

ДАНИ ІНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО ОБСТЕЖЕНЬ У ДІТЕЙ З ЕКОПАТОЛОГІЄЮ КІСТКОВОЇ СИСТЕМИ

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів

Мета. Проаналізувати дані інструментального та молекулярно-генетичного обстежень у 222 дітей із екозалежними остеопатіями, що проживають в регіонах із антропогенним забрудненням довкілля та 214 дітей групи контролю з екологічно чистих регіонів.

Методи. Методом ультразвукової денситометрії була визначена мінеральна щільність кісткової тканини (МЩКТ): менше 67% - остеопороз, МЩКТ від 80% до 67% - остеопенія, нормальна МЩКТ - 100 +/- 20 %, 120% і більше – остеосклероз. Молекулярно-генетичним методом (полімеразна ланцюгова реакція) проводилось дослідження поліморфних локусів гена рецептора вітаміна D3 серед дітей з екозалежними остеопатіями, що проживають в регіонах з різним характером забруднення.

Результати. У дітей з екологічно несприятливих регіонів вірогідно частіше (в 4-10 разів) діагностувались остеопенія та остеопороз. Найбільшу кількість зниженої МЩКТ (53,9 % та 50 %) мали діти із генотипами Tt та tt, що відповідає даним літератури про те, що вищі значення мінеральної щільності кісткової тканини асоційовані з TT –генотипом. Проведено комплексну оцінку інструментальних та клініко-лабораторних показників щільності кісткової тканини у носіїв певних алельних варіантів гена рецептора вітаміна D3.

Ключові слова: мінеральна щільність кісткової тканини, поліморфізм гена VDR, екозалежні остеопатії, діти.

ВСТУП

На думку академіка Ю.Г.Антипкіна, за ступенем чутливості до дії негативного впливу ксенобіотиків, перше місце займає щитовидна залоза дитини, далі – печінка, легені, нирки і кісткова система дитини [1]. З'являються все більше доказів, що будова кісток і мінеральна щільність кісткової тканини, структура і метаболічна активність кісток скелета генетично детерміновані [2, 3]. За останні десятиріччя середній вік хворих, що страждають на остеопороз, значно помолодшав [4]. Найбільш чіткі асоціації генетичної компоненти розвитку остеопорозу були встановлені при дослідженні гена рецептора вітаміна D3. Відомо 4 поліморфізми довжин рестрикційних фрагментів – Bsm I, Aра I, Таq I і Fок I. Метааналіз результатів 16 робіт показав, що носії ВВ-генотипу мають на 1,5–2,5% нижчу мінеральну щільність кісткової тканини, ніж особи з bb-генотипом. Іншими з відомих поліморфізмів гена VDR є Таq I і Ара I фрагменти рестрикції (T і t, A і a алелі відповідно). Багатьма дослідженнями було показано, що вищі значення мінеральної щільності кісткової тканини асоційовані з TTbbaa-генотипом. [5]. До проявів екопатології кісткової системи відносять остеопенію та остеопороз, що виявляються у дітей із екологічно несприятливих регіонів.

Івано-Франківська область є однією з десяти областей (після Донецької, Луганської, Запорізької, Харківської), які формують екологічну обстановку в

цілому по Україні. Екологічна ситуація в області є наслідком багаторічного накопичення забруднюючих речовин, особливо небезпечних твердих відходів промисловості [6]. До території з найбільш складною екологічною ситуацією в області належить Галицький район, де функціонує Бурштинська ТЕС (екологічно несприятливий регіон – ЕНРб), Калуський – з потужним хімічним та гірничовидобувним виробництвом (ЕНРк) та Долинський район з нафтопромислами і нафтопереробним заводом (ЕНРд).

Окрім Галицького, Калуського та Долинського району, екологічно несприятливим вважається і Снятинський район (ЕНРс), який відноситься до зони посиленого радіаційного контролю. Групою контролю слугували діти із екологічно чистого регіону (ЕЧР) – м. Городенка Івано-Франківської області та здорові діти з м. Львова (загальнопопуляційна група контролю-ЗПГК).

Мета дослідження - проаналізувати дані інструментального та молекулярно-генетичного обстежень у дітей з екозалежними остеопатіями.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Ми застосували інструментальний метод обстеження кісткової системи ультразвукову денситометрію – точний і атравматичний метод, необхідний для оцінки мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ), ранньої діагностики остеопенії (МЩКТ < 80%), остеопорозу (МЩКТ < 67%), нормальної МЩКТ – 100 +/- 20 % та остеосклерозу - МЩКТ – 120 % і вище, а також оцінки ефективності лікувально-профілактичних засобів [7, 8, 9]. Обстеження МЩКТ проводилось на ультразвуковому денситометрі "Achilles Express".

З метою молекулярно-генетичного дослідження поліморфних локусів гена рецептора вітаміна D3 (VDR-3) проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом ферментативного розщеплення та подальшої фенольної екстракції. На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [10]. ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклерах "AMPLI-4" ("Биоком", Москва, Росія).

Всього було обстежено 222 дітей із ЕНР, 64 дітей із ЕЧР та 150 дітей із ЗПГК. Вік дітей – від 3-х до 18 р.р., стать – 48% хлопці та 52 % – дівчата. Всі діти оглянуті клінічно, їм проведена інструментальна (УЗД, ультразвукова денситометрія) та лабораторна діагностика.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У м.Бурштині (ЕНРб) та м.Снятині (ЕНРс) Івано-Франківської області методом ультразвукової денситометрії визначалася мінеральна щільність кісткової тканини (МЩКТ) у дітей, відповідно 48 та 53 дитини. У м. Долина (ЕНРд), м. Калусь (ЕНРк) та м. Городенка (ЕЧР) Івано-Франківської області нами було обстежено методом ультразвукової денситометрії 185 дітей: в ЕНРд оглянуто 54 дитини, в ЕНРк – 67 дітей та в ЕЧР – 64 дитини. Оскільки всі регіони обстеження дітей знаходились в Івано – Франківській області, нам вдалося доцільним порівняти дані дослідження із даними дітей із загальнопопуляційної групи контролю (ЗПГК), 150-ма здоровими дітьми з м.Львова, взятими методом випадкової вибірки. Дані розподілились наступним чином (табл. 1).

За результатами наших досліджень, знижена МЩКТ – остеопороз (МЩКТ до 67%) найбільш часто спостерігався у дітей із ЕНРд (29,6%) та ЕНРб (20,8%), його частота не мала вірогідної різниці між ЕНР та ЕЧР, проте в 10

ПЕДІАТРІЯ

– 15 разів перевищувала частоту остеопорозу в ЗПГК. Остеопенія (МЩКТ від 67 до 81%) найчастіше спостерігалась у дітей із ЕНРс (30,3%), ЕНРб (27,1%) та у дітей із ЕНРд (26,0%), найнижче її значення (17,2%) було в ЕЧР, а в ЗПГК частота остеопенії становила всього 8%. Частота остеосклерозу (МЩКТ > 120%) майже не відрізнялась у всіх групах. Взагалі, частота остеопенічного синдрому (остеопенія і остеопороз) була найвищою (55,6%) в ЕНРд, що очевидно можна пояснити більш вираженою негативною пролонгованою дією харчових ксенобіотиків (продуктів нафтопереробки).

Таблиця 1

Кількість обстежених дітей із різною МЩКТ із ЕНРб та ЕНРс

Групи дітей	Остеопороз		Остеопенія		N МЩКТ		Остеосклероз	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ЕНРб, n=48	10	20,8 ^{****}	13	27,1 ^{***}	22	45,8 ^{****}	3	6,3
ЕНРс, n=53	5	9,4 ^{****}	16	30,2 ^{***}	29	54,7 ^{****}	3	5,7
ЕНРд, n=54	16	29,6 ^{****}	14	26,0 ^{***}	18	33,3 ^{****}	6	11,1
ЕНРк, n=67	10	15,0 ^{****}	16	23,8 ^{***}	39	58,2 ^{****}	2	3,0
ЕЧР, n=64	18	28,1 ^{****}	11	17,2 ^{***}	33	51,6 ^{****}	2	3,1
ЗПГК, n=150	2	1,3	12	8	130	86,7	6	4

Примітка: * - вірогідна різниця показника між двома групами дітей з ЕНР з різним характером забруднення; $p < 0,001$; ** - вірогідна різниця показника між даними дітей з забрудненого району та контрольної групи з ЕЧР; $p1 < 0,001$; *** - вірогідна різниця показника між даними дітей з забрудненого району та ЗПГК; $p2 < 0,001$.

Протягом останніх років автором було проведено комплексну оцінку інструментальних та клініко-лабораторних показників щільності кісткової тканини у носіїв певних алельних варіантів гена рецептора вітаміна D3 серед дітей, що проживають в регіонах з різним характером забруднення. Дані вищеперечислених досліджень відображені у табл. 2.

Достатньо великий відсоток (71,5 %) нормальної МЩКТ у ЕНРб мали діти із генотипом ТТ. Найбільшу кількість зниженої МЩКТ (53,9 % та 50 %) мали діти із генотипом Тt та tt, що відповідає даним літератури про те, що вищі значення мінеральної щільності кісткової тканини асоційовані з ТТ –генотипом.

Діти із генотипом ТТ у ЕНРс теж мали найбільший відсоток нормальної МЩКТ - 73,3 %. Остеопенію та остеопороз у ЕНРс мали діти із генотипом Тt та tt (40,4 % та 100 %), що теж відповідає літературним даним. Високі значення нормальної МЩКТ (54,6 %) мали діти із генотипами ТТ і у ЕЧР.

Комплексна оцінка даних інструментального та молекулярно-генетичного методів обстеження дітей із ЕНР та ЕЧР

Генотип дітей із ЕНРБ, n=38	Остеопороз		Остеопенія		N МЩКТ		Остеосклероз	
	п	%	п	%	п	%	п	%
ТТ, n = 21	0	0	5	23,8	15	71,5	1	4,7
Tt, n=13	3	23,1	4	30,8	6	46,1	0	0
tt, n=4	2	50	0	0	2	50	0	0
Генотип дітей із ЕНРс, n=36								
ТТ, n = 15	0	0	3	20	11	73,3	1	6,7
Tt, n = 20	0	0	8	40,4	11	55	1	5
tt, n = 1	1	100	0	0	0	0	0	0
Генотип дітей із ЕЧР, n=32								
ТТ, n = 11	1	9,0	4	36,4	6	54,6	0	0
Tt, n = 17	2	1,8	8	47	6	35,2	1	6
tt, n = 4	2	50	2	50	0	0	0	0

Остеопенічний синдром у дітей із ЕЧР із генотипом Tt та tt спостерігався відповідно у 58,8 % та 100 % випадків. Отже, підтверджуємо, що вищі значення мінеральної щільності кісткової тканини асоційовані з ТТ-генотипом.

ВИСНОВКИ

1. Проведено комплексну оцінку інструментальних та клініко-лабораторних показників щільності кісткової тканини у носіїв певних алельних варіантів гена рецептора вітаміна D3.

2. У дітей з екологічно несприятливих регіонів за даними УЗДМ вірогідно частіше (в 4-10 разів) діагностувались остеопенія та остеопороз.

3. Найбільшу кількість зниженої МЩКТ (53,9 % та 50 %) мали діти із генотипами Tt та tt, що свідчить про те, що вищі значення мінеральної щільності кісткової тканини асоційовані з ТТ-генотипом.

Перспективи подальших досліджень: планується розширити географію та алгоритм досліджень, і обстежувати дітей не тільки з екозалежними остеопатіями, але і з тиреопатіями, і з нефропатіями із регіонів з різноманітним антропогенним забрудненням.

Література

1. Ионизирующие излучения и иммунная система у детей: монография / Е.М. Лукьянова, Ю.Г.Антипкин, В.П.Чернышов, Е.В.Выхованець. — К.: Эксперт, 2003. — 18 с.

2. Шилин Д.Е. Эпидемиология переломов в детском возрасте: обоснование фармакологической коррекции дефицита кальция и витамина D // Педиатрия. — 2007. — Т. 3, № 3. — С. 71-79.

3. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А.П.Левицький, О.А.Макаренко, І.В.Ходаков, Ю.В.Зеленіна // Одеський медичний журнал. — 2010. — № 3(95). — С. 17-21.

ПЕДІАТРІЯ

4. Сміян І.С. Остеопороз при ендемічному дифузному зобі у дітей / І.С.Сміян, Л.Б.Романюк // Проблеми остеології. — 2002. — Т. 5, № 1. — С. 80-81.
5. Zajickova K. Vitamin D receptor gene polymorphism, bone mineral density and bone turnover: Fok1 genotype is related to postmenopausal bone mass / K.Zajickova, I.Zofkova, R.Bahbouh, A.Krepelova // Physiology resoultts. — 2002. — Vol. 51, № 5. — P. 501-50.
6. Довкілля Івано-Франківщини: статистич. зб. / за ред. Л.О.Зброй. — Івано-Франківськ, 2004. — 133 с.
7. Банадига Н.В. Діагностика та корекція остеопенії в дітей на тлі бронхіальної астми / Н.В.Банадига, О.І.Рогальський // Проблеми остеології. — 2002. — Т. 5, № 2-3. — С. 111-114.
8. Структурно-функціональний стан кісткової тканини, антропометричні показники та біологічний вік у хлопчиків північного району Донецької області / В.В.Поворознюк, Ф.В.Климовицький, Н.І.Балацька, Вас.В.Поворознюк // Травма. — 2010. — Т. 11, № 1. — С. 5-12.
9. Поворознюк В.В. Остеопороз — «мовчазна» епідемія / В.В.Поворознюк, Н.В.Григорєва, Т.Ф.Татарчук // Здоров'я України. — 2006. — № 4. — С. 61.
10. Molecular Diagnostics for the Clinical Laboratorian / Edited by W.W.Cobman, G.J.Isongalis. — Totowa: Humana Press, 2006. — 567 p.

Н.Р. Кеч, О.З. Гнатейко, Н.В.Виштак

Данные инструментального и молекулярно-генетического обследования у детей с экзопатологией костной системы

ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», Львов,

Цель. Проанализировать данные инструментального и молекулярно-генетического обследования 222 детей с экзозависимыми остеопатиями, проживающих в регионах с антропогенным загрязнением внешней среды и 214 детей группы контроля из экологически чистых регионов.

Методы. Методом ультразвуковой денситометрии была определена минеральная плотность костной ткани (МПКТ): меньше 67% - остеопороз, МЩКТ от 80% до 67% - остеопения, нормальная МПКТ - 100 +/- 20 %, 120% и больше – остеосклероз. Молекулярно-генетическим методом (полимеразная цепная реакция) проводилось исследование полиморфных локусов гена рецептора витамина D3 среди детей с экзозависимыми остеопатиями, проживающих в регионах с различным характером загрязнения внешней среды.

Результаты. У детей из экологически неблагоприятных регионов достоверно чаще (в 4-10 раз) диагностировались остеопения и остеопороз. Наибольшее количество пониженной МПКТ (53,9 % и 50 %) было у детей с генотипами Tt и tt, отвечающее данным литературы о том, что высшие значения минеральной плотности костной ткани ассоциированы с TT-генотипом. Проведено комплексную оценку инструментальных и клинико-лабораторных показателей плотности костной ткани у носителей определенных аллельных вариантов гена рецептора витамина D3.

Ключевые слова: минеральная плотность костной ткани, полиморфизм гена VDR, экзозависимые остеопатии, дети.

N.R. Kech, O.Z. Hnatejko, N.V. Vishtak

Instrumental and molecular genetic findings in children with ecologically determined bone diseases

SI "Institute of Hereditary Pathology of the NAMS of Ukraine", Lviv

Purpose. We analyzed the instrumental and molecular genetics findings in 222 children with ecologically determined bone diseases and in 222 children of the control group dwelling in ecologically clean regions.

Methods. Bone mineral density was measured by ultrasound densitometry: bone mineral density < 67 % - osteoporosis, bone mineral density from 80 % to 67 % - osteopenia, 100 +/- 20 % - normal bone mineral density, 120% and more – osteosclerosis. We studied the polymorphous loci of vitamin D3 gene receptor by molecular genetic analysis (polymerase chain reaction) in the children with ecologically determined bone diseases from the regions with different pollution form.

Results. Osteoporosis and osteopenia were diagnosed more frequent (4-10 times) in children from the environmentally neglected zones. The main amount of bone mineral density (53,9% and 50%) was in children with genotypes Tt and tt, that concurred with the literature data. We carried out the complex estimation of bone density instrumental and clinic-laboratory indices in the carriers of the allele variants of vitamin D3 gene.

Key words: bone mineral density, polymorphous of gene VDR, ecologically determined bone diseases, children.

Відомості про авторів:

Кеч Наталія Романівна – пров. н. с., д. мед. н., ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України». Адреса: м. Львів, МСП-169, вул. М. Лисенка, 31-а, тел./факс: (032) 275-38-44, 276-76-41.

Гнатейко Олег Зіновійович - д. мед. н., професор, Директор ДУ «Інститут спадкової патології» АМН України. Адреса: м. Львів, МСП-169, вул. М. Лисенка, 31-а, тел./факс: (032) 275-38-44, 276-76-41.

Виштак Наталія Валентинівна – с. н. с., к. біол. н. ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України». Адреса: м. Львів, МСП-169, вул. М. Лисенка, 31-а, тел./факс: (032) 275-38-44, 276-76-41.

УДК: 612.75:616.126.32 – 053.2:616.124

© В. Г.КОНДРАШОВА, Л. П.ШЕЙКО, 2014

*В. Г.Кондрашова, Л. П.Шейко*¹

СИСТЕМНЕ ЗАЛУЧЕННЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ІЗОЛЬОВАНОМУ ПРОЛАПСІ МІТРАЛЬНОГО КЛАПАНА У ДІТЕЙ, ЯКІ НАРОДИЛИСЯ ВІД ОПРОМІНЕНИХ БАТЬКІВ

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», м. Київ,

¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ

Вступ. Доведено, що бальна оцінка системного залучення сполучної тканини (СЗСТ) може використовуватися в якості критерію, що дозволяє визначити