслов // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга: Материалы XIII съезда НОГР с международным участием и 17-й Северо-Западной научной конференции «Санкт-Петербург — Фармакотерапия-2013» и 7-го Санкт-Петербургского ге-

патологического конгресса (11–12 марта 2013, г. Санкт-Петербург). — СПб., 2013. — № 1.

4. Сучасні погляди на етіопатогенез виразкової хвороби в дітей / Т.В. Сорокман, Д.Р. Андрійчук, С.В. Сокольник та ін. // Здоров'я ребенка. — 2009. — № 2(17). — С. 85-88.

5. Cano P. Common and well-documented HLA alleles: report of the Ad-Hoc committee of the American Society for Histocompatibility and Immunogenetics / P. Cano, W. Klitz, S.J. Mack, M. Maiers et al. // Human Immunology. — 2007. — № 68(5). — P. 392-417.

6. Marsh S.G. Nomenclature for factors of the HLA System, 2004 / S.G. Marsh, E.D. Albert, W.F. Bodmer, R.E. Bontrop et al. // Tissue Antigens. — 2005. — № 65(4). — P. 301-369.

Отримано 05.01.15 ■

Сорокман Т.В., Попелюк М.-О.В.
Буковинський державний медичний університет,
г. Чернівці

Sorokman T.V., Popeliuk M.-O.V.
Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНОВ HLA-СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Резюме. С целью установления особенностей распределения антигенов HLA-системы, их внутрилокусных и межлокусных комбинаций при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей всем обследуемым пациентам (n = 120) и лицам контрольной группы (n = 100) было проведено HLA-типирование генов DRB1, DQA1 и DQB1 методом сиквенс-специфического зонда, амплификации с последовательность-специфическими праймерами (SSP). Язвенная болезнь ассоциирована со специфичностями DRB1*11, DRB1*13, аллельным вариантом DQB1*0401/02, генотипом DQB1*0301,0302 и гаплотипами DRB1*07/DQA1*0301, DRB1*13/DQA1*0501, DRB1*11/DQB1*0501, DQA1*0102/DQB1*0401/02. Специфичность DRB1*15, аллельный вариант DQB1*0201, генотип DQB1*0301,0301 и гаплотипы DRB1*15/DQA1*0101, DRB1*15/DQA1*0102, DRB1*01/DQB1*0201, DRB1*15/DQB1*0301, DQA1*0101/DQB1*0201, DQA1*0201/DQB1*0201 определяют резистентность к возникновению язвенной болезни.

Ключевые слова: дети, язвенная болезнь, HLA-система, аллели HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1.

THE DISTRIBUTION OF HLA-SYSTEM ANTIGENS IN CHILDREN WITH PEPTIC ULCER

Summary. In order to establish the features of HLA-system antigens distribution, their interlocus and intralocus combinations in peptic ulcer in children, all investigated patients (n = 120) and individuals from the control group (n = 100) underwent HLA-typing test of DRB1, DQA1 and DQB1 genes using the method of sequence-specific probe, amplification with sequence-specific primers. Peptic ulcer is associated with the specificities of DRB1*11, DRB1*13, allelic variant DQB1*0401/02, genotype DQB1*0301,0302 and haplotypes DRB1*07/DQA1*0301, DRB1*13/DQA1*0501, DRB1*11/DQB1*0501, DQA1*0102/DQB1*0401/02. Specificity DRB1*15, allele variant DQB1*0201, genotype DQB1*0301,0301 and haplotypes DRB1*15/DQA1*0101, DRB1*15/DQA1*0102, DRB1*01/DQB1*0201, DRB1*15/DQB1*0301, DQA1*0101/DQB1*0201, DQA1*0201/DQB1*0201 determine the resistance to peptic ulcer.

Key words: children, peptic ulcer, HLA-system, HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1 alleles.