

**ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КІЯН НАДІЯ РОМАНІВНА

ДИСЕРТАЦІЯ

**ГЕНЕТИЧНІ ТА ЕПІГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ У РЕАЛІЗАЦІЇ
ДИЗМЕТАБОЛІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ**

22 Охорона здоров'я

228 Педіатрія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Н. Р. Кіян

Науковий керівник:

Лук'яненко Наталія Сергіївна,
доктор медичних наук, професор

Івано-Франківськ – 2024

АНОТАЦІЯ

***Кіян Н. Р.* Генетичні та епігенетичні фактори у реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 228 Педіатрія. – Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, Івано-Франківськ, 2024.

Захист відбудеться в Буковинському державному медичному університеті, 2025.

Дисертаційна робота присвячена підвищенню ефективності профілактики, ранньої діагностики та прогнозування маніфестації і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей шляхом уточнення генетичних та епігенетичних факторів у її патогенезі.

Для вирішення поставленої мети були визначені наступні завдання: провести порівняльний аналіз даних анамнезу життя, клінічного стану, епігенетичних антенатальних і постнатальних факторів та генеалогічного анамнезу у дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією (ДН), які проживають у Івано-Франківській області; дослідити маркери недиференційованої дисплазії сполучної тканини, тканинної гіпоксії та порушення кальцієвого обміну у дітей з різним характером перебігу ДН та встановити роль цих процесів у її патогенезі; встановити стан процесів перекисного окислення ліпідів, системи антиоксидантного захисту та маркерів мембранодеструкції у дітей з різним характером перебігу ДН та їх роль у її патогенезі; визначити функціональний стан паренхіми нирок і ступінь процесу її склерозування у дітей з різним характером перебігу ДН; оцінити вплив особливостей поліморфних локусів ТаqI та Ара I гена *VDR-3* на схильність дітей до реалізації дизметаболічної нефропатії і більш важчого її перебігу та

з'ясувати асоціативний зв'язок неявиності у генотипі поліморфних делеційних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансфераз) з маніфестацією ДН.

Встановлено, що в обох групах переважали діти 12-17 років (48,08%; 53,58% відповідно), а в групі контролю - 44,62%. У дітей з УДН частота скарг перевищувала дані дітей II групи: часті болі в животі - 52,17% дітей I-ої групи проти 46, 43% дітей II групи, блідість шкіри - 80,77% проти 32,14%, зниження апетиту - 80,77% дітей проти 66,07% дітей II групи, часті болі голови і швидка втомлюваність - 73,08% проти 19,64%, тобто, в дітей I групи достовірно частіше спостерігались скарги, що характерні для синдрому загальної неспецифічної інтоксикації. Діти з ускладненою ДН досить часто відставали в масі тіла -15,38%, в той час як серед дітей другої групи цей показник не перевищував загальнопопуляційні дані – 5,36%. Знижений індекс Варги встановлено у 15,38% дітей I групи (кожний 5-6 пацієнт) та у 7,14 % дітей II групи при даних у здорових дітей - 6,15%.

Встановлено, що при огляді у дітей I групи спостерігались більш виразні клінічні прояви загальної неспецифічної інтоксикації: блідість шкірних покривів - у 80,77% дітей I-ої групи проти 32,14% дітей II-ої групи в'ялість – в 34,62% та 19,64%, періорбітальний ціаноз – у 30,77% проти 14,29%. Дискомфорт при сечовипусканні, наявність вульвіту/фімозу відмічалось у третини дітей I групи та в кожної п'ятої дитини II групи. Встановлена значна частота карієсу зубів у дітей обох груп - 30,77% та 16,07% дітей.

Аналіз частоти постнатальних епігенетичних факторів, вплив яких зазнає дитина в процесі розвитку, показав, що частота контакту з промисловим пилом (21, 15%) і шумом (23,07%) та важка фізична праця (23,07%) у батьків дітей I групи були вищими, ніж у батьків дітей II групи (17,86%, 19,64%, 17,86% відповідно), в контролі – 10,77%, 6,15% та 13,85%. Переважна більшість дітей I-ої групи (71,15%) більше 5-ти разів хворіли на гострі респіраторні захворювання протягом першого року життя, в той час, як частохворюючих дітей в II-й групі було стільки ж (12,50%), як і в групі контролю (12,3%), діти з ДН обох груп достовірно частіше мали прояви atopії

в анамнезі (34,62%) проти 7,14% дітей II групи, в контролі - 1,53%. Дітей I групи з явищами фізіологічної жовтяниці новонароджених було 40,38%, а в II групі в 2,3 раза менше -17,85%, а в групі контролю - 13,85% дітей.

Встановлено, що грудного вигодовування взагалі не отримували 34,62% дітей I-ої групи та 5,36% дітей II групи. На першому році життя 67,31% дітей I-ої групи знаходились на ранньому штучному вигодовуванні, в той час, як в II-й групі таких дітей було тільки 14,28%, за частотою достовірно не відрізняючись від даних дітей групи контролю –13,85%.

Показано, що у переважної більшості дітей із УДН була наявна часта супутня бактеріальна і вірусна патологія: хронічний тонзиліт у 40,38% дітей, карієс зубів – у 34,62% дітей, хронічний гастрит та атопічний діатез – у 23,08% дітей, гіпоплазія емалі зубів – у 26,92% дітей. У той же час, у дітей II-ої групи її відсоток був незначний, а за деякими нозологіями (хронічний холецистит, часті гострі респіраторні інфекції та зоб II ступеню) їх частота не відрізнялась від даних дітей групи контролю.

Встановлено, що рівень кальцію в крові був достовірно знижений практично у всіх дітей обох груп, незалежно від важкості перебігу ДН ($1,51 \pm 0,22$ ммоль/л у 96,15% та $1,63 \pm 0,32$ ммоль/л у 96,42% відповідно до груп). В сечі рівень кальцію був достовірно підвищений у 94,23% обстежених дітей I групи - $2,19 \pm 0,27$ ммоль/л, та у 89,28% дітей з ДН II-ї групи - $1,63 \pm 0,32$ ммоль/л, хоча і не мав достовірної різниці з даними здорових дітей - $1,78 \pm 0,12$ ммоль/л, 1,54%. Тест на кальцифілаксію виявився позитивним у 96,15% дітей I-ої групи - $1,02 \pm 0,02$ ум од. та у 92,86% - $0,66 \pm 0,03$ ум. од. дітей II групи при показниках у здорових дітей - $0,22 \pm 0,15$ ум. од. (2,6%). Рівень фосфору в крові всіх обстежених дітей із ДН, незалежно від характеру її перебігу, відповідав референтним значенням - $1,49 \pm 0,24$ ммоль/добу та $1,41 \pm 0,33$ ммоль/добу, в контролі - $1,52 \pm 0,29$ ммоль/добу. Екскреція фосфору з сечею у всіх обстежених дітей була достовірно підвищена, не залежно від важкості перебігу ДН - $29,9 \pm 2,87$ ммоль/добу та $27,4 \pm 3,56$ ммоль/добу при даних дітей контрольної групи $19,2 \pm 2,31$ ммоль/добу, 1,54%.

Показана достовірно підвищена активність паратгормону в крові більшості дітей з ДН, незалежно від характеру її перебігу ($14,5 \pm 3,25$ пг/мл, 94,23% та $11,2 \pm 1,14$ пг/мл, 92,86% відповідно, при даних контролю $7,7 \pm 1,26$ пг/мл, 3,07%). Активність гормону - антагоніста паратгормону кальцитоніну, в крові практично всіх дітей обох груп перебувала в межах вікової норми з незначною тенденцією до її підвищення ($6,8 \pm 1,78$ пг/мл та $6,3 \pm 1,27$ пг/мл при даних здорових дітей $4,1 \pm 1,21$ пг/мл, 7,69%).

Показано зниження каналцевої реабсорбції як парціальної функції проксимального відділу нефронів: встановлена достовірно висока частота гіперфосфатурії (94,23% та 96,42%), кальційурії (94,23% і 89,28%), глюкозурії (78,85% та 67,85%), підвищеної екскреції із сечею амінокислот (40,38% та 37,5%), мікропротеїнурії (32,69% та 28,57%) і екскреції редукованих цукрів (28,85% та 26,79%), що дало можливість діагностувати у дітей з ДН обох груп наявність вторинного синдрому Фанконі.

Встановлений достовірно знижений рівень екскреції креатиніну з добовою сечею у більшості дітей з УДН - $0,56 \pm 0,19$ г/л, 80,77% обстежених та більше, ніж у половини дітей II групи - $0,83 \pm 0,08$ г/л, 57,14% обстежених (в контролі - $1,25 \pm 0,75$ г/л, 0,0%). Встановлений високий рівень екскреції глікозоаміногліканів (ГАГи) з добовою сечею у дітей з ДН: у 84,62% дітей I групи - $282,6 \pm 38,41$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну та у 35,71% дітей II групи - $250,37 \pm 35,2$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну, при даних контролю - $35,0 \pm 75,0$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну 1,54%, що вказує на парціальну ниркову недостатність за гломерулярним типом.

Порівняльний аналіз розподілу генотипів одонуклеотидного поліморфізму локусу Taq I гена *VDR3* у дітей з різною за важкістю перебігу ДН та здоровими особами вказує на те, що частоти гомозигот TT та tt у дітей з ДН були вірогідно нижчими: TT - 38,18% і tt – 9,09% при даних здорових дітей - 56,82 і 13,64%, а частота гетерозиготного носійства Tt у дітей з ДН була в 1,8 раза більша (52,73%), ніж у здорових дітей – 29,54%, що вказує на асоціацію гетерозиготного носійства Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3*

з ризиком формування ДН у дитини, а носійство гомозиготних генотипів TT та tt володіє протекторними властивостями. Достовірна різниця частоти гетерозиготного носійства Tt у дітей з різною за важкістю ДН свідчить про асоціацію поліморфізму локусу Taq I гена *VDR3* не тільки з ризиком виникнення ДН, але й з більш важким її перебігом, а сам ген можна вважати геном-кандидатом у патогенезі ДН і важкості її перебігу у дітей.

Частота гетерозиготного носійства генотипу Aa у дітей з ДН - 14,55% була достовірно, в 4 рази менша, ніж у здорових дітей – 59,09%, що свідчить про протективні властивості даного генотипу щодо розвитку у дітей ДН. Встановлено, що ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA (OR 95% CI = 10,79).

За результатами молекулярно-генетичного дослідження, наведеними у роботі, можна стверджувати ген *VDR3* володіє властивостями гена-кандидата, а генотип *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 гену *GST* - гена-модифікатора у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

Ключові слова: діти, дизметаболічна нефропатія, епігенетичні та генетичні фактори, синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини, тканинна гіпоксія, ліпопероксидація, функціональний стан паренхіми нирок, молекулярно-генетичні дослідження.

ANNOTATION

Kiian N.R. Genetic and epigenetic factors in the realization of dysmetabolic nephropathy in children. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

The dissertation is devoted to improving the effectiveness of prevention, early diagnosis and prognosis of the manifestation and severity of dysmetabolic nephropathy in children by clarifying the genetic and epigenetic factors in its pathogenesis.

To achieve this goal, the following objectives were defined: to conduct a comparative analysis of the data on life history, clinical condition, epigenetic antenatal and postnatal factors and genealogical history in children with different

severity of dysmetabolic nephropathy (DN) living in Ivano-Frankivsk region; to study markers of undifferentiated connective tissue dysplasia, tissue hypoxia and calcium metabolism disorders in children with different DN and to establish the role of these processes in its pathogenesis; to determine the state of lipid peroxidation, antioxidant defence system and membrane destruction markers in children with different types of diabetes and their role in its pathogenesis; to determine the functional state of the renal parenchyma and the degree of its sclerosis in children with different types of diabetes; to assess the impact of the peculiarities of polymorphic loci TaqI and Apa I of the VDR-3 gene on the predisposition of children to develop dysmetabolic nephropathy and its more severe course and to determine the association of implicit polymorphic deletion loci of the GSTM1 and GSTT1 genes (glutathione-S-transferases) in the genotype with the manifestation of DN.

It was found that children aged 12-17 years prevailed in both groups (48.08%; 53.58%, respectively), and in the control group - 44.62%. In children with PBD, the frequency of complaints exceeded that of children in group II: frequent abdominal pain - 52.17% of children in group I vs. 46.43% of children in group II, pale skin - 80.77% vs. 32.14%, decreased appetite - 80.77% of children vs. 66.07% of children in group II, frequent headaches and fatigue - 73.08% vs. 19.64%, i.e., children in group I had significantly more complaints characteristic of the syndrome of general nonspecific intoxication. Children with complicated DN often lagged behind in body weight -15.38%, while among children of the second group this figure did not exceed the general population data - 5.36%. A reduced Varga index was found in 15.38% of children in group I (every 5-6 patients) and in 7.14% of children in group II, while the data for healthy children was 6.15%.

It was found that during the examination, children in group I had more pronounced clinical manifestations of general nonspecific intoxication: pallor of the skin - in 80.77% of children in group I against 32.14% of children in group II, lethargy - in 34.62% and 19.64%, periorbital cyanosis - in 30.77% against 14.29%. Discomfort during urination, vulvitis/phimosis was observed in one third of children

in group I and in one in five children in group II. A significant frequency of dental caries was found in children of both groups - 30.77% and 16.07% of children.

The analysis of the frequency of postnatal epigenetic factors exposed to the child during development showed that the frequency of contact with industrial dust (21.15%) and noise (23.07%) and heavy physical labour (23.07%) in the parents of children in group I was higher than in the parents of children in group II (17.86%, 19.64%, 17.86%, respectively), while in the control group it was 10.77%, 6.15% and 13.85%. The overwhelming majority of children in group I (71.15%) had more than 5 acute respiratory illnesses during the first year of life, while the number of frequently ill children in group II was the same (12.50%) as in the control group (12.3%), children with DN in both groups had a significant history of atopy (34.62%) against 7.14% of children in group II, and 1.53% in the control group. Children of group I with physiological jaundice of newborns were 40.38%, and in group II 2.3 times less - 17.85%, and in the control group - 13.85% of children.

It was found that 34.62% of children in group I and 5.36% of children in group II did not receive breastfeeding at all. In the first year of life, 67.31% of children in group I were on early artificial feeding, while in group II there were only 14.28% of such children, which did not differ significantly from the data of children in the control group (13.85%).

It has been shown that the vast majority of children with PBD had frequent concomitant bacterial and viral pathology: chronic tonsillitis in 40.38% of children, dental caries in 34.62% of children, chronic gastritis and atopic diathesis in 23.08% of children, and tooth enamel hypoplasia in 26.92% of children. At the same time, in children of group II, its percentage was insignificant, and in some nosologies (chronic cholecystitis, frequent acute respiratory infections and grade II goiter) their frequency did not differ from that of the control group.

It was established that the level of calcium in the blood was significantly reduced in almost all children of both groups, regardless of the severity of the course of DN (1.51 ± 0.22 mmol/l in 96.15% and 1.63 ± 0.32 mmol/l in 96.42%, respectively, of the groups). Urinary calcium levels were significantly increased in 94.23% of

children in group I (2.19 ± 0.27 mmol/l) and in 89.28% of children with VL of group II (1.63 ± 0.32 mmol/l), although there was no significant difference with the data of healthy children (1.78 ± 0.12 mmol/l, 1.54%). The test for calciphylaxis was positive in 96.15% of children in group I - 1.02 ± 0.02 u and in 92.86% - 0.66 ± 0.03 u of children in group II, while the figures for healthy children were 0.22 ± 0.15 u (2.6%). The level of phosphorus in the blood of all examined children with DN, regardless of the nature of its course, corresponded to the reference values - 1.49 ± 0.24 mmol/day and 1.41 ± 0.33 mmol/day, in the control - 1.52 ± 0.29 mmol/day. Urinary phosphorus excretion in all examined children was significantly increased, regardless of the severity of the course of DN - 29.9 ± 2.87 mmol/day and 27.4 ± 3.56 mmol/day, while in the control group it was 19.2 ± 2.31 mmol/day, 1.54%.

Significantly increased activity of parathyroid hormone in the blood of most children with DN, regardless of the nature of its course, was shown (14.5 ± 3.25 pg/ml, 94.23% and 11.2 ± 1.14 pg/ml, 92.86%, respectively, with control data 7.7 ± 1.26 pg/ml, 3.07%). The activity of calcitonin, an antagonist of the parathyroid hormone, in the blood of almost all children of both groups was within the age range with a slight tendency to increase (6.8 ± 1.78 pg/ml and 6.3 ± 1.27 pg/ml, respectively, with healthy children's data (4.1 ± 1.21 pg/ml, 7.69%).

A decrease in tubular reabsorption as a partial function of the proximal nephron was shown: a significantly high incidence of hyperphosphaturia (94.23% and 96.42%), calciumuria (94.23% and 89.28%), glucosuria (78.85% and 67.85%), and increased urinary excretion of amino acids (40.38% and 37.5%) was found, microproteinuria (32.69% and 28.57%) and excretion of reduced sugars (28.85% and 26.79%), which made it possible to diagnose the presence of secondary Fanconi syndrome in children with DN of both groups.

A significantly reduced level of creatinine excretion in the daily urine was found in most children with PWD - 0.56 ± 0.19 g/l, 80.77% of the subjects and in more than half of the children in group II - 0.83 ± 0.08 g/l, 57.14% of the subjects (in control - 1.25 ± 0.75 g/l, 0.0%). A high level of excretion of glycosoaminoglycans (GAGs) in the daily urine of children with DN was found: in 84.62% of children of

group I - 282.6 ± 38.41 units of GAGs/per 1 g of creatinine and in 35.71% of children of group II - 250.37 ± 35.2 units. The control group had 35.0 ± 75.0 CPK units per 1 g of creatinine and 1.54% of children with partial renal failure of the glomerular type, which indicates partial renal failure.

Comparative analysis of the distribution of genotypes of the single nucleotide polymorphism of the Taq I locus of the VDR3 gene in children with different severity of VD and healthy individuals indicates that the frequencies of TT and tt homozygotes in children with VD were significantly lower: TT - 38.18% and tt - 9.09%, while in healthy children - 56.82% and 13.64%, and the frequency of heterozygous Tt carriage in children with DN was 1.8 times higher (52.73%) than in healthy children - 29.54%, indicating the association of heterozygous Tt carriage of the Taq I polymorphic locus of the VDR3 gene with the risk of developing DN in a child, and the carriage of homozygous TT and tt genotypes has protective properties. The significant difference in the frequency of heterozygous Tt carriage in children with different severity of DN indicates the association of the Taq I locus polymorphism of the VDR3 gene not only with the risk of DN, but also with its more severe course, and the gene itself can be considered a candidate gene in the pathogenesis of DN and its severity in children.

The frequency of heterozygous carriage of the Aa genotype in children with DN (14.55%) was significantly, 4 times lower than in healthy children (59.09%), which indicates the protective properties of this genotype against the development of DN in children. It was found that the risk of developing dysmetabolic nephropathy is highest in children with the TtAA haplotype (OR 95% CI = 10.79)

Based on the results of the molecular genetic study presented in this paper, it can be argued that the VDR3 gene has the properties of a candidate gene, and the GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 genotype of the GST gene is a modifier gene in the pathogenesis of dysmetabolic nephropathy in children.

Key words: children, pyelonephritis, epigenetic and genetic factors, violation of fibrillogenesis, syndrome of undifferentiated connective tissue dysplasia.

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати
дисертації:**

1. Лембрик ІС, Айб НР. Поширеність дизметаболических нефропатій серед дитячого населення Івано-Франківській області. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017; 11(1): 48-52. <http://ijpog.org/downloads/26/7.pdf> *(Здобувачкою самостійно сформульовано гіпотезу та ідею дослідження, поставлено мету та завдання, зібрано матеріал, здійснено аналіз матеріалу та оформлено роботу до друку, співавтор Лембрик ІС надав консультативну допомогу щодо дизайну публікації та її структури, здійснила редакційні правки).*
2. Айб НР. Метаболічна нефропатія в дітей: гендерні особливості екскреції оксалатів, зв'язок із вираженістю оксидативного стресу й системою антиоксидантного захисту. Здоров'я дитини. 2019; 14(4): 229-35. DOI: 10.22141/2224-0551.14.4.2019.174036
3. Айб НР, Лук'яненко НС, Чайковська ГС, Волосянко АБ. Genetic and environmental components in the pathogenesis of dysmetabolic nephropathy with oxalate-calcium crystalluria. Клінічна та профілактична медицина. 2024; 6: 38-43. (Scopus) <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2024.05> *(Здобувачкою проведено відбір хворих, клінічні та інструментальні обстеження, аналітичне опрацювання та статистичні обрахунки отриманих результатів, підготовка роботи до друку. Співавтори професор надавали консультативну допомогу щодо дизайну публікації та її структури, редакційні правки висновків)*
4. NR Aib, NS Lukianenko, NA Petritsa, M Yu Iskiv. Processes of lipid peroxidation, antioxidant protection and Membrane destruction of renal epithelium in the pathogenesis Of dysmetabolic nephropathy in children. Архів клінічної медицини. 2024;1(30):5-8. <https://ifnmujournal.com/acm/article/view/acm2024114/1476> *(Здобувачкою проведено відбір хворих, клінічні та інструментальні обстеження, аналітичне опрацювання та статистичні обрахунки отриманих*

результатів, підготовка роботи до друку. Співавтори професор надавали консультативну допомогу щодо дизайну публікації та її структури, редакційні правки висновків).

5. Айб НР, Лук'яненко НС, Кенс КА, Петріца НА, Волосянко АБ. Функціональний стан паренхіми нирок у дітей із дисметаболічною нефропатією. Art of Medicine. 2024;3(31):8-12. <https://art-of-medicine.ifnmu.edu.ua/index.php/aom/issue/view/31/43> (Здобувачкою проведено відбір хворих, клінічні та інструментальні обстеження, аналітичне опрацювання та статистичні обрахунки отриманих результатів, підготовка роботи до друку. Співавтори професор надавали консультативну допомогу щодо дизайну публікації та її структури, редакційні правки висновків).

Наукові праці, які засвідчують апробацію:

6. Айб НР, Гнатейко ОЗ, Лук'яненко НС. Епігенетичні чинники у патогенезі і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії з оксалато-кальцієвою кристалурією у дітей. м. Яремче. 2023, с. 2.
7. Глогусь ВС, Айб НР, Кенс КА, Лук'яненко НС. Сечокам'яна хвороба: генетичні та епігенетичні предиктори. Національна науково-практична конференція «Нефрологія, діаліз, трансплантація нирки: UP TO DATE» (14-15 листопада 2024 р., м. Чернівці). Чернівці: БДМУ, 2024. <https://www.bsmu.edu.ua/wp-content/uploads/2024/11/programa.pdf>

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

8. Айб НР. Етіологічні та патогенетичні чинники дисметаболічних нефропатій у дітей. Український медичний часопис. 2018; 1(123): 1-3. (огляд літератури) <https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.123.122314>

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів	16
Вступ	18
Розділ 1 Епігенетичні та генетичні фактори у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей (огляд літератури).....	29
1.1 Дизметаболічна нефропатія у дітей. Роль генетичних факторів і недиференційованої дисплазії сполучної тканини у її реалізації	29
1.2 Тканинна гіпоксія паренхіми нирок, перекисне окислення ліпідів і процеси мембранодеструкції нефротелію, як епігенетичні маркери у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.....	41
1.3 Особливості фосфорно-кальцієвого обміну при дизметаболічній нефропатії у дітей.....	49
1.4 Особливості функціонального стану паренхіми нирок при ниркових захворюваннях у дітей та роль епігенетичних та генетичних факторів у його порушенні.....	52
1.5 Молекулярно-генетичні маркери схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей та роль «генів-кандидатів» і «генів-модифікаторів» у її формуванні.....	56
Розділ 2 Обсяг та методи дослідження	62
2.1 Об'єкт, предмет та обсяг досліджень.....	62
2.2 Методи дослідження.....	63
2.3 Статистичні методи	79
Розділ 3 Результати клініко-генетичного обстеження дітей з дизметаболічною нефропатією.....	83
3.1 Аналіз даних анамнезу життя та стану здоров'я дітей з різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії.....	83
3.2 Епігенетичні фактори у патогенезі дизметаболічної нефропатії у	

обстежених дітей.....	90
3.3 Аналіз даних генеалогічного анамнезу дітей з різною важкістю перебігу дизметаболічної нефропатії.....	100
Розділ 4 Дослідження деяких епігенетичних та молекулярно-генетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей	110
4.1 Лабораторна верифікація клінічного діагнозу дизметаболічної нефропатії у обстежених дітей	110
4.2 Дослідження епігенетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей.....	114
4.2.1 Дослідження вмісту оксипроліну у крові та добові сечі, як маркера недиференційованої дисплазії сполучної тканини в дітей з дизметаболічною нефропатією	114
4.2.2 Дослідження деяких показників обміну кальцію та фосфору, як епігенетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей.....	117
4.2.3 Дослідження деяких показників тканинної гіпоксії, активності перекисного окислення ліпідів, антиоксидантного захисту і процесу мембранодеструкції ниркового епітелію, як епігенетичних маркерів схильності дітей до дизметаболічної нефропатії.....	122
4.2.4 Дослідження функціонального стану паренхіми нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією	129
4.3 Дослідження частоти поліморфних локусів TaqI і Aра I гена <i>VDR-3</i> та делеційних локусів генів <i>GSTM1 0</i> і <i>GSTT1 0</i> (глутатіон-S-трансфераз) у генотипі дітей з дизметаболічною нефропатією.....	134
4.3.1 Результати молекулярно-генетичного дослідження особливостей поліморфних локусів TaqI та Aра I гена <i>VDR-3</i> у дітей з дизметаболічною нефропатією.....	136
4.3.2 Дослідження частоти поліморфних делеційних локусів генів <i>GSTM1</i> і <i>GSTT1</i> (глутатіон-S-трансфераз) у генотипі дітей з дизметаболічною нефропатією	143
Розділ 5 Аналіз і узагальнення результатів досліджень	147
Висновки	191

Практичні рекомендації.....	195
Перелік джерел посилення	198
Додаток А СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	221
Додаток Б ІНДИВІДУАЛЬНА ТЕМАТИЧНА КАРТА №_____ обстеження дитини з захворюванням сечовидільної системи	223
Додаток В Таблиці до Розділу 3	227
Додаток Д Таблиці до розділу 4	230

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АКЗС – антикристалоутворююча здатність сечі;
АТФ – аденозинтрифосфорна кислота
ГАГи – глікозоаміноглікани;
ДК – дієнові кон'югати;
ДН – дизметаболічна нефропатія;
ДСТ – дисплазія сполучної тканини;
ЗД – здорові діти
К – каталаза;
Кр – креатинін;
МДА – малоновий діальдегід;
НДСТ – недиференційована дисплазія сполучної тканини;
Ок - оксипролін
ОСС – органи сечовивідної системи;
ПЛ – полярні ліпіди;
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;
Пн – післонефрит;
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів;
ПТ – паратиреоїдний гормон;
СНДСТ - синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини
УДН – ускладнена дизметаболічна нефропатія
УЗД – ультразвукове дослідження;
ЧМС – чашечко-мискова система;
HWE - Hardy-Weinberg equilibrium: рівновага Харді-Вайнберга
Са – кальцій;
Р – фосфор;
OR (odds ratio) – коефіцієнт відношення шансів
Taq I гена *VDR3* - поліморфний локус гена *VDR3*;

ApaI гена VDR3 - поліморфний локус поліморфного локусу ApaI гена VDR3

M – середнє арифметичне значення показника

m – похибка середнього арифметичного значення показника

n – кількість обстежених дітей

p – вірогідність різниці між параметрами, що вивчались у дітей з дизметаболічною нефропатією та контрольної групи

p_1 – вірогідність різниці між даними дітей двох основних груп

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Дизметаболічна нефропатія є однією з найбільш розповсюджених патологій серед дитячих нефрологічних захворювань, займаючи провідне місце за поширеністю, частотою звернень за медичною допомогою та госпіталізацій до стаціонару. Так, на неї страждає 8–15% населення Європи і Північної Америки. Рівень поширеності дисметаболічних нефропатій в Україні по регіонах становить від 21% дитячої популяції в східних областях до 31,4% в центральних областях [201]. Крім того, в якості супутнього діагнозу дизметаболічна нефропатія діагностується у 34% дітей, госпіталізованих у відділення нефрології. До 94% всіх дисметаболічних нефропатій – це оксалатні нефропатії, що супроводжуються оксалатно-кальцієвою кристалурією [52].

В основі дизметаболічної нефропатії лежать порушення обміну речовин, внаслідок чого виникає кристалурія, що спричиняє функціональні та структурні зміни на рівні різних елементів нефрону та паренхіми нирок. Не дивлячись на пильну увагу науковців до дизметаболічної нефропатії у дітей, патогенез цих порушень, залишається дедалі недостатньо вивченим.

До 90% дисметаболічних нефропатій успадковуються за полігенним типом, розвиток яких детермінується взаємодією спадкових факторів та факторів зовнішнього середовища [56, 64-6].

Природжені дефекти колагеноутворення є преморбідним фоном для розвитку патологій нирок і сечовивідних шляхів, зумовлюючи важкий перебіг будь-якого захворювання та розвиток резистентності до терапії [18-19]. Синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ) є доволі розповсюджений у популяції (35,0-70,0% дитячого населення за даними різних авторів) та яскравим клінічним проявом аномалій колагену [25]. У хворих з проявами синдрому НДСТ, поширеність якого варіює від 9,0% до 80,0%, зазвичай спостерігається поступове погіршення стану при будь-якому захворюванні та стійкість до стандартного лікування [68, 85-86]. Водночас,

особливе занепокоєння викликає значне збільшення кількості осіб з диспластичним фенотипом, що ймовірно зумовлено впливом нових мутагенних факторів соціального, техногенного та екологічного характеру, які сприяють збільшенню так званого «генетичного вантажу» [1-2, 12].

Окрім значної кількості захворювань, що зазвичай обумовлені генними дефектами, доволі часто спостерігаються вроджені аномалії сполучної тканини (СТ) мультифакторного походження [93, 96-97, 102].

Незважаючи на успіхи дитячої нефрології, недостатньо висвітленими залишаються питання ролі генетичних та епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії, значення порушення фібрилогенезу, як генетичної основи синдрому НДСТ в дітей, встановлення причинно-наслідкових зв'язків та важкості перебігу дизметаболічної нефропатії на її фоні. Усе ще залишається нез'ясованим, які гени задіяні у реалізації ДН та їх ролі у маніфестації та важкості перебігу дизметаболічної нефропатії.

Не з'ясована роль тканинної гіпоксії, процесів ПОЛ та мембрано деструкції нефротелію у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей. Недостатньо висвітлені у літературі і питання комплексного дослідження фосфорно-кальцієвого обміну та активності гормонів, що регулюють фосфорно-кальцієвий обмін при дизметаболічній нефропатії у дітей. Повідомлення про функціональний стан паренхіми нирок у дітей при дизметаболічній нефропатії у доступній літературі поодинокі і результати їх неоднозначні [101, 105, 112]. Не запропоновані достовірні маркери діагностики та прогнозування формування і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії в дитини, маркери, які би дозволили віднести дитину до «групи високого ризику» маніфестації даного захворювання та маркери, асоційовані із підвищеною схильністю дітей до формування в неї дизметаболічної нефропатії. Варто відзначити, що відсутні літературні дані щодо дослідження молекулярно-генетичних маркерів, пов'язаних із схильністю до розвитку дизметаболічної нефропатії. Однак, саме ці маркери є ключовими для персоніфікованої профілактики, ранньої діагностики та

оптимізації лікування дітей із високим ризиком розвитку цього захворювання та тяжким його перебігом.

Ураховуючи сказане вище, проблема визначення ролі генетичних і епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей залишається актуальною. Послідовні ланки її патогенезу досі не встановлено, що підкреслює необхідність розробки нових достовірних діагностичних і прогностичних маркерів, які б допомогли оцінити схильність до тяжчого перебігу патології. Дослідження цих факторів, їхнього впливу на порушення фібрилогенезу та створення інноваційних діагностично-прогностичних підходів є важливим завданням, яке відповідає сучасним напрямкам розвитку педіатрії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідної роботи ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» «Пошук маркерів ранньої діагностики та диференціальної діагностики природжених вад розвитку, асоційованих із недиференційованою дисплазією сполучної тканини» (№ держреєстрації 0114U001549) та в межах науково-дослідної роботи Івано-Франківського національного медичного університету «Особливості психосоматичної адаптації у дітей із хронічною соматичною патологією» (№ держреєстрації 0112U004423), терміни виконання 2012-2021; «Стан здоров'я та особливості адаптації дітей Прикарпаття із соматичними захворюваннями, їх профілактика» (№ держреєстрації 0121U111129), терміни виконання 2021-2026. У рамках НДР здобувачка виконувала окремий фрагмент досліджень, що відображено в планах і наукових звітах.

Мета дослідження: підвищити ефективність профілактики, ранньої діагностики та прогнозування маніфестації і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей шляхом уточнення генетичних та епігенетичних факторів у її патогенезі.

Задачі дослідження:

1. Провести порівняльний аналіз даних анамнезу життя, клінічного

стану та генеалогічного анамнезу у дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією, які проживають у Івано-Франківській області.

2. Встановити епігенетичні антенатальні і постнатальні фактори, що ініціювали розвиток дизметаболічної нефропатії у дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією, які проживають у Івано-Франківській області.

3. Дослідити маркери недиференційованої дисплазії сполучної тканини, тканинної гіпоксії та порушення фосфорно-кальцієвого обміну у дітей з різним характером перебігу дизметаболічної нефропатії та встановити роль цих процесів у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

4. Встановити стан процесів перекисного окислення ліпідів, системи антиоксидантного захисту та маркерів мембранодеструкції у дітей з різним характером перебігу дизметаболічної нефропатії та їх роль у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

5. Визначити функціональний стан паренхіми нирок і ступінь процесу її склерозування у дітей з різним характером перебігу дизметаболічної нефропатії.

6. Оцінити вплив особливостей поліморфних локусів TaqI та Ara I гена *VDR-3* на схильність дітей до реалізації дизметаболічної нефропатії і більш важчого її перебігу та з'ясувати асоціативний зв'язок поліморфних делеційних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансфераз) з маніфестацією дизметаболічної нефропатії.

Об'єкт дослідження: дизметаболічна нефропатія з оксалатно-кальцієвою кристалурією у дітей.

Предмет дослідження: епігенетичні та генетичні маркери формування дизметаболічної нефропатії та її маніфестації у дітей, біохімічні маркери, що відображають послідовні ланки патогенезу різних за важкістю перебігу варіантів дизметаболічної нефропатії, особливості поліморфних локусів TaqI та Ara I гена *VDR-3*, поліморфізм делеційних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1*

(глутатіон-S-трансфераз).

Методи дослідження: загально-клінічний, генеалогічний, ультразвуковий, біохімічний (добова екскреція оксалатів, неорганічних фосфатів, сечової кислоти та тест на антикристалутворюючу здатність сечі до оксалатів, фосфатів і трипельфосфатів, визначення вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в сироватці крові та вмісту оксипроліну в сечі, тест на кальцифілаксію, кількість дієнових кон'югатів у плазмі крові, вміст малонового діальдегіду у плазмі крові та еритроцитних мембранах, тести на наявність сумарних продуктів реакції перекисного окислення ліпідів та полярних ліпідів у добовій сечі, встановлення активності каталази у сироватці крові та сечі, тести уринолізису (екскреція неорганічних фосфатів, протеїнурія, гіпераміноацидурія, екскреція редукованих цукрів – мальтози, сахарози, фруктози (за пробою Бенедикта) і нерукованих цукрів, зокрема глюкози (за пробою Гайнеса), екскреція кальцію (за пробою Сулковича), екскреції креатиніну і глікозаміногліканів з добовою сечею, фотометричний аналіз (рівень кальцію та фосфору в крові та сечі), імунорадіометричний аналіз (активність паратгормону та кальцитоніну), молекулярно-генетичний методом поліморфізму довжин рестриктивних фрагментів (дослідження алельного поліморфізму поліморфних локусів Taq I та ApaI гена рецептора вітаміна D3 (*VDR-3*) та генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази)), медико-статистичний аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів: дана робота є першим вітчизняним дослідженням, присвяченим вивченню ролі генетичних та епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та умов її маніфестації і важкого перебігу у дітей старшого віку.

Уперше представлений консолідований інтегрований підхід до встановлення послідовних ланок патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей з визначеним генетичним фоном і під впливом встановлених негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід антенатально, а в подальшому, на дитину і постнатально.

Підтверджено гіпотезу, що численні анте- та постнатальні епігенетичні фактори грають провідну роль у ініціюванні дизметаболії в дітей.

Комплексно вивчені і встановлені антенатальні та постнатальні епігенетичні фактори ризику, які в силу адитивного ефекту спричинили формування в дітей синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, що став підґрунтям для формування дизметаболічної нефропатії у дітей і зумовив їх схильність до більш важчого її перебігу.

Показано, що найбільш значущими антенатальними епігенетичними факторами, які впливали на плід, а в постнатальному періоді зумовили більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії, виявились: загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом і шумом та важка фізична праця, що призводять до гіпоксії плода. Провідними постнатальними епігенетичними факторами, які зумовили не тільки прояву, але й більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії виявились: низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ, atopічний діатез та фізіологічна жовтяниця, а в подальшому житті - наявність супутніх захворювань, таких як хронічний тонзиліт, карієс зубів, часті ГРЗ, хронічний гастрит, atopія та хронічний холецистит, що викликало відставання значної кількості дітей з важчим перебігом дизметаболічної нефропатії у фізичному розвитку.

Науково обґрунтовано, апробовано та підтверджено можливість діагностики патологічних станів, які є відображенням послідовних ланок патогенезу дизметаболічної нефропатії за допомогою комплексу біохімічних маркерів, що характеризують наявність синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, тканинної гіпоксії, стан фосфорно-кальцієвого обміну і активність гормонів, що його регулюють, інтенсивність процесу перекисного окислення ліпідів і ступень антиоксидантного захисту організму, функціональний стан нирок за гломерулярною і тубулярною парціальними

функціями, ступінь склерозування паренхіми нирок. Встановлено, що зміни вмісту вивчених показників характеризують послідовні ланки патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей і пропорційні важкості її перебігу, що визначає їх як додаткові високоінформативні діагностичні критерії.

Встановлено, що ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у другої дитини в сім'ї, де вже є хвора дитина за моделлю G. Edward's та G. Smith's є дуже високим – до 50%. Цей ризик стає в 3,5 раза більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс.

Встановлений коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії за моделлю D. Falconer, який вичився дуже високим для родичів I ступеню спорідненості - до 22%, для родичів II ступеню - 20,9%. Показано, що ймовірність мати дизметаболічну нефропатію для дитини, яка має обтяжений генетичний анамнез за обмінною патологією за моделлю D. Falconer збільшується в 3,5 – 5 разів.

Встановлено, що генетичними факторами реалізації дизметаболічної нефропатії є носійство гетерозиготного генотипу поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* Tt, який достовірно асоціюється із з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує ризик її виникнення у дитини у 2,66 разів, а ризик захворіти ускладненим її варіантом збільшує в 2,83 раза.

Доведено, що носійство дитиною гетерозиготного генотипу поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* AA достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує ризик її виникнення в 5,69 раза, збільшуючи ризик виникнення її важчого перебігу у 7,68 раза.

Показано, що ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA.

Визначено, що ген *VDR3* є геном-кандидатом у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

Встановлено, що носійство делеційних алелів генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 у генотипі дитини достовірно асоціюються зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії. Одночасна наявність у генотипі дитини двох

делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 не тільки достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і збільшує ризик її виникнення у 4,73 рази.

Визначено делеційні алелі гену *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 як генів-модифікаторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

Доведено, що носійство гомозиготного генотипу TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і гетерозиготного - Aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* асоціюються із відсутності дизметаболічної нефропатії у дитини, а, отже, володіє протекторними властивостями відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію

Практичне значення одержаних результатів: на підставі отриманих даних встановлені специфічні епігенетичні та генетичні фактори, які стали індукторами формування в дітей синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, наявність якого зіграла провідну роль у маніфестації дизметаболічної нефропатії та важкості її перебігу в дітей, при наявності яких в анамнезі дитини можна спрогнозувати маніфестацію, патологічні прояви і важкість перебігу дизметаболічної нефропатії.

Запропоновано і обґрунтовано комплекс простих, доступних і недороговартісних діагностичних маркерів патологічних процесів в організмі, що виникають при дизметаболічній нефропатії, які дають можливість не тільки довести їх наявність у дитини, але й спрогнозувати важкість перебігу у неї дизметаболічної нефропатії.

Встановлено, що показники оксипроліну в сечі, добової екскреції солей, антикристалутворюючої здатності сечі, рівень кальцію та фосфору в сечі і крові, активність паратгормону в крові, вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею, тести на гіпераміноацидурию, глюкозурию, мікропротеїнурию, рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів з сечею є відображенням послідовних патологічних процесів, що розвиваються в організмі дитини при дизметаболічній нефропатії, а також є

високоінформативними та чутливими маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

Доведено, що показники вмісту оксипроліну в крові, екскреції оксипроліну з сечею, екскреції полярних ліпідів з сечею, показники малонового діальдегіду в плазмі і еритроцитах, екскреції сумарних продуктів ПОЛ з сечею, активності каталази в сечі, тести на кальціурію, глюкозурію, рівень креатинурії, екскреції ГАГів з сечею є чутливими прогностичними маркерами більш важчого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

Розроблено практичні рекомендації щодо консультування сімей з обтяженим за метаболічною патологією генеалогічним анамнезом, які складаються з трьох класичних етапів (на рівні сімейних лікарів, районного чи обласного стаціонару та медико-генетичних кабінетів) і можуть бути використані в якості доповнення до нормативних документів на різних організаційних рівнях та в роботі педіатричної служби, що підвищить ефективність заходів, скерованих на попередження прогресування дизметаболічної нефропатії у дітей.

Впровадження результатів дослідження у практику: результати досліджень впроваджені в практику роботи КНП «Бродівська ЦМЛ» міська лікарня (30.10.2024 року). Також результати роботи введено у лікувально-діагностичний процес кафедри педіатрії Івано-Франківського національного медичного університету (09.10.2024 року), ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» (затв. 14.10.2024 року).

Особистий внесок здобувача: є основним, дисертація є самостійною науковою роботою автора. Дисертант особисто здійснив патентно-інформаційний пошук, пошук та аналіз джерел наукової світової й вітчизняної літератури за темою роботи. Автором визначена мета, задачі, методи й обсяг досліджень. Самостійно розроблено карту для внесення клініко-діагностичних даних кожного пацієнта, особисто здійснено відбір груп, їх комплексне обстеження, збір та ведення первинної документації. Здобувач брала участь у проведенні параклінічних та інструментальних дослідженнях і особисто

аналізував їх результати. Автор створив комп'ютерну базу даних пацієнтів та провів статистичний аналіз та узагальнення одержаних результатів, написав основні розділи дисертації, висновки та практичні рекомендації. Дисертант запропонував нові підходи до діагностики основних патологічних станів в організмі дитини, які відображають послідовні ланки патогенезу дизметаболічної нефропатії і сформулював практичні рекомендації для педіатрів та дитячих нефрологів щодо прогнозування схильності дітей до дизметаболічної нефропатії і до її важкого перебігу. Дисертантом обґрунтована та розроблена схема обстеження хворих із дизметаболічною нефропатією, забезпечено впровадження її у клінічну практику. Оформлення дисертаційної роботи, автореферату і наукових статей здійснено дисертантом самостійно. Робота виконана в межах комплексних науково-дослідних робіт, в яких здобувач був співвиконавцем наукових фрагментів. У публікаціях, які видані сумісно зі співавторами, основні ідеї та участь здобувача була визначальною. Автор брав активну участь у представленні результатів роботи в матеріалах конференцій та доповідях.

Апробація результатів дисертації: основні положення і результати досліджень обговорені на національних науково-практичних конференціях, зокрема: епігенетичні чинники у патогенезі і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії з оксалато-кальцієвою кристалурією у дітей. м. Яремче, науково-практична конференція «Нефрологія, діаліз, трансплантація нирки: UP TO DATE» м. Київ.

Публікації: за темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, із них 1 стаття, яка індексується у міжнародній науко - метричній базі Scopus, 4 статті опубліковано у наукових фахових виданнях, які рекомендовані ДАК МОН України для публікації результатів дисертаційних робіт, і оглядова стаття, 2 тези в матеріалах з'їздів, конгресів і конференцій.

Структура та обсяг дисертації: дисертація викладена на 242 сторінках машинописного тексту (із них основного тексту 168 сторінок), складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», двох

розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних 221 джерело (55 – кирилицею і 166 – латиною) та додатків. Роботу ілюстровано 46 таблицями та 13 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ЕПІГЕНЕТИЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ У ПАТОГЕНЕЗІ ДИЗМЕТАБОЛІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Незважаючи на значний прогрес людства у діагностиці, лікуванні та профілактиці захворювань дитячого населення, відмічається стійке зростання частоти метаболічних (обмінних) захворювань нирок у дітей з несприятливим перебігом, що нерідко ускладнюється інтерстиціальним нефритом, уро- та нефролітіазом і хронічною хворобою нирок. Залишаються остаточно нез'ясовані питання етіології та патогенезу, впливу коморбідних станів на виникнення та перебіг дизметаболічних нефропатій, їх ранньої діагностики, профілактики та персоніфікованого лікування.

1.1 Дизметаболічна нефропатія у дітей. Роль генетичних факторів і недиференційованої дисплазії сполучної тканини у її реалізації

За останні десятиліття відмічається зростання кількості випадків захворювань нирок, як серед дорослого, так і серед дитячого населення [4]. Варто відмітити, що, незважаючи на різну варіабельність епідеміологічних даних серед дослідників з України, США, Великої Британії, Тайваню та інших країн світу, в залежності від географії, віку та статі, спостерігається збереження тенденції до зростання захворюваності сечокам'яною хворобою (СКХ), в основі якої лежать патомеханізми, що подібні до дизметаболічної нефропатії (ДМН) [7-8, 17, 57, 67]. Поширеність уролітіазу в дитячій популяції у період з 2005 по 2016 роки становить, орієнтовно, 65 випадків на 100 тис. дитячого населення; що значно вище в порівнянні з 1999 роком, коли відмічалось 18 випадків на 100 тис. населення [29, 61, 74, 77, 81]. Спостерігається зростання частоти госпіталізації у дітей зі сечокам'яною хворобою з 125 (1999 р.) до 1389 (2008 р.), що корелює зі зростанням уролітіазу серед дитячого населення та може вказувати на зростання

несприятливого перебігу захворювання [89, 99].

Середній вік дітей, при якому діагностується СКХ, становить 4,4-7,5 років, а найбільш діагностована "когорта" дітей - віком 12-14 років, яка становить близько 68-72%. Така кількість випадків уролітіазу в дітей вказує про роль спадкових чинників або виникнення спонтанних мутацій під час ембріогенезу під впливом різних екзо- та ендогених факторів, які, в подальшому - впливають на формування кристалоурії [109-110, 114]. Відповідно, представлені в літературі дані відображають високу імовірність трансформації дизметаболічної нефропатії в уролітіаз вже у дитячому віці та вказують на потребу додаткових досліджень, а саме щодо ролі спадкових чинників, екзо- та ендогених факторів у формуванні обмінних нефропатій, особливо - під час ембріогенезу, що в подальшому дозволить вдосконалити ранню діагностику, диспансерний нагляд, та вчасну їх профілактику, як у дітей так і серед дорослого населення [117, 122].

Варто наголосити, що досі залишається дискусійним питання термінології дизметаболічної нефропатії [120, 124-125]. В Україні найчастіше послуговуються терміном "дизметаболічна нефропатія". Проте в міжнародних класифікаціях хвороб МКХ-10 та МКХ-11 (10-го та 11-го переглядів) виділяють певні (окремі) стани, які супроводжуються уро- та нефролітіазом. В таблиці наведені рубрики, які рекомендуються найчастіше використовувати при діагностиці обмінної нефропатії (табл. 1.1) [13-16].

У вітчизняній практиці найчастіше послуговуються класифікацією дизметаболічних нефропатій від 1985 року (табл. 1.2).

Відомо, що саме вторинні дизметаболічні нефропатії (ДМН) домінують серед дітей, а первинні зустрічаються рідко, проте, вони характеризується агресивним та несприятливим перебігом.

У сучасних дослідженнях є дані, що вказують на окрему групу ДМН, що спостерігається у дітей на фоні самостійного захворювання сечової системи, який характеризується вторинним процесом ураження мембран клітин.

Таблиця 1.1

Захворювання, які можуть супроводжуватися уро- та нефролітіазом, що відображені в МКХ-10 та МКХ-11

Рубрика	МКХ-10		МКХ-11	
	Код	Нозологія	Код	Нозологія
1	2	3	4	5
Хвороби	N 11.9	Хронічний тубулоінтерстиціальний нефрит неуточнений	GB55	Хронічний тубулоінтерстиціальний нефрит
	N 15.8	Інші уточнені тубулоінтерстиціальні хвороби нирок	GB5Y	Інші уточнені тубулоінтерстиціальні хвороби нирок
	N 16.3	Тубулоінтерстиціальне ураження нирок при порушенні обміну речовин	GB5Z	Тубулоінтерстиціальне ураження нирок, неуточнене
	N 20	Сечокам'яна хвороба	GB70.Z	Камінь верхніх сечових шляхів, неуточнений
	N 25	Порушення внаслідок дисфункції каналців нирки	GB90.4 Z	Дизфункція ниркових каналців, неуточнена
Порушення обміну речовин, ендокринні захворювання	E 74.8	Інші уточнені порушення вуглеводного обміну оксалозоксалурія	5C51.Z	Вроджені вади вуглеводного обміну, неуточнені
	E 79.0	Гіперурикемія (безсимптомна) Інші порушення обміну пуринів	5C55.Y	Інші уточнені вроджені порушення метаболізму пуринів, піримідинів або нуклеотидів
	E 83.5	Порушення обміну кальцію - ідіопатична гіперкальціурія	5C64.5	Порушення обміну кальцію
	E 83.8	Інші порушення мінерального обміну	5C64.Z	Порушення всмоктування та транспортування мінералів, неуточнені
Відхилення від норми, виявлені при дослідженні сечі, якщо діагноз хвороби не встановлено	R 82.9	Інші неуточнені	MF9Y	Інші уточнені клінічні прояви при дослідженні сечі без діагнозу

Таблиця 1.2

Класифікація дизметаболических нефропатій

Етіологія	За типом сольового осаду	Фази патологічного процесу
Первинні Вторинні	Оксалатні Фосфатні Уратні Змішані	Доклінічна Клінічна Нефролітіаз

Патогенез ураження може бути зумовлений процесами окислення з порушенням антиоксидантного захисту, активацію моноамінооксидаз та фосфоліпаз, що викликає порушення обміну фосфоліпідів клітинної мембрани та, в подальшому - її нестабільність [3, 6-7, 29, 148, 91, 133, 135, 153]. Враховуючи вище наведене, наявна класифікація ДМН потребує розширення та вдосконалення.

Метаболічні порушення, як причина виникнення кристалів у сечі, становлять до 34%, інфекційні - 22% та 44% є ідіопатичними, що відображено у таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Класифікація кристалів сечових солей за етіологією

Кристали неінфекційного генезу		
Кальцію оксалат	Кальцію фосфат	Сечова кислота Урат амонію*
Кристали, що спричинені інфекціями		
Ортофосфат амонію-магнію (струвит)	Висококарбонатний апатит	Урат амонію
Генетично детерміновані кристали		
Цистинові	Ксантинові	2,8-дигідрокси-аденін
Камені, що спричинені метаболізмом ліків		

Примітка:* Серед дитячого населення у країнах, що розвиваються; у пацієнтів з анорексією та/або які зловживають проносними засобами

Основними метаболічними порушеннями, які спостерігаються при цьому, є: гіперкальціурія (52%), гіпероксалатурія (21%), цистинурія (22%), порушення пуринового обміну - 2% та інші. Найбільш поширеним варіантом, серед гіперкальціурій у дітей, є ідіопатична форма (підвищений рівень солей кальцію у сечі при нормальному показнику кальцію у крові) [22].

Оксалатна нефропатія характеризується ураженням каналців нирок шляхом накопичення солей щавлевої кислоти, що призводить до гострого чи хронічного тубулоінтерстиціального нефриту або фіброзу [100, 104]. Надмірне споживання оксалатів з їжею, або підвищене всмоктування їх у кишківнику може призвести до вторинної гіпероксалатурії. Вторинна гіпероксалатурія спостерігається при запальних захворюваннях кишечника, синдромі короткої кишки, муковісцидозі, целиакії тощо – при яких зростає абсорбція солей щавлевої кислоти в тонкому кишківнику за рахунок покращення їх біодоступності, що виникає через порушення всмоктування ліпідів [127]. Варто відмітити, що, навіть незначне підвищення вмісту оксалатів у сечі збільшує ризик формування ниркових каменів [141].

У ряді досліджень встановлено зв'язок виділення оксалатів з сечею та уролітазу з факторами ризику несприятливого прогнозу перебігу оксалатної нефропатії, що асоціюється з розвитком хронічної хвороби нирок [143-144, 146, 158]. Наявність високого рівня сечової кислоти у сечі спостерігається у дітей з вродженими вадами пуринового обміну або у тих, хто проходить лікування з приводу лімфом та лейкозів. Відомо, що кислотність сечі нижче рівня pH 5,5 підвищує кристалізацію сечової кислоти [150].

Згідно з рекомендаціями Європейської асоціації нефрологів, до оцінки ризику у пацієнтів з уролітазом варто підходити комплексно, беручи до уваги не лише ймовірність рецидиву, а також ризик розвитку хронічної хвороби нирок, синдрому мінеральних та кісткових порушень. Сечокам'яна хвороба, як модифікований фактор хронізації ниркових захворювань, потребує діагностики та обов'язкового лікування [152, 167-168]. National Kidney FoundationK/DOQI вважає одним із ризиків розвитку хронічної хвороби нирок незворотні ураження системи каналців та інтерстицію нирок внаслідок метаболічних порушень, включаючи нефролітиаз [5, 69, 82].

Особливістю дизметаболічної нефропатії є асептичне ураження в ділянці тубулоінтерстицію з тривалим впливом на ниркову паренхіму кристалів сечових солей [60, 79] та сечовий синдром, що виникає внаслідок

порушення функції канальців, при якому відмічається стійка, повільно прогресуюча мікропротеїнурія з транзиторною гематурією. З прогресуванням захворювання, спостерігається порушення процесів концентрації, реабсорбції та секреції в канальцях нирок, які вказують на ознаки вторинної тубулопатії, внаслідок чого відмічається погіршення водно-електролітного та кислотно-лужного гомеостазу, що є основною функцією канальців нирок [73, 98].

В залежності від обмінного порушення, що супроводжується дисфункцією канальців нирок, відмічаються зниження діурезу, зміна питомої густини (часто - ізостенурія) та кислотності сечі, кальціурія, глюкозурія, уратурія, аміноацидурія, різні варіанти кристалурії, ферментурія (гамма-глутамілтрансфераза, лактатдегідрогеназа, лужна фосфатаза, фосфоліпази А та С), підвищення рівня глікозамінгліканів та фібриногену [38, 95, 217].

Відповідно, процеси кристалоутворення при ДМН є аналогічними до механізмів виникнення неінфекційних каменів при уrolітазі. Враховуючи наявну подібність вище описаних механізмів при різних варіантах обмінних нефропатій, варто було б зупинитися на актуальних дослідженнях з патофізіології уrolітіазу та встановити певні зв'язки з ДМН.

На даний час відомо, що формування каменів у сечі є мультифакторним процесом, на який впливають екзогенні та ендогенні фактори. До екзогенних можна віднести такі фактори: кліматичні (вологість повітря, інсоляція, температура навколишнього середовища), екологічні (якість та склад питної води та ґрунту), особливості та якості харчування, фізична активність та ліки. До ендогенних факторів відносяться генетично-детерміновані захворювання, які можна розділити на три форми: моногенетичні (цистинурія типів А, В та АС, синдром Леша-Ніхана, первинний тубулярний ацидоз та інші), полігенні мультифакторні (ідіопатичний кальцій-оксалатний уrolітіаз полігенної форми, що асоційований з цукровим діабетом, артеріальною гіпертензією та нирковою недостатністю) [156], ендокринні захворювання (гіперпаратиріоз, метаболічний синдром), порушення мінерального обміну кісток, підвищений рівень вітаміну D, захворювання шлунково-кишкового тракту (хвороба Крона,

синдром мальабсорбції, резекція тонкого кишківника, бариатрична хірургія), саркоїдоз; у дітей особливу увагу привертають: сечо-міхуровий рефлюкс, стриктура пієлоуретерального сегменту, нейрогенний сечовий міхур та інші порушення сечовипускання [23, 30, 118, 145, 161].

Coe FL et al. (2013) виділяють три різні варіанти формування літогенезу. В першому випадку Ренделлові бляшки накопичуються в інтерстиції ниркових сосочків [81].

Другий шлях базується на утворенні кристалів у ниркових каналцях в комбінації із запаленням, фіброзом та, як наслідок, пошкодженням каналців з втратою їхньої функціональної здатності. Цей варіант літогенезу є лідером в спричиненні хронічної хвороби нирок. [87, 104, 128].

За третім варіантом - відбувається незалежна кристалізація у біологічній рідині, що спричинена сатурацією сечі з конкремент-формуючою субстанцією, яка характеризується поганою розчинністю [149, 164].

Преморбідним фоном для процесу кристалоутворення є суперсатурація сечі та зміни концентрації водневих іонів, і це є спільним для дизметаболічної нефропатії та уролітіазу [169].

Інший фактор, що впливає на виникнення і інтенсивність літогенезу, є кислотність сечі (Ph). Виявлено, що розчиність сечової кислоти та оксалатів у сечі - знижується, якщо показник Ph стає нище 6,0, проте для кальцій фосфату - навпаки, вище 6,0 [178].

Важливим аспектом дизметаболічної нефропатії у педіатрії є акцентування на мультифакторному полігенному типі успадкування цієї патології, оскільки дана форма успадкування є найбільш поширеною серед дитячого та дорослого населення. Для полігенної форми уролітіазу, при дослідження родинних зв'язків, виявлено сімейне порушення обміну кальцію. Для цієї форми є характерним утворення кальційвмісних каменів у комбінації з оксалатом або фосфатом, що, в більшості випадків, пов'язане з одним або декількома специфічними метаболічними факторами ризику: гіпоцитратурією, гіпоцитратурією, гіперкальціурією, гіперфосфатурією,

гіперурикозурією, зниженим діурезом та/або порушенням сечовипускання, зниженням Ph сечі.

Ідіопатичний кальцієво-оксалатний уролітіаз, виникає внаслідок комбінації факторів: навколишнього середовища, соціально-економічного статусу, особливостей харчування, а саме від кількості споживання солі, білка, кальцію та рідини, а також від генетично детермінованих факторів. Було виявлено підвищений рівень білка рецептора *VDR* у кишечнику, кістках та нирках, в моноцитах периферичної крові деяких пацієнтів з ідіопатичною гіперкальціурією [49].

Варто відзначити, що на даний час виявлено мутації в орієнтовно 30 генах, при яких кристалоурія є первинним та основним симптомом захворювання: ці дані наявні в генетичному каталозі McKusick On-Line Mendelian Inheritance Map (OMIM), включно з хворобами, що супроводжуються уремією та нефролітіазом. Гени-кандидати при ідіопатичній гіперкальціурії та сечокам'яній хворобі за даними літератури: *CLDN19*, *NPT2a/SLC34A1*, *NPT2c/SLC34A3*, *SAC*, *CLCN5*.

Останнім часом з'являється все більше даних, які вказують на важливість ролі РНК у епігенетичних процесах, а саме - малих регуляторних РНК (мікроРНК) в клітині [196].

МікроРНК кодуються специфічними генами та знаходяться у «фрагільних (ламких) сайтах» хромосом (FRA), де часто виникають точкові розриви, делеції, транслокації, інсерції, ампліфікації, транспозиції. і, таким чином - дані гени є вразливою ланкою у формуванні мутаторного фенотипу [205, 206, 220]. Численні дослідження показали, що мікроРНК є одним з регуляторів експресії білків [136, 147], стимулюючи вироблення позаклітинного матриксу шляхом впливу на сигнальний шлях TGF- β_1 [188, 199]. miR-145, miR-192 і miR-200a [157, 173, 179, 182] та можуть впливати на розвиток та перебіг гострої та хронічної хвороби нирок [154, 190].

Було виявлено, що miR-382 та miR-21, сприяють формуванню інтерстиціального фіброзу нирок [113]. Відомо про вплив мікроРНК на

розвиток та перебіг гострої та хронічної хвороби нирок [189].

Незважаючи на велику кількість досліджень, встановити генетичний та епігенетичний вплив на кристалоутворення у сечі є складно через багатофакторний механізм виникнення, зокрема це стосується кальція оксалатних каменів. Зачастую прослідковуються спадкові прояви, але їх генетичну основу складно ідентифікувати. Найбільш відомим захворюванням серед цієї групи є сімейна ідіопатична кальціурія [75].

Виділяють додатково моногенні захворювання, які можуть успадковуватися за аутосомно-домінантним чи рецесивним типом, або зчеплені з X-хромосою: їх частота становить 10% серед дитячого населення і 2% - серед дорослого [63, 78].

Незважаючи на велику кількість досліджень з приводу етіології та патогенезу літогенезу, особливо у дитячій популяції, дане питання й досі залишається актуальним через низку невстановлених фактів, що потребують подальшого вивчення.

Також, варто звернути увагу на неоднозначність порушень метаболізму, які виявляються при уролітазі та дизметаболічній нефропатії серед дитячого населення. Прослідковується варіабельність фізико-хімічних показників, що залежать від великої кількості чинників вищенаведених порушень, а саме: вік, характер пиття та харчування, коморбідність, тип метаболічних порушень і т.д., також це ускладнює вибір головних (провідних) показників для процесу каменеутворення [108].

Не корелюють зі стадією обмінних порушень і фізико-хімічні показники сечі, зокрема, зі стадією уролітіазу або ДМН та не є прогностичними у їх перебігу [107, 132]. Можна припустити, що вищенаведені закономірності виникають через поліетіологічність та складність патофізіологічних процесів, що зумовлені не лише фізико-хімічними особливостями сечі, а і певними змінами метаболізму, які відображають складні механізми гомеостазу та міжсистемну взаємодію. Враховуючи наведене вище, доцільно проводити дослідження обмінних порушень при ДМН не ізольовано, а з урахуванням

коморбідних станів.

На жаль, на даний час досі недостатньо досліджень, які б описували особливості ДМН у дітей в залежності від наявної супутньої патології. Згідно з дослідженням Tasian G. E. та співавторів, у дітей та підлітків з уролітіазом було виявлено близько 32 коморбідних станів, що становили близько 7% від всіх обстежених. З них найпоширенішими були: дисплазія нирок, муковісцидоз, запальні захворювання кишківника та цукровий діабет 1 типу, що асоційований з муковісцидозом [111]. Серед дорослого населення переважали такі інтеркурентні захворювання, як: артеріальна гіпертензія, ожиріння, цукровий діабет [183].

Відомо, що запальні захворювання кишківника пов'язують з підвищеним ризиком уролітіазу. Порушення мальабсорбції та мальдегестії збільшують ризики метаболічних порушень, що сприяють літогенезу, а саме: зниження об'єму сечі, зміна кислотності сечі, порушення виділення оксалатів, цитрату, іонів магнію та кальцію [139]. Цікавим фактом є вплив мікробіоти на формування ниркових каменів, зокрема, науковців найбільше цікавить *Oxalobacter formigenes* (*O. formigenes*), що бере важливу участь в розщепленні оксалатів в кишківнику [184]. У багатьох пацієнтів з уролітіазом було виявлено відсутність *O. Formigenes*, особливо після прийому антибіотиків. Є припущення, що у таких пацієнтів зростає абсорбція оксалату через зниження розщеплення його у кишківнику [185].

Багато дослідників ДМН дотримуються домінуючої думки щодо важливості ролі захворювань ШКТ, як супутньої патології при обмінних нефропатіях, проте патологічного впливу на метаболічні порушення при нефропатіях достеменно не з'ясовані [139].

Ряд досліджень вказують на важливий вплив дієти на процес літогенезу. Відомо, що на формування оксалатних каменів впливають такі особливості харчування, як високопротеїнова дієта (споживання більше 2г/кг/добу білка); надмірне споживання продуктів харчування з високим вмістом оксалатів (шпинат, бобові, ревінь, петрушка, листяні овочі та деякі фрукти); високі дози

вітаміну С (1 г/добу і більше), особливо у чоловіків [106, 212, 221]. При уратному літіазі важливе значення має споживання продуктів з високим вмістом пуринів: морепродукти, субпродукти (консерви, паштети, соуси та інші). При цистиїнурії важливе значення має достатній питний режим та обмеження споживання тваринного білка, який, при надмірному споживанні, знижує кислотність сечі, що спричиняє кристалізацію [200, 202]. Враховуючи наведене вище, важливими рекомендаціями при дизметаболических нефропатіях є формування раціональної та збалансованої дієти з урахуванням віку та особливостей метаболічних порушень зі зниженням або повним виключенням негативного впливу на тубулярний апарат нирок.

Важливим коморбідним станом, є дисплазія сполучної тканини (ДСТ). За даними певних досліджень, поширеність ДСТ у дітей з дизметаболическою нефропатією становить орієнтовно 46% [9, 15,]. Відомо, що у третини пацієнтів з ДСТ виявляють симптоми, що є характерними для ураження сечовидільної системи, а саме: полакіурія, ніктурія, енурез, відчуття неповного випорожнення під час сечопускання, кристалоурія [37, 46].

Зокрема, у поєднанні з ДСТ, були виявлені структурні зміни сечовидільної системи: подвоєння нирок та/або сечовивідних шляхів, нефроптоз, дивертикул сечового міхура, атонія чашково-мискового апарату нирки [163]. В ряді досліджень був виявлений зв'язок між фенотипічними проявами недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ) з нефроптозом та дистопією нирок [15], з дисплазією сечоводів та статевих органів [32], рефлюкс-нефропатією, дисплазією та гіпоплазією ниркової паренхіми [19, 42, 163]. Відомо, що на фенотип індивіда впливає не лише генотипові особливості, а і епігенетичні модифікації хроматину [131, 223].

Ураження верхніх сечових шляхів при генетичних дефектах сполучної тканини вважається порівнянним із поширеністю малих аномалій розвитку серця (МАРС), які є загальноприйнятими маркерами НДСТ [125].

Спостерігається залежність фенотипового прояву НДСТ від недостатності кофакторів ферментів, що відповідають за стабілізацію

колагену (цинку, міді, аскорбінової кислоти, магнію та кисню)[100–101]. Колагенові волокна відіграють важливу роль в структурі сполучної тканини, надаючи їй міцності та формують її функціональну здатність.

НДСТ найчастіше зумовлена полігенними мутаціями, що спричиняють порушення пострасляційних модифікацій, біосинтезу та ремоделювання колагенових волокон [183]. Дефекти колагену та фібрину, а саме - дефекти міжклітинної рідини відіграють важливу роль у спричиненні дисфункцій та ускладнень хвороб нирок [93, 115, 158, 165, 208,]. Колаген IV типу, в основному, відповідає за вродженні порушення фібрилогенезу. При мутаціях, що характеризуються дефектами колагену IV типу, спостерігається висока різноманітність характерного диспластичного фенотипу, що залежить від статті, генотипу та від наявності мутацій в X-хромосомі [94]. Беручи до уваги відсутність специфічного розташування генів у хромосомах, їхню поліморфність (*COL4A5* близько 1500 унікальних варіантів, *COL4A3* та *COL4A4* – більше 500) та фенотипічну гетерогенність, вивчення їх значення у патогенезі дизметаболічної нефропатії, ускладнюється. Відомо, що саме гетерогенні дефекти у генах, зазначених вище, асоційовані зі синдромом Альпорта [138]. Наявність у дітей з гострим пієлонефриом алелів AA поліморфного локусу 1269G>A *COL4A1* асоціюється із сприятливим перебігом, відповідно, може служити прогностичними маркером відсутності дефектів фібрилогенезу [113, 114].

Незважаючи на значну кількість досліджень, що вказують на асоціацію між аномалією колагенових структур та клінічними проявами дисплазії сполучної тканини, її етіопатогенез залишається не вивченим [207, 209,].

Відомо, що гломерулярна базальна мембрана (ГБМ) відіграє провідну роль у процесі фільтрації, та виконує бар'єрну функцію: вона має високодиференційовану структуру, основу якої складає колаген IV типу: аргінін, ламінін, нідоген та перлекан (PLC) - основний гепаринсульфат протеоглікан. Структурні дефекти ГБМ асоціюються з певними спадковими захворюваннями, найвідоміші з яких - синдром Пірсона, що відноситься до

мітохондріальних захворювань (мутації в *LAMB2*) та синдром Альпорта (мутації в *COL4A3*, *COL4A4* і *COL4A5*), як наслідок - пошкодження гломерулярної базальної мембрани: призводить до формування хронічної хвороби нирок [24]. Водночас, встановлено, що хворі на пієлонефрит та гломерулонефрит на тлі недостатності СТ часто характеризуються резистентністю до стандартної терапії, рецидивуючим перебігом і раннім зниженням функцій нирок. [47].

1.2 Тканинна гіпоксія паренхіми нирок, перекисне окислення ліпідів і процеси мембранодеструкції нефротелію, як епігенетичні маркери у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей

Нирки є одним з найбільш метаболічно активних органів, друге місце посідає серце, незважаючи на його важливу насосну функцію, зокрема - доставку кисню до тканин. Варто відмітити, що, незважаючи на високий рівень кисню крові у нирках, через значну перфузію вони залишаються дуже чутливими до гіпоксії. Саме дефіцит кисню є основним фактором в формуванні гострої ниркової недостатності та відіграє не менш важливу роль у розвитку та перебігу хронічної хвороби нирок [73, 137, 219].

Важливу роль в механізмі оксигінації тканини нирок відіграє баланс між доставкою кисню, його поглинанням та виділенням. Головною роллю кисню в цьому процесі є участь в утворенні аденозинтрифосфату (АТФ), який потрібний для так званого первинного активного транспортування. У процесі первинного активного транспортування відбувається реабсорбція відфільтрованих іонів натрію через мембрану клітин в ниркових каналцях. За допомогою вторинного активного транспорту відбувається перенесення глюкози та амінокислот внаслідок створення електрохімічного градієнту, який формується за рахунок активного виведення іонів натрію через транспортер натрій-калій аденозинтрифосфатази (Na^+/K^+ -АТФази), що знаходиться на базальній мембрані). Ці два механізми є взаємозалежними, оскільки від концентрації кисню (90% всього АТФ утворюється шляхом окисного

фосфорилування) залежить вироблення АТФ, той самий процес вироблення й активує Na^+/K^+ -АТФазу [87].

Варто відмітити, що механізми взаємодії між перфузією та оксигенацію у нирках є більш складним, ніж в інших органах. Підвищення активності процесів перфузії призводить не лише до збільшення транспортування кисню, але і до збільшення швидкості клубочкової фільтрації та концентрації іонів натрію, що, як наслідок, призводить до зростання потреби в АТФ [78].

Відомо, що перфузія у нирках відрізняється в залежності від її зони (кіркової та мозкової), що безпосередньо пов'язано з унікальною судинною системою мозкового шару нирок, та відображає їх різні функції [70].

На кірковий шар припадає до 20-25% об'єму крові, завдяки чому здійснюється клубочкова фільтрація. Проте такий великий об'єм крові може мати негативний ефект, оскільки, в деяких випадках, концентрація кисню може перевищувати метаболічну потребу, що є фактором ризику утворення вільних радикалів кисню [71].

Є дані про механізм захисту мозкового шару нирок від гіпоксії, який базується на певній втраті чутливості до норадреналіну, ангіотензину-II, ендотиліну-1, на відміну від кіркового шару. Варто відмітити різний, а, часом - і зворотній вплив аденозину на кірковий і мозковий шари, що відіграє ключову роль в метаболічному контролі функції нирок [63, 92, 155].

Додатковим механізмом захисту від гіпоксії є вироблення еритропоєтину, основним завданням якого є підвищення гематокриту. При прогресуючій гіпоксії ці механізми можуть бути недостатніми. Додатковим захистом від гіпоксії є анатомічна особливість судин, а саме - близьке розташування одна до одної висхідної та низхідної прямих артеріол, що забезпечує транспортування кисню через стінки (шунтування) в мозковому шарі, в результаті чого - зменшується ризик зниження PO_2 [127].

Гістологічно було виявлено, що тривала гіпоксія паренхіми нирок є головним етіологічним фактором в виникненні хронічної хвороби нирок (ХХН) [169, 211]. При цьому найчастіше спостерігалися такі патологічні

зміни, як тубулоінтерстиціальний фіброз, накопичення міжклітинної речовини, інфільтрація тканин запальними клітинами [214, 215].

Зокрема, в деяких дослідженнях було виявлено, що недостатність кисню негативно впливає на тканину нирок, а саме - підвищує фібрилогенез за рахунок активації вироблення міжклітинної речовини, при цьому знижуючи його функціональну здатність [104].

Іншим важливим фактором формування хронічної хвороби нирок є втрата капілярів, артеріол та венул, патогенетичний механізм якого залишається до кінця невивченим [145, 214, 217, 221].

Гіпоксія є одним з основних патогенетичних факторів порушення функції нирки при пієлонефриті, що зумовлені оксидативним стресом та виділенням гідроксипроліну та інших амінокислот, що можуть вказувати і на порушення метаболізму в сполучній тканині [23, 213].

Важливу роль у виробленні АТФ відіграють мітохондрії, а сам процес вироблення відбувається у внутрішній мітохондріальній мембрані, де знаходиться електронна транспортна система. Під час процесів окислення в мітохондріях за фізіологічних умов, виробляється орієнтовно 0,1%-0,2% вільних кисневих радикалів. Вироблення вільних радикалів кисню варіюється від ділянки нефрону, найбільше їх утворюється в товстому сегменті висхідної частини петлі Генле [210, 168]. Варто наголосити, що мітохондріальна дисфункція та вироблення вільних радикалів кисню є важливими механізмами у формування гіпоксії тканин нирок [76].

В останні роки науковці звертають увагу на роль мітохондріального апарату в формуванні уrolітіазу та обмінних нефропатій [107, 126]. Ряд досліджень вказують на вплив окислювального стресу на процес літогенезу [152–155]. Активація оксидативного стресу призводить до каскаду реакцій, що викликають пошкодження тканин та асептичне запалення [97, 129].

Останнім часом з'являється більше даних про те, що пошкодження тканин нефротелію, спричинене процесами окислення, сприяє накопиченню кристалів солей, особливо кальцію оксалату, в тубулоінтерстиції нирок, що є

одним із важливих етапів літогенезу [86, 106].

З іншого боку, є ряд досліджень, в яких вказано, що під час надмірного вироблення вільних оксигеновмісних радикалів в епітеліальних клітинах ниркових каналців, може виникати їх пошкодження, виділяється ряд антиоксидантних сполук, основне завдання яких - нейтралізувати процеси окислення та зменшити пошкодження клітин, внаслідок чого пригнічується процес літогенезу у нирках [82].

Було відмічено, що кристали оксалату кальцію можуть посилювати реакції окислення в клітинах ниркових каналців та призводити до мітохондріальної дисфункції. Також відомо, що кристали кальцію оксалату індують вироблення хемокінів (Моноцитарний хемотаксичний протеїн-1) в епітеліальних клітинах нирок та 3,4-метилендіоксиамфетаміну (MDA). Відповідно, вони можуть виступати одним з маркерів гіпоксії паренхіми нирки, як наслідок дисфункції мембранного комплексу клітин. Саме тому, одним з методів діагностики гіпоксії паренхіми нирок є тест на антикристалоутворюючу здатність сечі (тест на АКЗС) та добову екскрецію оксалатів [151, 152].

Процеси некрозу та апоптозу, за своїм механізмом, є дзеркальними до процесів, що відбуваються під час мітохондріальної дисфункції, у першу чергу через зниження мембранного потенціалу мітохондрій у клітинах епітелію нирок [160].

В іншому дослідженні було вказано, що мітохондріальні цільові антиоксиданти можуть попереджати порушення мітохондріального мембранного потенціалу, які виникають внаслідок впливу оксалатів [214].

Науковцями з Алабами та Бірмінгему було виявлено, що оксалати ушкоджують мітохондрії моноцитів та макрофагів і порушують їх окисно-відновний гомеостаз, потрапляючи у прозапальне середовище нирки [57].

Можна зробити висновок, що під час окислювального стресу виникає мітохондріальна дисфункція, що спричиняє тубулоінтерстиційне запалення, що, як наслідок - стимулює літогенез у нирках [197].

Іншим маркером окислювального стресу є пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ) [198]. У процесі ПОЛ головною мішенню виступає клітинна мембрана, оскільки ліпіди та ліпопротеїни є її основною складовою. Першим етапом є окислення поліненасичених вищих жирних кислот, в результаті розпаду яких виникають дієнові кон'югати (первинні продукти ПОЛ), на цьому ж етапі відбувається утворення вільних радикалів кисню. Другим етапом є вільнорадикальне окислення поліненасичених жирних кислот (арахідонової та докозагексаєнової кислот), основу яких складають подвійні вуглецеві зв'язки. У результаті виділяються гідроперокси, які в подальшому піддаються розпаду, внаслідок чого формуються такі реактивні проміжні речовини, як малоновий діальдегід та простагландин F2 α ізомер F2-ізопростану (8-isoPGF2 α) та інші кетони [191, 203, 204].

Відповідно, це призводить до структурних і функціональних порушень клітинної мембрани, а саме: підвищення її проникності, розбалансування електронної транспортної системи мітохондрій та мембранних ферментних систем. Унаслідок цього відбувається накопичення продуктів аутолізу, руйнування структури мембран, що завершується смертю клітини. Можна припустити, що оксидативний стрес розвивається, коли процеси окислювання, що активуються вільними радикалами кисню та азоту, домінують над механізмами антиоксидантного захисту. Наслідки ПОЛ клітинних мембран ниркових каналців можна виявити у крові і сечі: полярні ліпіди, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід (МДА), як похідний тіобарбітурової кислоти (ТБА), 8-ізопростан ізомерний простагландину F2 α та інші продукти перокислення ліпідів, кальцій- та фосфатурія [62, 142].

Антиоксидантна система бере участь у процесах детоксикації та розщепленні вільних радикалів кисню для захисту від окислювального стресу та підтримки окисно-відновного балансу клітини. Перважна більшість ендогенних антиоксидантів впливають на вільні радикали кисню, такі як O₂ і H₂O₂, та на їх взаємодію з іншими радикалами [98].

До антиоксидантів відносять вітаміни С (аскорбінова кислота) та Е

(токоферол), глутатіон, супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та глутатіон пероксидаза, а також - металопротейни (феритин, металотіонеїн). Екзогенні та синтетичні речовини можуть діяти як ендогенні антиоксиданти або активують адаптивні системи, наприклад, як сигнальний шлях, що пов'язаний з ядерним фактором, асоційованим з еритроїдним 2p45-фактором 2 (Nrf2), який регулює ендогенні антиоксидантні ферменти та цитопротекторні гени [189, 192].

Для оцінки антиоксидантної системи (АОС) використовують такі показники: активність каталази (К), супероксиддисмутази (СОД), цитратсинтази, глутатіонпередуктази (ГП), трансферитин (ТР) в крові, рівень альбуміну і цитрату [148, 180].

За даними багатьох досліджень, серед пацієнтів з сечокам'яною хворобою нирок, було виявлено підвищення вмісту маркерів ПОЛ у різних біологічних матеріалах (сироватка, плазма, еритроцити, сеча) [116, 121]

У дослідженні Wozniak P et al. (2019) було виявлено значне підвищення рівня реактивних субстанцій тіобарбітурової кислоти (TBARS) у плазмі (на 116%), еритроцитах (на 25%) серед пацієнтів з СКХ у порівнянні з контрольною групою [214].

Було відмічено, що у пацієнтів з хронічною хворобою нирок підвищувався рівень МДА, який виступає інформативним маркером оксидативного стресу [33, 123, 140].

Також є дані, які вказують на корелятивний зв'язок таких показників як ШКФ і креатиніну зі ступенем ураження нирок і рівнем МДА [192-193].

У пацієнтів на гемодіалізі відзначався низький рівень МДА, особливо - серед пацієнтів афро-американської раси, що може виступати доказом токсичного ефекту МДА, саме тому Європейське товариство штучних органів (ESAO) класифікувала МДА як уремичний токсин [90, 103, 172].

При високому споживанні вітаміну Е у літніх шурів відмічалось підвищення ШКФ на 50% та сповільнення гломерулярного склерозу одночасно зі зниженням рівня F2-ізопростанів, що вказує на важливу роль антиоксидантної системи (АОС) [171, 191].

У дослідженні Лук'яненко Н.С. та співавторів (2016) було виявлено високу діагностичну чутливість та специфічність тесту на антикристалутворюючу здатність сечі (АКЗС) з визначенням кальцію оксалатів та кальцію фосфатів у сечі в діагностиці гіпоксії тканин паренхіми нирок у дітей з МСР. Дослідження сечі на наявність ПОЛ та ПЛ показали середню здатність діагностувати дефекти мембранного комплексу клітин у паренхімі нирки у дітей з міхурові-сечовідним рефлексом (МСР) [33]. Також існують дані про вплив фібрилогенезу на процеси мембранодеструкції серед дітей з МСР на фоні НДСТ - виявлено підвищений рівень полярних ліпідів (ПЛ) у сечі [80, 84].

На даний час існує низка теорій, в яких утворення вільних радикалів кисню і подальше пероксидне окислення ліпідів є важливою складовою формування кальцію оксалатного уролітіазу [97, 159].

У літературі наявні дані, які вказують на зниження загальної антиоксидантної здатності у пацієнтів з хронічною хворобою нирок (ХХН), включаючи і тих хто проходить гемодіаліз [16, 195].

До першої лінії антиоксидантного захисту можна віднести супероксиддисмутазу (СОД), яка каталізує супероксид-аніони та утворює пероксид кисню і молекулярний кисень. Ряд дослідників відмічали підвищений рівень СОД у плазмі серед пацієнтів з ХХН, проте зниження його рівня у пацієнтів які проходять гемодіаліз [11, 26, 59]. Деякі дослідження вказують на відсутність кореляції рівня СОД у пацієнтів з ХХН та контрольною групою та вказують на складність інтерпретації показників СОД та їх неоднозначність у пацієнтів з ХХН [76, 86].

Іншими важливими компонентами антиоксидантної системи (АОС) є каталаза, яка рочеплює H_2O_2 до води та кисню, селеновмісна глутатіон, пероксидаза плазми, що бере участь в процесі нейтралізації всіх органічних пероксидів та в розчепленні ліпідів. Низка досліджень відмічає зниження рівня глутатіон пероксидази у плазмі серед пацієнтів з ХХН, проте її рівень в еритроцитах був неінформативним [97].

Незважаючи на важливу роль в процесі антиоксидантного захисту, є суперечливі дані щодо активності еритроцитарної каталази та глутатіон пероксидази, відповідно результати обстежень варто інтерпретувати з обережністю [168].

Накопичення вільних радикалів кисню, що відбувається під час оксидативного стресу, супроводжується механізмом, який викликає широкий спектр пошкоджень ДНК, і це може призводити до мутацій та порушень генетичного стану клітин. Враховуючи, що гістон-модифікуючі ферменти залежать від рівня внутрішньоклітинних метаболітів (ацетил-КоА, заліза, кетоглутарату, НАД⁺ і S-аденозилметіоніну), вільні радикали кисню можуть опосередковано впливати на активність епігенетичних механізмів. Таким чином, епігенетичні зміни пов'язані як із загальними метаболічними процесами у клітині, так і на енергетичному рівні [36, 48, 176].

Враховуючи вищенаведене, все більше досліджень вказують на потенційну роль молекулярних дефектів, а також оксидативного стресу у патогенезі літогенезу. Варто відзначити, що високий рівень вільних радикалів кисню активується за допомогою P35 мітоген-активної протеїнкінази фактори транскрипції, що є сигнальними молекулами. АФК-індукована NF-κB (В-лімфоцити) може регулювати експресію генів, що кодуєть прозапальні цитокіни, інтерлейкіни 6 та 8, фактор некротизуючий пухлини-α, С-реактивний протеїн (СРБ). Надмірне вироблення наведених вище прозапальних цитокінів може активувати НАДФ-оксидазу, що, в свою чергу, посилює вироблення вільних радикалів кисню [142]. Низкою досліджень було знайдено генетичний вплив на активацію процесів оксидативного стресу, тим самим підвищуючи ризик формування уролітіазу. Виявлено, що генотип С/Т (містить лише алелі С та Т в якому гені?), в якому був виявлений поліморфізм СОД₂, асоціюється з підвищенням ризику розвитку уролітіазу, проте - генотип Т/Т асоціюється зі зниженням ризику уролітіазу [147].

У дослідженні Liu X et al. було встановлено, що серед пацієнтів з уролітіазом, і носійством генів rs4880 та rs5746135 (відповідають за

вироблення $MnCO_3$), підвищувався ризик пошкодження нирок [145, 146].

З'являється все більше даних, які вказують, що генетичні фактори можуть бути чинниками, що відіграють основну роль у розвитку літогенезу. Враховуючи подібність його патомеханізму і ДН, можна припустити, що і для обмінних нефропатій генетичні фактори є аналогічними.

Відомо, що за допомогою досліджень загальногеномних асоціацій (GWAS) було встановлено багато генних локусів, пов'язаних з уролітіазом. На даний час відомо близько 15 локусів, які асоціюються з нефролітіазом, що описані в 5 загальногеномних дослідженнях [170, 177].

Проте, незважаючи на велику кількість досліджень, що вказують на значну роль оксидативного стресу на розвиток уролітіазу, огляд літератури вказує на небагато досліджень, які відображають можливий зв'язок поліморфізмів генів, що впливають на оксидативний стрес з подальшим ризиком розвитку літогенезу обмінних нефропатій, особливо серед дитячого населення.

1.3 Особливості фосфорно-кальцієвого обміну при дизметаболічній нефропатії у дітей

Кальцій (Ca) та фосфор (P) відіграють життєво важливу роль в біологічних процесах організму [53, 55]. Порушення фосфорно-кальцієвого метаболізму може призвести до патології різних систем та, навіть, до станів загрози життю, що вказує на їх важливу роль в процесах гомеостазу.

Регуляція та підтримка стабільного рівня Ca і P крові, в основному, відбувається за допомогою взаємодії паратгормону (ПТГ), вітаміну D та фактору росту фібробластів (FGF23), ключову роль в даному процесі відіграють нирки, кишківник та кістки. Відповідно, патологічні процеси, що призводять до порушення функцій факторів, наведених вище, та органів пацієнтів, можуть спричинити порушення метаболізму кальцію та фосфору.

Кальцій є одним з найпоширеніших іонів організму та відіграє важливу роль в функціонуванні клітинної мембрани та міжклітинній передачі сигналів

[53, 55]. Кальцій в позаклітинній рідині найчастіше акумулюється в білках крові (до 40%), в переважній більшості - у альбумінах, який, в умовах фізіологічних станів, не піддається фільтрації у нирках [114].

Відомо, що кальцитріол може проникати в клітини-мішені та взаємодіяти з їх ядерними рецепторами вітаміну D (VDR), який, в подальшому формує комплекс між рецептором та ретиноевною кислотою, що взаємодіє з елементом VDR на гени-мішені, таким чином контролюючи експресію гену [150].

Відомо, що зворотній зв'язок між ПТГ та кальцитріолом, в якому ПТГ сприяє утворенню кальцитріолу у нирках, інгібуючи вироблення та секрецію ПТГ. Іншим компонентом механізму регуляції виступає щитоподібна залоза, яка, при підвищенні рівню кальцію стимулює виділення кальцитоніну, як антагоніста ПТГ, внаслідок чого рівень Са в крові знижується [162].

Розподіл фосфору в організмі є подібним до кальцієвого: найбільше він накопичується у кістках, і лише 2-3% в позаклітинній рідині. Гомеостаз фосфору в плазмі, в основному, забезпечується механізмами всмоктування фосфору з кишечника і реабсорбції в нирках. Ці два механізми регулюються натрій залежними котранспортерами [Na^+/Pi -cotransporters], що відносяться до білків транспортерів SLC34 або SLC20 [166].

Відомо про епігенетичний та генетичний впливи на кальцій-фосфатний обмін при певних моногенних захворюваннях, які асоціюються з кристалурією [31, 35].

Так, при ідіопатичній гіперкальціурії та вітамін-D-залежному рахіті, знайдено асоціацію з поліморфізмом гену *VDR*. Було вивлено чіткий зв'язок між рецептором VDR та метаболізмом кальцію [85].

У експериментальному дослідженні спостерігалось зростання кількості рецепторів VDR у кишківнику, яке було пов'язане зі зростанням всмоктування кальцію у мишей з генетично індукованою гіперкальціурією [98]. Також встановлена наявність поліморфізму bb гомозиготного алеля *BsmI* у пацієнтів з уролітіазом [109]. Більше того, вітамін- D-залежний рахіт можна

класифікувати на типи відповідно до мутацій у генах: 1A(*VDDR1A*) та 1B(*VDDR1B*) і відповідно 2A(*VDDR2A*), 2B(*VDDR2B*). Мутації типу 1-А та В асоціюються з порушенням синтезу вітаміну D, а типи 2- А, В - з дефектами активності рецепторів VDR. Дефекти генів при спадковому фосфатемічному рахіті (ГФГ) пов'язують з підвищеним рівнем FGF-23-залежних від ГФГ, що найчастіше асоціюється з мутацією *PHEX* гена [186].

Широкий спектр фенотипічних проявів мутацій в одному гені представлений геномними варіантами *CARS* (рецептор кальцитоніну), при цьому фенотипічні прояви залежать від ступеня ушкодження гена [187]. Було виявлено, що наявність гену *CALCR* rs1801197 підвищує ризик формування кальційвмісних каменів серед дітей з уролітазом. Внаслідок дефектів в гені G-протеїн-зв'язаного рецептора (*GPCRs*) відбувається втрата функції одноіменного рецептора, яка спричиняє особливий тип гіперкальціємії та гіперпаратиреоїдизму. Проте, аутосомно-домінантні мутації, що відповідають за реалізацію гіпокальціємії з гіперкальціурією і 5-тип синдрому Бартера - навпаки, підвищують функцію даного рецептора. Іншим прикладом, що відображає широкий спектр генетичних чинників, які задіяні в літогенезі кальційвмісних каменів - дефекти гену *CYP24A1* (ген вітаміну D 24-гідроксилази) [185].

Низкою досліджень поліморфізму *CaRS* гену було виявлено непрямий вплив на уролітіаз, що відбувається через опосередкований механізм за допомогою клаудин-14. Так, у дослідженні GWAS, серед ісландської популяції було виявлено стійку асоціацію *CaRS* (rs7627468 [A]) з уролітіазом. Поліморфізм *CaRS* гену спричиняє непрямий вплив на уролітіаз, через опосередкований механізм за допомогою клаудин-14 [37, 58]. Високий рівень кальцію в крові асоційований з такими варіантами *CaRS* генів: A986S, R990G, Q1011E. Гіперкальціурія пов'язана з R990G варіантом. У 80% випадків високий вміст кальцію в сечі відповідає за формування такого типу каменів: кальцію оксалатні, кальцію фосфатні, та комбінацію оксалатних, фосфатних та сечової кислоти [89]. Отже, рівень кальцію в крові є генетично

детермінований.

Активація *CASR* підвищує експресію гену *CLDN14* у висхідному каналці петлі Генле, а порушення ниркового механізму *CASR-CLDN14* може призвести до нефролітазу. Наявність *CaRS* rs6776158 сприяє виникненню уролітазу шляхом пригнічення промотора-1 *CaRS*-гену та його експресії в ниркових каналцях [122, 222].

Відома й епігенетична роль *CaRS*-гену в розвитку первинного та вторинного гіпопаратироїдиту, шляхом метилювання ДНК [196, 205], проте, під час аналізу джерел інформації, не було виявлено досліджень, які б описували такий вплив на літогенез.

Аналізуючи вище наведені дані про визначення рівнів кальцію та фосфору у сечі, активності кальцитоніну і паратгормону у крові, можна дійти висновку про важливість їх визначення для диференційної діагностики уролітазу та обмінних нефропатій у дітей, що в подальшому дозволить провести спрямоване генетичне або епігенетичне тестування. Комбінування цих двох компонентів дозволяє краще зрозуміти етіологію захворювань, що надає можливість розробити ефективну стратегію лікування. Саме тому актуальним на сьогодні є вивчення порушень кальцій-фосфатного обміну епігенетичної та генетичної природи серед дітей з ДН.

1.4 Особливості функціонального стану паренхіми нирок при ниркових захворюваннях у дітей та роль епігенетичних та генетичних факторів у його порушенні

Паренхіма нирок є функціональною частиною, та складається з кіркового та мозкового шару. Саме ушкодження паренхіми відображається у лабораторних та інструментальних дослідженнях при оцінці функціонального стану нирок. Тому ініціатива щодо покращення глобальних результатів лікування захворювань нирок (KDIGO-2023), в першу чергу базуються на оцінці функціонального стану нирок, та прогнозуванні пов'язаних із цим ризиків [17, 27, 43, 50].

Варто відмітити, що ДМН поділені відповідно до домінуючого фактора в патогенезі захворювання. Відповідно генетичні та епігенетичні фактори ризику, які частіше пов'язують з процесом літогенезу, можна розділити за зоною ураження в нирках (табл. 1.4) [1, 37, 46].

Обмінні нефропатії, які асоціюються з моногенними дефектами, часто мають виражену клінічну картину, яка супроводжується ушкодженням паренхіми нирок, що призводить до формування ХХН, а часом - і до гострого ураження [79, 83].

Таблиця 1.4

Генетичні мутації, що асоціюються з уролітіазом, які уражають систему нефрона відповідно до його анатомії

Клубочок	Проксимальний звивистий каналець	Петля Генле	Дистальний звивистий каналець	Збірні трубочки нефрона
Не виявлено	<i>CLC-5</i> <i>SLC3A1 SLC7A9</i> <i>CASR SLC34A1</i> <i>SLC34A3</i> <i>rBAT</i> <i>NPT2a/c</i>	<i>CLC-5</i> <i>BSND</i> <i>KCNJ1 CLCKNB</i> <i>SLC12A1</i> <i>CLDN14</i> <i>CLDN16</i> <i>CLDN19 CASR</i>	<i>CLCNKb</i> <i>TRPV5</i> <i>VDR</i> <i>CASR</i> <i>SAC</i> <i>sAC</i> <i>KLOTNO</i>	<i>CLC-5</i> <i>KCNJ1</i> <i>SLC4A1</i> <i>ATP6V0A4</i> <i>VDR</i> <i>SAC</i> <i>AE-1</i> <i>sAC</i> <i>TRPV5</i> <i>H⁺-ATФаза</i>

У рекомендаціях KDIGO-2023 діагностика ХХН передбачає проведення обстеження у пацієнтів з груп ризику та зі встановленим діагнозом, а саме - визначення таких показників: альбуміну, креатиніну в сечі та швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). Варто звернути увагу, що, при неочікуваному виявленні підвищеного показника співвідношення альбумін/креатенін (САК) та/або зниженого рівня рШКФ (за формулою СКД-EPI) дослідження варто повторити в динаміці для підтвердження ХХН. Оскільки на будь-якому етапі ХХН може виникнути гостре ушкодження нирок. Проте, при дослідженні функціональної здатності парехіми нирок у дітей, показник рШКФ проявив себе, як менш чутливий маркер. У більшості випадків, при функціональному

пошкоджені нирок – показник рШКФ визначався у межах норми, тим самим - вказуючи, що механізми компенсації здатні тривалий час підтримувати швидкість клубочкової фільтрації, проте, виявлення зниження рівня рШКФ у пацієнтів завжди вказує на ушкодження паренхіми нирок [93].

Відповідно, виявлення порушення функціонального стану нирок на ранніх доклінічних етапах ХХН є вкрай важливими. Одним із інформативних показників для оцінки стану клубочкової фільтрації є рівень креатиніну в сечі. Креатинін є кінцевим продуктом азотистого обміну та утворюється з креатинфосфату під час розпаду м'язової тканини. Підвищення рівня креатиніну в крові, зазвичай, свідчить про зниження клубочкової фільтрації, а зниження рівня креатиніну в сечі, у більшості випадків - відображає порушення функціональної здатності нирок. Так як, для оцінки ШКФ за допомогою креатиніну - варто враховувати вік, стать, етнічну приналежність та м'язову масу пацієнта, що відповідно, при діагностиці порушення функціональної здатності паренхіми нирок є трудомістким процесом для лікаря. Тому було вивчено альтернативні маркери ШКФ, а саме - цистатин С та бета-2-мікроглобулін (В₂М). За даними ряду досліджень, В₂М та цистатин С не залежать від етнічної приналежності та менше залежать від віку та статі, ніж рівень креатиніну в сироватці крові [10, 39]. Збільшення рівня β -2-мікроглобуліну у сироватці крові є маркером зниження ШКФ, а також може вказувати на пошкодження ниркових каналців, а, при цьому відмічається підвищення його екскреції із сечею [46, 54].

Іншими діагностичними тестами є скринінг-діагностика сечі (урінолізис), до якої входять: проби Бенедикта, Гайнеса, Сулковича, виявлення амінокислот та білка у сечі. Завдяки вищенаведеним дослідженням можна оцінити каналцеву реабсорбцію як парціальну функцію проксимального відділу нефронів. При виконанні проби Бенедикта визначається рівень редукованих цукрів (мальтази, сахарази, фруктози) у сечі. Проба Гейнеса базується на визначенні глюкози у сечі. Обидва тести найчастіше асоціюється з коморбідними станами до ДМН: екстраренальними та ренальними

глюкозуріями. Ренальна глюкозурія асоціюється з підвищенням рівня глюкози в сечі за нормального рівня глюкози у крові. Саме ренальні глюкозурії пов'язують з порушенням реабсорбції або ізольованим порушенням транспортування в проксимальних канальцях нефрона. Генетично детерміновані стани, найчастіше, асоціюються з вираженими порушеннями транспорту глюкози, і успадковуються як неповна рецесивна ознака (синдром Фанконі). Також, це може бути спричинене іншими генетичними захворюваннями: цистиноз, спадкова тирозинемія, синдром Лоу, хвороба Вільсона [88].

Відомо, що ушкодження проксимальних канальців, при інтерстиціальному нефриті, може супроводжуватися глюкозурією, електролітними розладами, фосфатурією, аміноацидурією та ін. Також, є гіпотеза, що індуковане ксенобіотиками гостре ушкодження нирок може викликати дисфункцію SGLT (натрій-глюкозного котранспортеру) при якій спостерігається транзиторна глюкозурія через зворотність процесу виникнення глюкозурії, який пов'язаний з відновленням функції SGLT [193].

Проба за Сулковичем дозволяє визначити наявність кальцію у сечі. Гіперкальціурія виникає внаслідок пошкодження мембрани нефротелію та спостерігається при таких захворюваннях, як ідіопатична гіперкальціурія та при інших обміних нефропатіях з порушенням кальцій-фосфатного обміну, гіперпаратиреозом та гіпервітамінозом D (детально описано вище).

Протеїнурія є одним із найчастіших лабораторних показників маніфестації захворювань нирок. Аналіз літератури показав, що протеїнурія не лише вказує на патологію нирок, але може діяти як незалежний маркер для діагностики прогресування ниркової недостатності [188].

Найчастішою причиною появи білка у сечі є дефект гломерулярного фільтру. Так званий «гломерулярний фільтраційний бар'єр» складається з трьох рівнів: перший формується капілярними ендотеліальними клітинами, другий – базальною мембраною клітин та третій - подоцитами. Внаслідок дефекту базальної мембрани різними чинниками (антитілами, циркулюючих

імунними комплексами, медіаторами запалення, ксенобіотиками), виникає ушкодження клубочкових капілярів, підвищується їх проникність. Кількість білків плазми перевищує здатність проксимальних ниркових каналців реабсорбувати їх, через що розвивається протеїнурія [188].

Дефекти так званого «гломерулярного фільтраційного бар'єру» можуть асоціюватись з генними мутаціями [194].

Крім того, є дані, що вказують на прямий зв'язок між низькою масою тіла новонародженого з мікроальбумінурією та інсулінозалежним цукровим діабетом, а саме - розвитком діабетичної нефропатії [194].

Враховуючи вищенаведене, можна зазначити, що пошук чинників, які відіграють важливу роль у реалізації генетичної схильності та важкості клінічного перебігу дизметаболических нефропатій у дітей є актуальною та перспективною проблемою педіатрії. Проведення таких досліджень надають можливість покращити ефективність ранньої діагностики, лікувальних та профілактичних підходів. Відповідно дозволяє розробити систему прогнозування перебігу ДМН у дітей, і, як наслідок, покращить показники здоров'я серед дитячої популяції.

1.5 Молекулярно-генетичні маркери схильності до дизметаболическої нефропатії у дітей та роль «генів-кандидатів» і «генів-модифікаторів» у її формуванні

Генетичний поліморфізм характеризується наявністю двох або більше варіантів форм певної послідовності ДНК, які можуть зустрічатися серед різних індивідів або популяцій, тим самим забезпечуючи різноманітність внутрішньовидових ознак. Одним із найпоширеніших варіантів є одонуклеотидний поліморфізм (SNP) [8].

Гени-модифікатори змінюють прояви ознак, контрольованих переважно іншими, неалельними їм основними генами. Самостійно вони не проявляються, а лише підсилюють або послаблюють дію основного гена [10]. Завдяки цьому наявні зовнішні та внутрішні (біохімічні, фізіологічні,

ментальні) індивідуальні особливості особи, вони формують фенотип людини та відповідно є відображенням генотипу, який реалізується в певних умовах довкілля. У свою чергу, патологічні фактори, особливо у поєднанні з іншими причинними агентами, підвищують ризик розвитку хронічних мультифакторних захворювань [45].

Генетичний поліморфізм популяції людей виникає внаслідок впливу екологічних та біологічних факторів навколишнього середовища, відповідно в організмі людини сформований генетичний контроль біотрансформації всіх хімічних сполук [61].

Відомо, що більшість ксенобіотиків які потрапляють в організм, не мають прямого біологічного впливу, проте підлягають біотрансформації. Система захисту від ксенобіотиків поділяється на три фази: активацію, нейтралізацію (детоксикацію) та виведення. Поліморфізм генів в даній системі захисту забезпечує унікальність кожного індивіда відповідно до його адаптаційних можливостей [72].

Суперсімейство глутатіон трансфераз (GSTs) каталізують глутатіон-залежні реакції та регулюються еритроїдним асоційованим ядерним фактором-2(Nrf2), основними завданнями яких є метаболізм ксенобіотиків, вільних радикалів кисню та електрофільних сполук (найчастіше беруть участь реактивні карбонільні сполуки). Біотрансформація ксенобіотиків відбувається шляхом нейтралізації гідрофільних продуктів розпаду. За цим механізмом, GSTM беруть участь у нейтралізації оксидативного стресу, а саме - ПОЛ та алкінування білків, що відіграє важливу роль у попередженні дефектів ДНК. Іншими важливими функціями GSTM є участь в біосинтезі певних фізіологічно-активних речовин та внутрішньоклітинному транспортуванні гормонів і білірубину [85].

Синтез GST контролюється за допомогою восьми генних класів (*GSTA*, *GSTM*, *GSTT*, *GSTP*, *GSTS*, *GSTO*, *GSTZ*, *GSTK*), які є високополіморфними та локалізуються у різних хромосомах [84].

Варто зазначити, що функціонально неповноцінні варіанти генів

«схильності» обумовлюють здатність до формування різних мультифакторних захворювань. Відповідно, дослідження цих генів дозволяє встановити зв'язок між реакцією організму на зовнішні фактори та функціонально неповноцінними алелями генів [136]. Найбільш дослідженими з них є гени *GSTM 1*, *GSTT1*, *GSTP1*, які асоціюються з ризиком розвитку певних мультифакторних захворювань: артеріальна гіпертензія, ЦД, неоплазії, запальні захворювання кишечника. При наявності делеції в генах *GSTM1* та *GSTM1-null*, так званий «нульовий генотип» (*GSTM1(0/0)*), знижується активність одноіменного білка, з чим пов'язують підвищення оксидативного стресу. В експериментальному дослідженні було виявлено, що поліморфізм гена *GSTM1* може безпосередньо впливати на захворювання нирок. За поліморфізми гена *GSTM1* спостегілося підвищення активності оксидативного стресу, запальних процесів та пошкодження паренхіми нирок. Варто відмітити, що цей процес проходив незалежно від процесів, де була задіяна СОД та активація ренін-ангіотензинової системи. У пацієнтів з наявністю поліморфізму *GSTM1(0/0)* зростають такі ризики: несприятливого перебігу ХХН з розвитком ниркової недостатності [143]. Як наслідок, зниження функції легень у пацієнтів, що палять, викликає розвиток хронічного обструктивного захворювання легень, а також призводить до розвитку бронхіальної астми (БА). Також встановлено кореляційний зв'язок між частотою хромосомних аберацій та наявністю генотипу *GSTM1(0/0)*. У осіб, в яких було виявлено делецію гомозиготного за «нульовим» алелем гену *GSTT1* (*GSTT1 (0/0)*), як і у випадку *GSTM1* - спостерігалася підвищена схильність до БА, неоплазій, а у жінок, з цими поліморфізмами - до народження дітей з вродженими вадами розвитку. Знайдено зв'язок між поліморфізмом гену *GSTT1* та розвитком нефропатії, діабетичної ретинопатії у пацієнтів з ЦД другого типу. В іншому дослідженні спостерігалася асоціація між генним поліморфізмом *GSTT1* і *GSTM1* та зростанням ризику формування діабетичної автономної нейропатії серця у підлітків [119, 143].

Низка досліджень, проаналізованих у огляді літератури, вказують на

важливу роль GSTs та VDR у розвитку різних захворювань, зокрема і нирок. Проте, наявний виражений поліморфізм GSTs та VDR генів та кореляцію поліморфізмів *GSTT1* і *GSTM1* зі зміненою каталітичною активністю їх продуктів синтезу, потребують додаткового підтвердження їх впливу. То ж варто враховувати інші генетичні поліморфізми, які мають вплив на MnСОД, вільні радикали кисню, каталазу та глутатіонпероксидазу [119, 218]. Відповідно, питання впливу VDR та GSTs на розвиток обмінних нефропатій залишається актуальним та потребує більшого дослідження.

Отже, при аналізі літературних джерел виявлено недовісвітлену роль генетичних та епігенетичних факторів у виникненні дизметаболічної нефропатії у дітей. Пошук генетичних та епігенетичних маркерів дозволить проводити ранню діагностику цієї патології у вибірково підібраній групі дітей, що сприятиме зменшенню кількості випадків ДМН з несприятливим перебігом [185, 204].

Зацікавленість у вивченні генетичних, епігенетичних та патогенетичних механізмів дизметаболічної нефропатії, у поєднанні з різними коморбідними станами, які, відповідно, підвищують ризик несприятливого перебігу обумовлена широкою поширеністю даної патології серед дитячого населення, та характеризується малосимптомним латентним перебігом, варіабельністю клінічних проявів та різнорідним ефектом від стандартної терапії у різних дітей, а, також - важкістю у прогнозі перебігу та високим ризиком розвитку негативних віддалених наслідків, таких як тубулоінтерстиціальний нефрит, СКХ, ХХН, що може ускладнюватися ІСШ [200]. На даний час, залишається до кінця не вивчена роль та прогностична значущість порушень в антиоксидантних та пероксидних процесах, які беруть участь в патогенезі ДМН. Відповідно, потребують подальшого вивчення особливості оксидативного стресу, антиоксидантних систем захисту, електролітного гомеостазу, мембрано-патологічних процесів, енергетичного обміну при обмінних нефропатіях у дітей. Встановлення і визначення поліморфізму генів-кандидатів та генів-модифікаторів дає змогу проводити ранню

досимптоматичну діагностику ризику виникнення захворювання та прогнозу розвитку ускладнень [151, 175, 181].

Вище наведені особливості дозволяють формувати нові підходи у лікуванні захворювань, а саме – впровадження генної терапії [134, 174]. Проте в літературі практично відсутні дані про роль генів-кандидатів і генів-модифікаторів, у виникненні та прогнозі несприятливого перебігу ДМН у дітей. Дослідження даних генів та виявлення інших генів-кандидатів і генів-модифікаторів, які відповідають за схильність до ДМН, дозволить в подальшому проводити доклінічну діагностику та раннє виявлення цих аномалій та попередження запальних станів нирок, що сприятиме профілактиці формування хронічної хвороби нирок (ХХН).

На сьогодні актуальними залишаються дослідження, які вивчають методи ранньої діагностики тканинної гіпоксії та функціонального стану паренхіми нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей, через їх нечисельність та суперечливість.

Одним із напрямків вдосконалення якості спеціалізованої та високоспеціалізованої допомоги дітям з ДМН, є вирішення проблеми ранньої діагностики та оцінки порушення функціонального стану паренхіми нирок, диференційного та індивідуального підходів до вибору тактики лікування, враховуючи особливості перебігу ДМН у дітей на фоні коморбідних станів. Відповідно визначення функціонального стану нирок при даному захворюванні дозволить оптимізувати обсяги, терміни та критерії профілактично-лікувальних заходів у дітей з метою недопущення формування та прогресування у них хронічної хвороби нирок. Виходячи з цього, актуальними та перспективними є проведення клінічних, біохімічних та молекулярно-генетичних досліджень у дітей з ДН, що дозволить підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів, а також покращити показники здоров'я, що є важливою та до кінця не вирішеною проблемою, яка стоїть перед системою охорони здоров'я дитячого населення в Україні.

Також, спостерігається недостатня кількість розроблених

терапевтичних підходів для відновлення зниженої функції нирок у дітей при дизметаболичній нефропатії. Пошук нових, етіологічних та патофізіологічних методів лікування пацієнтів з даною патологією може сповільнити або не допустити розвиток ХХН. Комплекс заходів, які націлені на збереження функціональної здатності нирок у дітей з ДМН повинні базуватися на принципах ранньої діагностики порушень функції нирок, та раціональної лікувальної тактики з урахуванням особливостей перебігу запального процесу нирок.

Вищезазначене дозволило дійти висновку про актуальність та доцільність досліджень, які присвячені пошуку генетичних та епігенетичних маркерів для виявлення відповідних факторів, які впливають на перебіг та ризик формування несприятливих ускладнень дизметаболичної нефропатії у дітей, методам визначення функціонального стану сполучної тканини у паренхімі нирок та розробки системи маркерів прогнозування, важкості перебігу та ускладнень ДМН серед дитячого населення.

Дані розділу висвітлені в наступних працях здобувача:

Кіян Н.Р. Етіологічні та патогенетичні чинники дисметаболичних нефропатій у дітей. Український медичний часопис. 2018; 1(123): 1-3. [1].

РОЗДІЛ 2

ОБСЯГ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт, предмет та обсяг досліджень

Об'єкт дослідження – дизметаболічна нефропатія у дітей.

Предмет дослідження – генетичні та епігенетичні чинники у патогенезі дизметаболічної нефропатії, молекулярно-генетичні маркери (поліморфізм локусів) та неінвазивні біохімічні епігенетичні показники недиференційованої дисплазії сполучної тканини, тканинної гіпоксії, ліпопероксидації, обміну кальцію і фосфору в організмі та функціонального стану паренхіми нирок у дітей.

Для реалізації поставлених мети та задач був проведений наступний обсяг досліджень:

У межах науково-дослідної роботи, яка проводилась в ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» в складі експедиційної бригади співробітників інституту, лікарів різних профілів та дисертанта, у районах Івано-Франківської області обстежено 108 дитини у віці від 6-ти до 17 років. У результаті вивчення їх анамнезу, медичної документації та огляду різними спеціалістами (педіатр, нефролог, гастроентеролог, ендокринолог, імунолог) в тому числі з проведенням ультразвукової діагностики (УЗД), цим дітям був встановлений діагноз дизметаболічної нефропатії (ДН).

З числа обстежених дітей було сформовано дві групи: з дизметаболічною нефропатією і вторинною інфекцією сечовидільних шляхів: І група – 52 особи, в яких дизметаболічна нефропатія на певному етапі ускладнилась нашаруванням запального процесу нирок і сечовивідних шляхів – ускладнена ДН (І-УДН) та ІІ група – 56 дітей з неускладненим перебігом ДН (ІІ-ДН), в яких діагноз дизметаболічної нефропатії був підтверджений генеалогічним анамнезом та її специфічними ультразвуковими ознаками, а лабораторно виявлялась тільки стійка оксалатно-фосфатна нефропатія.

Результати дослідження дітей основних груп порівнювали з

результатами обстеження – 65-ти соматично здорових дітей того ж віку (ІІІ-Здорові-Контроль), які також були обстежені під час виїздів групи наукових співробітників ДУ «ІСП НАМН України» в райони Івано-Франківської області в межах виконання планової науково-дослідної роботи.

Усім дітям проводили комплексне клініко-лабораторне обстеження згідно зі стандартними, загальноприйнятими у дитячій нефрології та педіатрії, методами клінічного, лабораторного та інструментального обстеження [40]. Всім дітям був підтверджений діагноз дизметаболічної нефропатії шляхом встановлення добової екскреції солей з сечею та антикристалутворюючої здатності сечі [31].

З метою виявлення епігенетичних факторів, які сприяють реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей, проведено анкетування батьків обстежених дітей та ретроспективний аналіз даних амбулаторних карток ф.112/у дитячих районних поліклініках Івано-Франківської області цих дітей.

Дане дослідження проведено із урахуванням основних положень Хельсинської декларації по біомедичним дослідженням в яких людина виступає їх об'єктом, Белтмонської доповіді та GCP ICH. Дизайн дослідження передбачав дотримання принципу конфіденційності та поваги особистості дитини, як особи нездатної до самозахисту, концепцію інформованої згоди, яка була особисто підписана одним з батьків обстежених дітей, врахування переваг користі над ризиком шкоди та інших етичних принципів у відношенні до людей, які виступають суб'єктами дослідження.

2.2 Методи дослідження

«Індивідуальні тематичні карти обстеження дитини і анкета для батьків» [61] (див. Додаток Б), були основним джерелом інформації: анамнезу, клінічних показників, рентгенологічного, нейросонографічного і ультразвукового досліджень, параклінічних параметрів. Допоміжними стали також записи в «Історії розвитку дитини» (Ф. 112/О).

Ультразвукове дослідження стану внутрішніх органів здійснювалось

при частоті сканування від 3,5 до 14 МГц продольним скануванням з датчиком секторного сканування. Безпосередньо перед об'єктивним обстеженням аналізували: скарги, дані анамнезу, масу, зріст, розвиток і стан здоров'я дитини з моменту народження до моменту обстеження. Фіксували інформацію щодо акушерсько-гінекологічного анамнезу матері.

Комплекс клініко-лабораторного дослідження включав загальноклінічні та спеціальні біохімічні дослідження крові та сечі.

До загальноклінічних досліджень відносились: загальні аналізи крові та сечі; біохімічний аналіз на вміст у сироватці крові сечовини, креатиніну, іонів кальцію, холестерину, загального білірубіну та білку, активності аланін- і аспартатамінотрансферази, наявності С-реактивного протеїну, сіалової кислоти, глюкози; групу крові та резус-фактор. Усім пацієнтам проводили УЗД внутрішніх органів і, при потребі, рентгенологічне обстеження – ретроградну цистографію та екскреторну урографію [40]. Їх оглядали ЛОР-лікар, невролог, офтальмолог, ортопед, інші спеціалісти за потребою.

З метою верифікації діагнозу дизметаболічної нефропатії у добовій сечі обстежених дітей визначалась добова екскреція оксалатів, неорганічних фосфатів та сечової кислоти і антикристалуюча здатність сечі до оксалатів, трипельфосфатів і уратів за методикою, описаною в Методичних рекомендаціях Лук'яненко і співав. (2012 р.) [31]:

а) Метод визначення добової екскреції оксалатів кальцію за кількістю щавелевої кислоти в сечі базується на утворенні нерозчинної в воді та оцтовій кислоті солі щавелевої кислоти при її взаємодії з хлоридом кальцію. Референтні значення екскреції оксалатів з сечею для дітей раннього віку складають 0,5 мг/добу на 1 кг маси тіла або 3,96 мкмоль/добу на 1 кг маси тіла. Порушення метаболізму оксалатів відіграє важливу роль в етіології багатьох захворювань. Оксалати виділяються у надлишку з сечею при кисневій недостатності, виснажливому бігові, тобто в усіх випадках порушення аеробних окисних процесів. Підвищена екскреція тісно пов'язана з процесом каменеутворення та гіпоксії ниркової тканини.

б) Принцип методу визначення неорганічного фосфору в сечі за методом Доозе СК (1979) [31] базується на реакції неорганічного фосфору з молібденовою кислотою, в результаті чого утворюється фосфорномолібденова кислота, яка потім відновлюється амідолом до фосфорномолібденового комплексу, що має синє забарвлення. Референтні значення екскреції фосфатів для дітей раннього віку складають 0,002-0,3 мг/добу на 1 кг або 0,96 ммоль/кг/добу.

Діагностичне значення: зниження екскреції фосфатів відмічається при гіпаратиреозі, тканинній гіпоксії паренхіми нирок, при обмеженні клубочкового фільтрату, гіперфосфатемічному нирковому рахіті, тотальній нирковій недостатності та нефриті.

в) Принцип методу визначення сечової кислоти у добовій сечі за методом О. Р. Ейхгорна [31] полягає в утворенні синього забарвлення сечової кислоти з фосфорновольфрамовим реактивом Фоліна, інтенсивність якого пропорційна кількості сечової кислоти. Референтні значення екскреції сечової кислоти для дітей раннього віку складають 41-215 мг/добу або 0,42 ммоль/кг/добу. Діагностичне значення: вміст сечової кислоти у сечі підвищується при подагрі і порушеннях обміну пуринових основ. Виведення сечової кислоти знижується при нирковій недостатності, гломерулонефриті, цукровому діабеті, після отруєння свинцем.

З тою ж метою верифікації діагнозу дизметаболічної нефропатії у добовій сечі обстежених дітей проводився тест на антикристалоутворюючу здатність сечі (АКЗС) до оксалатів, фосфатів та трипельфосфатів кальцію за методикою Е.О. Юр'євої, в модифікації Н. С. Лук'яненко [31]. Принцип методу базується на нездатності водних розчинів утримувати оксалати кальцію в розчиненому стані, на відміну від сечі, яка в нормі утримує два іони від кристалізації. В зв'язку з цим при додаванні в реакцію невеликих кількостей сечі, яку досліджують, реєструють зниження помутніння реакційної суміші порівняно з водним розчином. Сеча або попереджує кристалоутворення, або не впливає на цей процес, або посилює його через

наявність промоторів кристалоутворення в сечі хворих дітей.

Результат виражається в одиницях екстинції, і його величина прямо пропорційна кристалоутворюючій здатності сечі (КЗС), і обернено пропорційна антикристалутворючій здатності сечі (АКЗС).

Діагностичне значення проби полягає в тому, що при збільшенні АКЗС зменшується утворення біокомплексонів, які в нормі перешкоджають утворенню кристалів. Оскільки більшість біокомплексонів є похідними аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), то можна говорити про зниження утворення АТФ у клітинах ниркового епітелію, тобто тест не тільки характеризує здатність сечі до утворення кристалів, але й відображає наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок. Також збільшення АКЗС опосередковано характеризує зниження стабільності цитомембран ниркового епітелію. В нормі сеча має повністю розчиняти оксалати кальцію. Всі методи є високочутливими, специфічними, маловартісними і доступними для відтворення та використання в любых умовах (стаціонар, поліклініка, школи, польові умови)

I. 3 метою встановлення наявності недиференційованої дисплазії сполучної тканини виконували спеціальні дослідження:

1) Проводилось визначення рівня екскреції оксипроліну в сечі за методом Юрьової Е.О, Длин В.В. 2002 [55] в модифікації Добрик О.О., Няньковського С.Л., Іськів М.Ю. 2014 [14].

2) Принцип методу: пептиди з оксипроліном, метаболіти колагену, які з'являються в сечі при його розпаді осаджуються 2% розчином сірчаною кислотою міді. Оцінюють ступінь помутніння +, ++, +++, +++, +++++, який залежить від кількості оксипроліну в сечі (рис. 2.1).

Діагностична цінність: поява метаболітів колагену в сечі є характерним маркером деструктивних процесів в сполучній тканині, особливо в нирках, при дизметаболічних нефропатіях.

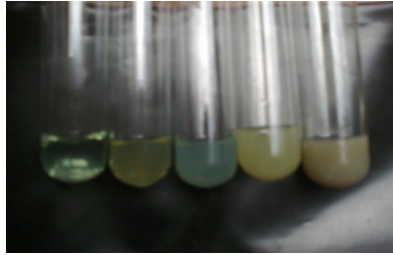


Рис. 2.1 – Результати скринінг-тесту на метаболіти колагену (оксипролін) в сечі.

3) Проводилось визначення рівня вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в сироватці крові за методом Шараєва Н.П., 1981.

Принцип методу: окислення хлораміном Б або Т і конденсація продуктів його окислення з парадиметиламінобензальдегідом.

Вміст вільного і сумарного (вільного і зв'язаного) оксипроліну розраховували по калібрувальній кривій і виражали в мікромолях на 1л сироватки крові. При дефіциті сироватки крові можна проводити дослідження тільки одного з показників. По різниці вмісту вільного і сумарного оксипроліну знаходили кількість зв'язаного оксипроліну.

II. З метою встановлення епігенетичних маркерів, які можуть виступати в якості прогностичних маркерів в реалізації такої мультифакторної патології, як дизметаболічна нефропатія, проводились наступні дослідження:

1) З метою встановлення наявності та інтенсивності тканинної гіпоксії, процесів перекисного окислення ліпідів, антиоксидантного захисту організму та мембранодеструкції клітин нирок проводились ряд тестів:

а) Вивчали антикристалутворюючу здатність сечі (опис - стор. 65-67).

Діагностичне значення: більшість біокомплексонів, які попереджають процес кристалоутворення є похідними аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), то можна говорити, що зниження антикристалутворюючої здатності сечі вказує на зниження утворення АТФ у клітинах ниркового епітелію, тобто тест не тільки характеризує здатність сечі до утворення кристалів, але й відображає наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок.

б) Визначали добову екскрецію оксалатів з сечею (опис – стор. 65).

Діагностичне значення: оксалати виділяються у надлишку з сечею при кисневій недостатності, виснажливому бігові, фізичних навантаженнях, тобто в усіх випадках порушення аеробних окисних процесів. Підвищена екскреція тісно пов'язана з процесом гіпоксії ниркової тканини [32].

2. Для характеристики інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в організмі дітей взагалі та у паренхімі нирок, зокрема, визначали ряд показників:

а) Визначалась кількість дієнових кон'югатів у плазмі крові. Кількісну оцінку дієнових кон'югату плазмі крові проводили за методом за методом Р. А. Тімірбулатова [120]. Принцип метода полягає у появі на різних етапах перекисного окислення ліпідів вільних радикалів у молекулах поліненасичених жирних кислот, що супроводжується утворенням систем поєднаних подвійних зв'язків і появою нового максимуму при довжині хвилі 232 нм. Розрахунок діє нових кон'югатів (ДК) проводили з урахуванням коефіцієнту екстинції $2,2 \times 10^{-5} \text{ м}^{-1} \text{ с}^{-1}$ і виражали в мкмол/л.

Діагностичне значення: одним із головних механізмів, які регулюють стабільність і проникність мембран, є перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Визначено, що процес ПОЛ — це окиснення ліпідів активними радикалами кисню, яке відбувається через стадію утворення пероксидів та гідропероксидів ліпідів. При цьому активні радикали кисню залучаються в молекули ненасичених жирних кислот фосфоліпідів мембран, котрі є основними субстратами ПОЛ. Вміст дієнових кон'югатів характеризує інтенсивність процесів ПОЛ в крові, оскільки дієнові кон'югати є проміжним продуктом пероксидації ліпідів. Чим вищий рівень дієнових кон'югатів у плазмі крові, тим більш інтенсивний процес перекисного окислення ліпідів в організмі дитини.

б) Визначався вміст малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові за методом Р. А. Тімірбулатова [120]. в еритроцитних мембранах на спектрофотометрі «Specord 40». Метод ґрунтується на розпаді ендопероксидів з утворенням малонового діальдегіду, який у взаємодії з тіобарбітуровою

кислотою формує забарвлений комплекс тіобарбітурової кислоти активних продуктів (ТБКап) Принцип методу полягає у тому, що при високій температурі у кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання при 532 нм. Ротзрахунок проводили за формулою:

$$C = E/\xi, \quad (2.1)$$

де E – оптична щільність проби;

ξ – молярний коефіцієнт екстинції, який дорівнює $1,56 \times 10^{-5}$ моль⁻¹ см⁻¹;

C – концентрація малонового діальдегіду у мкмоль/мл плазми або еритроцитів.

Діагностичне значення тесту: в нормі забарвлення не з'являється. Тест відображає активацію процесів перекисного окислення ліпідів у тканинах, оскільки МДА є кінцевим продуктом реакції перекисного окислення ліпідів. Високий рівень малонового діальдегіду у плазмі крові свідчить про високу інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів в організмі дитини.

в) Проводилось визначення активності каталази в сироватці крові та добовій сечі за УФ-кінетичним мікрометодом А. Н. Баха за модифікацією Лук'яненко Н.С. [34], [35]. Принцип методу полягає у визначенні H_2O_2 , що не розкладалася при додаванні ферменту, який міститься у плазмі крові або в добовій сечі за допомогою титрування 0,1N розчином $KMnO_4$.

Розрахунок активності каталази проводили на основі різниці об'ємів розчину $KMnO_4$, який пішов на титрування контрольної та дослідної проб, враховуючи, що 1 мл 0,11 N розчину $KMnO_4$ відповідає 0,05 ммоль H_2O_2 за формулою – $15 \times (V_{\text{контр.}} - V_{\text{досл.}})$ та виражали у ммоль H_2O_2 мл/год, так званім каталазним числом (К.ч.).

Діагностичне значення: в організмі існують механізми антиоксидантного захисту, що контролюють і регулюють усі стадії вільного окислення ліпідів, до них відносяться й функціонування ферментів, що виступають в якості ініціаторів, каталізаторів та інгібіторів процесів перекисного окислення ліпідів. До системи антиоксидантного захисту клітин відноситься разом з

іншими ферментами і каталаза [11]

Біологічна роль каталази полягає у захисті організму від шкідливого впливу гідрогену пероксиду, який утворюється при внутрішньоклітинному окисненні різних сполук. За умов норми каталазне число становить в крові 10-15 одиниць. Висока активність каталази спостерігається при надмірній роботі процесів антиоксидантного захисту. Пониження активності ферменту спостерігається при виснаженні активності процесів антиоксидантного захисту при дуже високій активності процесів перекисного окислення ліпідів.

г). Проводився тест на наявність сумарних продуктів реакції перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у добовій сечі за методичними рекомендаціями Е.О. Юр'євої в модифікації Н. С. Лук'яненко із співавторами (2012) [31]. Принцип методу базується на окисненні перекисем водню йодиду калію в присутності молібдату амонію з утворенням забарвленого йодкрохмального комплексу. Інтенсивність забарвлення оцінювали шляхом титрування 0,1 М розчином тіосульфату натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Кількість розчину, який пішов на титрування, вимірювали в мл $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ та приймали за умовні одиниці (ум. од.). В нормі забарвлення не з'являється. Незначним вважали результат – 0,01-0,05 ум. од., середнім вмістом – 0,05-0,2 ум. од., значний вміст у сечі продуктів ПОЛ вважали при результаті $> 0,2$ ум. од. Тест відображає активацію процесів ПОЛ у клітинах ниркової тканини.

Діагностичне значення тесту: тест відображає інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів у тканині нирок, в результаті якого виникає ушкодження вільними радикалами клітинних мембран і порушуються життєво-важливі функції клітин, що може призвести до їх загибелі [36]

3) Досліджувались показники, які дозволяють охарактеризувати фосфорно-кальцієвий обмін, який виступає епігенетичним фоном при дизметаболичній нефропатії:

а) Рівень кальцію та фосфору в крові та сечі вивчався за фотометричною методикою Магеровського Ю.В. [36].

Діагностичне значення: вміст кальція у сироватці крові дітей

підвищується при гіперпаратиреоїдизмі, гіпервітамінозі D. Воно зменшується при порушенні всмоктування кальція у кишечнику, при гіповітамінозі D, при деяких ниркових тубулопатіях із зниженням тубулярних функцій та недостатності паращитоподібних залоз.

б) Досліджувалась активність паратгормону (ПТГ) та кальцитоніну шляхом імунорадіометричного аналізу [20] на апаратурі Microplate Reader RT – 2100C, Kayto та Voshер 2006 із використанням наборів h-PTH 120 min – IRMA, СТ– U.S. – IRMA, згідно з інструкціями виробника. Дослідження проводились в авторській лабораторії Л. Заграй (зав. лаб.- Заграй Б. Д.).

Діагностичне значення: ПТГ – важливий компонент регуляції фосфорно-кальцієвого обміну, забезпечуючи стабільність концентрації цих елементів у позаклітинній рідині. Рівень ПТГ також тісно взаємопов'язаний з рівнем магнію та вітаміну D. Підвищення рівня ПТГ посилює всмоктування кальцію в кишечнику, зменшує екскрецію кальцію та пригнічує зворотну реабсорбцію фосфору.

в) Активність кальцитоніну в сироватці крові досліджували за твердофазним хемілюмінесцентним імуноферментним аналізом (твердофазний ІХЛА) [22]. Кальцитонін секретується С-клітинами щитовидної залози та є антагоністом ПТГ.

Діагностичне значення: фізіологічна функція кальцитоніну як антагоніста ПТГ полягає в гальмуванні активності остеокластів кісток і зниженні рівня кальцію в сироватці.

г). Виконувався тест на кальцифілаксію або на появу полярних ліпідів (ПЛ) у добовій сечі за методикою Юр'євої Е.О. у модифікації Лук'яненко Н.С. (2012) [31].

Метод базується на утворенні нерозчинних кальцієвих миль при додаванні хлористого кальцію до сечі, яка містить значну кількість емульгованих етаноламінів. Вони з'являються при патології клітинного гомеостазу кальцію (кальцифілаксія). Інтенсивність помутніння, що оцінюється калориметрично, свідчить про присутність у сечі значної кількості

етанолових мил з ліпідами. В нормі помутніння відсутнє. Показник оптичної щільності розчину приймають за умовні одиниці (Ум.о.).

Діагностичне значення: тест дозволяє діагностувати генетично детерміноване порушення обміну кальцію, що призводить до патологічної кальцифікації в організмі [32].

III. Для характеристики функціонального стану паренхіми нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією вивчались наступні показники:

1. Проводились тести уринолізису, які дозволяють оцінити функціональні можливості проксимальних відділів нефронів ниркової паренхіми [23]. До комплексу уринолізису входять тести на мікропротеїнурію, гіпераміноацидурію, проба за Сулковичем, проба Гайнеса (глюкоза в сечі), Бенедикта (редуковані цукри в сечі), які входять до методики Ю. Е. Вельтищева у модифікації Н. С. Лук'яненко (2012) [31]:

а) принцип якісної проби на мікропротеїнурію полягає в осадженні білка сульфосаліциловою кислотою. Помутніння, що утворилось, вказує на наявність білка в сечі. Результат читають на темному фоні та оцінюють за чотирьохбальною шкалою: (+) – слабе, (++) – середньої інтенсивності, (+++) – інтенсивне, (+++++) – дуже інтенсивне. В нормі помутніння немає. Поява помутніння вказує на наявність білка в сечі, а інтенсивність забарвлення пропорційна його кількості. Мікропротеїнурією можуть супроводжуватись функціональні розлади нирок, проте найбільше діагностичне значення мікропротеїнурія має при ураженнях паренхіми нирок;

б) принцип тесту на наявність амінокислот базується на ацидометричному титруванні сечі 0,1 Н розчином натрієвого лугу в присутності фенолфталеїна (індикатор). Помічають кількість мл 0,1 Н розчину натрієвого лугу, яку було витрачено на титрування. Результат оцінюють за чотирьохбальною шкалою: (+) – слабе, (++) – середньої інтенсивності, (+++) – інтенсивне, (+++++) – дуже інтенсивне. В нормі забарвлення немає. Поява забарвлення вказує на наявність амінокислот у сечі, причому інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації азоту амінокислот. Підвищене

виділення окремих амінокислот спостерігається при вроджених та спадкових захворюваннях обміну речовин, внаслідок парціальної недостатності тубулярного відділу нефронів;

в) для проведення тесту на глюкозу (проба Гайнеса) декілька крапель сечі додають у пробірку з невеликою кількістю порошку, який складається з рівних частин сірчаноокислої міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) та вуглекислого натрію (Na_2CO_3). Суміш підігрівують до закипання та охолоджують. Реакція позитивна при зміні яскраво-блакитного забарвлення порошку на жовто-зелене або коричневе залежно від кількості глюкози в сечі. При 0,5 % глюкози колір проби синьо-зелений, при 2 % – жовтий, при 4 % – коричневий. В нормі забарвлення немає. Позитивна реакція спостерігається при цукровому діабеті та при зниженні функції реабсорбції глюкози у проксимальних канальцях нефронів внаслідок парціальної недостатності тубулярного відділу нефронів;

г) для проведення проби Сулковича (тест на кальцій) до 0,5 мл сечі доливають 0,5 мл реактиву Сулковича. Через 1-2 хвилини після змішування рідин оцінюють отримане помутніння. Ступінь помутніння порівнюють з профільованою сечею цього ж хворого та оцінюють за шкалою від 0 до (++++). Легке помутніння (від 0 до ++) спостерігається при вмісті кальцію менше, ніж 7,5 мг %, значне – (+++ – +++) – при концентраціях понад 10 мг %. В нормі може бути помутніння на (+). Реакція позитивна при гіпервітамінозі D, гіперпаратиреозі та при гіперкальціурії внаслідок мембранолізу клітин ниркової паренхіми;

д) принцип проби Бенедикта на редуковані цукри базується на редукційних властивостях альдегідної групи глюкози у лужному середовищі. Як окислювач використовують сірчаноокислу мідь, яка при відновлюванні дає забарвлений продукт. Стабілізатором є лимоннокислий натрій (або калій). При наявності цукру з'являється зелене, жовте або яскраво червоне забарвлення рідини з осадом на дні пробірки. При зеленому забарвленні без осаду – проба від'ємна. Проба стає позитивною при кількості глюкози більше 0,05 г %. При 0,05-0,5 г % глюкози – колір проби зелений, від 0,5-1,0 г % – жовто-зелений,

при 1,0 г % – жовтий, понад 2,0 г % – червоний. У нормі сеча містить мінімальні кількості глюкози (30-150 мг/добу або 0,16-0,83 ммоль/добу), які не виявляються звичайними якісними пробами.

Діагностичне значення: глюкозурії є ренальними (нирковий діабет, хронічний нефрит, синдром Фанконі – порушення реабсорбції в проксимальних канальцях нефронів) та екстраренальними (діабет, панкреатит, токсикози, гіпертермії, гіпертиреоз, феохромацитома) [23].

2. Проводилось визначення рівня екскреції креатиніну та глікозаміногліканів (ГАГів) у добовій сечі пацієнтів за методом Н.С. Лук'яненко, О.З. Гнатейка, 2012 [31].

Метод визначення екскреції з сечею Кр базується на утворенні хромогенного комплексу розчину пікринової кислоти з Кр в лужному середовищі, концентрація якого може бути виміряна у вагових одиницях. Норма екскреції Кр в сечі 0,5-2 г/добу або 4,4-17,6 ммоль/л.

Діагностичне значення: екскреція креатиніну з сечею збільшується при інтенсивній фізичній активності, гіпертермії, гострих інфекціях, а також при цукровому та нецукровому діабеті. Її зниження відзначається при захворюваннях паренхіми нирок, які вражають клубочковий апарат, при нирковій недостатності з нефросклерозом, а також при м'язовій атрофії та дистрофії [39].

3. Проводилось визначення рівня екскреції глікозаміногліканів (ГАГів) у добовій сечі пацієнтів за методом, модифікованим Н.С. Лук'яненко, О.З. Гнатейко, 2012 [31].

Метод визначення екскреції з сечею ГАГів базується на нефелометричному тесті з цетилперідініумхлоридом (ЦПХ). ЦПХ утворює з ГАГаами, які виділяються при рН 4,8, стійке дрібнодисперсне помутніння. Його інтенсивність можна виміряти і виразити в умовних одиницях ЦПХ – преципітації на грам Кр.

Діагностичне значення: ГАГи (кислі мукополісахариди) – є головним компонентом основної речовини сполучної тканини. З віком екскреція ГАГів

зменшується, досягаючи стабільного рівня до 20 років, тому отримані результати порівнюють з верхньою межею вікової норми. Якщо їх значення перевищує референтні показники, це свідчить про гіперекскрецію ГАГів, що характерно для процесів склерозування ниркової тканини [10], зокрема клубочкового апарату. Тест дає 5% псевдопозитивних результатів.

4. З метою встановлення склерозування сполучної тканини у паренхімі нирок, як результату впливу епігенетичних факторів на дитячий організм проводили визначення рівня екскреції оксипроліну з сечею за методом Юрьової Е. О., Дліна В. В. 2002 в модифікації Добрик О. О., Няньковського С. Л., Іськів М. Ю. 2014 [14].

Принцип методу: пептиди з оксипроліном, метаболіти колагену, які з'являються в сечі при його розпаді осаджуються 2% розчином сірчанокислої міді. Хід реакції: до 1 мл сечі додають 0,1 мл 2% розчину мідного купоросу. Оцінюють ступінь помутніння +, ++, +++, +++++, який залежить від кількості оксипроліну в сечі (рис. 2.1).

Діагностичне значення: оксипролін є маркером катаболізму колагену. Значне підвищення рівня оксипроліну в сечі у дітей вважається основним біохімічним маркером наявності НДСТ нирок або раннім маркером початку склерозування паренхіми нирок [23].

IV. З метою встановлення генетичних маркерів схильності до реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей проводили дослідження алельного поліморфізму генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази), як генів «модифікаторів» при мультифакторних захворюваннях [145, 207] та поліморфних локусів гена рецептора вітаміна D3 (*VDR-3*).

Молекулярно-генетичні методи дослідження передбачали використання наступних методів:

а) Метод висолювання для виділення та очищення ДНК із ядерних клітин крові [147].

б) Полімеразна ланцюгова реакція для ампліфікації геномних послідовностей [145].

- в) Метод рестрикційного аналізу для ідентифікації мутацій [145].
- г) Електрофоретичне фракціонування фрагментів ДНК [146].
- д) Горизонтальний електрофорез для аналізу тотальної ДНК та продуктів ПЛР [146].

ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері „Терцик”. Використовували олігонуклеотидні праймери („Fermentas”, Вільнюс, Литва), специфічні ендонуклеази рестрикції, набір реагентів для ампліфікації GenePak® PCR Core, що являє собою ліофілізовані сухі суміші, які містять інгібовану для “гарячого старту” Taq ДНК полімераза, дезоксинуклеозидтрифосфати і хлорид магнію з кінцевими концентраціями, відповідно, 1 ц, 200 мкМ і 2,5 мМ, а також оптимізовану буферну систему.

Специфічність продуктів ПЛР та аналіз рестриктних фрагментів проводили шляхом електрофорезу у 2 – 3% агарозному гелі. Електрофорез здійснювали 30-40 хвилин при напрузі 100 V. Електрофореграму сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі. Для визначення розмірів отриманих фрагментів отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин.

Рестриктні фрагменти аналізували в 3% агарозному гелі (рис. 2.2).

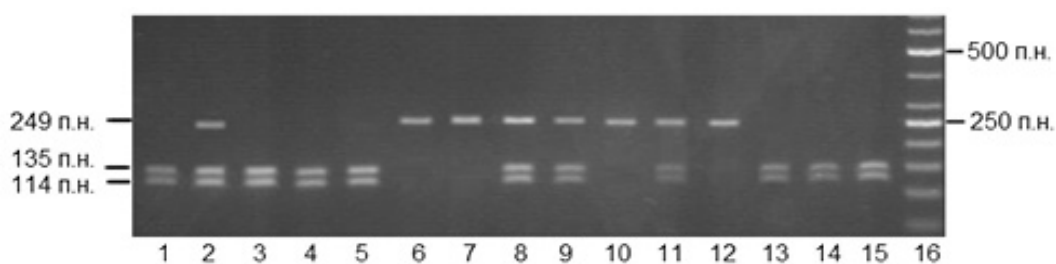


Рис. 2.2 – Електрофореграма розподілу рестрикційних фрагментів гена *IL-1β* Генотип *3953CC* – зразки 1, 2, 4, 5, 13–15; генотип *3953CT* – зразки 2, 8, 9, 11; генотип *3953TT* – зразки 6, 7, 10, 12; М — маркер молекулярної маси.

1. Молекулярно-генетичне дослідження алельного поліморфізму генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази), що приймають участь в II Фазі біотрансформації ксенобіотиків виконували за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [147].

Матеріалом для дослідження служила ДНК, виділена із лейкоцитів периферійної крові пацієнтів. Виділення та очистку ДНК проводили методом ферментативного розщеплення та подальшої фенольної екстракції або методом висолювання. Усі пацієнти були поінформовані про суть дослідження і дали згоду на проведення забору крові.

На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Поліморфні варіанти генів *GSTT1* і *GSTM1* визначали за допомогою мультиплексної ПЛР [147]. Аналіз продуктів ПЛР проводили шляхом електрофорезу у 2% агарозному гелі. Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і детектували розміри отриманих фрагментів.

Гомозиготне та гетерозиготне носійство функціональних алелів *GSTT1* "+" і *GSTM1* "+" детектували за наявністю на електрофореграмах продукту ампліфікації розміром 470 п.н. для *GSTT1* та 271 п.н. для *GSTM1*. Відсутність відповідного фрагменту вказувала на гомозиготність за делеційним варіантом *GSTT1* і/або *GSTM1*. В якості внутрішнього контролю використовували фрагмент гена альбуміну (330 п.н.).

3. Молекулярно-генетичне дослідження поліморфних локусів гена рецептора вітаміна D₃ (*VDR-3*) включало виділення та очищення ДНК із лейкоцитів периферійної крові шляхом ферментативного розщеплення та подальшої фенольної екстракції. За допомогою метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) здійснювали ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*. Для аналізу поліморфізму локусу Taq I гена *VDR-3* проводили 35 циклів ПЛР із наступними параметрами 94 оС 1хв, 60 оС 1хв, 72 оС 1хв із використанням у якості затравок наступних праймерів 5'-CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA -3' та 5'-GCA ACT CCT CAT GGC TGA GGT CTC-3'. Ампліфікований фрагмент ДНК обробляли рестриктазою Taq I (3 год. при 65 °С). У межах даного фрагменту ДНК існує два сайти рестрикції специфічні для Taq I. Один із них є постійним, а другий поліморфним. Тобто він може бути

присутнім або відсутнім в обидвох алелях (гомозиготний стан), чи індивід може бути гетерозиготою за даною ознакою. Власне цей поліморфний сайт вивчають у різних когортах пацієнтів із порушеннями кальцієвого обміну [44]. Після рестрикції на електрофореграмі при відсутності поліморфного сайту рестрикції візуалізуються фрагменти – 495 та 245 п.н. (генотип TT). При його наявності в обидвох алелях утворюються фрагменти ДНК 290, 245 та 205 п.н. (генотип tt). У гетерозиготних носіїв на електрофореграмі візуалізуються фрагменти 495, 290, 245 та 205 п.н. (генотип Tt). Аналіз поліморфізму довжин рестриктних фрагментів (ПДРФ) сайту Taq I гена *VDR* представлено на електрофореграмі (рис. 2.3).

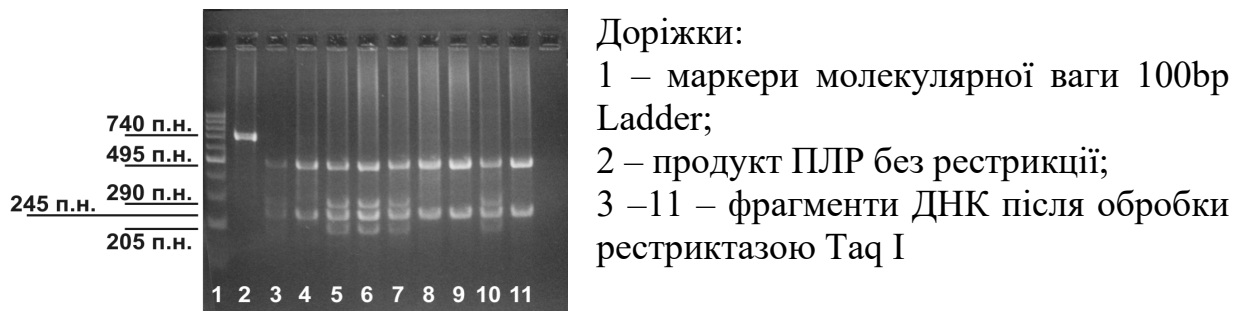
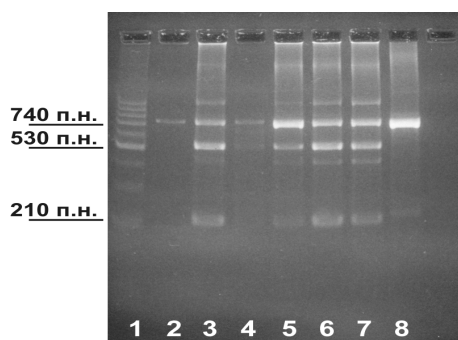


Рис. 2.3 – 3 % агарозний гель, ПДРФ – аналіз сайту TaqI гена *VDR*.

Для дослідження поліморфного локусу *ApaI* є необхідною ампліфікація відповідної ділянки інтрону 8 гена *VDR*. Внаслідок ампліфікації синтезували фрагмент ДНК величиною 740 п.н. Після перевірки специфічності проходження ПЛР проводили рестрикцію фрагмента відповідною ендонуклеазою *Apa I* при 37 °C протягом 16-18 годин. В межах синтезованого продукту є сайт рестрикції специфічний для ендонуклеази *Apa I*. При його відсутності на електрофореграмі візуалізується лише смуга величиною 740 п.н. (генотип зазначається AA). У гомозигот за присутністю сайту рестрикції утворюється два фрагменти ДНК 530 п.н. та 210 п.н. (генотип aa). У гетерозиготних носіїв візуалізуються усі три фрагменти 740, 530 та 210 п.н. (генотип Aa) [62]. Аналіз поліморфізму довжин рестриктних фрагментів (ПДРФ) сайту *Apa I* гена *VDR* представлено на електрофореграмі (рис. 2.4).



Доріжки:

- 1 – маркери молекулярної ваги 100bp Ladder;
- 2 – продукт ПЛР без рестрикції;
- 3–8 – фрагменти ДНК після обробки рестриктазою AclI.

Рис. 2.4 – 2% агарозний гель, ПДРФ – аналіз сайту AclI гена *VDR*.

Кров для дослідження брали з периферійної вени натще зранку. Сечу для дослідження збирали напередодні забору крові.

Дослідження біологічного матеріалу проведено з урахуванням основних положень Хельсинської декларації з біомедичних досліджень, в яких людина виступає їх об'єктом, Белтмонської доповіді та GCP ICH. Проведене дослідження передбачало дотримання принципу конфіденційності та поваги особистості дитини, як особи нездатної до самозахисту, врахування переваг користі над ризиком шкоди та інших етичних принципів у відношенні до людей, які виступають суб'єктами дослідження. Ми дотримувались концепції інформованої згоди: від батьків кожної дитини ми отримали дозвіл на дослідження, засвідчений особистим підписом.

Використані засоби вимірювальної техніки: термостат MC-80M-2, центрифуга лабораторна ЗУ4.2 (3000 об/хв.), рН-метр-мінівольтметр-151 та спектрофотометр СФ-26, вагу аналітичну ВЛА-200, холодильник «Snaige-117-2», рН-метр-мілівольтметр рН-150-МИ, термостат програмований «Терцик» ТП-4ПЦР-01, дозатори піпеткові одноканальні «Biohit Prolin», дозатор піпетковий «Фінпіпет» 0024, центрифуга ОПн-3.02 «Дастан».

2.3 Статистичні методи

Статистичну обробку клінічних та лабораторних показників здійснювали за загальноприйнятою методикою [41], використовуючи програмне забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4 .

Для перевірки нормальності розподілу розраховували критерій Шапіро-

Уілка. Кількісні дані із нормальним розподілом були представлені у вигляді середнього арифметичного та його похибки ($M \pm m$).

Частоту визначали за формулою:

$$q_{ai} = \frac{\sum x_{ai}}{N}, \quad (2.2)$$

тобто, це - питома вага статистичних одиниць, що володіють певною ознакою в загальному об'ємі сукупності [41].

Для перевірки значущості різниці між групами категорійних (якісних) ознак використовували таблиці частот (таблиці 2*2) та критерій χ^2 Пірсона. Відмінності між величинами встановлювали за допомогою t-критерію Стюдента. Різницю вважали достовірною при ймовірності нульової гіпотези (p) менше 5% ($p < 0,05$) [28].

При визначенні частота носійства генотипів/алелів здійснювали розрахунок відношення шансів та їх довірчі інтервали.

Проводили статистичну обробку результатів дослідження за наступними методиками:

1. Обчислювали середнє значення M , стандартну помилку середнього арифметичного m та значення коефіцієнта Стюдента t для кожного набору:

$$M = \frac{\sum x_i}{N}, \quad m = \pm \sqrt{\frac{\sum x_i}{N}}, \quad t = \frac{M}{m}, \quad (2.3)$$

де x_i – i -те значення набору; N – кількість значень в наборі.

Достовірність отриманих результатів за значеннями коефіцієнта Стюдента t та кількістю спостережень n в кожному наборі оцінювалось згідно з таблицями «Значення нормального інтеграла ймовірностей в межах $\pm t$ та «Площа кривої ймовірностей в межах $\pm t$ для малого об'єму сукупності».

Для кожного порівняння було знайдено ймовірність (p) того, що різниця є недостовірною. Ймовірність (p) для більшості наборів не перевищувала 0,05. Значення ймовірності p знаходили у таблиці «Значення нормального інтеграла ймовірностей в межах $\pm t$ » у відповідності з величиною коефіцієнта Стюдента. Коефіцієнт Стюдента t для середніх показників різниці знайдено

за формулами:

$$t = \frac{d}{md}, \quad d = (M_1 - M_2), \quad md = \sqrt{m_1 + m_2}, \quad (2.4)$$

де, M_1, M_2 – середні значення двох наборів; m_1, m_2 – помилки середнього арифметичного двох наборів.

Для порівняння відносних чисел частоти та розподілу і оцінки значимості різниці між ними застосовувався критерій Пірсона (χ^2):

$$\chi^2 = \frac{N(ad - bc)^2}{(a + b)(a + c)(b + d)(c + d)}, \quad (2.5)$$

де $N = a + b + c + d$.

Значення: a – наявність ефекту (+) у ряді x ; b – відсутність ефекту (–) у ряді x ; c – наявність ефекту (+) у ряді y ; d – відсутність ефекту (–) у ряді y .

Ймовірність p визначали за таблицею «Ймовірності p для критерію χ^2 ».

2. Підрахунок частоти генетичних та середовищних факторів у виникненні у дітей з м. Верховина, Бурштин, Городенка, Долина, Калуш і Снятин захворювань нирок та щитовидної залози та коефіцієнту успадкування схильності до цих захворювань проводився за моделями, запропонованими G. Edward's [93] та D. Falkoner [102], використовуючи інформацію про популяційну частоту цього захворювання: якщо частота патології в популяції – P , то частота хворих серед родичів (ризик появи захворювання) за моделлю J. Edwards та D. Falkoner – $\sqrt{P}$.

Відношення частоти досліджуваного результату в основній групі до частоти результату в контрольній групі оцінювали за допомогою величини відношення шансів OR (Odds Ratio) при довірчому інтервалі (CI), значення якої знаходили за формулою:

$$\frac{p_1/(1 - p_1)}{p_2/(1 - p_2)} = \frac{p_1/q_1}{p_2/q_2} = \frac{p_1q_2}{p_2q_1}, \quad (2.6)$$

де p_1 і p_2 – імовірність подій у кожній з вибірок, $q_x = (1 - p_x)$.

Відносний ризик (RR) розраховували за формулою:

$$RR = a/(a + b) : c/(c + d), \quad (2.7)$$

де a – наявність ефекту в ряді x ; b – відсутність ефекту $(-)$ в ряді x ;
 c – наявність ефекту $(+)$ в ряді y ; d – відсутність ефекту $(-)$ в ряді y .

Робота виконана на персональному комп'ютері в операційному середовищі Windows XP, за допомогою пакету програм Microsoft Office 10.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ КЛІНІКО-ГЕНЕТИЧНОГО ОБСТЕЖЕННЯ ДІТЕЙ З ДИЗМЕТАБОЛІЧНОЮ НЕФРОПАТІЄЮ

3.1 Аналіз даних анамнезу життя та стану здоров'я дітей з різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії

З метою аналізу даних клінічного обстеження дітей з дизметаболічною нефропатією і порівняння даних дітей з різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії, з числа обстежених дітей було сформовано дві групи обстежених: з дизметаболічною нефропатією і вторинною інфекцією сечовидільних шляхів: І група - 52 особи, в яких дизметаболічна нефропатія ускладнилась нашаруванням запального процесу нирок і сечовивідних шляхів – ускладнена ДН (І-УДН), їх обстеження проводилось в періоді стійкої (більше 3-х років) клініко-лабораторної ремісії запального процесу, та ІІ група – 56 дітей з неускладненим перебігом ДН (ІІ-ДН), в яких крім клінічних та ультразвукових проявів дизметаболічної нефропатії була тільки стійка оксалатно-фосфатна кристалурія, яка виявлялась лабораторно (разом 108 дітей). Контрольну групу склали 65 здорових дітей, дані про яких збирались під час експедиційних виїздів в райони Івано-Франківської області (ІІІ-Здорові-Контроль).

Розподіл обстежених пацієнтів за гендерними та віковими показниками представлений у таблиці 3.1 (Додаток В).

Наведені дані (табл. 3.1, Додаток В) вказують, що серед дітей обох груп переважали діти 12-17 років (48,08%; 53,58% відповідно), проте у ІІ групі таких дітей було достовірно більше, ніж в І гр. і в групі контролю (44,62%), отже чим старше була дитина, тим більш яскравіші в неї були прояви ДН.

У групі дітей з ускладненою дизметаболічною нефропатією достовірно переважали дівчатка (59,62% проти 48,21%, при контролі - 47,69%), тоді як серед дітей з кристалурією без запального процесу органів сечовидільної системи (ОСС) і серед здорових переважали хлопчики (51,79% та 52,31%).

Отже, серед дітей із схильністю до більш важкого перебігу ДН, було більше дівчаток, старших за 12-17 років, тобто вік і стать, в даній ситуації, виступали індукуючими факторами більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії в обстежених дітей.

Порівняння частоти скарг у дітей двох груп проводилось в періоді стихання запального процесу сечовидільної системи (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Частота скарг у дітей з дизметаболічною нефропатією різних ступенів
важкості перебігу**

Скарги:	Групи дітей:			
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Часті болі в животі	48	92,31*	26	46,43
Блідість	42	80,77*	18	32,14
Зниження апетиту	42	80,77*	37	66,07
Часті болі голови	38	73,08*	14	25,0
Швидка втомлюваність	38	73,08*	11	19,64
Відставання в масі тіла	8	15,38*	3	5,36
Дизуричні прояви	45	86,54*	29	51,79
Нічний енурез	13	25,00	18	32,14*
Пієлонефрит та інфекція органів сечовиділення в анамнезі дитини	52	100,00*	0	0,00
Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією та патологією сечовидільної системи	41	78,85	38	67,86
Зміни в аналізах сечі у вигляді стійкої кристалурії	52	100,00	56	100,00
Зміни при УЗД нирок у вигляді посилення ехо-сигналів від паренхіми нирок на етапі амбулаторного обстеження	52	100,00*	56	100,0

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії; $p_1 < 0,05$

Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що діти з ускладненою ДН очікувано достовірно частіше скаржились на часті болі в

животі (52,17% проти 46, 43%), блідість шкіри (80,77% проти 32,14%), зниження апетиту (у 80,77% дітей I групи та 66,07% дітей II групи), часті болі голови і швидка втомлюваність (73,08% проти 19,64%), тобто в дітей першої групи достовірно частіше спостерігались різноманітні скарги, які характерні для синдрому загальної неспецифічної інтоксикації.

Проте, наявність нічного енурезу достовірно частіше діагностувалась у дітей II групи (32,14%) ніж в дітей I групи (25,00%).

Звертає на себе увагу факт досить частого відставання в масі тіла у дітей з ускладненою ДН (15,38%), в той час як серед дітей другої групи цей показник не перевищував загальнопопуляційні дані.

Встановлена значна обтяженість генеалогічного анамнезу в родинах обстежуваних дітей за сечо- та жовчокам'яною хворобами, артропатіями та патологією сечовидільної системи. Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією та патологією сечовидільної системи виявлено у 41 (78,85 %) дітей I групи та 38 (67,86%) дітей II групи.

Скарги на характерну для ДН стійку кристалурію та специфічні ознаки дизметаболії при ультразвуковому дослідженні відмічались у всіх 100,0 % обстежених дітей двох груп.

Отже, при аналізі скарг в хворих дітей виявлений яскравий і різноманітний спектр скарг, який був достовірно більший в дітей з ускладненою ДН, незважаючи на те, що аналізувалась частота скарг в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу ОСС. В основному це були скарги, що характерні для синдрому загальної неспецифічної інтоксикації. В той же час у дітей з неускладненим перебігом ДН відмічалась більша частота нічного енурезу.

На наступному етапі роботи були проаналізовані клінічні прояви та результати ультразвукового обстеження нирок у дітей двох груп (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Клінічні та параклінічні дані обстежених дітей із різними
варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії**

Клінічні прояви:	Групи дітей:			
	I – УДН, N = 52		II-ДН, N = 56	
	n	%	n	%
Задовільний загальний стан:	52	100	56	100
Зниження маси тіла на 8-15%	8	15,38*	3	5,36
В'ялість, швидка втомлюваність в момент огляду	18	34,62*	11	19,64
Дискомфорт при сечовипусканні	17	36,69*	12	21,42
Блідість шкірних покривів	42	80,77*	18	32,14
Катаральні респіраторні прояви	0	0,00	0	0,00
Позитивний симптом Пастернацького	5	9,62*	0	0,00
Періорбітальний ціаноз	16	30,77*	8	14,29
Гіпертрофія мигдаликів	17	36,69*	9	16,07
Мікрополіаденіт	9	17,31*	3	5,36
Зниження маси тіла на 8-15%	8	15,38*	3	5,36
Наявність карієсу зубів	16	30,77*	9	16,07
Приглушеність тонів серця	11	21,15*	8	14,29
Нудота та біль при пальпації епігастрію	7	13,46*	2	3,57
Зміни при аускультатії легенів	0	0,00	0	0,00
Наявність вульвіту у дівчат/фімозу у хлопців	18	34,62*	3	5,36
Результати параклінічного обстеження:				
Лейкоцитурія	0	0,00	0	0,00
Еритроцитурія (більше 3-х свіжих елементів)	18	34,62*	5	8,93
Зниження рівня гемоглобіну в крові: 105 – 90 г/л	10	19,23*	2	1,08
Кристалурія: оксалатно-кальцієва та/або фосфатна і трипельфосфатна	44	84,62	49	87,50
	8	15,38	7	12,50
УЗД-ознаки дисметаболічної нефропатії	52	100,00*	53	94,64
УЗД-ознаки пієлоектазії	9	17,31*	4	7,14
УЗД-ознаки подвоєння нирок	3	5,77*	2	1,08

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії; $p_1 < 0,05$

Треба наголосити, що обстеження проводилось в момент стихання запального процесу сечовидільної системи у дітей I-ої групи з метою репрезентативності порівняння їх клінічного стану з даними дітей II-ої групи, в яких запального процесу не спостерігалось.

На час обстеження всі діти знаходились у задовільному стані. Проте, в переважної більшості дітей I-ої групи (80,77%) та в третини дітей II-ої групи (32,14%) відмічалась блідість шкірних покривів, а в кожній шостої дитини I-ої групи, відмічалось відставання у масі тіла від референтних показників на 8-15%, в той час, як таких дітей в другій групі було лише 3 (5,36%).

У дітей першої групи спостерігалися більш виразні клінічні прояви загальної неспецифічної інтоксикації: блідість шкірних покривів відмічалась у 2,51 разів частіше, ніж у дітей II-ї групи, в'ялість – в 1,8 разів частіше (34,62% проти 19,64%), періорбітальний ціаноз – у 2,2 разів частіше (30,77% проти 14,29% дітей II групи). Зниження маси тіла на 8-15% відмічалось в 2,87 разів частіше в дітей I групи в порівнянні з даними дітей II групи. Дискомфорт при сечовипусканні та наявність вульвіту/фімозу відмічалось більш, ніж у третини дітей I групи та лише в кожній п'ятій дитини II групи. Така значна частота вульвіту чи фімозу в хлопчиків, ймовірно пов'язана зі значним подразненням слизової зовнішніх статевих органів кристалами солей (табл. 3.3), оскільки в основної маси обстежених пацієнтів спостерігалась саме оксалатно-кальцієва та фосфатна кристалурія (84,62% дітей I гр та 87,50% дітей II гр.). Відомо, що найбільш гострі края є саме у оксалатних кристалів, тому вони і завдають більш значного механічного ушкодження слизової зовнішніх статевих органів.

Цікавим виявився факт значної частоти карієсу зубів у дітей обох груп (30,77% дітей I гр. та 16,07% дітей II гр.), що, ймовірно, пов'язано з порушенням обміну кальція в дитячому організмі, що й стало передумовою формування в них дизметаболічної нефропатії [35].

У кожній п'ятій дитини I групи діагностувалось зниження рівня гемоглобіну крові нижче референтних значень, в той час, як таких дітей практично не зустрічалось в II-й групі (19,23% проти 1,08%), що, ймовірно,

пов'язано з ушкодженням паренхіми нирок і, відповідно, із зниженням продукції еритропоєтину у дітей з ускладненим перебігом ДН, що вимагає доведення цього факту.

У третини дітей з ускладненим перебігом ДН відмічалась помірна еритроцитурія навіть в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу ОСС (34,62%), в той час, як у дітей II-ої групи вона спостерігалася тільки в кожного дев'ятого пацієнта (8,93%).

У всіх обстежених дітей обох груп за даними УЗД відмічались ознаки дизметаболічної нефропатії, пієлоектазії при УЗД візуалізувались у 17,31% дітей I гр. та 7,14% дітей II групи, ультразвукові ознаки подвоєння нирок візуалізувались у 3-х дітей I групи (5,77%) та у 2-х дітей II групи (1,08% обстежених), що вимагало проведення в подальшому рентгенологічного нефроурологічного обстеження.

Зважаючи на значну частоту відставання в масі тіла, особливо серед дітей I-ої групи, був визначений індекс маси тіла ($IMT = m(\text{кг}) : p(\text{м})^2$) та індекс Варги ($IV = \text{маса тіла}(\text{г}) : \text{зріст}(\text{см})^2 - \text{вік}(\text{роки}) : 100$ ($n \geq 1,5$)) цих дітей, для оцінки дефіциту маси тіла, результати наведені у таблиці 3.4 (Додаток В).

При визначенні антропометричних індексів в обстежуваних дітей виявилось відставання у фізичному розвитку у 17,31% і знижений індекс Варги у 15,38% дітей I групи, тобто в кожного 5-6 пацієнта цієї групи, а у дітей II групи індекс маси тіла був знижений тільки в 7,14 % дітей, що достовірно не відрізнялось від даних здорових дітей (6,15%). Отже, діти I групи достовірно частіше відставали у фізичному розвитку за даними антропометричних індексів, ніж діти II групи і здорові діти групи контролю.

Отже, узагальнюючи дані скарг, анамнезу та клінічного обстеження пацієнтів, можна зробити висновок, що у дітей з дизметаболічною нефропатією найчастіше відмічались явища загальної інтоксикації: їх турбували скарги на часті болі в животі (52,17% дітей I групи проти 46, 43% дітей II групи), блідість шкіри (80,77% проти 32,14%), зниження апетиту (у 80,77% дітей I групи та 66,07% дітей II групи), часті болі голови і швидка

втомлюваність (73,08% проти 19,64%). У I групі дітей частота всіх скарг та клінічних симптомів захворювання була вищою, що демонструє більшу клінічну важкість перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей I групи.

Встановлений факт досить частого відставання у масі тіла дітей з ускладненим запальним процесом ОСС перебігом ДН. Відставання у фізичному розвитку виявилось у 17,31% дітей I групи і знижений індекс Варги у 15,38% дітей I групи, в той час як у дітей II групи індекс маси тіла і індекс Варге (7,14 % дітей) достовірно не відрізнялось від даних здорових дітей (6,15%) і не перевищував загальнопопуляційні дані.

Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією та патологією сечовидільної системи виявлено в значній кількості обстежених дітей – у 41 (78,85 %) дітей I групи та 38 (67,86%) дітей II групи. Це вказує на високу значущість спадкових факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

Аналіз загального стану в момент обстеження дітей двох груп показав, що діти з ускладненою ДН очікувано достовірно частіше скаржились на часті болі в животі (52,17% проти 46, 43%), блідість шкіри (80,77% проти 32,14%), зниження апетиту (у 80,77% дітей I групи та 66,07% дітей II групи), часті болі голови і швидка втомлюваність (73,08% проти 19,64%), тобто в дітей першої групи достовірно частіше спостерігались різноманітні скарги, які характерні для синдрому загальної неспецифічної інтоксикації, незважаючи на те, що аналіз клінічного стану проводився у періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу ОСС.

Проте наявність нічного енурезу достовірно частіше діагностувалась у дітей II групи (32,14%) ніж в дітей I групи (25,00%).

Для встановлення факторів, що могли спричинити приєднання запального процесу сечовидільної системи і, таким чином, ускладнити перебіг дизметаболічної нефропатії в дітей I-ої групи, було поставлено за мету визначити епігенетичні фактори у патогенезі дизметаболічної нефропатії, що вплинули на варіант її перебігу у дітей двох груп порівняння.

3.2 Епігенетичні фактори у патогенезі дизметаболічної нефропатії у обстежених дітей

Не підлягає сумніву, що в таких фундаментальних загальнобіологічних процесах, як індивідуальний розвиток організмів, механізми експресії генів, еволюція патології людини й виникнення захворювань, важлива роль належить епігенетичній спадковій мінливості.

З метою вивчення можливих епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та ускладнення її інфекцією ОСС у дітей, було проаналізовано дані анамнезу та захворюваності 108 медичних карт історій хворіб та їх карток амбулаторних хворих (Ф.112/о) з дизметаболічною нефропатією і 65 амбулаторних карт здорових дітей контрольної групи, кожен з яких був додатково оглянутий вузькими спеціалістами різного профілю (ЛОР, гастроентеролог, невролог, окуліст). Дані систематизувались у журналі, де у кожному випадку відмічались дата народження дитини, її стать, маса тіла при народженні, характер вигодовування, час прорізування зубів, наявність ускладнень перебігу вагітності, група крові систем АВ0, резус-фактор, частота і важкість супутніх захворювань.

Для аналізу можливого впливу низької, чи, навпаки, надмірної ваги дитини при народженні у патогенезі ДН, дітей обох груп було розділено на підгрупи в залежності від маси тіла при народженні. Низькою вважали масу тіла менше, або рівну 2550 г, нижче середньої від 2551 до 3050 г, середньою - від 3051 до 3950 г і вище середньої - від 3951 г та більше. Результати аналізу наведені в таблиці 3.5 (Додаток В).

Аналіз табличних даних вказує на те, що в I групі дітей відмічалась достовірно більша частота низької, менше 2550 г, маса тіла при народженні у 5,77% обстежених (для порівняння – у дітей II групи та контролю низька маса тіла при народженні не зустрічалась взагалі), маса тіла нижче середнього відмічалась у 15,38% дітей I групи та 8,93% дітей II групи (проти 6,15% дітей групи контролю). Середня маса тіла при народженні відмічалась у достовірно меншій кількості дітей I групи (75,00%) у порівнянні з даними дітей II групи

(85,71%) та групи контролю (89,23%), тоді як маса при народженні вище середньої відмічалась приблизно в однаковій кількості дітей всіх трьох груп (у 3,85% дітей I групи, 5,36% дітей II групи при 4,62% дітей групи контролю).

Таким чином, простежується зв'язок між низькою масою тіла при народженні та розвитком в подальшому саме ускладненого запальним процесом ОСС перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей. Отже, маса тіла при народженні може виступати епігенетичним провокуючим фактором більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії.

Для з'ясування причин, які могли призвести до зниження маси тіла плода, були проаналізовані антенатальні епігенетичні фактори ризику формування патології (табл. 3.6) (Додаток В).

Аналіз табличних даних вказує на те, що матері дітей обох груп мали ускладнений перебіг вагітностей, за частотою ускладнень достовірно відрізняючись від даних матерів дітей групи контролю (табл. 3.6, Додаток В). Проте, аналіз частоти епігенетичних антенатальних факторів ризику формування патології в акушерському анамнезі дітей різних груп показав, що матері дітей I групи достовірно частіше страждали на анемію під час вагітності, ніж матері дітей II групи (практично втричі: 59,62% проти 16,93%, при контролі – 7,69%). Вони достовірно частіше мали клінічні прояви гестозу I-ої половини вагітності, практично вдвічі – 53,85% проти 28,57% матерів дітей II групи (в контролі – 15,38%) (табл. 3.6, Додаток В) та гестозу II половини вагітності - 26,92% проти 16,07% (контроль- 7,69%). Крім того, у матерів дітей I-ої групи вдвічі частіше спостерігалась загроза переривання вагітності на ранніх термінах – 15,83% проти 8,93% матерів дітей II групи, що не відрізнялось від даних групи контролю (табл. 3.6, Додаток Б). Отже, загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності та анемія вагітної можуть бути предикторними епігенетичними факторами схильності дітей як до формування в них дизметаболічної нефропатії, так і до приєднання до клінічної картини запального процесу органів сечовидільної системи в подальшому з провідним значенням саме

анемії матері та гестозу I половини вагітності. Ймовірно, ці стани призводять до гіпоксії плода, що й стає епігенетичним фактором у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

З метою встановлення ролі таких епігенетичних факторів формування патології в антенатальному періоді, як професійні шкідливості та захворювання батьків обстежуваних дітей, на здатність дітей до приєднання запального процесу ОСС у майбутньому, проведено порівняння їх частоти серед батьків дітей досліджуваних груп. Аналіз частоти різних професійних шкідливостей у батьків обстежених дітей представлено в таблиці 3.7.

У батьків дітей з дизметаболічною нефропатією обох груп частота контакту із професійними шкідливостями та захворюваність на хронічну обмінну патологію і захворювання внутрішніх органів була достовірно більша, ніж у батьків дітей групи контролю (табл. 3.7). Так, найбільш значущий достовірний вплив на плід у патогенезі ДН мали такі епігенетичні фактори, як вживання алкоголю та паління тютюну батьками (73,07% та 50,00% проти 24,62% в контролі), робота матері за комп'ютером (44,23% та 32,14% проти 6,15% в контролі) та наявність хронічних захворювань у матері (44,23% та 37,50% проти 15,38% матерів дітей групи контролю).

Частота контакту з промисловим пилом, промисловим шумом та важка фізична праця матері теж достовірно вищою була у батьків дітей з ДН (у 21, 15%, 23,07%, 23,07% батьків дітей I групи; у 17,86%, 19,64% та 17,86% батьків дітей II групи, що було значно вище, ніж у батьків групи контролю – у 10,77%, 6,15% та 13,85% батьків дітей відповідно).

Треба відмітити, що вплив на формування в дитини ДН таких епігенетичних факторів, як професійні шкідливості, шкідливі звички і наявність хронічної патології в матері був достовірно більшим в дітей I групи (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Професійні шкідливості у батьків дітей з дизметаболічною нефропатією
двох груп у порівнянні із даними здорових дітей*****

Професійна шкідливість та захворювання у батьків	Групи дітей:					
	I – УДН, N =52		II-ДН, N = 56		III- Здорові-Контроль, N = 65	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Контакт з хімічними сполуками	5	9,62*	5	8,93*	2	3,08
Контакт з промисловим пилом	11	21, 15*	10	17,86*	7	10,77
Вплив промислового шуму	12	23,07*, #	11	19,64*	4	6,15
Робота матері за комп'ютером	23	44,23*, #	18	32,14*	4	6,15
Вплив неіонізуючої радіації	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Вплив ультразвуку	5	9,62*	4	7,14*	0	0,00
Важка фізична праця матері	12	23,07*, #	10	17,86	9	13,85
Вплив вібрації	4	7,69*, #	0	0,00	0	0,00
Вживання алкоголю та тютюнопаління батьків	38	73,07*, #	28	50,00*	16	24,62
Хронічні захворювання в матері	23	44,23*, #	21	37,50*	10	15,38
Хронічні захворювання в батька	8	15,38*	8	14,29*	5	7,69

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

*** Примітка. У батьків однієї дитини може бути декілька проф. шкідливостей, захворювань та шкідливих звичок

Таким чином, є очевидним тератогенний вплив шкідливих звичок, професійних шкідливостей та захворювань матері на розвиток плода. Ці фактори стали передумовою схильності до дизметаболічної нефропатії вцілому і, особливо, до схильності дітей до ускладненого перебігу дизметаболічної нефропатії. У патогенезі дизметаболічної нефропатії у дитини найбільш значимими виявились вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом і шумом та важка фізична праця матері. Можна припустити, що в таких умовах плід зазнає впливу, який

призводить до внутрішньоутробної гіпоксії, яка стає основним епігенетичним чинником у патогенезі дизметаболічної нефропатії.

Порівняльний аналіз між результатами частоти шкідливих звичок, проф. шкідливостей та захворювань у матерів дітей з дизметаболічною нефропатією та здоровими дітьми наочно представлено на рисунку 3.1.

Відомо, що вигодовування дитини на першому році життя відіграє провідну роль у формуванні імунітету, оскільки молоко матері містить антитіла, створюючи пасивний імунний захист дитині від захворювань. Тобто характер вигодовування на першому році життя може виступати епігенетичним фактором формування будь-якої патології, в тому числі впливати на важкість перебігу дизметаболічної нефропатії. Аналіз характеру вигодовування на першому році життя у дітей з дизметаболічною нефропатією двох груп обстеження представлений у табл. 3.8 (Додаток В).

У групі контролю була тільки одна дитина, що з народження знаходилась виключно на штучному вигодовуванні (1,54%). У той же час, взагалі не отримували грудного вигодовування третина дітей І-ої групи (34,62%) та всього 5,36% дітей другої групи. Тільки до 3-х місяців грудьми вигодовувалась теж третина дітей І групи (32,69%) та однакова кількість дітей другої групи (8,93%) і групи контролю тільки (7,69%). На природному вигодовуванні до 6 місяців знаходилось 26,92% дітей І групи, 62,5% дітей ІІ групи та 58,46% дітей групи контролю. Отже $\frac{3}{4}$ обстежених дітей І групи або взагалі знаходились на штучному вигодовуванні, або отримували грудне вигодовування тільки до 3-х місяців.

Достовірної різниці між показником тривалості грудного вигодовування більше 6-ти місяців в дітей ІІ-ої групи і групи контролю не було (23,21% та 24,62% відповідно). Проте грудне вигодовування більше 6-ти місяців отримували лише 5,77% дітей І групи, 23,21% дітей ІІ групи та 24,62% дітей групи контролю, а тривалість вигодовування до 18 місяців відмічалось лише у здорових дітей (7,69%) та не відмічалось у дітей основних груп досліджування.

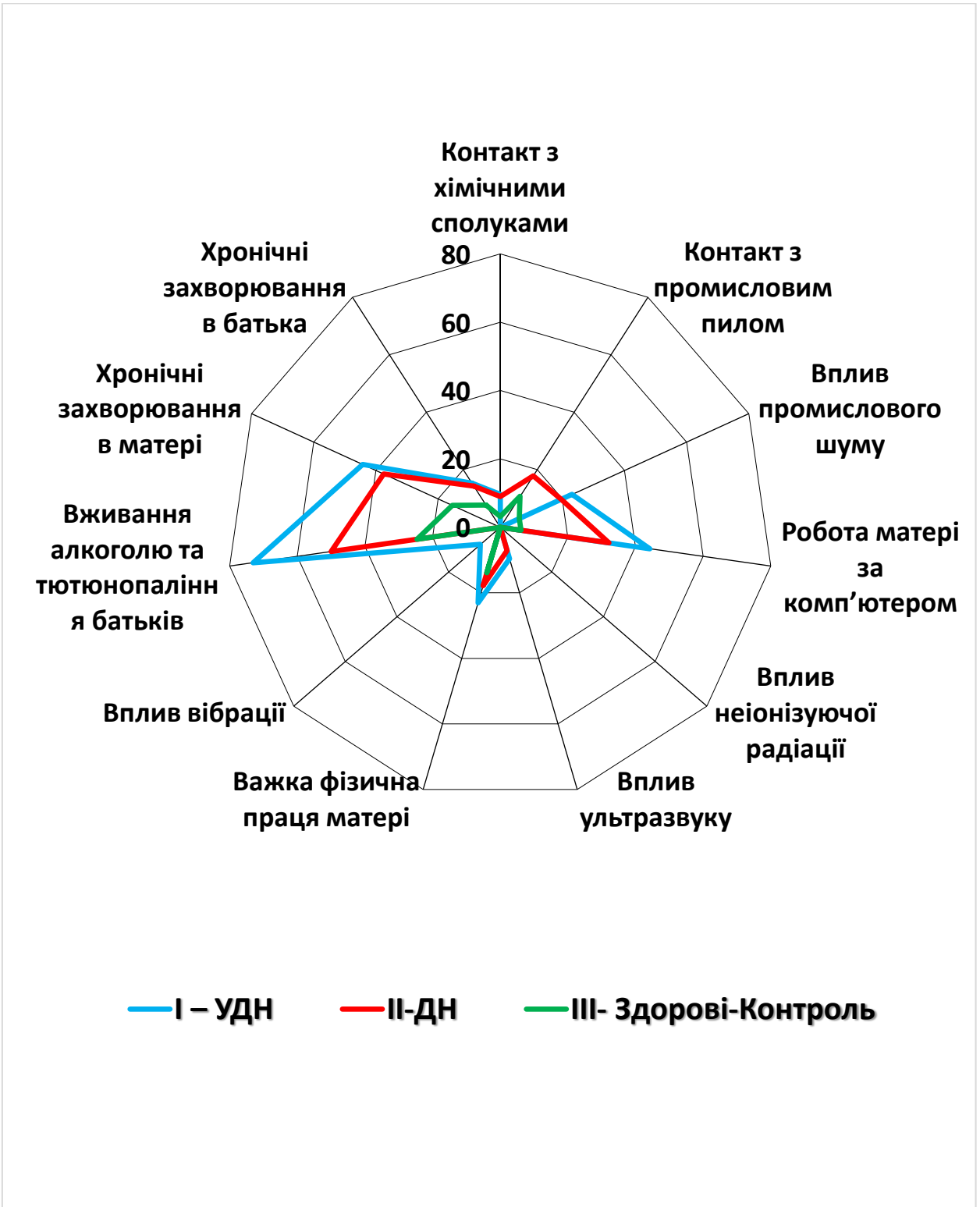


Рис. 3.1 – Частота шкідливих звичок, проф. шкідливостей та захворювань у матерів дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових дітей.

Отримані дані вказують на важливість природнього вигодовування у

патогенезі перебігу дизметаболічної нефропатії і приєднання запального процесу нирок в майбутньому, а його відсутність може бути епігенетичним фактором формування більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії у дитини.

Відмінності між даними дітей двох груп по тривалості грудного вигодовування наведено у таблиці 3.9 (Додаток В). Відомо, що крім раннього штучного вигодовування іншими постнатальними епігенетичними факторами ризику важкості перебігу захворювань майбутньому, можуть бути хвороби, на які страждала дитини на першому році життя. Була проаналізована частота таких можливих постнатальних епігенетичних факторів у дітей з різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Аналіз постнатальних епігенетичних факторів ризику формування патології у дітей з різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії

Неспецифічні фактори ризику:	Групи дітей:					
	I – УДН, N = 52		II-ДН, N = 56		III-Здорові-Контроль, N = 65	
	n	%	n	%	n	%
Низька маса тіла при народженні (2550-3000)	11	21,15*,#	5	8,93	4	6,15
Раннє штучне вигодовування	35	67,31*,#	8	14,28	9	13,85
Часті ГРЗ (більше 5 на рік)	37	71,15*,#	7	12,50	8	12,31
Атопічний дерматит у минулому	18	34,62*,#	4	7,14*	1	1,54
Жовтяниця новонароджених	21	40,38*,#	10	17,85*	9	13,85

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Дані таблиці 3.10 вказують, що на першому році життя значна кількість дітей I-ої групи знаходилась на ранньому штучному вигодовуванні (67,31% дітей), в той час, як в II-й групі таких дітей було тільки 14,28%, що достовірно не відрізнялось від даних здорових дітей – 13,85%.

Переважає більшість дітей I-ої групи (71,15%) більше 5 разів хворіли на гострі респіраторні захворювання протягом першого року життя, в той час, як часто хворівших дітей в II-й групі було стільки ж (12,50%) як в групі контролю

(12,3%), діти з ДН обох груп достовірно частіше мали прояви атопії, але в І-й групі таких дітей була третина всіх обстежених (34,62% дітей І-ої групи) проти 7,14% дітей групи порівняння, а в контролі - 1,53%, тобто в І-й групі дітей з проявами атопії на першому році життя було в 5 разів більше, ніж в ІІ групі (табл. 3.10). Дітей І групи з явищами фізіологічної жовтяниці новонароджених було 40,38%, в ІІ групі таких дітей було в 2,3 рази менше 17,85%, а в групі контролю - 13,85% дітей.

Таким чином, низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ в анамнезі раннього віку, атопічний діатез в анамнезі та фізіологічну жовтяницю новонароджених можна вважати вагомими постнатальними епігенетичними факторами на першому році життя, які в числі інших, спричинили більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії з приєднанням в наступному запального процесу ОСС.

Не викликає сумніву, що наявність деяких хронічних захворювань в дитини може провокувати виникнення вторинних реактивних порушень з боку внутрішніх органів та систем і, таким чином, виступати епігенетичними факторами, які, в кінцевому, й визначають якість життя й прогноз здоров'я пацієнта. Аналіз супутньої для дизметаболічної нефропатії патології за даними анамнезу, що були зафіксованих у ф. 112/о в обстежених дітей поданий в таблиці 3.11.

Аналіз табличних даних показав, що у переважної більшості дітей із ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії була наявна супутня патологія, в той час, як у дітей ІІ-ої групи теж діагностувалась супутня патологія, але відсоток дітей, які її мали був незначний, а за деякими нозологіями (хронічний холецистит, часті ГРЗ та зоб ІІ ступеню) частота не відрізнялась від даних групи контролю (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Супутня патологія у дітей з різним за важкістю перебігом
дизметаболічної нефропатії**

Виявлені захворювання:	Частота виявленої патології (%) в групах дітей:					
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56		III-Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Хронічний тонзиліт	21	40,38*,#	12	21,43*	3	4,62
Карієс зубів	18	34,62*,#	9	16,07*	0	0,00
Хронічний гастрит	12	23,08*,#	6	10,71*	0	0,00
Хронічний холецистит	6	11,54*,#	1	1,79	0	0,00
Функціональні розлади жовчовив. шляхів за гіпокінетичним типом	12	23,08*,#	7	12,50*	3	4,62
Часто хворіюча дитина (більше 5 разів за рік)	37	71,15*,#	7	12,50	8	12,31
Пієлонефрит та інфекція органів сечовиділення в анамнезі дитини	52	100,00*,#	0	0,00	0	0,00
Нічний енурез	13	25,00*	18	32,14*,#	3	4,62
Гіпоплазія емалі зубів I-II ст.	14	26,92*	15	26,79*	0	0,00
Атопічний дерматит	12	23,08*,#	4	7,14*	0	0,00
Зоб I ст.	8	15,38*,#	4	7,14*	2	3,08
Зоб II ст.	4	7,69*,#	0	0,00	0	0,00
Патологія ЦНС: вегетосудинна дистонія за гіпотонічним типом	7	13,46*,#	3	5,36*	1	1,54

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Цікавим виявився факт однакової частоти гіпоплазії емалі зубів I-II ст. в дітей обох груп спостереження (26,92% та 26,79% відповідно). Ймовірно, така досить висока і однакова частота ураження емалі зубів у дітей не залежно від важкості перебігу дизметаболічної нефропатії, пов'язана із порушенням кальцієвого обміну в патогенезі дизметаболічної нефропатії, що потребує подальшого доведення.

Діти I-ої групи достовірно частіше страждали на хронічні бактеріальні і

вірусні захворювання, такі, як хронічний тонзиліт (40,38% проти 21,43% при контрольних даних – 4,62%), карієс зубів (34,62% проти 16,07% при контрольних даних – 0,00%), хронічна інфекція ОСС (40,38% проти 21,43% при контрольних даних – 4,62%), часті ГРЗ (100,0% проти 0,00% при контрольних даних – 0,00%), хронічний гастрит (23,08% проти 10,71% при контрольних даних – 0,00%) та хронічний холецистит (11,54% проти 1,79% при контрольних даних – 0,00%), що може вказувати на суттєву роль супутньої бактеріальної і вірусної патології, як епігенетичних чинників патогенезі дизметаболічної нефропатії.

Діти I-ої групи достовірно частіше мали явища atopії (23,08% проти 7,14% при контрольних даних – 0,00%), зоб I-II ступенів (15,38% проти 7,14% при контрольних даних – 3,08%) та вегето-судинну дистонію за гіпокінетичним типом (13,46% проти 5,36% при контрольних даних – 1,54%).

Отже, наявність і кількість супутньої для дизметаболічної нефропатії патології виступає потужним епігенетичним фактором не тільки схильності дитини до ДН, але й важкості її перебігу.

Таким чином, аналіз епігенетичних антенатальних факторів, які відігравали суттєву роль у патогенезі формування і важкості перебігу в подальшому дизметаболічної нефропатії у дітей, показав, що найбільш значущими пренатальними факторами були загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом і шумом та важка фізична праця матері, які призводять до гіпоксії плода.

Найбільш вагомими постнатальними епігенетичними факторами, які впливали на схильність дітей до більш важкого перебігу ДН з нашаруванням запального процесу ОСС на першому році життя дитини були низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ, atopічний діатез та фізіологічна жовтяниця, а в подальшому житті - наявність супутніх

захворювань, таких як хронічний тонзиліт, карієс зубів, часті ГРЗ, хронічний гастрит, атопія та хронічний холецистит, що, в кінцевому результаті, мало вагомий вплив на фізичний розвиток цих дітей з відставання значного відсотку їх у фізичному розвитку та стало суттєвими епігенетичними чинниками у патогенезі формування дизметаболічної нефропатії у дітей та більш важкого її перебігу.

Діагностована досить висока частота (в кожній четвертій дитини) гіпоплазії емалі зубів не залежно від важкості перебігу дизметаболічної нефропатії, що пов'язано із особливостями кальцієвого обміну в патогенезі цієї патології.

3.3 Аналіз даних генеалогічного анамнезу дітей з різною важкістю перебігу дизметаболічної нефропатії

Підрахунок частки генетичних та середовищних факторів у виникненні в дітей захворювань мультифакторного генезу проводять за моделлю, запропонованою Г. Едвардсом [93], а коефіцієнту успадкування схильності до цих захворювань за моделлю Фальконера [102].

Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією відмічено в 79 (73,15%) обстеженого: у 41 дитини I групи (78,85%) та у 38 дитини (67,86%) – II-ої. Це вказує на високу значущість спадкових факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

З метою уточнення значення спадкових факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та важкості її перебігу у дітей були вивчені дані генеалогічного анамнезу 108 сімей. Дані зібрано про 1076 родичів I–II–III ступеню спорідненості.

Для порівняння даних генеалогічного анамнезу дітей з ДН з даними здорових дітей групи контролю, в 40 сім'ях здорових дітей зібраний генеалогічний анамнез, вони склали загальнопопуляційну групу контролю, дані зібрано про 676 родичів.

З метою оцінки даних генеалогічного анамнезу, аналізувалась кількість

родичів кожного ступеню спорідненості, хворих на обмінну патологію (сечокам'яна, жовчекам'яна хвороби, подагра), як в сім'ях дітей з ДН, так і в сім'ях дітей групи контролю (табл. 3.12, Додаток В).

Наведені дані переконливо демонструють високу частоту обмінної патології серед родичів I ст. спорідненості дітей з ДН, що було достовірно більш виражено для їх сібсів (18,42% та 16,66% відповідно по групах, при даних групи контролю – 4,76%) (рис. 3.2).

Результати аналізу генеалогічних даних, показали, що сімейний анамнез дітей з дизметаболічною нефропатією був досить потужно обтяжений обмінною патологією, яка є подальшим розвитком дизметаболічної нефропатії в катамнезі дорослих.

Так, частота обмінної патології серед родичів I ст. спорідненості дітей з ДН склала приблизно однакову частоту (18,26% та 15,38%), що була близько в 5 разів вище від аналогічної частоти у родичів дітей групи контролю (3,96%). У сібсів дітей з ДН частота обмінної патології була високою, особливо у дітей з ускладненим перебігом ДН, що склало 18,42% проти 16,66% родичів дітей II-ої групи, а в контролі – 4,76% (табл. 3.12, Додаток В). Цей факт вказує на те, що в генезі дизметаболічної нефропатії у дітей дуже значну роль відіграє обтяженість генетичного анамнезу за обмінною патологією, вона розвивається швидше у тих дітей, в яких генеалогічний анамнез більш суттєво обтяжений за цією патологією, особливо, якщо хворіють батьки чи рідний сибс (табл. 3.12, Додаток В), тобто такі діти складають групу ризику по виникненню в них дизметаболічної нефропатії.

З боку родичів II ступеня спорідненості генеалогічний анамнез був теж достовірно, в чотири рази більше обтяжений за обмінною патологією: у дітей I-ої групи - 6,47%, II-ої групи - 6,09% при показнику в контролі - 2,83%.

Генеалогічний анамнез дітей з ДН був в два рази більше обтяжений і для родичів III ступеню спорідненості: 2,30% і 2,34% відповідно у двох групах, ніж у родичів дітей групи контролю - 0,90%.

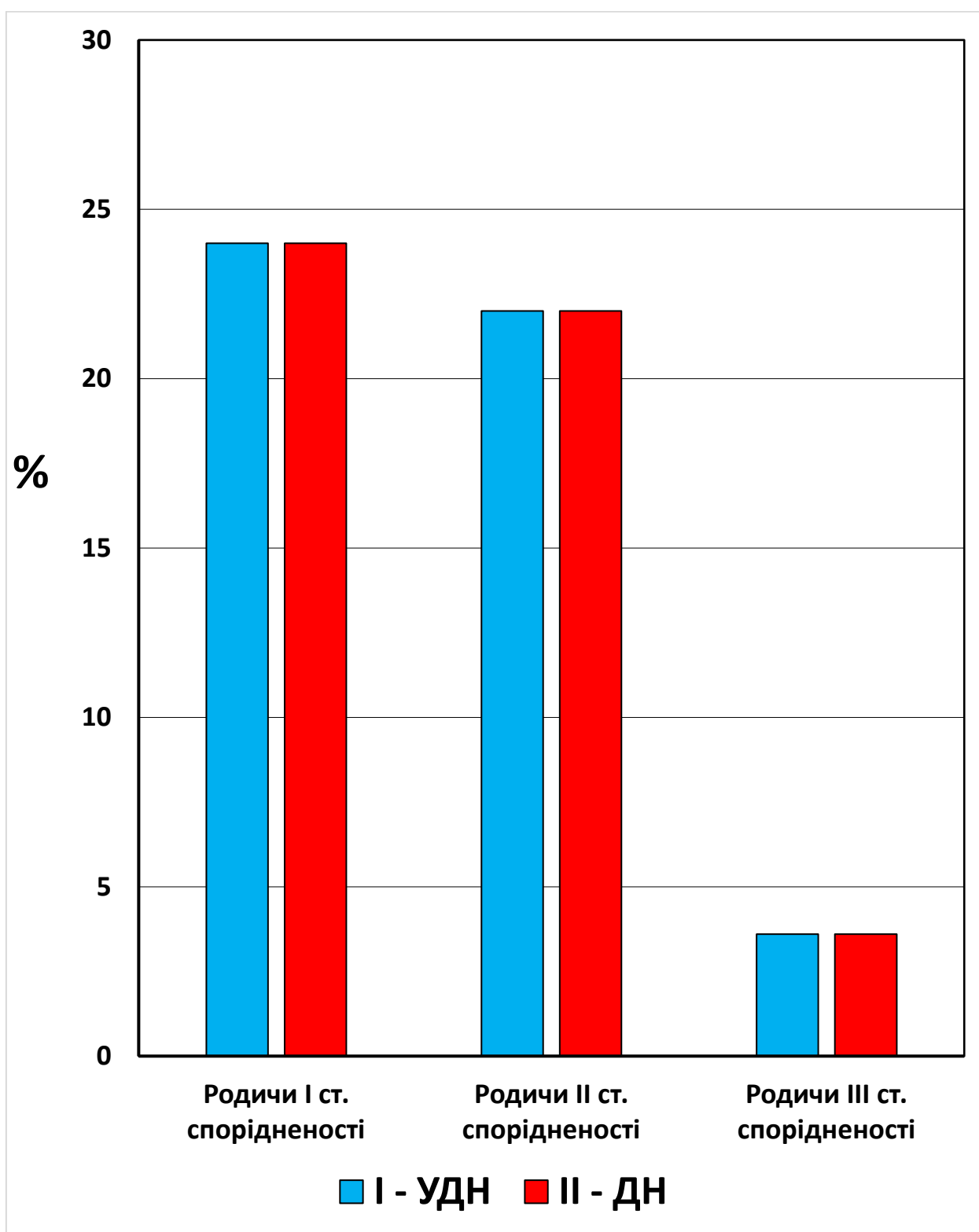


Рис. 3.2 – Частота обмінної патології серед родичів I, II та III ст. спорідненості дітей з ДН.

Аналіз захворюваності серед сибсів, хворих на дизметаболічну

нефропатію і здорових пробандів показав, що у 18,42% сибсів дітей з ускладненим перебігом ДН і у 16,66% дітей з неускладненою ДН була теж діагностовано ДН, у той час, як в контрольній групі дітей був тільки 1 сибс, хворий на ДН, що склало 4,76% (табл. 3.13, (Додаток В)).

Тобто, ризик виникнення ДН для рідних сибсів дітей з ДН збільшується в 3,7 - 3,5 раза у порівнянні із ризиком для сибсів здорових дітей.

Отже, аналіз генеалогічного анамнезу у дітей з ДН та контрольної групи показав високий ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у дітей, родичі яких мали захворювання на обмінну патологію, особливо, якщо це були родичі I ступеню спорідненості – рідні сибси.

Підрахунок частки генетичних та середовищних факторів у виникненні в дітей захворювань мультифакторного генезу, до якої належить дизметаболічна нефропатія проводять за моделлю, запропонованою G. Edward's та G. Smith, використовуючи інформацію про популяційну частоту цього захворювання: якщо частота патології в популяції – p , то частота хворих серед родичів (ризик появи захворювання) за моделлю G. Edward's та G. Smith's – $\sqrt{p}$ [93]

Слід зазначити, що специфічний генетичний ризик до 5,0% прийнято вважати низьким, від 5,0 до 10,0% – легкого ступеня, від 10,0 до 20,0% – середнім і понад 20,0% – високим [13, 93].

Популяційна частота ДН мультифакторного генезу за нашими даними становить 3,11%, тобто $p = 0,031$. Таким чином, ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у дитини з родини, де є одна здорова дитина, відповідно становить $\sqrt{0,0311} = 0,176$ або 17,6%, тобто є середньою .

На обмінну патологію в сім'ях дітей з ускладненим перебігом ДН страждали 6,47% родичів, а в сім'ях дітей з неускладненим перебігом ДН - 7,92% родичів (табл. 3.12).

Наведені дані вказують на високу частоту метаболічної патології серед родичів дітей з ДН, що було більш виражено для родичів I ст. спорідненості,

особливо для рідних сибсів (18,42% та 16,86% відповідно по групах).

Якщо розходження частот дизметаболічної нефропатії, що очікуються та спостерігаються, пояснюється впливом середовищних факторів, то частка спадковості у розвитку ДН в сім'ях дітей з ускладненим перебігом ДН за моделлю G. Edward's буде складати $= (6,47 \cdot 100) : 17,6 = 36,76\%$, а в групі дітей з неускладненим перебігом ДН $= (8,59 \cdot 100) : 17,6 = 48,81\%$. Тобто в генезі дизметаболічної нефропатії за моделлю G. Edward's та G. Smith's дуже важливу роль (36,76% та 48,81% відповідно до груп спостереження) відіграє обтяженість генеалогічного анамнезу за обмінною патологією.

Середовищні фактори відіграють у патогенезі дизметаболічної нефропатії, за підрахунками методом G. Edward's та G. Smith's вагому роль - відповідно 63,24% та 51,18%. До середовищних факторів можна віднести дієту, обсяг пиття, умови проживання і вплив ксенобіотиків на дитину.

Отже, підрахунок генетичної та середовищної компоненти у патогенезі дизметаболічної нефропатії дозволяє зробити висновок про те, що генетична компонента відіграє суттєву, в 2-3 більшу за загальнопопуляційну, роль незалежно від того, чи ускладнився перебіг дизметаболічної нефропатії запальним процесом органів сечовидільної системи, чи ні.

Таким чином, можна стверджувати, що у разі наявності в сім'ї дитини з дизметаболічною нефропатією чи родича з обмінною патологією, ризик виникнення ДН у другій дитини за моделлю G. Edward's та G. Smith's дуже високий – 36,76% та 48,81%. Цей ризик стає в 3,5 разів більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс. Отримані підрахунки достовірно вказують на важливу роль генетичної компоненти в патогенезі дизметаболічної нефропатії (рис. 3.3).

Коефіцієнт успадкування схильності до мультифакторної патології, до якої відноситься дизметаболічна нефропатія, прийнято вираховувати за методом, запропонованим D. Falconer [102].

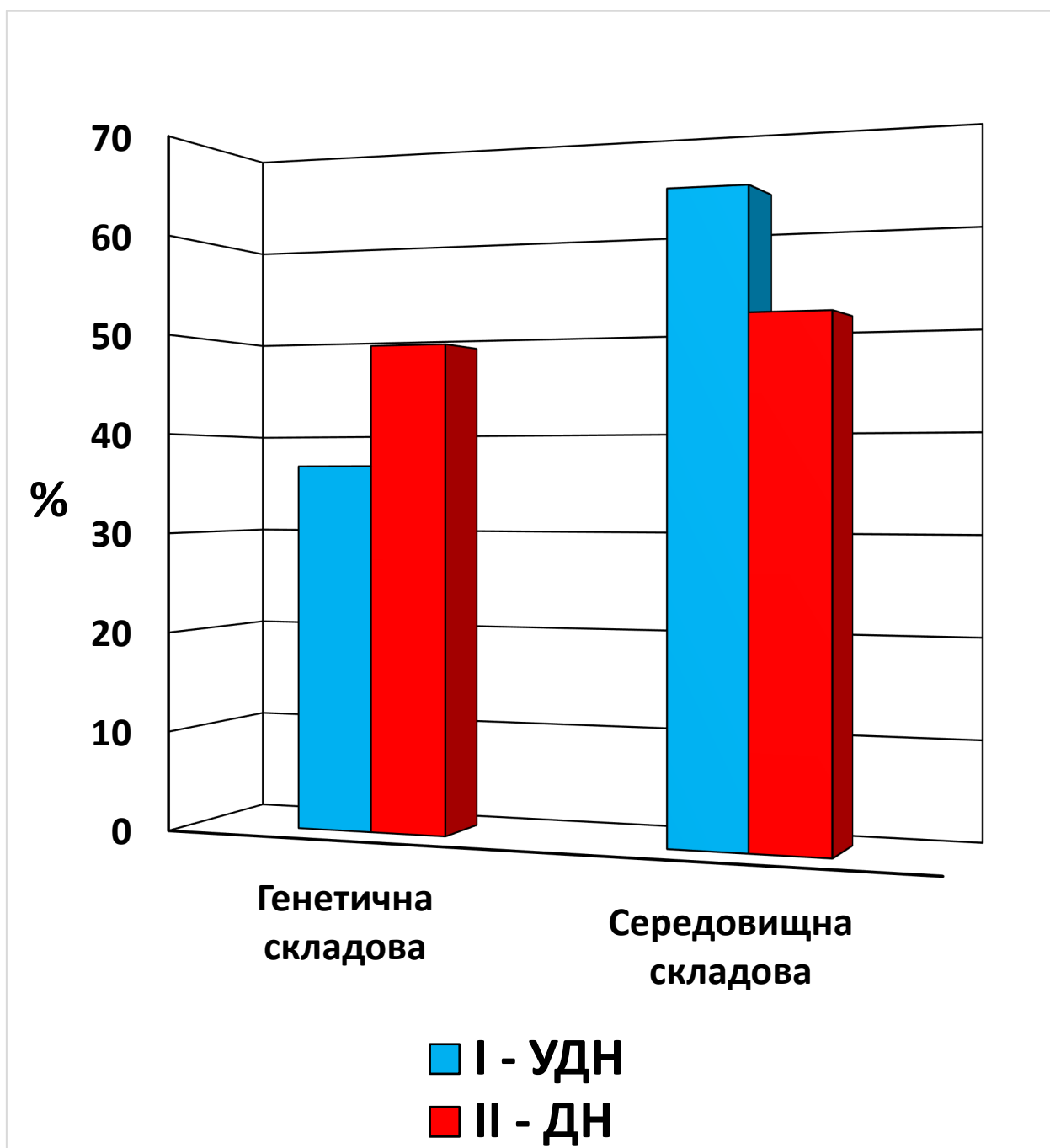


Рис. 3.3 – Ризик виникнення ДН у другої дитини за моделлю G. Edward's та G. Smith's.

Величину схильності (h^2) дітей до захворювання визначають за коефіцієнтом регресії (b) дітей по пробанду.

Коефіцієнт регресії знаходиться за формулою:

$$b = (X_{\text{кон.}} - X_{\text{гр.}})/a, \quad (3.1)$$

де $X_{\text{кон.}}$ – середнє значення готовності до захворювання в контролі у здорових дітей, $X_{\text{гр.}}$ – середнє значення готовності до захворювання в групах родичів хворих дітей, a – відхилення, що відповідає частоті хворих родичів (q).

Значення $X_{\text{кон.}}$, $X_{\text{гр.}}$ та a знаходиться з таблиць D. Falconer [102].

Взаємовідношення між регресією та коефіцієнтом успадкування схильності до захворювання виражається за формулою:

$$h^2 = b/r, \quad (3.2)$$

де r – ступінь спорідненості.

Для родичів I ступеню спорідненості коефіцієнт спорідненості за моделлю D. Falconer складає 1/2, для родичів II ступеню спорідненості – 1/4 та для родичів III ступеню спорідненості – 1/8.

Підрахунок коефіцієнту успадкування схильності до ДН родичів дітей з різним типом її перебігу за моделлю D. Falconer представлено у таблиці 3.14. Він показав, що для родичів хворих дітей I ступеню спорідненості ризик захворіти на ДН був дуже високим – 24% та 22% і не залежав від того хто саме хворий – батьки чи сибси і від віріанту перебігу ДН, ускладненого чи ні. Це узгоджується і з розрахунками долі генетичної компоненти у генезі нефропатій для рідних сібсів за моделлю G. Edward's та G. Smith. (табл. 3.14).

Ризик захворіти на дизметаболічну нефропатію для родичів II ступеню спорідненості хворих на ДН дітей теж був достатньо високим – 20,9%, Для родичів дітей з ДН III ст. спорідненості ризик виникнення нефропатій не відрізняється від середньо популяційного – 3,6%.

Таблиця 3.14

**Оцінка коефіцієнту успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії
в сім'ях пробандів з різним типом її перебігу**

Розподіл родичів за ст. спорідн.	А к-сть хвор.	N к-сть всього	q, ч-та	за Falconer's				
				1- q	x	a	b	h ²
Родичі I ст. спорідненості дітей з УДН, n =52								
Всього	19	104	0,18	0,82	2,911	3,201	0,12	24,0%
в т.ч. батьки	12	66	0,18	0,82	2,911	3,201	0,12	24,0%
в т.ч. сібси	7	38	0,18	0,82	2,911	3,201	0,12	24,0%
Родичі I ст. дітей з ДН, n = 56								
Всього	24	156	0,15	0,85	2,968	0,82	0,11	22,0%
в т.ч. батьки	15	102	0,15	0,85	2,968	0,82	0,11	22,0%
в т.ч. сібси	9	54	0,17	0,83	2,929	0,82	0,11	22,0%
Родичі I ст. спорідненості дітей контрольної групи, n = 65								
Всього	4	101	0,04	0,96	3,353	3,613		
в т.ч. батьки	3	80	0,04	0,96	3,353	3,613		
в т.ч. сібси	1	21	0,05	0,95	3,291	3,554		
Родичі II ст. спорідненості								
I – УДН	9	139	0,06	0,94	3,239	3,507	0,209	20,9%
II-ДН	7	115	0,06	0,94	3,239	3,507	0,209	20,9%
III- Здорові- Контроль	16	564	0,03	0,97	3,432	3,687		
Родичі III ст. спорідненості								
I – УДН	9	391	0,02	0,98	3,540	3,790	0,045	3,6%
II-ДН	4	171	0,02	0,98	3,540	3,790	0,045	3,6%
III- Здорові- Контроль	1	111	0,01	0,99	3,719	3,960		

Таким чином, узагальнюючи результати вивчення даних генеалогічного анамнезу дітей з дизметаболічною нефропатією можна сказати, що обтяженість спадкового анамнезу відіграє суттєву роль у патогенезі дизметаболічної нефропатії: у хворих дітей з ДН, незалежно від варіанту перебігу патології, значна кількість родичів також страждала на дизметаболічні захворювання – 6,47% та 7,92%, і в основному це були родичі I ступеню спорідненості – батьки – 18,18% та 14,71% відповідно до груп і рідні сибси – 18,42% і 16,66% відповідно. Ризик розвитку дизметаболічної нефропатії для сібсів з хворих на ДН дітей збільшується в 3,5 разів, якщо він має хворого нефропатією рідного брата або сестру.

Частка генетичної компоненти у патогенезі дизметаболічної нефропатії за моделлю G. Edward's & G. Smith була досить високою - у разі наявності в сім'ї дитини з ДН, ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у другій дитини за моделлю G. Edward's & G. Smith перевищувала максимальні 20% і складала для родичів дітей з ускладненим перебігом ДН 36,76%, а з неускладненим була, навіть, вище і складала 48,81%. Ризик формування нефропатій у інших дітей в сім'ї, де одна дитина страждає на дизметаболічну нефропатію зростає в 3,7-3,5 разів в порівнянні з середньо популяційним ризиком для даної патології. Частка впливу факторів зовнішнього середовища в патогенезі ДН, відповідно, склали 63,24% та 51,18%. Це необхідно враховувати при підрахунку ризику виникнення дизметаболічної нефропатії в родині хворих на цю патологію дітей.

Підрахунок коефіцієнту успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії за методом, запропонованим D. Falconer у дітей з різним типом її перебігу встановив дуже високий ризик успадкування схильності до дизметаболії для родичів I та II ступенів спорідненості, що перевищував максимальний – для родичів I ст. дітей з ДН – 24,0% і для родичів II ст. - 20,9%, незалежно від варіанту перебігу ДН.

Для родичів III ступеню спорідненості коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії за методом D. Falconer був не

суттєвим і не перевищував середньо популяційного значення – 3,6% не залежно від варіанту перебігу нефропатії. Тобто істотне значення спадкових факторів за моделлю D. Falconer відзначається у формуванні ДН тільки для рідних I-II ступенів спорідненості хворих на нефропатію дітей, в них з вірогідністю в 24% може розвинутиись дизметаболічна нефропатія.

З другого боку, можна сказати, що частка генетичних і середовищних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії є приблизно однаковою (50-40%) і при усуненні впливу негативних впливів зовнішнього середовища, дотримання антиоксалатної дієти і рясного пиття, налагодження здорової екології проживання, ризик реалізації дизметаболічної нефропатії може бути значно і суттєво нижчим.

Таким чином, дослідження генетичних і епігенетичних механізмів у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей та їх схильності до цієї патології, дозволяють розробити обґрунтовані способи прогнозування і профілактики її маніфестації, особливо у дітей, які зазнають впливу численних епігенетичних факторів.

Дані розділу висвітлені в наступних працях здобувача:

[59], [60].

Розділ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ЕПІГЕНЕТИЧНИХ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ СХИЛЬНОСТІ ДО ДИЗМЕТАБОЛІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ

4.1 Лабораторна верифікація клінічного діагнозу дизметаболічної нефропатії у обстежених дітей

У результаті вивчення анамнезу, в тому числі генеалогічного, медичної документації, огляду спеціалістами різного профілю (педіатр, нефролог, гастроентеролог, ендокринолог, імунолог) та ультразвукової діагностики дітям був встановлений клінічний діагноз дизметаболічної нефропатії.

Доцільним було верифікувати цей клінічний діагноз лабораторно, а саме за допомогою дослідження антикристалоутворюючої здатності сечі до оксалатів та фосфатів кальцію та визначення добової екскреції солей.

До показників, що підтверджують діагноз дизметаболічної нефропатії відносяться тести на антикристалутворючу здатність сечі (АКЗС) та добову екскрецію солей з сечею [31].

Результати дослідження антикристалутворюючої здатності сечі обстежених дітей наведені у табл. 4.1 (Додаток Д).

Аналіз табличних даних показав, що антикристалутворюча здатність сечі (АКЗС) до оксалатів кальцію була достовірно знижена у всіх обстежених дітей обох груп з тенденцією до більш значного зниження у дітей з обтяженим перебігом ДН ($0,66 \pm 0,06$ ум.од. та $0,53 \pm 0,06$ ум.од. при референтному значенні $0,08 \pm 0,03$ ум.од.). Аналогічні дані отримані й за результатами дослідження АКЗС до фосфатів кальцію – вона була достовірно знижена практично у всіх дітей обох груп, достовірно не відрізняючись між собою ($0,45 \pm 0,09$ ум.од. та $0,45 \pm 0,05$ ум.од. при даних здорових дітей $0,05 \pm 0,01$ ум.од.). Переважна більшість обстежених дітей (87,55% та 80,77%) мала достовірно знижену АКЗС до трипельфосфатів ($0,43 \pm 0,09$ ум.од. і $0,45 \pm 0,05$ ум.од при контролі $0,02 \pm 0,01$ ум. од., (табл. 4.1 (Додаток Д), рис. 4.1).

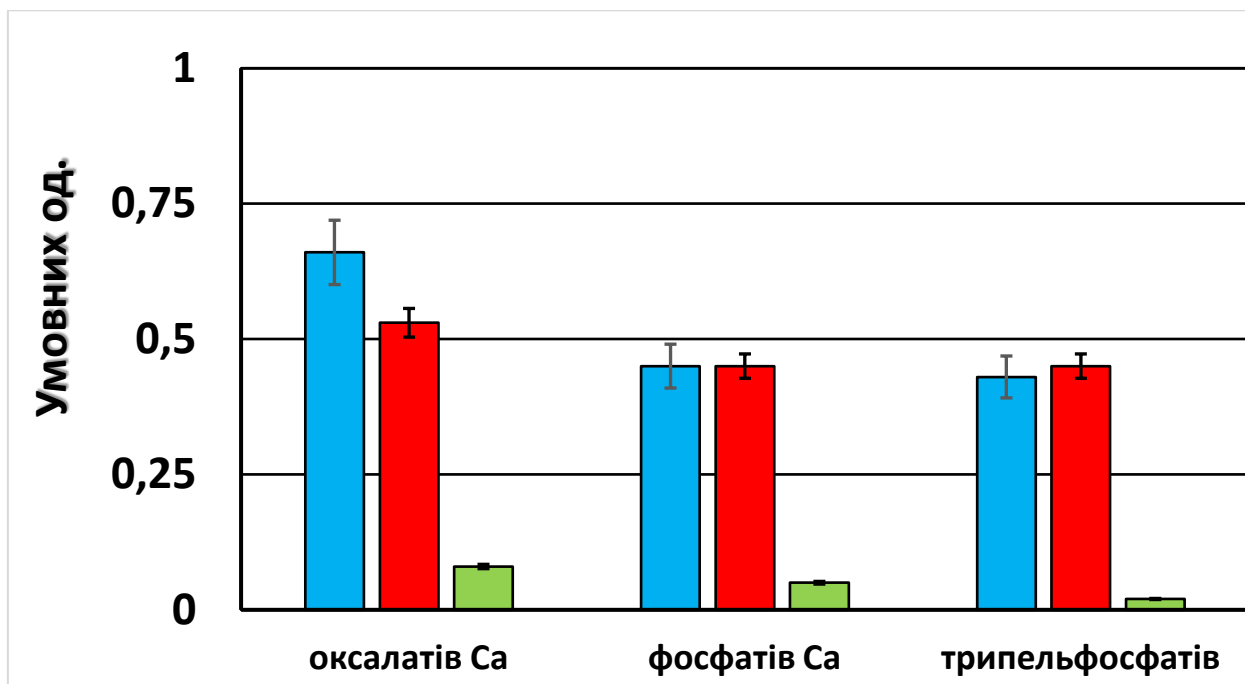
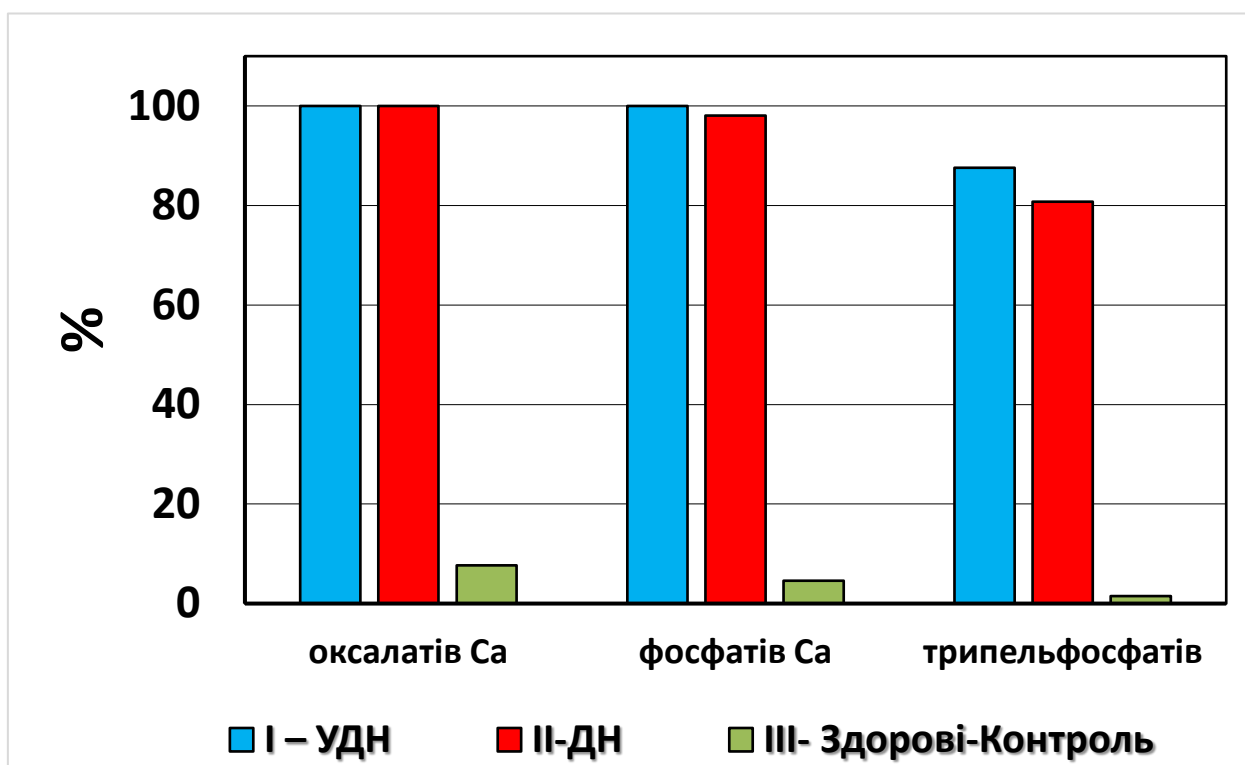
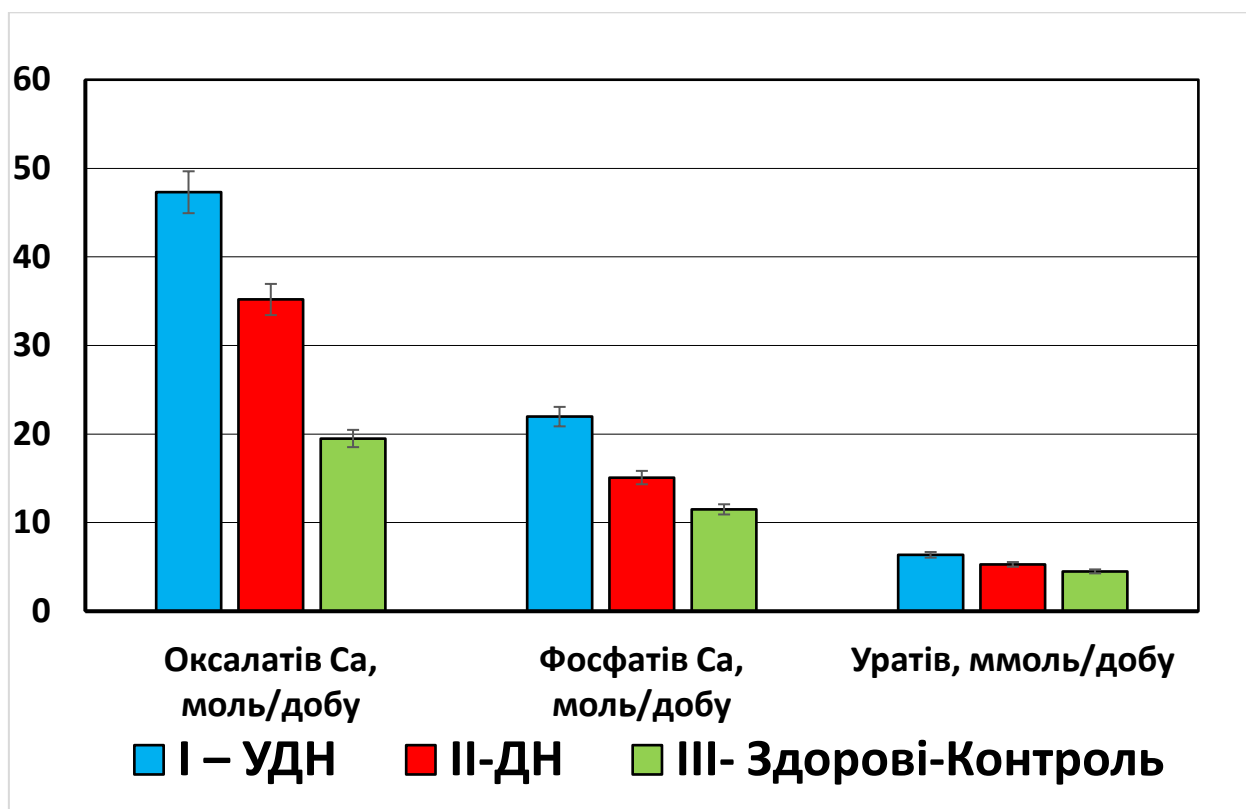
*a**б*

Рис. 4.1 – Антикристалутворююча здатність сечі у дітей з УДН, ДН та здорових дітей: *a* – в абсолютних значеннях, *б* – частота змінених показників.

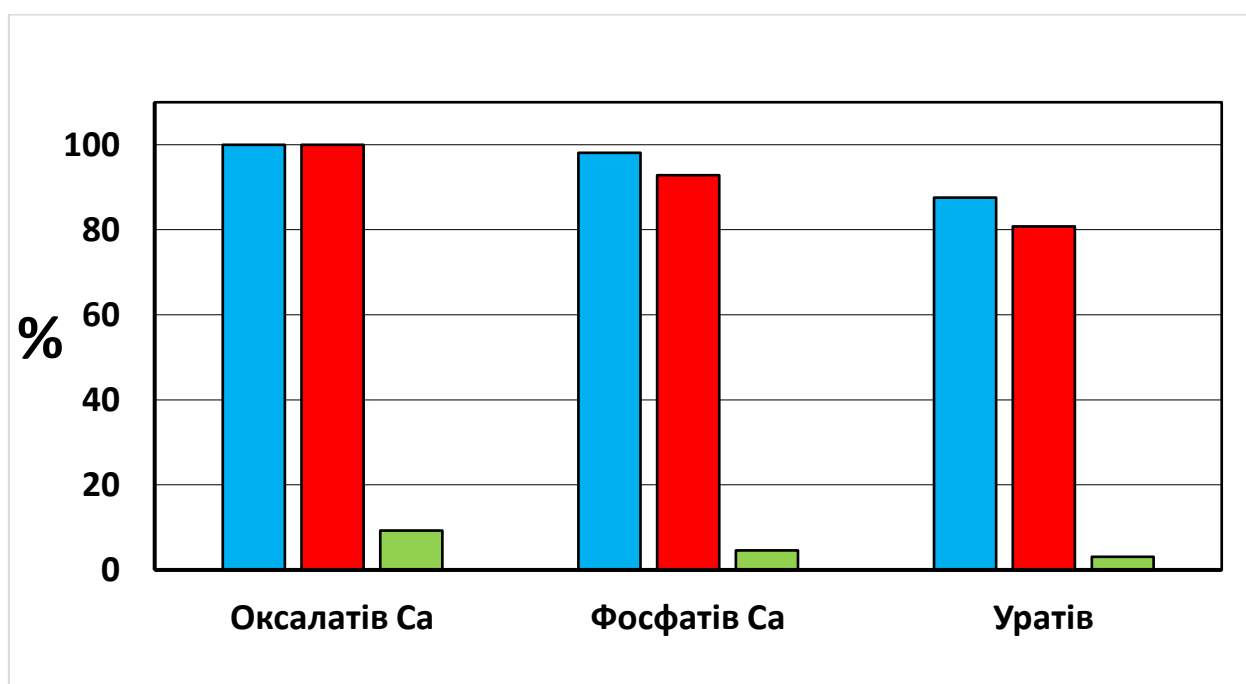
Дослідження добової екскреції оксалатів, фосфатів та уратів, наряду з результатами антикристалутворюючої здатності сечі, дозволяє верифікувати діагноз дизметаболічної нефропатії, встановлений клінічно. Аналіз показників добової екскреції солей з сечею у дітей двох груп у порівнянні з даними здорових дітей поданий у таблиці 4.2 (Додаток Д), рис. 4.2.

У всіх 100,0% обстежених дітей обох груп добова екскреція оксалатів кальцію з сечею була достовірно і значно підвищена з тенденцією до більшої екскреції у дітей з ускладненим перебігом ДН ($47,3 \pm 9,05$ моль/добу та $35,19 \pm 8,7$ моль/добу відповідно, при референтному значенні $19,5 \pm 0,03$ моль/добу). У 98 % дітей з ускладненим перебігом ДН та у 93 % дітей з ДН була достовірно підвищена екскреція з добовою сечею фосфатів кальцію ($21,97 \pm 1,56$ моль/добу та $15,09 \pm 2,05$ моль/добу, при референтному значенні $11,5 \pm 0,04$ моль/добу), а у 4/5 обстежених обох груп була дещо підвищена екскреція уратів, ($6,37 \pm 0,64$ моль/добу та $5,29 \pm 0,94$ моль/добу відповідно), за інтенсивністю не відрізняючись від екскреції уратів у здорових дітей, при референтному значенні $4,5 \pm 0,01$ моль/добу, (табл. 4.2, (Додаток Д)).

Отже, у всіх обстежених дітей обох груп була достовірно знижена антикристалутворююча здатність сечі до оксалатів і фосфатів кальцію та трипельфосфатів та підвищена екскреція оксалатів та фосфатів з добовою сечею, що дозволяє лабораторно підтвердити наявність дизметаболічної оксалатно-фосфатної нефропатії у дітей обох груп спостереження. Отримані дані дозволяють стверджувати, що діагноз дизметаболічної нефропатії, який був встановлений на підставі клінічних і ультразвукових даних був підтверджений лабораторними даними, що вказує на правильність і коректність відбору дітей до груп спостереження.



a



б

Рис. 4.2 – Показники добової екскреції солей з сечею у обстежених дітей:

a – абсолютні показники; *б* – частота відхилення від норми.

4.2 Дослідження епігенетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей

Дані літератури про вплив епігенетичних факторів на організм дитини вказують, що їх комбінована дія призводить до адитивного ефекту і в кінцевому результаті - до порушень розвитку органів та тканин у внутрішньоутробному та постнатальному періодах життя внаслідок генетично зміненого фібрилогенезу позаклітинного матриксу [154]. Унаслідок цього виникають розлади гомеостазу на тканинному та органному рівнях із проградієнтним перебігом, в тому числі і з боку сечовидільної системи [25].

Порушення синтезу, розпаду або морфогенезу компонентів позаклітинного матриксу, що виникають на етапі раннього ембріогенезу чи постнатально під впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища, які діють як епігенетичні тригери, лежать в основі патології обмінних процесів на різних рівнях та можуть проявлятися в різні періоди життя [46, 68].

Отримані в дисертаційній роботі дані клінічного обстеження дозволили зробити висновок про високу частоту неспецифічних анте- та постнатальних епігенетичних факторів ризику формування патології у дітей, особливо, у дітей І-ої групи. Висока частота неспецифічних анте- та постнатальних факторів ризику у дітей із дизметаболічною нефропатією стала підґрунтям для гіпотези, що їх сукупний вплив сприяє аддитивному ефекту, який зумовлює розвиток дисплазії сполучної тканини та схильність до формування дизметаболічної нефропатії через обмінні порушення в організмі [46].

4.2.1 Дослідження вмісту оксипроліну у крові та добові сечі, як маркера недиференційованої дисплазії сполучної тканини в дітей з дизметаболічною нефропатією

Значна частота неспецифічних анте- та постнатальних епігенетичних факторів ризику формування патології у дітей, особливо, дітей І-ої групи могла призвести до аддитивного ефекту з розладами на обмінному, тканинному та органному рівнях і в кінцевому результаті - до порушень розвитку органів та

тканин у внутріутробному та постнатальному періодах внаслідок генетично зміненого фібрилогенезу позаклітинного матриксу з формуванням у цих дітей недиференційованої дисплазії сполучної тканини та схильності до формування дизметаболічної нефропатії, що й визначало її клінічний перебіг та схильність до нашарування запального процесу органів сечовидільної системи [189].

Згідно з літературними даними, оксипролін є ключовою амінокислотою колагену, а його рівень у крові відображає процеси катаболізму. Дослідження показали значне підвищення концентрації оксипроліну в сироватці крові та сечі у дітей із диспластикозалежною патологією внутрішніх органів [54].

Відомо, що генетичні дефекти синтезу колагену призводять до зменшення кількості його поперечних зв'язків і збільшення кількості його легкокорозинних фракцій, наприклад оксипроліну [31].

Підвищений оксипролін вважається «Золотим стандартом» наявності НДСТ [51]. Вміст в крові фракцій вільного оксипроліну (ОП) і пептидно-білковозв'язаного оксипроліну відображає співвідношення деструктивних і синтетичних процесів у позаклітинному матриксі паренхіматозних органів [54].

Результати дослідження вмісту вільної і зв'язаної фракцій оксипроліну в крові та сечі представлені у табл. 4.3 (Додаток Д).

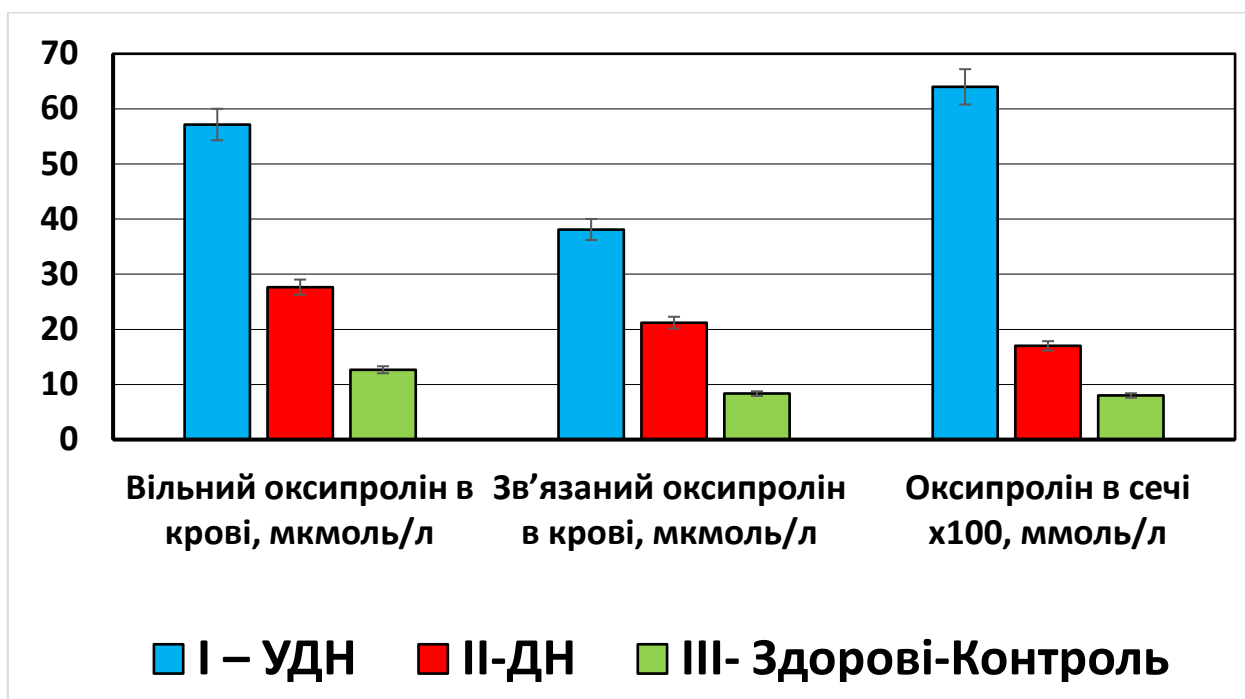
Аналізуючи отримані дані, можна дійти висновку, що практично у всіх обстежених дітей І-ої групи були достовірно підвищені показники вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в плазмі крові ($57,16 \pm 0,03$ мкмоль/л та $38,12 \pm 0,03$ мкмоль/л при показнику у здорових дітей $12,67 \pm 0,03$ мкмоль/л та $8,34 \pm 0,03$ мкмоль/л відповідно), а у дітей II-ої групи ці показники були достовірно підвищені у половини обстежених ($27,65 \pm 0,01$ мкмоль/л та $21,22 \pm 0,02$ мкмоль/л у 57,14% та 51,79% дітей відповідно (табл. 4.3 Додаток Д). Звертає на себе увагу той факт, що різниця у вмісті фракцій оксипроліну в крові дітей двох груп була достовірною, а з літератури відомо, що чим вища цифра показника, тим більше посиленням вважається розпад колагену [42]. Отже за даними цих показників можна констатувати наявність дисплазії

сполучної тканини у всіх дітей I-ої групи та у половини дітей II-ої групи.

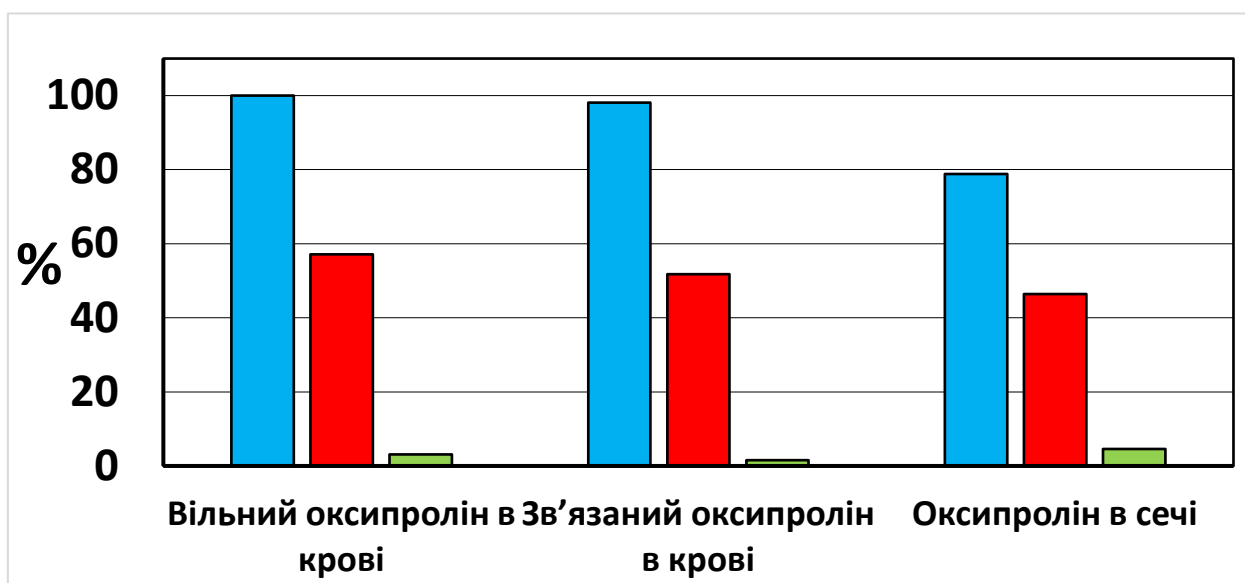
Екскреція оксипроліну з сечею теж була достовірно підвищена у 78,85% дітей I групи ($0,64 \pm 0,02$ ммоль/л) та у 46,43% дітей другої групи ($0,17 \pm 0,01$ ммоль/л) в порівнянні з даними здорових дітей ($0,08 \pm 0,02$ ммоль/л у 4,62% обстежених). Отримані дані дозволили підтвердити наявність синдрому НДСТ у дітей з дизметаболічною нефропатією, а достовірно глибші порушення сполучної тканини у дітей з обтяженим перебігом дизметаболічної нефропатії можуть пояснити її важчий перебіг у цих дітей і їх схильність до нашарування запального процесу органів сечовидільної системи (ОСС) у майбутньому (рис. 4.3).

Отже, проведене дослідження показників розпаду колагену у дітей із дизметаболічною нефропатією, підтвердило гіпотезу про вплив численних епігенетичних факторів на формування тканини нирок внутрішньоутробно і в позаутробному житті з розвитком синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини нирок у дітей. Оскільки практично у всіх дітей з ускладненим перебігом ДН, вміст вільної і зв'язаної фракцій оксипроліну в крові був достовірно вищим, а в сечі відмічалась достовірно більш значна екскреція оксипроліну у порівнянні з даними дітей з неускладненим запальним процесом органів сечовидільної системи, можна заключити, що показники вмісту оксипроліну в крові і сечі є не тільки свідченням впливу епігенетичних чинників на формування нирок у дітей з наявністю у них синдрому НДСТ, як важливої ланки патогенезу дизметаболічної нефропатії, а й чутливим маркером більш важкого її перебігу.

Таким чином, з великим ступенем достовірності, можна стверджувати, що у схильності дітей до формування дизметаболічної нефропатії і її важкого перебігу провідну роль відіграє наявність в них синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини нирок, який є наслідком впливу епігенетичних чинників на організм дитини, так і клінічним проявом порушення процесу фібрилогенезу.



а



б

Рис. 4.3 – Вміст оксипроліну у крові та добовій сечі у дітей з дизметаболічною нефропатією: а – абсолютні значення; б – частота підвищення показника.

4.2.2 Дослідження деяких показників обміну кальцію та фосфору, як епігенетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії у дітей

Загальновідомо, що один з провідних механізмів дії несприятливих факторів зовнішнього середовища на організм людини - це порушення

кальцієвого гомеостазу та окислювального метаболізму клітин за рахунок змін внутрішньоклітинного потоку кальцію, заміни кальцію на специфічних рецепторах з наступною активацією кальцій-залежних ферментів та гормонів.

Навіть при короткотривалій гіпоксії, а при дії таких факторів, як загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом і шумом, які виявились в анамнезі переважної більшості обстежених дітей, відбувається тривала тканинна гіпоксія, спостерігається порушення гомеостазу таких мікроелементів як Na^+ , K^+ , Ca^{++} , P^{+++} , Mg^{++} , Mn^{+++} , Cu^{++} і Fe^{++} , що, за даними літератури [21] корелює зі зниженням рівня внутрішньоклітинної АТФ і активністю більшості металоферментів. На даний час вже доведено факт накопичення при гіпоксії надлишку внутріклітинного Ca^{++} , що призводить до формування так званого кальцієвого парадоксу з подальшим розвитком незворотніх порушень функції клітини і її загибелі. Кальцій також разом з натрієм і калієм відіграє головну роль в електрофізіології мембран [30].

Зважаючи на вищесказане, доцільним видавалась оцінка вмісту кальцію (Ca^{++}) в крові та сечі обстежених дітей з дизметаболічною нефропатією з різними варіантами її перебігу. Отримані результати представлені в таблиці 4.4 (Додаток Д).

Аналіз даних таблиці 4.4 (Додаток Д) вказує на те, що рівень кальцію в крові був достовірно знижений практично у всіх дітей обох груп, незалежно від важкості перебігу дизметаболічної нефропатії ($1,51 \pm 0,22$ ммоль/л у 96,15% та $1,63 \pm 0,32$ ммоль/л у 96,42% відповідно до груп). Рівень же кальцію в сечі був достовірно підвищений у більшості (94,23%) обстежених дітей з ускладненим перебігом ДН ($2,19 \pm 0,27$ ммоль/л), та у 89,28% дітей з дизметаболічною нефропатією без ускладненого перебігу ($1,63 \pm 0,32$ ммоль/л), хоча і не мав достовірної різниці з даними здорових дітей ($1,78 \pm 0,12$ ммоль/л). Тобто спостерігається достовірна гіпокальціємія та гіперкальціурія у

більшості обстежених дітей з ускладненим перебігом ДН та у переважній більшості з її неускладненим перебігом (табл. 4.4 Додаток Д), що вказує на порушення кальцієвого обміну у патогенезі дизметаболічної нефропатії, не залежно від характеру її перебігу в подальшому.

З метою характеристики клітинного гомеостазу кальцію (кальцифілаксії) у дітей з різним перебігом дизметаболічної нефропатії проводився тест на кальцифілаксію, або появу полярних ліпідів, уламків цитомембран нефротелію. Позитивний тест свідчить про присутність у сечі значної кількості етанолових мил з різноманітними ліпідами. Результат дослідження представлений у табл. 4.5 (Додаток Д).

Аналіз даних, наведених у табл. 4.5 (Додаток Д) вказує на порушення клітинного гомеостазу кальцію у дітей з дизметаболічною нефропатією. Причому це порушення виражене в більшій мірі у дітей І групи з ускладненим перебігом ДН, що, ймовірно, і лежить в основі провідного значення кальцифілаксії та кальциурії на фоні синдрому НДСТ і тканинної гіпоксії у патогенезі ДН взагалі і більш важкого її перебігу, зокрема, а показник кальцифілаксії є чутливим маркером важкого перебігу ДН у дітей.

Фосфор, як відомо, є важливим структурним компонентом клітинних мембран та нуклеїнових кислот, він бере участь у різноманітних біологічних процесах, включаючи мінералізацію кісток, виробництво енергії, сигналізацію клітин за допомогою реакцій фосфорилювання та регулювання кислотно-лужного гомеостазу. Фосфати також входять до складу молекул, які регулюють діяльність багатьох коензимів, важливих етапів системи згортання крові, відіграють важливу роль у функціонуванні імунної системи, діють як буфер для підтримання рН плазми крові та сечі [108].

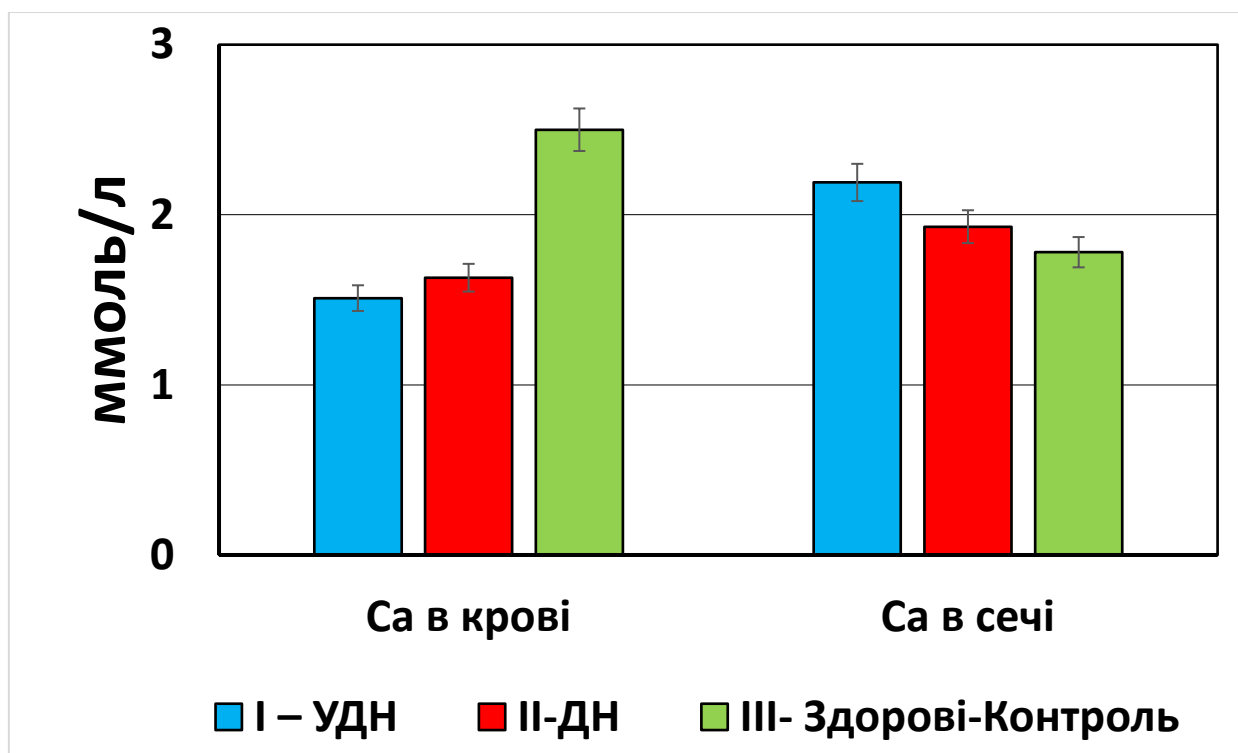
Концентрація фосфатів у плазмі крові залежить від їх надходження з їжею, всмоктування у кишківнику, реабсорбції у ниркових каналцях та переміщення між внутрішньоклітинним та позаклітинним просторами.

Визначивши наявність кальциурії і кальцифілаксії у дітей з ДН, доцільним видавалось встановлення рівня фосфору в крові та сечі

обстежуваних дітей. Отримані результати вивчення рівня фосфору в крові і сечі представлені в таблиці 4.6 (Додаток Д).

Рівень фосфору в крові всіх обстежуваних дітей із ДН, незалежно від характеру її перебігу, відповідав референтним значенням ($1,49 \pm 0,24$ ммоль/добу та $1,41 \pm 0,33$ ммоль/добу при даних здорових дітей $1,52 \pm 0,29$ ммоль/добу). Достовірно, проте незначно, була підвищена екскреція фосфору з сечею у всіх обстежених дітей, не залежно від важкості перебігу ДН ($29,9 \pm 2,87$ ммоль/добу та $27,4 \pm 3,56$ ммоль/добу при даних дітей контрольної групи $19,2 \pm 2,31$ ммоль/добу), тобто у всіх дітей з ДН відмічалась помірна гіперфосфатурія (табл. 4.6, Додаток Д). Ці дані підтверджують отримані раніше результати високої екскреції фосфатів кальцію з добовою сечею у обстежених дітей (табл. 4.2, Додаток Д).

Отримані дані дають підставу стверджувати, що гіпокальціємія, гіперкальціурія та гіперфосфатурія є специфічними епігенетичними маркерами схильності дітей до дизметаболічної нефропатії, а характер її перебігу в подальшому, ймовірно, залежить від інших факторів (рис. 4.4).



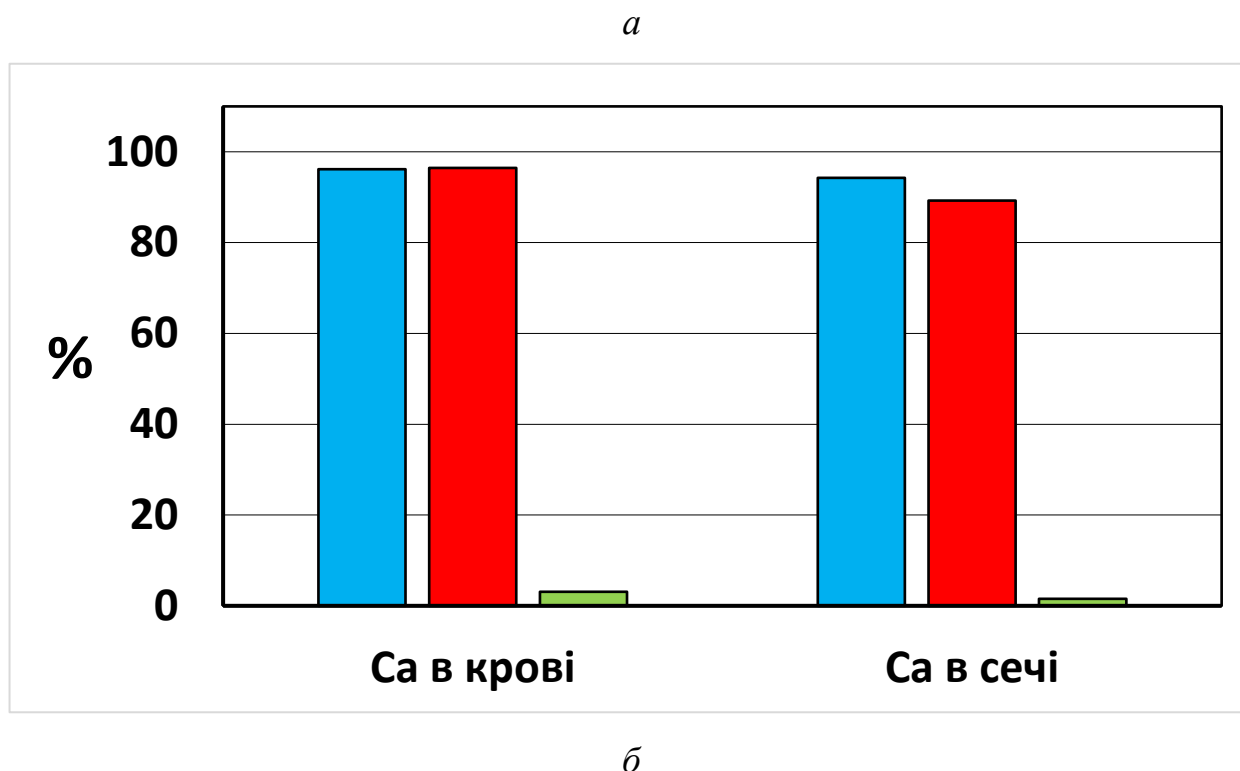


Рис. 4.4 – Рівень кальцію в крові та сечі у дітей із дизметаболічною нефропатією: *a* – абсолютні показники; *б* – частота відхилення від норми.

Отримавши дані про гіпокальціємію, гіперкальциурію та гіперфосфатурію у обстежених дітей з ДН, доцільним було проаналізувати активність паратгормону і кальцитоніну, як основних гормонів, що регулюють кальцієво-фосфорний обмін в організмі дітей. Результати дослідження подані у табл. 4.7 (Додаток Д).

Активність паратгормону в крові дітей з дизметаболічною нефропатією була достовірно підвищена, незалежно від характеру її перебігу ($14,5 \pm 3,25$ пг/мл та $11,2 \pm 1,14$ пг/мл відповідно до груп спостереження, при даних здорових дітей $7,7 \pm 1,26$ пг/мл), що відповідає даним літератури щодо активності паратгормону при зниженні концентрації кальцію в крові [22], яке, в свою чергу, є наслідком кальциурії. Отримані дані вказують на пріоритетність гіперкальциурії в патогенезі дизметаболічної нефропатії у

дітей, яка призводить до гіпокальціємії і вимагає підвищення активності паратиреоїдного гормону у дітей.

Як відомо, кальцитонін є гормоном - антагоністом паратгормона і теж приймає участь у регуляції обміну кальцію і фосфору в організмі дітей [22]. Доцільним видавалось дослідити і його активність. Отримані дані подані у таблиці 4.8 (Додаток Д).

Активність кальцитоніну в крові практично всіх дітей обох обстежуваних груп перебувала в межах вікової норми з незначною, але не достовірною, тенденцією до підвищення ($6,8 \pm 1,78$ пг/мл та $6,3 \pm 1,27$ пг/мл при даних здорових дітей $4,1 \pm 1,21$ пг/мл). Отримані дані свідчать про відсутність змін з боку гормональної регуляції процесів моделювання кісткової тканини у дітей з ДН, за що в більшій мірі відповідає саме кальцитонін, а виявлена гіпокальціємія, гіперкальци- і фосфатурія, пов'язані не з гормональною дисрегуляцією у дітей з дизметаболічною нефропатією, а є провідними факторами у патогенезі ДН.

Отже, аналіз показників кальцієвого обміну у дітей з дизметаболічною нефропатією не залежно від важкості її перебігу показав наявність гіперкальциурії, яка призводить до гіпокаціємії і, відповідно, до достовірного підвищення активності гормону паращитовидних залоз паратгормону.

Таким чином, підсумовуючи виявлені зміни показників кальцію в крові і активності гормонів щитоподібної та паращитовидних залоз, які регулюють кальцієвий обмін у дітей з дизметаболічною нефропатією, слід сказати, що рівень кальцію в сечі і крові, рівень фосфору в сечі та активність паратгормону в крові є високоінформативними та чутливими епігенетичними маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

4.2.3 Дослідження деяких показників тканинної гіпоксії, активності перекисного окислення ліпідів, антиоксидантного захисту і процесу мембранодеструкції ниркового епітелію, як епігенетичних маркерів

схильності дітей до дизметаболічної нефропатії

Оксалатно-кальцієва кристалурія та тести на антикристалутворюючу здатність сечі є чутливими маркерами не тільки здатності сечі до утворення кристалів, але й наявності тканинної гіпоксії паренхіми нирок та зумовленого нею мембранопатологічного стану ниркового епітелію [23, 31].

Відомо, що зниження антикристалутворюючої здатності сечі вказує на зниження утворення біокомплексонів, які в нормі перешкоджають утворенню кристалів, а оскільки більшість біокомплексонів є похідною аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), можна говорити про зниження утворення АТФ у клітинах ниркового епітелію та наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок. Зниження антикристалутворюючої здатності сечі опосередковано характеризує й зниження стабільності цитомембран ниркового епітелію, тобто є маркером їх мембранодеструкції [32].

За даними літератури, надлишок виділення з сечею оксалатів та фосфатів, крім того, що є патогенетичним механізмом реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей, свідчить про кисневу недостатність організму в цілому, оксалурія з'являється при виснажливому бігу, фізичних навантаженнях [33], тобто у всіх випадках порушення аеробних окисних процесах. Підвищена екскреція цих солей тісно пов'язана із процесом гіпоксії ниркової тканини [31], яка в свою чергу призводить до процесів мембранодеструкції.

Антикаристалутворююча здатність сечі та добова екскреція оксалатів і фосфатів у дітей двох груп з дизметаболічною нефропатією були визначені і описані в підрозділі 4.1 дисертаційної роботи (табл. 4.1, Додаток Д та 4.2, Додаток Д).

Аналіз табличних даних показав, що антикристалутворююча здатність сечі до оксалатів кальцію та фосфатів кальцію була достовірно знижена у всіх обстежених дітей обох груп з тенденцією до більш значного зниження у дітей з обтяженим перебігом ДН (табл. 4.1 Додаток Д).

У всіх 100,0% обстежених дітей обох груп добова екскреція оксалатів і

фосфатів кальцію з сечею була достовірно (в 2-3 рази) вища з тенденцією до більшої екскреції у дітей з ускладненим перебігом ДН (табл. 4.2 Додаток Д).

Отже, отримані дані дозволяють стверджувати, що у дітей з дизметаболічною нефропатією має місце недиференційована дисплазія сполучної тканини, на фоні якої діагностується тканинна гіпоксія ниркової паренхіми з тенденцію до більшої вираженості у дітей з ускладненим перебігом ДН. А оскільки обстеження дітей І групи проводились в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу сечовивідних шляхів, а інколи, навіть, через де-кілька років після встановлення стійкої клініко-лабораторної ремісії, можна говорити, що сам запальний процес не відігравав суттєвої ролі у змінах показників, що вивчались, а тканинна гіпоксія паренхіми нирок наряду з дисплазією сполучної тканини грає провідну роль у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей і є результатом впливу негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід внутрішньоутробно та в подальшому позаутробному житті.

Треба сказати, що особливу зацікавленість медиків в наш час привертає окислювальний стрес, як універсальний механізм реалізації тканинної гіпоксії на клітинному рівні, який супроводжується активацією неферментативного вільнорадикального окислення та накопиченням продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в крові. Рядом авторів встановлена патогенетична роль ушкодження ліпідного компоненту мембран ниркового епітелію при існуванні тканинної гіпоксії [36, 47]. Активация ПОЛ супроводжується зміною конформації ліпідів, і, як наслідок, до порушення структурних і функціональних властивостей біологічних мембран, підвищення їх проникності, розбалансування мембранолокалізованих ферментних систем, порушення електротранспортних ланцюгів мітохондрій [27]. Порушення морфофункціонального стану мембран призводить також до виходу кислих гідролаз із лізосом, загального посилення гідролітичних процесів у тканинах, накопичення токсичних продуктів аутолізу, порушення синтезу ДНК, дезінтеграції мембран та руйнування їхньої структури і врешті-решт – смерті

клітини [36].

Дослідження останніх десятиріч довели, що є всі підстави розглядати активацію вільнорадикального ПОЛ як неспецифічний компонент фізіологічних і патологічних реакцій, які характеризують напруження активації систем підтримання гомеостазу [37].

До показників, які характеризують активність процесів перекисного окислення ліпідів в організмі і зумовленої їм мембранодеструкції, зокрема, в паренхімі нирок, відносяться вміст дієнових кон'югатів в плазмі крові, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції продуктів ПОЛ та полярних ліпідів (уламків цитомембран ниркового епітелію) з сечею. Результати дослідження цих показників подані у табл. 4.9 (Додаток Д).

Аналізуючі дані, наведені у таблиці 4.9 можна стверджувати, що тканинна гіпоксія, яка була діагностовано раніше, призвели до інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів, як у цілому організмі дітей з ДН, так і у паренхімі нирок. Встановлено, що в плазмі крові практично у всіх дітей обох груп був значно, достовірно підвищений вміст дієнових кон'югатів, проміжних продуктів реакції ПОЛ ($14,2 \pm 1,3$ мкмоль/л та $13,8 \pm 0,97$ мкмоль/л при його значенні у здорових дітей $9,78 \pm 0,70$ мкмоль/л). Що до вмісту малонового діальдегіду, кінцевого продукту процесу ПОЛ, то він був достовірно вищим за дані здорових дітей як в плазмі крові ($1,87 \pm 0,08$ мкмоль/л та $1,28 \pm 0,17$ мкмоль/л при його значенні у здорових дітей $0,82 \pm 0,03$ мкмоль/л), так і в еритроцитах ($17,09 \pm 1,6$ мкмоль/л та $13,85 \pm 1,53$ мкмоль/л при його значенні у здорових дітей $9,54 \pm 0,4$ мкмоль/л). Причому цей показник достовірно різнився не тільки з даними дітей контрольної групи, але й між групами обстежених дітей: при ускладненому перебігу дизметаболічної нефропатії вміст МДА і в плазмі і в еритроцитах був достовірно вищим (табл.4.9, Додаток Д, рис. 4.5).

Відповідно, екскреція продуктів ПОЛ з добовою сечею, теж була достовірно вищою у дітей з ДН обох груп при дещо вищих показниках у дітей

I-ої групи ($1,54 \pm 0,01$ ум. од. і $1,27 \pm 0,02$ ум. од при даних дітей контрольної групи $0,09 \pm 0,01$ ум. од.), що вказує на інтенсифікацію перекисного окислення ліпідів і мембранодеструкції клітин вже безпосередньо у тканині нирок (табл. 4.9, Додаток Д, Рис. 4.5).

Аналогічно, екскреція полярних ліпідів, яка вказує не тільки на кальцифікацію в організмі дітей, але й є основним показником мембранодеструкції ниркового епітелію, була достовірно вищою у практично всіх дітей обох груп при достовірно вищих цифрах у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії (табл. 4.9, Додаток Д).

Отже, підсумовуючі отримані дані, можна зробити висновок, що під впливом тканинної гіпоксії, яку дитина зазнавала ще внутрішньоутробно через вплив численних епігенетичних чинників, що діяли на неї під час всієї вагітності, в організмі дитини внаслідок розвитку енергодефіцитного стану клітин, зменшується стійкість мембран до дії і інших пошкоджуючих факторів. Регульований енергетичним зарядом клітин, порушується найменш стійкий до гіпоксії процес фосфорилування мембран, що приводить до її деструкції.

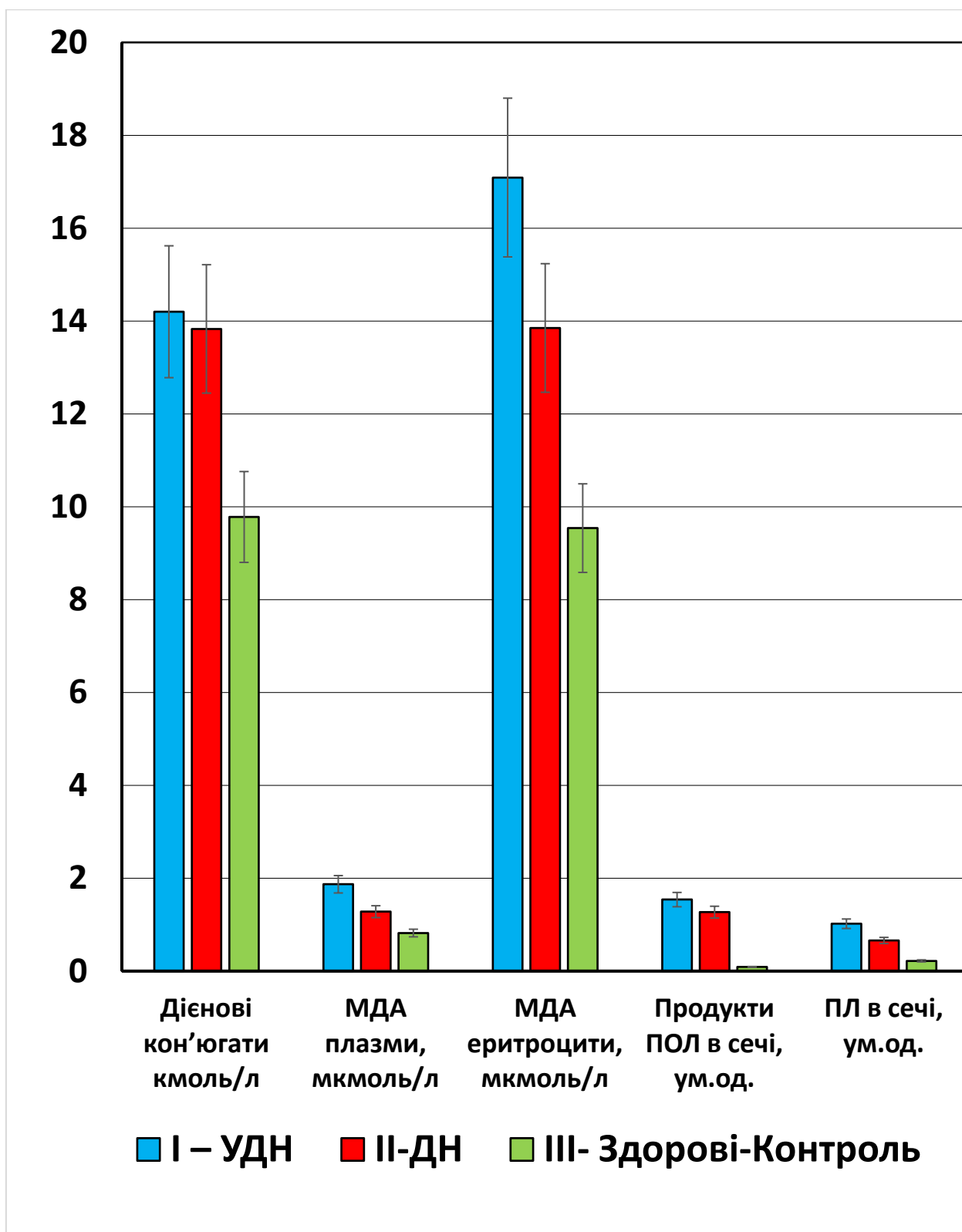


Рис. 4.5 – Активність процесів перекисного окислення ліпідів та мембранодеструкції у дітей з дизметаболічною нефропатією.

Тканинна гіпоксія призводить до інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Продукти ПОЛ мають пошкоджуючу дію на мембрани клітин, в першу чергу ниркового епітелію, що веде до порушення життєважливих функцій клітин паренхіми нирок.

Таким чином показники інтенсивності реакції ПОЛ як в крові, так і в тканині нирок і процесу мембранодеструкції є специфічними, чутливими і високоінформативними маркерами впливу на дитину епігенетичних чинників, що і призвело до дисплазії сполучної тканини і маніфестації дизметаболічної нефропатії в позаутробному житті. Крім того, зважаючи на достовірну різницю даних між двома групами дітей, можна говорити, що показники перекисного окислення ліпідів та мембранодеструкції нефротелію є чутливими прогностичними маркерами більш важчого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

Швидкість процесів ліпопероксидації в організмі закликає регулювати так звана антиоксидантна система організму [17], одним із показників активності якої є активність фермента каталази [11]. Була досліджена активність каталази в крові та сечі, результати подані у таб. 4.10 (Додаток Д).

Результати дослідження активності каталази вказують на достовірне зниження активності каталази як в крові ($0,57 \pm 0,14$ к. ч. і $0,63 \pm 0,23$ к.ч.), так і в сечі ($0,17 \pm 0,04$ к. ч. і $0,45 \pm 0,09$ к.ч.) у всіх обстежених дітей обох груп, що свідчить про виснаження антиоксидантного захисту і При цьому недостатність каталази в сечі достовірно відрізнялась у дітей двох груп спостереження, не тільки від даних здорових дітей ($0,87 \pm 0,04$ к. ч.), але й між собою (табл. 4.10, (Додаток Д).

Виявлений факт дозволяє стверджувати, що на фоні інтенсифікації процесів ліпопероксидації і мембранодеструкції в організмі дітей з ДН виснажуються можливості антиоксидантного захисту, що, в свою чергу, призводить до ще більшої інтенсивності процесу ПОЛ. А показник активності каталази в сечі є інформативним, достовірним і чутливим маркером не тільки результату впливу на організм дитини епігенетичних чинників, але й

прогностичним маркером більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

4.2.4 Дослідження функціонального стану паренхіми нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією

Не викликає сумніву, що одним з провідних патогенетичних факторів в порушенні функції нирок є гіпоксія [32, 36]. Вона може бути викликана як гемодинамічними порушеннями, що виявляються при нирковій патології, так і порушеннями тканинного дихання при вродженій дисплазії сполучної тканини нирок, що виникає у ембріона під впливом епігенетичних чинників внутрішньоутробно і в подальшому усугубляється під впливом численних епігенетичних чинників в позаутробному житті [35].

Відомо, що ниркові каналці є основним компонентом нирок і вразливі до різних епігенетичних чинників, включаючи гіпоксію, протеїнурію, токсини та порушення обміну речовин, в тому числі порушення фосфорно-кальцієвого обміну [70]. Епітеліоцити каналців трансформуються і функціонують як запальні та фіброгенні клітини, продукують різноманітні біологічно активні молекули, які спричиняють розвиток інтерстиційного запалення та фіброзу [153].

Оскільки у роботі була доведена наявність НДСТ нирок, тканинної гіпоксії паренхіми нирок, інтенсифікація в ній процесів ПОЛ і виникнення мембранодеструкції з порушенням фосфорно-кальцієвого обміну у обстежуваних дітей, необхідним виявилось дослідити парціальні функції нефронів ниркової паренхіми, як тубулярного, так і гломерулярного відділів і стану сполучної тканини нирок.

Канальцеву реабсорбцію як парціальну функцію проксимального відділу нефронів оцінювали за даними тестів урінолізісу, а саме, за рівнем екскреції неорганічних фосфатів, протеїнурії, амінокислот, редукованих цукрів – мальтози, сахарози, фруктози (за пробою Бенедикта), глюкози (за пробою Гайнеса) і кальцію (за пробою Сулковича). Результати дослідження подані в

табл. 4.11 (Додаток Д).

У дітей обох груп спостереження виявлено достовірно високу частоту гіперфосфатурії (94,23% та 96,42%), кальційурії (94,23% і 89,28%), глюкозурії (78,85% та 67,85%), підвищеної екскреції із сечею амінокислот (40,38% та 37,5%), мікропротеїнурії (32,69% та 28,57%) і підвищення екскреції редукованих цукрів (28,85% та 26,79%), що в порівнянні з даними дітей контрольної групи дає можливість діагностувати у дітей з ДН наявність дисфункції тубулярного епітелію паренхіми нирок, а саме проксимального відділу нефронів, який перебігає у вигляді описаного у літературі синдрому Фанконі [35]. Звертає на себе увагу той факт, що показники мікропротеїнурії, кальційурії і глюкозурії достовірно відрізнялись між даними дітей двох груп: у дітей з обтяженим перебігом дизметаболічної нефропатії частота ураження проксимального відділу нефронів була достовірно вищою, ніж у дітей II групи (табл. 4.11, Додаток Д).

Отримані дані свідчать про порушення функції проксимального відділу нефрону за тубулярним типом у дітей з ДН, що є наслідком дисплазії сполучної тканини нирок, тканинної гіпоксії паренхіми нирок в результаті впливу на дитячий організм численних епігенетичних факторів як в анте- так і у постнатальному житті.

Проведені дослідження переконливо демонструють можливість ранньої діагностики порушення парціальних тубулярних функцій нирок при дизметаболічній нефропатії, а показники тестів урінолізісу відображають вплив епігенетичних чинників на функціональний стан нирок. Показники, що відображають мікропротеїнурію, гіперкальціурію і глюкозурію є не тільки чутливими тестами парціальної ниркової недостатності за тубулярним типом при ДН, але й прогностичними маркерами її більш важкого перебігу.

Маркером парціального порушення функції гломерул нефрона у дітей, за даними літератури, є показники рівня креатиніну (Кр) та структурного компоненту сполучної тканини - глікозоаміногліканів (ГАГів) у сечі [39].

Одною з основних амінокислот колагену є оксипролін, крім того, він є

маркером, що відображає процеси склерозування сполучної тканини, в тому числі, в нирках. Отже, оксипролін є донозологічним маркером дисплазії сполучної тканини паренхіми нирок та її склерозування.

Враховуючи дані літератури, виявлялось доцільним визначити рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів (ГАГів) з добовою сечею у дітей з дизметаболічною нефропатією в порівнянні з даними здорових дітей.

З літературних джерел відомо, що межі коливання екскреції ГАГів з добовою сечею суттєво різняться у дітей різного віку, так у 0 – 3 міс. – 300,0 Од. ЦПХ/на 1 г Кр, у дітей 3-12 міс. – 280,0 Од. ЦПХ/на 1 г Кр та у дітей 1-3 років. – 244,0 Од. ЦПХ/на 1 г Кр. У той же час, у дітей після 6 років ця різниця стає менш вираженою. Оскільки всі обстежені діти, як з ДН, так і здорових, знаходились у віці 6-18 років (табл. 3.1 (Додаток В), стор. 84), для більшої вибірки і репрезентативності отриманих даних було вирішено об'єднати дані екскреції ГАГів у дітей 6-18 років в межах кожної групи.

Результати визначення екскреції креатиніну, глікозоаміногліканів і оксипроліну з добовою сечею у дітей з дизметаболічною нефропатією та контрольної групи представлені в табл. 4.12 (Додаток Д).

Аналіз даних, наведених у табл. 4.12 (Додаток Д) вказує на достовірно знижений рівень креатиніну в добовій сечі у переважної більшості дітей І групи ($0,56 \pm 0,19$ г/л, 80,77% обстежених) та більше, ніж у половини дітей ІІ групи ($0,83 \pm 0,08$ г/л, 57,14% обстежених) в порівнянні із даними здорових дітей групи контролю ($1,25 \pm 0,75$ г/л, 0,0%). Разом з тим, екскреція креатиніну з добовою сечею у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії була достовірно нижче, ніж екскреція у дітей ІІ групи як за частотою, так і за середніми значеннями (табл. 4.12, Додаток Д). Відомо, що екскреція креатиніну з сечею зменшується внаслідок погіршення процесу фільтрації у гломерулі через склерозування судинної стінки гломерулярних судин [19], отже можна сказати, що за даними показника екскреції креатиніну з сечею, у дітей з дизметаболічною нефропатією наявна парціальна дисфункція нирок за гломерулярним типом, яка значно більш виражена у дітей з ускладненим

перебігом ДН.

Аналіз екскреції глікозоаміногліканів з сечею демонструє аналогічний результат (ГАГи у 84,62% дітей I групи - $282,6 \pm 38,41$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну і у 35,71% дітей II групи - $250,37 \pm 35,2$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну), що достовірно відрізнялось від даних дітей контрольної групи ($135,0 \pm 75,0$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну) так і між групами обстежених дітей з різним перебігом дизметаболічної нефропатії. Отриманий результат дозволяє встановити наявність у дітей з дизметаболічною нефропатією порушення процесів фільтрації у гломерулі, що вказує на парціальну недостатність за гломерулярним типом при даній патології, що достовірно більше виражено у дітей з ускладненим перебігом ДН.

Аналогічний результат отримано і щодо достовірно підвищеної екскреції оксипроліну з добовою сечею у дітей з ДН: у дітей з ускладненим перебігом ДН екскреція оксипроліну діагностувалась достовірно частіше і була вище ($0,64 \pm 0,02$ ммоль/л у 78,85% обстежених), ніж у дітей II групи ($0,17 \pm 0,01$ ммоль/л у 46,43% обстежених) при значеннях у дітей контрольної групи - $0,08 \pm 0,02$ ммоль/л, що вказує на наявність вродженої дисплазії сполучної тканини нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей [18] та початок процесу склерозування не тільки каналців і гломерул, а й сполучної тканини паренхіми нирок при ДН у дітей, який більше виражений у дітей з ускладненим перебігом ДН (табл. 4.12, Додаток Д).

Отже, проведений аналіз функціонального стану тканини нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей дозволяє засвідчити наявність тубулярної і гломерулярної парціальної недостатності тканини нирок, про що говорить достовірно зменшення екскреції креатиніну і достовірно підвищення екскреції глікозоаміногліканів з сечею, а також достовірно вищий рівень оксипроліну у сечі, що говорить не тільки про наявність дисплазії сполучної тканини нирок у дітей при даній патології, а й про початок процесу її склерозування.

Не викликає сумніву, що отримані дані щодо більших змін в екскреції креатиніну, глікозоаміногліканів та оксипроліну з сечею у дітей з ускладненим

перебігом дизметаболічної нефропатії пов'язані не тільки з патогенезом дизметаболічної нефропатії, а із перенесеним ними у минулому запальним процесом органів сечовидільної системи [18.], проте наявність вказаних змін у переважної більшості обстежених дітей в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу, вказує на пріоритетність саме дисплазії сполучної тканини нирок і паціальної ниркової недостатності в патогенезі дизметаболічної нефропатії і важкості її перебігу у дітей. А показники екскреції оксипроліну, глікозоаміногліканів та оксипроліну можна використовувати як епігенетичні маркери схильності до дизметаболічної нефропатії взагалі і до більш важкого її перебігу зокрема.

Отже, проведене дослідження деяких епігенетичних маркерів схильності до дизметаболічної нефропатії і їх значення у її патогенезі у дітей свідчить про формування під впливом негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід анте-, а в подальшому, постнатально, дисплазії сполучної тканини нирок у дітей, що проявляється підвищенням вмістом оксипроліну в крові і сечі практично у всіх дітей з ДН; формування на цьому фоні тканинної гіпоксії паренхіми нирок, на що вказує зниження антикристалутворюючої здатності сечі і збільшення екскреції оксалатів з добовою сечею; формування патології фосфорно-кальцієвого обміну з порушенням клітинного гомеостазу кальцію внаслідок розвитку енергодефіцитного стану клітин при тканинній гіпоксії, про що говорить позитивний тест на кальцифілаксію у більшості обстежених, гіпокальціємія, гіперкальциурія та гіперфосфатурія і, як наслідок, підвищення активності паратиреоїдного гормону в крові дітей; як наслідок - посилення процесів перекисного окислення ліпідів з появою підвищеного вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах та появою значної екскреції сумарних продуктів ПОЛ у добовій сечі; виснаження антиоксидантного захисту організму із зменшенням активності каталази; означені процеси призводять до мембранодеструкції клітин ниркового епітелію, що супроводжується екскрецією сумарних продуктів ПОЛ і

полярних ліпідів з сечею; в кінцевому всі вищевказані процеси призводять до початку процесу склерозування паренхіми нирок з парціальною нирковою недостатністю за тубулярним і гломерулярним типом, на що вказують зміни тестів уринолізісу, екскреції креатиніну, глікозоаміногліканів та оксипроліну з добовою сечею.

Отримані дані дають підставу стверджувати, що показники оксипроліну в сечі, добової екскреції солей, антикристалутворюючої здатності сечі, рівень кальцію та фосфору в сечі і крові, активність паратгормону в крові, вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею, тести на гіпераміноацидурію, глюкозурію, мікропротеїнурію, рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів з сечею є високоінформативними та чутливими епігенетичними маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

Крім того, зважаючи на достовірну різницю між даними двох груп дітей з різним перебігом дизметаболічної нефропатії, можна говорити, що показники вмісту оксипроліну в крові, екскреції оксипроліну з сечею, екскреції полярних ліпідів з сечею, показники малонового діальдегіду в плазмі і еритроцитах, екскреції сумарних продуктів ПОЛ з сечею, активності каталази в сечі, тести на мікропротеїнурію, кальціурію, глюкозурію, рівень креатинурії, екскреції ГАГів з сечею є чутливими прогностичними маркерами більш важчого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

4.3 Дослідження частоти поліморфних локусів TaqI і Aра I гена *VDR*-3 та делеційних локусів генів *GSTM1 0* і *GSTT1 0* (глутатіон-S-трансфераз) у генотипі дітей з дизметаболічною нефропатією

Фенотип людини, що відображає індивідуальні особливості її генотипу в певних умовах довкілля, відрізняється від фенотипу іншої не лише зовнішніми характеристиками, а й біохімічними та фізіологічними особливостями [18].

Мультифакторні захворювання успадковуються за полігенним типом, який визначається комбінацією мутантних алелів кількох генів. Для розвитку таких захворювань необхідне накопичення генів схильності понад певний пороговий рівень, а також вплив провокуючих епігенетичних факторів зовнішнього середовища. Зазвичай гени схильності є генетично поліморфними рецесивними алелями, які окремо не спричиняють розвиток патології. У різних людей гени схильності часто мають відмінності у вигляді однонуклеотидних замін. Такий поліморфізм може спричиняти функціональні відмінності білків, визначаючи різний ступінь схильності до захворювання [87].

Тестування генів схильності до різних захворювань дозволяє встановити асоціацію між функціонально неповноцінними алелями та схильністю людини до певних мультифакторних захворювань. В залежності від особливостей геному, різні індивідууми можуть зберігати стійкість або, навпаки, виявляти підвищену чутливість до пошкоджуючих епігенетичних факторів, функціонально неповноцінні варіанти генів схильності створюють схильність до різних захворювань.

Вивчення взаємодії генів схильності показало наявність генів двох типів. Одні гени визначають розвиток ознаки або властивості (гени-кандидати), а інші (гени-модифікатори), не визначаючи розвиток цієї ознаки, підсилюють або послаблюють дію основного гена. Ген-кандидат – це ген, який може бути пов'язаний з проявом складної ознаки або з виникненням захворювання. Так звані гени-кандидати обумовлюють підвищену схильності людини до різних мультифакторних захворювань [188].

«Порогова» модель мультифакторних захворювань визначає, що їх розвиток зумовлений сукупністю генетичних та епігенетичних факторів. Тобто, захворювання виникає, коли сумарна схильність таких факторів перевищує певний поріг, а ризик зростає зі збільшенням спадкової схильності та інтенсивності впливу епігенетичних чинників середовища [122]. Мультифакторні захворювання виникають тільки у тих осіб, хто відрізняється

підвищеною чутливістю до конкретних епігенетичних факторів в результаті їх тривалого впливу на організм в анте- та постнатальному житті [110].

4.3.1 Результати молекулярно-генетичного дослідження особливостей поліморфних локусів TaqI та Apa I гена *VDR-3* у дітей з дизметаболічною нефропатією

Ген рецептора вітаміну D (*VDR*) кодує ядерний гормональний рецептор вітаміну D3. Вітамін D-рецептори мають подібність між послідовностями з рецепторами стероїдних і тиреоїдних гормонів, що експресуються в нирках, кишківнику і щитоподібній залозі, грають життєво важливу роль у гомеостазі кальцію, регулюють ряд метаболічних процесів, що приймають участь в імунній відповіді [219].

Ген *VDR3* розташований у короткому плечі 12-ї хромосоми (12q13.1) і складається з 9 екзонів та 8 інтронів. Він характеризується значною варіабельністю поліморфних послідовностей як у кодувальних, так і в некодувальних ділянках, що впливає на його функцію через активацію експресії гена або, рідше, через зміни структури білка. Відомо понад 30 однонуклеотидних поліморфізмів (single nucleotide polymorphism, SNP) цього гена, серед яких найбільш дослідженими є ApaI (rs7975232), BsmI (rs1544410), FokI (rs2228570) і TaqI (rs731236) [219]. При цьому, визначення поліморфних варіантів гена *VDR3* є значимим для прогнозування соматичної патології [206].

Проведено молекулярно – генетичне дослідження поліморфного локусу Taq I у 55-ти дітей із різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії: у 35 дітей – із ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії та у 20 дітей із неускладненим перебігом ДН, результати порівнювали із даними 44-х здорових дітей, що теж проживали у Івано-Франківській області. Результати дослідження частоти різних алелів поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* у пацієнтів з різним перебігом дизметаболічної нефропатії наведені у табл. 4.13.

Наведені у табл. 4.13 дані вказують на відсутність відмінностей між

досліджуваними когортами пацієнтів щодо розподілу частот алелів поліморфного локусу Таq І гена *VDR3*. Це свідчить про генетичну подібність досліджуваних груп пацієнтів.

Таблиця 4.13

Особливості розподілу алелів поліморфного локусу Таq І гена *VDR*

3 у дітей з дизметаболічною нефропатією

Алель:	Групи дітей:							
	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		І – УДН, <i>n</i> = 35		ІІ-ДН, <i>n</i> = 20		ІІІ- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
T	39	70,91	25	71,43	14	70,00	31	70,45
t	16	29,09	10	28,57	6	30,00	13	29,55

Підрахунок відношення шансів, тобто відношення частоти досліджуваних алелів в дітей основних груп до частоти тих же алелів в дітей контрольної групи показав відсутність відмінностей між їх носійством у пацієнтів досліджуваних груп і здорових дітей (табл. 4.14, 4.15, 4.16, (Додаток Г).

Для формулювання коректних висновків щодо ролі даного поліморфного локусу у формуванні клінічного фенотипу доцільним є проведення аналізу саме генотипів у даних пацієнтів із різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії у порівнянні із даними здорових дітей.

Проведено порівняльний аналіз розподілу генотипів однонуклеотидного поліморфізму локусу Таq І гена *VDR3* у обстежених дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією та здоровими особами. Отримані результати представлено у таблиці 4.17.

Таблиця 4.17

Особливості розподілу генотипів поліморфного локусу Таq І гена

VDR3 в дітей з дизметаболічною нефропатією

Частота генотипу	Групи дітей:							
	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		І – УДН, <i>n</i> = 35		ІІ-ДН, <i>n</i> = 20		ІІІ- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
TT	21	38,18*	13	37,14*	8	40,00*	25	56,82
Tt	29	52,73*	19	54,29*	10	50,00*	13	29,54
tt	5	9,09	3	8,57	2	10,00	6	13,64

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,05$

Частоти гомозигот TT та tt у дітей з ДН були вірогідно нижчими у порівнянні з даними здорових дітей (TT - 38,18% і tt – 9,09% проти 56,82 і 13,64% здорових дітей контрольної групи), а частота гетерозиготного носійства Tt у дітей з ДН була достовірно, в 1,8 разів більша (52,73%), ніж у здорових дітей – 29,54% (табл. 4.16), що вказує на асоціацію гетерозиготного носійства Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* з ризиком формування дизметаболічної нефропатії у дитини, а носійство гомозиготних генотипів, ймовірно, TT та tt володіє протекторними властивостями (табл. 4.17).

При аналізі частоти носійства поліморфних локусів у дітей з різним по важкості перебігом ДН, можна побачити, що частоти як гомозиготного носійства TT (37,14% і 40,00%) та tt (8,57% і 10,00%), так і гетерозиготного носійства Tt (54,29% і 50,00%) відрізнялись не тільки від даних здорових дітей, але й мали тенденцію до різниці між собою, причому в більшій мірі у дітей з важчим перебігом ДН. Отже, вірогідна різниця частоти гетерозиготного носійства Tt може свідчити про асоціацію поліморфізму локусу Taq I гена *VDR3* не тільки з ризиком виникнення дизметаболічної нефропатії, але й виступати маркером більш важкого її перебігу, а сам ген можна вважати геном-кандидатом у патогенезі дизметаболічної нефропатії і важкості її перебігу у дітей. Наявність достовірно вищої частоти гомозиготного носійства TT та tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* у здорових осіб групи контролю (56,82% проти 38,18% та 13,64% проти 9,09% всіх дітей з дизметаболічною нефропатією, $p < 0,05$) в порівнянні із даними дітей основних груп говорить про протекторну дію гомозиготного генотипу TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3*.

Проведений підрахунок відношення шансів достовірної різниці досліджуваних генотипів у дітей основних груп до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини генотипу Tt поліморфного локусу Taq1 гена *VDR3* збільшує ризик виникнення

дизметаболической нефропатии у 2,66 разів (OR, 95% CI – 2,66, $p < 0,05$) (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Розподіл генотипів поліморфного локусу Таq I гена *VDR3* в дітей всіх груп з дизметаболическою нефропатією

Генотипи:	Всі діти з ДН, $n = 55$		III- Здорові- Контроль, $n = 44$		χ^2	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
TT	21	38,18*	25	56,82	3,41	$\geq 0,05$	0,47 (0,21 – 1,05)
Tt	29	52,73*	13	29,54	5,38	< 0,05	2,66 (1,15 – 6,14)
tt	5	9,09	6	13,64	0,51	$\geq 0,05$	0,63 (0,18 – 2,23)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболическою нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Підрахунок відношення шансів достовірної різниці досліджуваних генотипів у дітей з ускладненим перебігом дизметаболической нефропатії до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини генотипу Tt поліморфного локусу Таq1 гена *VDR3* достовірно збільшує ризик виникнення саме важчого варіанту дизметаболической нефропатії в 1,06 разів (OR, 95% CI – 2,66, $p < 0,05$ проти OR, 95% CI – 2,83, $p \geq 0,05$) (табл. 4.19 та 4.20). В той же час підрахунок відношення шансів захворіти неускладненим варіантом ДН такої закономірності не виявив (табл. 4.20).

Таблиця 4.19

Розподіл генотипів поліморфного локусу Таq I гена *VDR3* в дітей з ускладненим перебігом дизметаболической нефропатії

Генотипи:	I – УДН, $n = 35$		III- Здорові- Контроль, $n = 44$		χ^2	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
TT	13	37,14*	25	56,82	3,02	$\geq 0,05$	0,45 (0,18 – 1,11)
Tt	19	54,29*	13	29,54	4,95	< 0,05	2,83 (1,12 – 7,16)
tt	3	8,57*	6	13,64	0,5	$\geq 0,05$	0,59 (0,14 – 2,57)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболическою нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Таблиця 4.20

Розподіл генотипів поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* в дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії у порівнянні з даними дітей контрольної групи

Генотипи:	II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
TT	8	40,00*	25	56,82	1,56	$\geq 0,05$	0,51 (0,17 – 1,48)
Tt	10	50,00*	13	29,54	2,5	$\geq 0,05$	2,38 (0,8 – 7,09)
tt	2	10,00	6	13,64	0,17	$\geq 0,05$	0,7 (0,13 – 3,84)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Отже, носійство дитиною гетерозиготного генотипу Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* не тільки достовірно асоціюється з високим ризиком захворіти дизметаболічною нефропатією, збільшуючи ризик захворіти нею в 2,66 разів, але й збільшує ризик розвитку саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії в 2,83 разів. Гомозиготне носійство генотипів TT та tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* асоціюється з їх протекторними властивостями відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію. А сам ген *VDR3* можна вважати геном-кандидатом щодо мультифакторного успадкування дизметаболічної нефропатії.

За даними різних авторів, які займалися дослідженням поліморфізму різних локусів гена *VDR3*, актуальним для прогнозування схильності до соматичної патології є дослідження і інших поліморфних локусів гена *VDR3*, а саме локусу AраI в інтроні 8 в 3' області екзону 2, який може впливати на стабільність матричної РНК (мРНК) [158].

Проведений аналіз частоти генотипів поліморфного локусу AраI гена *VDR3* у 55-ти дітей із різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії методом ПЛР. Результати аналізу особливостей розподілу генотипів поліморфного локусу AраI гена *VDR3* наведено у табл. 4.21 (Додаток Г).

Частота гомозиготного носійства генотипів AA і aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* у дітей з ДН була вірогідно, в 2-3 рази вищою. Частота генотипу - AA - 78,18% проти 38,64% у здорових дітей, а у дітей з УДН - 82,86% і з неускладненим варіантом ДН - 80,00%, проти 38,64 % у здорових дітей. Частота гомозиготного генотипу aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* була вірогідно вищою, як у всіх дітей з ДН (7,27%), так і у дітей з УДН - 5,71% та з ДН - 5,00%, проти 2,27 % у здорових дітей (4.21 (Додаток Г).

Частота гетерозиготного носійства Aa у дітей з ДН (14,55%) була достовірно в 4 рази менша, ніж у здорових дітей – 59,09%, що може свідчити про протективні властивості цього генотипу, щодо розвитку у дітей дизметаболічної нефропатії. І навпаки, частота гомозиготного генотипу AA поліморфного локусу AраI гена *VDR3* у групі всіх дітей з ДН була вірогідно в 2,02 рази вищою. Отже, доведено, що частота гомозиготних генотипів AA та aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* в усіх дітей з ДН була у 2-3 рази більшою, ніж частота даних генотипів у здорових дітей, що свідчить про асоціацію даних генотипів із розвитком у дітей дизметаболічної нефропатії.

Ці висновки підтверджуються й обрахунком відношення шансів достовірної різниці досліджуваних генотипів у дітей з дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи (табл. 4.22), який вказує на те, що наявність у дитини в генотипі гетерозиготного носійства Aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* достовірно володіє протекторними властивостями по відношенню до можливості формування дизметаболічної нефропатії у дітей, а наявність гомозиготного генотипу AA не тільки асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і збільшує ризик її виникнення в 5,69 рази (OR, 95% CI – 5,69) (табл. 4.22, Додаток Д).

При підрахунку відношення шансів частоти носійства досліджуваних генотипів поліморфного локусу AраI гена *VDR3* у дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи виявилось, що наявність у дитини в генотипі гомозиготного носійства AA поліморфного локусу AраI гена *VDR3* не тільки асоціюється з

ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і збільшує ризик виникнення її ускладненого перебігу у 7,68 разів (OR, 95% CI – 7,68 $p<0,01$), а наявність гетерозиготного генотипу Aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* достовірно володіє протекторними властивостями по відношенню до можливості формування ускладненого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей (OR, 95% CI – 0,09, $p<0,01$) (табл. 4.23, Додаток Д).

Відношення шансів частоти носійства досліджуваних генотипів поліморфного локусу AраI гена *VDR3* в дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи показало такі ж достовірні результати: носійство гомозиготного генотипу AA асоціюється в них з ризиком захворіти на ДН, збільшуючи цей ризик в 6,35 разів у порівнянні з ризиком здорових дітей (OR, 95% CI – 6,35, $p<0,01$), а носійство гетерозиготного генотипу Aa – володіє протекторними властивостями (OR, 95% CI – 0,12, $p<0,01$) (табл. 4.24, Додаток Г)).

Отже, відмічена достовірна висока асоціація певних генотипів гена *VDR3* з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію в порівнянні з генотипом у здорових дітей: носійство дитиною гетерозиготного генотипу Tt поліморфного локусу Таq1 збільшує цей ризик в 2,66 разів і в 1,8 разів збільшує ризик розвитку саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії і носійство гомозиготного генотипу AA поліморфного локусу AраI збільшує ризик захворіти дизметаболічною нефропатією у 7,5 разів і в 5, 69 разів ризик виникнення саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії.

Гомозиготне носійство генотипів TT та tt поліморфного локусу Таq I гена *VDR3* і гетерозиготне носійство генотипу Aa поліморфного локусу AраI гена *VDR3* достовірно асоціюються з протекторними властивостями відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію.

Отримані дані підтверджують попередній висновок, що ген *VDR3* можна вважати геном-кандидатом у патогенезі мультифакторного успадкування дизметаболічної нефропатії.

4.3.2 Дослідження частоти поліморфних делеційних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансфераз) у генотипі дітей з дизметаболічною нефропатією

Відомо, що глутатіон-S-трансферази (GST) – це велика родина ензимів, в якій набір ізоформ часто є специфічним для окремих тканин. Детоксикація при допомозі глутатіону відіграє ключову роль в забезпеченні резистентності клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, алкілуванню білків та у попередженні пошкодження ДНК.

Синтез GST контролюється генами *GSTM*, *GSTT*, *GSTP*, що розміщені на різних хромосомах. *GSTM1* існує в трьох алельних варіантах, два з яких кодують білки, що різняться між собою дещо зміненою активністю, і третій – *GSTM10* – в якому, внаслідок протяжної делеції РНК, фермент взагалі не синтезується.

Дизметаболічна нефропатія відноситься до мультифакторних захворювань, які є результатом аддитивного ефекту численної кількості генетичних локусів та великого числа середовищних епігенетичних факторів.

Мультифакторний тип успадкування ДН дає можливість припустити вплив генів-кандидатів та генів-модифікаторів у розвитку захворювання, при цьому вклад кожного з них у розвиток захворювання варіює [25].

Одним із потенційних генів-модифікаторів для дизметаболічної нефропатії можуть виступати гени системи біотрансформації [25].

Враховуючи вищесказане, доцільним видавалось встановити особливості розподілу серед дітей з дизметаболічною нефропатією поліморфних, а саме делеційних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1*, які можуть виступати генами-модифікаторами схильності до даної патології.

Методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (МПЛР) обстежено 55 дітей із дизметаболічною нефропатією, на предмет наявності носійства ними делеційних алелів генів *GSTM1* та *GSTT1*, продукти яких, ферменти глутатіон-S-трансферази класу М і Т, відповідають за детоксикаційну здатність організму і забезпечують резистентність клітин до

перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, та попереджають поломки ДНК, з них у 35-ти був діагностований ускладнений перебіг дизметаболічної нефропатії, а у 20-ти – її неускладнений перебіг. Отримані дані порівнювали з частотою розподілу делеційних алелів генів *GSTM1* та *GSTT1* у здорових дітей із того ж регіону Західної України (44 особи).

Визначали частоту нульових алелів *GSTM1* 0/0 та *GSTT1* 0/0, при яких не виробляються повноцінні ферменти глутатіон-S-трансфераз класу М і Т, що можуть виступати генами-модифікаторами схильності дітей до дизметаболічної нефропатії (табл. 4.25, Додаток Д).

Серед всіх дітей з дизметаболічною нефропатією делеційний нульовий алель *GSTT1* 0/0 зареєстровано у 40,00% обстежених, делеційний нульовий алель *GSTM1* 0/0 – у 45,45% обстежених, а поєднання двох делеційних алелів у генотипі *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 - у 23,64% дітей з ДН, що статистично достовірно відрізнялось від даних здорових дітей – 22,73%, 27,27% і 6,82% відповідно (табл. 4.25, Додаток Д). Отже, делеційні алелі генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 у генотипі дитини достовірно асоційовані зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії.

Треба звернути увагу на те, що відсотковий розподіл поліморфізму делеційних алелів генів *GSTM1* 0/0 та *GSTT1* 0/0 серед здорових дітей – 22,73% і 27,27% обстежених, а їх поєднання - у 6,82% обстежених відповідає частоті нуль-алелів, встановлений для європеїдної раси для *GSTM1* 0/0 -30-45%, для *GSTT1* 0/0 -15-30% і для *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 – 5-10%.

Частота делеційних нульових алелів *GSTT1* 0/0, *GSTM1* 0/0 та особливо, поєднання двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 у генотипі дітей з різним перебігом ДН достовірно відрізнялась від частоти таких алелів у здорових дітей (табл 4.25, Додаток д) при тенденції до більшої частоти делеційних алелів і їх комбінації в одному генотипі у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії (*GSTT1* 0/0 - 42,86% і 35,00%, *GSTM1* 0/0 - 48,57% і 40,00% та *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 - 25,71% і 20,00% відповідно до I та II групи обстежених дітей).

Проведений підрахунок відношення шансів достовірної різниці неосійства досліджуваних делеційних нульових алелів у всіх дітей з дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в генотипі дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини комбінованого носійства двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 не тільки достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і достовірно збільшує ризик її виникнення у 4,23 раза (OR, 95% CI – 4,23, $p < 0,05$) (табл. 4.26).

Аналогічні результати дав підрахунок відношення шансів частоти носійства досліджуваних делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* в дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи.

Наявність у дитини в генотипі комбінованого носійства двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 асоціюється з ризиком захворіти на важчий варіант дизметаболічної нефропатії, збільшуючи ризик виникнення її ускладненого перебігу в 4,73 рази (OR, 95% CI – 4,73 $p < 0,05$) у порівнянні з даними здорових дітей (табл. 4.27).

А підрахунки відношення шансів частоти носійства досліджуваних делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* в дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії до частоти тих же генотипів у дітей контрольної групи не показав достовірної різниці (табл. 4.28, (Додаток Д)).

Отримані результати дозволяють зробити висновок не тільки про достовірну асоціацією дизметаболічної нефропатії з наявністю делеційних алелів *GSTM1* 0/0 та *GSTT1* 0/0 у генотипі дитини, а й достовірну асоціацію частоти одночасного носійства делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 з більш важким перебігом ДН у дітей. Отримані дані дозволяють, з огляду на здатність продуктів цих генів забезпечити резистентність клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів та попереджати поломки ДНК, зробити висновок про те, що нульові алелі *GSTM1* 0/0 *GSTT1* 0/0 та, особливо, їх поєднання *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 можуть бути генами-

модифікаторами у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

Отже, результати молекулярно-генетичного дослідження поліморфних варіантів гена *VDR3* показали, що існує різниця частоти алелів та генотипів *VDR3* між дітьми з дизметаболічною нефропатією і здоровими. Це підтверджує, що алельна дисперсія за геном *VDR3* може бути фактором ризику розвитку дизметаболічної нефропатії, а сам ген може вважатись геном-кандидатом у патогенезі мультифакторного успадкування дизметаболічної нефропатії.

При розподілі частот гаплотипів за двома поліморфними варіантами Taq I та ApaI гена *VDR3* виявлена статистично значуща відмінність між даними дітей з дизметаболічною нефропатією і здорових дітей за рахунок достовірної різниці частоти гетерозиготних гаплотипів Tt і AA: у дітей з важчим перебігом ДН такий гаплотип зустрічався частіше, ніж у дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії, отже гетерозиготне носійство Tt поліморфного локусу Taq1 гена *VDR3* та гомозиготне носійство генотипу AA поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* асоціюється з дуже високим ризиком захворіти дизметаболічною нефропатією, а наявність гетерозиготного носійства Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR* і AA поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* може розглядатись, як маркер не тільки схильності дитини до формування в неї дизметаболічної нефропатії, а й більш важчого її перебігу.

Гомозиготне носійство генотипів TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і гетерозиготне Aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* достовірно асоціюється з протекторними властивостями цих гаплотипів відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію.

Встановлено, що ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA (OR 95% CI = 10,79)

Загалом, за результатами, наведеними у роботі, можна розглядати ген *VDR3*, як ген-кандидат, а делеційний генотип *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 гену *GST*, як ген-модифікатор у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

Дані розділу висвітлені в наступних працях здобувача: [4], [2].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дизметаболічна нефропатія і, як її наслідок, сечокам'яна хвороба займають одне з провідних місць у структурі нефрологічних захворювань за поширеністю, частотою звернень за медичною допомогою та госпіталізацією [4].

Внаслідок впливу екзогенних, ендогенних та генетичних факторів при дизметаболічних нефропатіях спостерігається порушення метаболізму в біологічних середовищах, що призводить до підвищення рівня кальцію, магнію, фосфору, оксалатів, та сечової кислоти в сироватці крові [23, 44, 56]. Це веде до збільшеної екскреції цих речовин нирками. Проте патогенез цих порушень залишається недостатньо вивченим.

Відомо, що преморбідним фоном різноманітних патологічних змін з боку нирок та сечовивідних шляхів стають вроджені дефекти колагеноутворення, зумовлюючи важкий перебіг будь-якого захворювання та резистентність до стандартної терапії [18.]. Вираженим клінічним проявом аномалій колагену синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), який зустрічається у 35,0-70,0% дитячого населення [25]. При дисплазії сполучної тканини важливою складовою органних дисфункцій є порушення синтезу та розпаду колагену, на що вказують рівні оксипроліну (ОП) та гідроксипроліну в біологічних рідинах. На сьогодні, оксипролін вважається основним біохімічним маркером НДСТ, «Золотим стандартом» її діагностики [44]. При оксипролінемії, яка супроводжує диспластикозалежну патологію, синтез оксалатів підвищується [52].

Тканинній гіпоксії відводиться провідна роль у патогенезі багатьох захворювань [16, 38]. Проте існують тільки поодинокі літературні відомості, в яких вказується на наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок при міхурові-сечовідному рефлексі [23], сечокам'яній хворобі, при природжених вадах розвитку нирок, при яких гіпоксія викликана як гемодинамічними

порушеннями, так і порушеннями тканинного дихання, а при дизметаболічній нефропатії у дітей таких даних практично немає.

Маркером тканинної гіпоксії паренхіми нирок та зумовленого нею мембранопатологічного стану нирок є оксалатно-кальцієва кристалурія. В подальшому дизметаболічна нефропатія при збереженні тканинної гіпоксії трансформується в інтерстиціальний нефрит, який згодом призводить до

Ішемія може спричинити підвищення концентрації кальцію в цитозолі внаслідок блокади $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -залежної АТФ-ази, що призводить до його надмірного надходження через плазматичну мембрану та вивільнення з мітохондрій і ендоплазматичної мережі. Збільшений вміст кальцію в клітині активує низку ферментів, які пошкоджують клітину [22].

Встановлено патогенетичну роль ушкодження ліпідного компоненту мембран ниркового епітелію при існуванні тканинної гіпоксії [45]. Наслідком ушкодження ліпідної фази цитомембран ниркових каналців є кальциурія, фосфатурія, ліпідурія, підвищення екскреції продуктів ПОЛ [123]. До індикаторів тканинної гіпоксії та стабільності цитомембран ниркового епітелію відносять тести на АКЗС та добову екскрецію солей з сечею [88].

Активация ПОЛ супроводжується зміною конформації ліпідів, що в свою чергу призводить до як порушення структурно-функціональних властивостей біологічних мембран і підвищення їх проникності, так і розбалансування мембранолокалізованих ферментних систем [27]. Інактивація вільнорадикальних реакцій здійснюється за допомогою ферментних і неферментних систем. Серед ферментів виділяють супероксиддисмутазу, здатну перетворювати супероксидний аніон-радикал у пероксид водню і каталазу, яка руйнує пероксид водню до кисню і води.

Малочисельними і суперечливими є відомості про функціональний стан паренхіми нирок і можливість прогнозування важкості перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей. У літературі є лише окремі повідомлення про функціональний стан паренхіми нирок при вроджених вадах сечовидільної системи, що розглядаються як вісцеральний прояв порушеного

фібрилогенезу [23]. Однак дані про стан парціальних функцій нефрону при дизметаболичній нефропатії відсутні.

Особливе значення в сучасній медицині має встановлення індивідуальних генетичних особливостей дитини, що призводять до варіабельності відповіді організму на етіопатогенетичні чинники і, відповідно, до особливостей перебігу захворювань [54].

Не викликає сумніву інтерес до вивчення ролі генетичних та епігенетичних факторів ризику у формуванні схильних до дизметаболичної нефропатії у дітей на основі вивчення клінічних, генеалогічних, біохімічних та молекулярно-генетичних методів дослідження. Окрім того, до кінця нез'ясованими залишаються питання щодо чинників, які зумовлюють різний клінічний перебіг дизметаболичної нефропатії у дітей [98].

Таким чином, аналіз літературних даних дозволив зробити висновок, що роль генетичних та епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболичної нефропатії у дітей ще недостатньо встановлена. Детермінація факторів, які відіграють ключову роль у патогенезі та реалізації генетичної схильності, а також у важкості перебігу дизметаболичної нефропатії у дітей, є актуальною та перспективною проблемою охорони здоров'я дитячого населення в Україні. Проведення таких досліджень дозволить підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів дітям з ДН, спрогнозувати маніфестацію та важкість перебігу захворювання покращити показники їх здоров'я та уточнити покази до метаболічної терапії.

Вказане вище обумовило мету дослідження - підвищити ефективність профілактики, ранньої діагностики та прогнозування маніфестації і важкості перебігу дизметаболичної нефропатії у дітей шляхом уточнення генетичних та епігенетичних факторів у її патогенезі.

З метою вирішення поставлених задач в межах науково-дослідної роботи, яка проводилась в ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» в складі експедиційної бригади співробітників інституту, лікарів різних профілів та дисертанта, у районах Івано-Франківської області було обстежено 108 дітей у

віці від 6 до 17 років, яким за даними анамнезу, медичної документації та огляду різними спеціалістами (педіатр, нефролог, гастроентеролог, ендокринолог, імунолог) з проведенням ультразвукової діагностики був встановлений діагноз дизметаболічної нефропатії. У всіх обстежених дітей при лабораторному дообстеженні була достовірно знижена антикристалутворююча здатність сечі до оксалатів і фосфатів кальцію та трипельфосфатів, підвищена екскреція оксалатів та фосфатів з добовою сечею, що дозволило лабораторно підтвердити наявність дизметаболічної оксалатно-фосфатної нефропатії у дітей.

З числа обстежених дітей було сформовано дві групи: з дизметаболічною нефропатією і вторинною інфекцією сечовидільних шляхів в анамнезі: I група - 52 особи, в яких дизметаболічна нефропатія на певному етапі ускладнилась нашаруванням запального процесу нирок і сечовивідних шляхів – ускладнена ДН (I-УДН) та II група - 56 дітей з неускладненим перебігом ДН (II-ДН), в яких діагноз дизметаболічної нефропатії був підтверджений генеалогічним анамнезом та її специфічними ультразвуковими ознаками, а лабораторно виявлялась тільки стійка оксалатно-фосфатна нефропатія. Обстеження дітей першої групи проводилось в періоді стійкої (більше 3-х років) клініко-лабораторної ремісії запального процесу органів сечовидільної системи.

Результати дослідження дітей основних груп порівнювали з результатами обстеження 65 соматично здорових того ж віку (III-Здорові-Контроль), які були обстежені під час виїздів групи наукових співробітників в екологічно чисті райони Івано-Франківської області в межах виконання планової науково-дослідної роботи.

Основним джерелом інформації щодо анамнезу дітей була «Індивідуальна тематична карта №___ обстеження дитини і анкета для батьків».

Усім дітям було проведено комплексне клініко-лабораторне обстеження за стандартними методами, загальноприйнятими в дитячій нефрології та

педіатрії, включаючи клінічні, лабораторні та інструментальні дослідження [40]. Комплекс дослідження крові і сечі включав визначення таких показників:

- добова екскреція оксалатів, неорганічних фосфатів, сечової кислоти та тести на антикристалутворюючу здатність сечі до оксалатів, фосфатів і трипельфосфатів [31];
- рівень екскреції оксипроліну в сечі та рівня вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в сироватці крові [14];
- показники, які дозволяють охарактеризувати фосфорно-кальцієвий обмін: рівень кальцію та фосфору в крові та сечі за фотометричною методикою, активність паратгормону та кальцитоніну [20], тест на кальцифілаксію або на появу полярних ліпідів у добовій сечі [31].
- кількість дієнових кон'югатів у плазмі крові [31], вміст малонового діальдегіду у плазмі крові [31] і в еритроцитних мембранах [31], проводився тест на наявність сумарних продуктів реакції перекисного окислення ліпідів у добовій сечі [31].
- активність ферменту каталази в сироватці крові та добовій сечі [31].
- рівень полярних ліпідів у добовій сечі за методом Н. С. Лук'яненко із співавторами [31].
- тести уринолізису [23], рівні екскреції креатиніну та глікозаміногліканів (ГАГів) у добовій сечі пацієнтів [31].
- усім пацієнтам проводили УЗД внутрішніх органів [39] Їх оглядали ЛОР-лікар, невролог, офтальмолог, ортопед, інші спеціалісти за потребою.
- З метою встановлення генетичних предикторів схильності до реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей проводили дослідження алельного поліморфізму поліморфних локусів Таq I та АраI гена рецептора вітаміна D3 (*VDR-3*) та генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази), як генів «кандидатів» та «модифікаторів» при мультифакторних захворюваннях за методом поліморфізму довжин рестрективних фрагментів (ПДРФ).
- Забір крові для дослідження проводився з периферійної вени натще зранку, добову сечу для дослідження збирали напередодні забору крові.

Дослідження біологічного матеріалу проведено з урахуванням основних положень Гельсінської декларації з біомедичних досліджень, в яких людина виступає їх об'єктом, Белтмонської доповіді та GCP ICH. Проведене дослідження передбачало дотримання принципу конфіденційності та поваги особистості дитини, як особи нездатної до самозахисту, врахування переваг користі над ризиком шкоди та інших етичних принципів у відношенні до людей, які виступають суб'єктами дослідження. В кожному випадку було отримано інформовану згоду від батьків кожної дитини, засвідчену особистим підписом.

Статистичну обробку результатів проводили згідно сучасних вимог [41] із застосуванням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R. Commander V.2.4-4.

Аналіз даних клінічного обстеження дітей з дизметаболічною нефропатією показав, що серед дітей обох груп переважали діти 12-17 років (48,08%; 53,58% відповідно, а в групі контролю - 44,62%). В групі дітей з ускладненою дизметаболічною нефропатією достовірно переважали дівчатка (59,62% проти 48,21%, при контролі - 47,69%), що співпадає з літературними даними про більшу частоту патологічних процесів органів сечовидільної системи у дівчат [18], тоді як серед дітей з кристалурією без запального процесу органів сечовидільної системи (ОСС) і серед здорових дітей переважали хлопчики (51,79% та 52,31%), що також є співзвучне з даними літератури [15]. Отже, вік і стать виступали індукуючими факторами більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії в обстежених дітей.

Аналіз частоти скарг у обстежених дітей очікувано показав достовірно більшу їх частоту у дітей з ускладненою ДН: на часті болі в животі скаржилися 52,17% дітей 1-ої групи проти 46, 43%, на блідість шкіри - 80,77% проти 32,14%, на зниження апетиту - у 80,77% дітей I групи та 66,07% дітей II групи, на часті болі голови і швидку втомлюваність - 73,08% проти 19,64%, тобто в дітей першої групи достовірно частіше спостерігались різноманітні скарги, які характерні для синдрому загальної неспецифічної інтоксикації [10].

Цікавим виявився факт достовірно більшої частоти нічного енурезу у дітей II групи (32,14%) ніж в дітей I групи (25,00%).

Діти з ускладненою ДН досить частого відставали в масі тіла -15,38%, що теж свідчить про перенесену в минулому загальну інтоксикацію, той час як серед дітей другої групи цей показник не перевищував загальнопопуляційні дані – 5,36%.

Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією був виявлений у 41 дитини I групи (78,85%), та у 38 дітей II-ої групи (67,86%). Це вказує на досить високу значущість спадкових факторів у реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей, на що також вказують багато авторів [12, 48].

Скарги на характерну для дизметаболічної нефропатії стійку кристалурію та специфічні ознаки дизметаболії при ультразвуковому дослідженні відмічались у всіх 100,0 % обстежених дітей двох груп.

На час обстеження всі діти знаходились у задовільному стані, з метою репрезентативності порівняння клінічних даних, обстеження дітей I групи проводилось в момент ремісії запального процесу сечовидільної системи.

У дітей першої групи спостерігалися більш виразні клінічні прояви загальної неспецифічної інтоксикації: блідість шкірних покривів діагностувалась у 80,77% дітей I-ої групи та в третини дітей II-ої групи - 32,14%, тобто у 2,51 разів частіше, ніж у дітей II-ї групи, в'ялість – в 1,8 разів частіше (34,62% проти 19,64%), періорбітальний ціаноз – у 2,2 разів частіше (30,77% проти 14,29% дітей II групи). Дискомфорт при сечовипусканні та наявність вульвіту/фімозу відмічалось більш, ніж у третини дітей I групи та в кожної п'ятої дитини II групи. Така значна частота вульвіту чи фімозу в дітей, ймовірно, пов'язана зі значним подразненням слизової зовнішніх статевих органів кристалами солей, на що вказують й дані інших авторів [49, 70].

Звертав на себе увагу факт значної частоти карієсу зубів у дітей обох груп (30,77% дітей I гр. та 16,07% дітей II гр.), що, ймовірно, пов'язано з порушенням обміну кальція в дитячому організмі при даній патології [35].

Зниження рівня гемоглобіну крові нижче референтних значень

відмічалось в кожній п'ятій дитині I групи, в той час, як серед дітей II-ї групи таких дітей практично не зустрічалось (19,23% проти 1,08%). Цей факт можна пояснити ушкодженням паренхіми нирок у дітей з ускладненим перебігом ДН і, відповідно, із зниженням в них продукції еритропоетину.

У третини дітей з ускладненим перебігом ДН відмічалась помірна еритроцитурія навіть в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу ОСС (34,62%), в той час, як у дітей II-ї групи вона спостерігалася тільки в кожного дев'ятого пацієнта (8,93%).

При ультразвуковому дослідженні органів сечовидільної системи пієлоектазії візуалізувались у 17,31% дітей I гр. та 7,14% дітей II групи, ультразвукові ознаки подвоєння нирок візуалізувались у 3-х дітей I групи (5,77%) та у 2-х дітей II групи (1,08% обстежених).

Для оцінки маси тіла, як показника фізичного розвитку, визначали індекс маси тіла ($IMT = m \text{ (кг)} : p \text{ (м)}^2$) та індекс Варги ($IV = \text{маса тіла (г)} : \text{зріст (см)}^2 - \text{вік (роки)} : 100$ ($N \geq 1,5$)). Знижений індекс Варги виявився у 15,38% дітей I групи, тобто в кожного 5-6 пацієнта цієї групи, та у 7,14 % дітей II групи, що достовірно не відрізнялось від даних здорових дітей (6,15%).

Беззаперечно, епігенетична спадкова мінливість відіграє важливу роль у процесах індивідуального розвитку організму, регуляції експресії генів, виникненні захворювань та еволюції людської патології. У багатьох дослідженнях знаходить підтвердження провідна гіпотеза про те, що активність багатьох генів здатна визначатися інтенсивністю впливу зовнішні індукуючі фактори [68].

З метою вивчення ролі можливих епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та ускладнення її інфекцією ОСС у обстежуваних дітей, було проаналізовано дані анамнезу та захворюваності 108 медичних карт історій хворіб та їх карток амбулаторних хворих (Ф.112/о) з дизметаболічною нефропатією і 65 амбулаторних карт здорових дітей контрольної групи, кожен з яких був додатково оглянутий вузькими спеціалістами різного профілю (ЛОР, гастроентеролог, невролог, окуліст).

Результати аналізу даних дітей про масу тіла при народженні вказують на те, що в I групі було достовірно більше дітей з низькою, менше 2550 г, масою тіла при народженні (5,77% обстежених) в той час, як серед дітей II групи та групи контролю низька маса тіла при народженні не зустрічалась взагалі. Маса тіла нижче середнього відмічалась у 15,38% дітей I групи та у 8,93% дітей II групи (проти 6,15% дітей групи контролю), тоді як маса при народженні вище середньої відмічалась приблизно в однаковій кількості дітей всіх трьох груп (у 3,85% дітей I групи, у 5,36% дітей II групи та у 4,62% дітей групи контролю).

Таким чином, простежується зв'язок між низькою масою тіла при народженні та розвитком в подальшому саме ускладненого запальним процесом ОСС перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

Для з'ясування причин, які могли призвести до зниження маси тіла плода, були проаналізовані антенатальні епігенетичні фактори ризику формування патології плода. З'ясувалось, що матері дітей обох груп мали ускладнений перебіг вагітностей, за частотою ускладнень достовірно відрізняючись від даних матерів дітей групи контролю. Матері дітей I групи достовірно частіше страждали на анемію під час вагітності, ніж матері дітей II групи (практично втричі: 59,62% проти 16,93%, при контролі – 7,69%), вони достовірно, практично вдвічі, частіше мали клінічні прояви гестозу I-ої половини вагітності – 53,85% проти 28,57% матерів дітей II групи (в контролі – 15,38%) та гестозу II половини вагітності - 26,92% проти 16,07% (контроль – 7,69%). У матерів дітей I-ої групи вдвічі частіше спостерігалась загроза переривання вагітності на ранніх термінах – 15,83% проти 8,93% матерів дітей II групи, що не відрізнялось від даних групи контролю (9,23%). Отже, загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності та анемія вагітної можуть бути предикторними епігенетичними факторами схильності дітей як до формування в них дизметаболічної нефропатії, так і до приєднання в майбутньому запального процесу органів сечовидільної системи з провідним значенням саме анемії матері та гестозу I

половини вагітності.

Значний вплив на плід у патогенезі ДН мали такі епігенетичні фактори, як вживання алкоголю та паління тютюну матір'ю (73,07% та 50,00% проти 24,62% в контролі), робота матері під час вагітності за комп'ютером (44,23% та 32,14% проти 6,15% в контролі) та наявність хронічних захворювань у матері (44,23% та 37,50% проти 15,38% матерів дітей групи контролю).

Можна припустити, що в таких умовах плід зазнає впливу, який призводить до внутрішньоутробної гіпоксії, яка стає основним епігенетичним чинником у патогенезі дизметаболічної нефропатії, на ймовірність чого вказують роботи деяких авторів [38].

З метою встановлення ролі професійних шкідливостей та захворювань батьків дитини, як епігенетичних факторів формування патології в постнатальному періоді життя і на схильність дітей до приєднання запального процесу нирок у майбутньому, проведено порівняльний аналіз їх частоти серед батьків дітей основних груп. При проведенні аналізу частоти постнатальних епігенетичних факторів, вплив яких зазнає дитина в процесі розвитку, з'ясувалось, що частота контакту з промисловим пилом, промисловим шумом та важка фізична праця була достовірно вищою у батьків дітей з ДН (у 21, 15%, 23,07%, 23,07% батьків дітей I групи; у 17,86%, 19,64% та 17,86% батьків дітей II групи, що було значно вище, ніж у батьків дітей групи контролю – у 10,77%, 6,15% та 13,85% батьків дітей відповідно).

Вигодовування дитини в перший рік життя є вагомим чинником у формуванні імунітету та може слугувати епігенетичним фактором розвитку різних патологій. Аналіз тривалості грудного вигодовування в анамнезі у дітей двох груп обстеження показав, що грудного вигодовування взагалі не отримували 34,62% дітей I-ої групи та 5,36% дітей другої групи. Тривалість грудного вигодовування до 3 місяців відмічалась у 32,69% дітей I групи, тільки у 8,93% дітей II групи та практично у такої ж кількості здорових дітей групи контролю - 7,69%. Природнє вигодовування до 6 місяців тривало у 26,92% дітей I групи, 62,5% дітей II групи та у 58,46% дітей групи контролю. Грудне

вигодовування до 12 місяців отримували лише 5,77% дітей І групи, 23,21% дітей ІІ групи та 24,62% дітей групи контролю, а тривалість вигодовування до 18 місяців відмічалось у 7,69% здорових дітей та взагалі не відмічалось у дітей основних груп обстеження. Отримані дані свідчать про значущість природного вигодовування для запобігання маніфестації та хронізації запального процесу в нирках у майбутньому, тоді як його відсутність може стати епігенетичним чинником розвитку патології у дитини.

З метою пошуку можливих епігенетичних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та її ускладнення була проаналізована частота можливих постнатальних епігенетичних чинників ризику формування патології. Аналіз анамнестичних даних показав, що на першому році життя 676,31% дітей І-ої групи знаходились на ранньому штучному вигодовування, в той час, як в ІІ-й групі таких дітей було тільки 14,28%, достовірно не відрізняючись від даних дітей групи контролю –13,85%. Переважна більшість дітей І-ої групи (71,15%) більше 5 разів хворіли на гострі респіраторні захворювання протягом першого року життя, в той час, як часто хворілих дітей в ІІ-й групі було стільки ж (12,50%), як в групі контролю (12,3%), діти з ДН обох груп достовірно частіше мали прояви atopії, але в І-й групі таких дітей була третина всіх обстежених (34,62%) проти 7,14% дітей групи порівняння, а в контролі -1,53%. Дітей І групи з явищами фізіологічної жовтяниці новонароджених було 40,38%, в ІІ групі таких дітей було в 2,3 раза менше -17,85%, а в групі контролю - 13,85% дітей.

Таким чином, низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ, atopічний діатез в анамнезі та фізіологічну жовтяницю новонароджених, можна вважати вагомими постнатальними епігенетичними факторами, які в числі інших, спричинили більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії з приєднанням запального процесу ОСС.

Інші дослідники також отримали подібні результати. За даними Лук'яненко Н.С., штучне вигодовування виявилось предиктором частішого розвитку важких форм гіпоплазії емалі зубів у дітей з еконефропатіями. Такі

форми гіпоплазії частіше спостерігаються у дітей з низькою масою тіла при народженні, пізнім прорізуванням зубів та частими захворюваннями сечовивідної системи [35]. На думку Майданника В.Г., у новонароджених єдиною ознакою захворювання може бути тривала жовтяниця [36]

Відомо, що наявність деяких хронічних захворювань в дитини може провокувати виникнення вторинних поліморфних порушень з боку внутрішніх органів і систем, і, таким чином, виступати епігенетичними факторами, які й визначають якість життя й прогноз здоров'я пацієнта [21]. Аналіз наявності супутньої патології, зафіксованої у ф. 112/о в обстежених дітей показав, що у переважної більшості дітей із ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії була наявна супутня бактеріальна і вірусна патологія: хронічний тонзиліт у 40,38% дітей, карієс зубів – у 34,62% дітей, хронічний гастрит та atopічний діатез – у 23,08% дітей, гіпоплазія емалі зубів – у 26,92% дітей. У той же час, у дітей II-ої групи вона теж діагностувалась, але відсоток дітей, які її мали був незначний, а за деякими нозологіями (хронічний холецистит, часті ГРЗ та зоб II ступеню) частота не відрізнялась від даних групи контролю. Отже, у дітей I групи спостерігався вищий рівень захворюваності на хронічний тонзиліт, карієс зубів, гіпоплазії емалі зубів, хронічний гастрит та atopічний діатез, що вказує на суттєву роль супутньої патології, як постнатальних епігенетичних чинників фактором не тільки схильності дитини до ДН, але й важкості її перебігу.

Дослідження [36, 92] показали, що у дітей старше 3 років з первинним пієлонефритом у 67% випадків рецидиви були пов'язані з ГРВІ, а нейрогенна дисфункція сечового міхура спостерігалася у 93%. При вторинному пієлонефриті ГРВІ спричиняли рецидиви у 100% випадків.

У деяких дослідженнях висловлюється одна з епігенетичних гіпотез про те, що на експресію багатьох генів здатні впливати зовнішні індукуючі фактори [68]. Дослідження свідчать, що зовнішні фактори можуть індукувати стійкі зміни епігенетичних станів, слугуючи механізмом тривалого впливу навколишнього середовища на організм [68].

З літератури відомо [16, 25, 72,], що у генезі мультифакторної патології значне місце посідає обтяженість генеалогічного анамнезу за цією патологією. Виявилось доцільним проаналізувати дані генеалогічного анамнезу дітей з дизметаболічною нефропатією.

Обтяжений сімейний анамнез за обмінною патологією відмічено в 79 (73,15%) обстеженого: у 41 дитини I групи (78,85%) та у 38 дитини (67,86%) – II-ої. Це вказує на високу значущість спадкових факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей. З метою уточнення значення спадкових факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії та важкості її перебігу у дітей були вивчені дані генеалогічного анамнезу 108 сімей. Дані зібрано про 1076 родичів I–II–III ступеню спорідненості. Для порівняння даних генеалогічного анамнезу дітей з ДН з даними здорових дітей групи контролю, в 40 сім'ях здорових дітей зібраний генеалогічний анамнез, вони склали загальнопопуляційну групу контролю, дані зібрано про 676 родичів. З метою оцінки даних генеалогічного анамнезу, аналізувалась кількість родичів кожного ступеню спорідненості, хворих на обмінну патологію (сечокам'яна, жовчекам'яна хвороби, подагра) як в сім'ях дітей з ДН, так і в сім'ях дітей групи контролю.

Частота обмінної патології серед родичів I ст. спорідненості дітей з ДН була в 5 разів вище від аналогічної частоти у родичів дітей групи контролю. Цей факт вказує на те, що в генезі дизметаболічної нефропатії у дітей дуже значну роль відіграє обтяженість генетичного анамнезу за обмінною патологією, вона розвивається швидше у тих дітей, в яких генеалогічний анамнез більш суттєво обтяжений за цією патологією, тобто такі діти складають групу ризику по виникненню в них дизметаболічної нефропатії.

З боку родичів II ступеня спорідненості генеалогічний анамнез був достовірно, в чотири рази більше обтяжений за обмінною патологією, а для родичів III ступеню спорідненості – він був обтяжений в два рази більше. Аналіз захворюваності серед рідних сибсів, хворих на дизметаболічну нефропатію і здорових пробандів показав, що у 18,42% сибсів дітей з

ускладненим перебігом ДН і у 16,66% дітей з неускладненою ДН була теж діагностовано ДН, у той час, як в контрольній групі дітей був тільки 1 сибс, хворий на ДН, що склало 4,76%. Тобто, ризик виникнення дизметаболічної нефропатії для рідних сибсів дітей з ДН збільшується в 3,7 - 3,5 разів у порівнянні із ризиком для сибсів здорових дітей.

Отже, аналіз генеалогічного анамнезу у дітей з ДН та контрольної групи показав високий ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у дітей, родичі яких мали захворювання на обмінну патологію, особливо, якщо це були родичі I ступеню спорідненості – рідні сибси.

Підрахунок частки генетичних та середовищних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії був проведений за моделлю, запропонованою G. Edward's та G. Smith, використовуючи інформацію про популяційну частоту цього захворювання [25].

Відповідно до цієї моделі, частка спадковості у розвитку ДН в сім'ях дітей з ускладненим перебігом ДН за моделлю G. Edward's складає 36,76%, а в групі дітей з неускладненим перебігом ДН - 48,81%, тобто в генезі дизметаболічної нефропатії обтяженість генеалогічного анамнезу за обмінною патологією відіграє дуже важливу роль, оскільки специфічний генетичний ризик понад 20,0% прийнято вважати високим [93].

Середовищні фактори, за моделлю G. Edward's та G. Smith's, відіграють у патогенезі дизметаболічної нефропатії вагомий роль - відповідно 63,24% та 51,18%. До середовищних факторів можна віднести дієту, обсяг пиття, умови проживання і вплив ксенобіотиків на дитячий організм.

Таким чином, можна стверджувати, що у разі наявності в сім'ї дитини з дизметаболічною нефропатією чи родича з обмінною патологією, ризик виникнення ДН у другій дитини за моделлю G. Edward's та G. Smith's дуже високий – 36,76% та 48,81%. Цей ризик стає в 3,5 разів більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс.

Коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії, вираховували за методом, запропонованим D. Falconer [102].

Для родичів хворих дітей I ступеню спорідненості ризик захворіти на ДН за моделлю D. Falconer був дуже високим – 24% та 22% і не залежав від того хто саме хворий - батьки чи сибси і від віріанту перебігу ДН, ускладненого чи ні. Це узгоджується і з розрахунками частки генетичної компоненти у генезі нефропатій для рідних сібсів за моделлю G. Edward's та G. Smith. Коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії для родичів II ступеню спорідненості хворих на ДН дітей теж був достатньо високим – 20,9%, Для родичів дітей з ДН III ст. спорідненості ризик виникнення нефропатій не відрізнявся від середньопопуляційного – 3,6%.

Отже, частка генетичних і середовищних факторів у патогенезі дизметаболічної нефропатії була приблизно однаковою (50-40%) і при усуненні впливу негативних впливів зовнішнього середовища, дотримання антиоксалатної дієти і рясного пиття, налагодження здорової екології проживання, ризик реалізації дизметаболічної нефропатії може бути значно і суттєво нижчим.

Таким чином, дослідження епігенетичних механізмів формування дизметаболічної нефропатії у дітей та їх схильності до більш важкого її перебігу дозволили отримати дані, які доповнюють і розширюють наявні знання у цій галузі.

Отримані дані можуть стати підґрунтям для розробки етіологічно і патогенетично обґрунтованих способів прогнозування та профілактики маніфестації дизметаболічної нефропатії, її важчого перебігу з нашаруванням запального процесу органів сечовидільної системи у дітей, які зазнають впливу численних епігенетичних факторів.

У доступній літературі висловлюється гіпотеза про комбінований вплив епігенетичних факторів на організм плода і дитини, який призводить до адитивного ефекту і в кінцевому результаті - до порушень розвитку органів та тканин під час внутрішньоутробного та постнатального періодах внаслідок, найчастіше, генетично зміненого процесу фібрилогенезу позаклітинного матриксу, що призводить до розладів гомеостазу на тканинному та органному

рівнях, в тому числі з боку сечовидільної системи [21, 47]. За даними досліджень, сукупність епігенетичних факторів може спричинити порушення обмінних процесів на різних рівнях, викликати зміни трансмембранного потенціалу та процесів окислення в організмі плода. Такий метаболічний дисбаланс призводить до порушень клітинної біоенергетики, що є основою розвитку патологій дитячого віку загалом і нефрологічних захворювань зокрема, створюючи умови для виникнення численних аномалій, поліорганичних уражень і поліморбідності пацієнтів, зокрема до формування у дітей синдрому НДСТ [37, 50]. Основою цього синдрому є порушення синтезу, розпаду або морфогенезу компонентів позаклітинного матриксу, що може виникнути в період раннього ембріогенезу чи постнатально внаслідок впливу несприятливих факторів навколишнього середовища та епігенетичних факторів, і проявлятися на різних етапах життя [46].

Значна частота неспецифічних анте- та постнатальних факторів ризику формування патології у дітей із дизметаболічною нефропатією, яка призводить до гіпоксії плода і в подальшому – до тканинної гіпоксії у дитини, дозволила висунути гіпотезу, що поєднання їх впливу могло призвести до аддитивного ефекту з формуванням у цих дітей синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), який характеризується мультифакторним генезом і ініціює виникнення диспластикозалежної патології та асоційованих з нею захворювань, визначаючи своєрідність їх перебігу і прогнозу [46].

З метою перевірки висунутої гіпотези про формування в дітей із наявністю в анамнезі численних епігенетичних факторів, синдрому НДСТ, який супроводжується формуванням аномалій розвитку і диференціації тканин з боку внутрішніх органів плода, а також з метою вивчення можливої ролі НДСТ, як преморбідного фону формування ДН у дітей і схильності до її важчого перебігу, необхідно було провести лабораторну верифікацію діагнозу НДСТ за допомогою загальновідомих біохімічних маркерів НДСТ, так званого «Золотого стандарту» її діагностики [39].

Оксипролін відображає дезорганізацію колагену та вважається

основним біохімічним маркером наявності НДСТ [51]. Вміст в крові фракцій вільного оксипроліну (ОП) і пептиднозв'язаного оксипроліну відображає співвідношення деструктивних і синтетичних процесів у позаклітинному матриксі паренхіматозних органів [212].

Отже, з метою лабораторного підтвердження наявності в дітей з різними за важкістю перебігу дизметаболічної нефропатії, синдрому НДСТ, було проведено визначення оксипроліну [46].

Дослідження показало, що практично у всіх обстежених дітей І-ої групи були достовірно підвищені показники вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в плазмі крові ($57,16 \pm 0,03$ мкмоль/л та $38,12 \pm 0,03$ мкмоль/л при показнику у здорових дітей $12,67 \pm 0,03$ мкмоль/л та $8,34 \pm 0,03$ мкмоль/л відповідно), а у дітей ІІ-ої групи ці показники були достовірно підвищені у половини обстежених ($27,65 \pm 0,01$ мкмоль/л та $21,22 \pm 0,02$ мкмоль/л у 57,14% та 51,79% дітей відповідно). З літератури відомо, що чим вища цифра показника рівнів фракцій оксипроліну в крові, тим більше посиленням вважається недиференційованість колагену [42]. Отже за даними цих показників можна констатувати наявність дисплазії сполучної тканини у всіх дітей І-ої групи та у половини дітей ІІ-ої групи.

Екскреція оксипроліну з сечею теж була достовірно підвищена у 78,85% дітей І групи ($0,64 \pm 0,02$ ммоль/л) та у 46,43% дітей другої групи ($0,17 \pm 0,01$ ммоль/л) в порівнянні з даними здорових дітей ($0,08 \pm 0,02$ ммоль/л у 4,62% обстежених). Отримані дані дозволили підтвердити наявність синдрому НДСТ у більшості дітей з дизметаболічною нефропатією, а достовірно глибокі порушення сполучної тканини у дітей з обтяженим перебігом дизметаболічної нефропатії можуть пояснити її важчий перебіг у цих дітей і їх схильність до нашарування запального процесу органів сечовидільної системи (ОСС) в майбутньому.

Отже, проведене дослідження показників недиференційованої дисплазії колагену у дітей із дизметаболічною нефропатією, підтвердило гіпотезу про вплив численних епігенетичних факторів на формування тканини нирок

внутрішньоутробно і в позаутробному житті з розвитком синдрому НДСТ нирок у дітей і провідну роль синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини нирок в генезі ДН. А показники вмісту оксипроліну в крові і сечі є не тільки свідченням впливу епігенетичних чинників на формування нирок у дітей з наявністю у них синдрому НДСТ, як важливої ланки патогенезу дизметаболічної нефропатії, а й чутливим маркером більш важкого її перебігу.

Зміна екскреції оксипроліну з сечею і співвідношення їх фракцій в крові спостерігається при різних захворюваннях, які супроводжуються порушеннями метаболізму (склеродермія, набуті вади серця, псоріаз, пієлонефрити, гострий обструктивний бронхіт у дітей, цироз печінки, гіпертонічна хвороба) [54, 79, 90]. Підвищення добової екскреції оксипроліну з сечею у дітей з синдромом НДСТ відзначено і зарубіжними авторами [178, 210, 215], при НДСТ серця [11, 17].

Порушення кальцієвого гомеостазу та окислювального метаболізму клітин зі змінами внутрішньоклітинного потоку кальцію, заміни кальцію на специфічних рецепторах з наступною активацією кальцій-залежних ферментів та гормонів є провідним механізмом дії несприятливих, в тому числі епігенетичних факторів зовнішнього середовища на організм плода в антенатальному періоді [122]. При гіпоксії плода, до якої призводять такі епігенетичні фактори, як загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, які виявились в анамнезі переважної більшості обстежених дітей, можна припустити порушення гомеостазу таких мікроелементів як Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , P^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{3+} , Cu^{2+} і Fe^{2+} , що, за даними літератури [122] корелює зі зниженням рівня внутрішньоклітинної АТФ і активністю більшості металоферментів. На даний час вже доведено факт накопичення при гіпоксії надлишку внутрішньоклітинного Ca^{2+} , що призводить до формування так званого кальцієвого парадоксу з подальшим розвитком незворотніх порушень функції клітини і її загибелі [30].

Зважаючи на вищесказане, доцільним видавалась оцінка вмісту кальцію (Ca^{2+}) в крові та сечі обстежених дітей з дизметаболічною нефропатією з різними варіантами її перебігу.

Аналіз даних такого дослідження вказує на те, що рівень кальцію в крові був достовірно знижений практично у всіх дітей обох груп, незалежно від важкості перебігу дизметаболічної нефропатії ($1,51 \pm 0,22$ ммоль/л у 96,15% та $1,63 \pm 0,32$ ммоль/л у 96,42% відповідно до груп). В сечі рівень же кальцію був достовірно підвищений у 94,23% обстежених дітей з ускладненим перебігом ДН ($2,19 \pm 0,27$ ммоль/л), та у 89,28% дітей з дизметаболічною нефропатією без ускладненого перебігу ($1,63 \pm 0,32$ ммоль/л), хоча і не мав достовірної різниці з даними здорових дітей ($1,78 \pm 0,12$ ммоль/л). Тобто спостерігається достовірна гіпокальціємія та гіперкальціурія у більшості обстежених дітей з ускладненим перебігом ДН та у переважної більшості з її неускладненим перебігом, що вказує на порушення кальцієвого обміну у патогенезі дизметаболічної нефропатії, не залежно від характеру її перебігу в подальшому.

З метою характеристики клітинного гомеостазу кальцію (кальцифілаксії) у дітей проводився тест на кальцифілаксію, або появу полярних ліпідів, уламків цитомембран нефротелію.

Тест, який виявився позитивним у 96,15% дітей I-ої групи ($1,02 \pm 0,02$ ум од.) і у 92,86% ($0,66 \pm 0,03$ ум. од.) дітей II групи при показниках у здорових дітей - $0,22 \pm 0,15$ ум. од. (2,6%) свідчить про присутність у сечі значної кількості етанолових миль з різноманітними ліпідами. Результати тесту на кальцифілаксію вказують на порушення клітинного гомеостазу кальцію у дітей з дизметаболічною нефропатією, що, ймовірно, і лежить в основі провідного значення кальцифілаксії та кальциурії на фоні синдрому НДСТ у патогенезі ДН взагалі і більш важкого її перебігу, зокрема, а показник кальцифілаксії є чутливим маркером важкого перебігу ДН у дітей.

Визначивши наявність кальциурії і кальцифілаксії у дітей з ДН, доцільним видавалось встановлення рівня фосфору в крові та сечі обстежуваних дітей, оскільки фосфор є важливим структурним компонентом

клітинних мембран та нуклеїнових кислот [118].

Результати роботи показали, що рівень фосфору в крові всіх обстежуваних дітей із ДН, незалежно від характеру її перебігу, відповідав референтним значенням ($1,49 \pm 0,24$ ммоль/добу та $1,41 \pm 0,33$ ммоль/добу при даних здорових дітей $1,52 \pm 0,29$ ммоль/добу). Достовірно, проте незначно, була підвищена екскреція фосфору з сечею у всіх обстежених дітей, не залежно від важкості перебігу ДН ($29,9 \pm 2,87$ ммоль/добу та $27,4 \pm 3,56$ ммоль/добу при даних дітей контрольної групи $19,2 \pm 2,31$ ммоль/добу), тобто у всіх дітей з ДН відмічалась помірна гіперфосфатурія.

Отримані дані дають підставу стверджувати, що гіпокальціємія, гіперкальціурія та помірна гіперфосфатурія є результатом наявності синдрому НДСТ з боку нирок, який сформувався в антенатальному періоді під дією численних епігенетичних факторів на пліда, а рівень цих мікроелементів є специфічним епігенетичним маркером схильності дітей до дизметаболічної нефропатії.

Отримавши дані про гіпокальціємію, гіперкальціурію та гіперфосфатурію у обстежених дітей з ДН, важливим було проаналізувати активність паратгормону і кальцитоніну, як основних гормонів, що регулюють кальцієво-фосфорний обмін в організмі дітей [22].

Активність паратгормону в крові дітей з дизметаболічною нефропатією була достовірно підвищена, незалежно від характеру її перебігу ($14,5 \pm 3,25$ пг/мл та $11,2 \pm 1,14$ пг/мл відповідно до груп спостереження, при даних здорових дітей $7,7 \pm 1,26$ пг/мл), що відповідає даним літератури щодо активності паратгормону при зниженні концентрації кальцію в крові, яке, в свою чергу, є наслідком кальциурії. Отримані дані вказують на пріоритетність гіперкальциурії в патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей, яка призводить до гіпокальціємії і вимагає підвищення активності паратиреоїдного гормону у дітей.

Гормоном - антагоністом паратгормона є кальцитонін, який теж приймає участь у регуляції обміну кальцію і фосфору в організмі дітей [162-163].

Доцільним видавалось дослідити і його активність.

Активність кальцитоніну в крові практично всіх дітей обох обстежуваних груп перебувала в межах вікової норми з незначною, але не достовірною, тенденцією до її підвищення ($6,8 \pm 1,78$ пг/мл та $6,3 \pm 1,27$ пг/мл при даних здорових дітей $4,1 \pm 1,21$ пг/мл). Отримані дані свідчать про відсутність змін з боку гормональної регуляції процесів моделювання кісткової тканини у дітей з ДН, за що в більший мірі відповідає саме кальцитонін, а виявлена гіпокальціємія, гіперкальциурія і гіперфосфатурія, пов'язані не з гормональною дизрегуляцією у дітей з дизметаболічною нефропатією, а є провідними факторами у патогенезі ДН.

Таким чином, слід зазначити, що порушення рівнів кальцію в сечі і крові, рівня фосфору в сечі та активності паратгормону в крові є результатом впливу на плід в антенатальному періоді і в подальшому житті на дитину численних несприятливих епігенетичних факторів, що призвели до формування в організмі синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, а самі показники є високоінформативними та чутливими епігенетичними маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

Довівши наявність синдрому НДСТ у більшості дітей з дизметаболічною нефропатією, особливо з її важчим перебігом, можна було припустити наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок, яка розвивається на фоні синдрому НДСТ. У літературі зустрічаються роботи, присвячені питанню тканинної гіпоксії паренхіми нирок при пієлонефриті [18] при природжених вадах нирок [23]. Проте, роботи у цьому напрямку не отримали широкого розповсюдження, а при дизметаболічній нефропатії у дітей таких досліджень не зустрілось взагалі. Крім того, недостатньо вивчено прогностичну значущість маркерів тканинної гіпоксії в розвитку та прогресуванні ураження нирок у дітей. Все це вимагає пошуку скринінгових, високочутливих та специфічних методів діагностики тканинної гіпоксії паренхіми нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією.

Чутливими маркерами наявності тканинної гіпоксії паренхіми нирок є оксалатно-кальцієва кристалурія та тести на антикристалутворюючу здатність сечі [31]. Відомо, що зниження антикристалутворюючої здатності сечі вказує на зниження утворення біокомплексонів, які в нормі перешкоджають утворенню кристалів, а оскільки більшість біокомплексонів є похідною аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), можна говорити про зниження утворення АТФ у клітинах ниркового епітелію та наявність тканинної гіпоксії паренхіми нирок [32].

За даними літератури, надлишок виділення з сечею оксалатів та фосфатів свідчить про кисневу недостатність організму в цілому, оксалурія з'являється при виснажливому бігу, фізичних навантаженнях [32], тобто у всіх випадках порушення аеробних окисних процесах. Підвищена екскреція цих солей тісно пов'язана із процесом гіпоксії ниркової тканини [31],

З метою уточнення наявності і ступеня тканинної гіпоксії нирок у дітей з різним за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією, була досліджена антикристалутворююча здатність сечі (АКЗС) та добова екскреція оксалатів і фосфатів у дітей двох груп.

Як показали дані обстеження, АКЗС до оксалатів кальцію та фосфатів кальцію була достовірно знижена у всіх 100% обстежених дітей обох груп з тенденцією до більш значного зниження у дітей з обтяженим перебігом ДН: $0,66 \pm 0,06$ ум.од. та $0,53 \pm 0,06$ ум.од. при референтному значенні $0,08 \pm 0,03$ ум.од. Аналогічні дані отримані й за результатами дослідження АКЗС до фосфатів кальцію – вона була достовірно знижена практично у всіх дітей обох груп, достовірно не відрізняючись між собою ($0,45 \pm 0,09$ ум.од. та $0,45 \pm 0,05$ ум.од. при даних здорових дітей $0,05 \pm 0,01$ ум.од.). Переважна більшість обстежених дітей (87,55% та 80,77%) мала достовірно знижену АКЗС до трипельфосфатів ($0,43 \pm 0,09$ ум.од. і $0,45 \pm 0,05$ ум.од при даних дітей в контролі $0,02 \pm 0,01$ ум. од.)

У всіх 100,0% обстежених дітей обох груп добова екскреція оксалатів кальцію і фосфатів кальцію з сечею була достовірно (в 2-3 рази) вища з

тенденцією до більшої екскреції у дітей з ускладненим перебігом ДН: $47,3 \pm 9,05$ моль/добу та $35,19 \pm 8,7$ моль/добу відповідно, при референтному значенні $19,5 \pm 0,03$ моль/добу. У 98 % дітей з ускладненим перебігом ДН та у 93% дітей з ДН була достовірно підвищена екскреція з добовою сечею фосфатів кальцію: $21,97 \pm 1,56$ моль/добу та $15,09 \pm 2,05$ моль/добу, при референтному значенні $11,5 \pm 0,04$ моль/добу, а у 4/5 обстежених обох груп була дещо підвищена екскреція уратів, у дітей другої групи за середніми значеннями не відрізняючись від екскреції уратів у здорових дітей: $6,37 \pm 0,64$ моль/добу та $5,29 \pm 0,94$ моль/добу відповідно, при нормі - $4,5 \pm 0,01$ моль/добу.

Таким чином, можна стверджувати, що у дітей з дизметаболічною нефропатією має місце недиференційована дисплазія сполучної тканини, на фоні якої діагностуються гіперкальциурія і гіпокальциємія, тканинна гіпоксія ниркової паренхіми з тенденцією до більшої вираженості у дітей з ускладненим перебігом ДН, а тканинна гіпоксія паренхіми нирок поряд з дисплазією сполучної тканини нирок грає провідну роль у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей і є результатом впливу негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід внутрішньоутробно та в подальшому позаутробному житті.

Окислювальний стрес, як універсальний механізм реалізації тканинної гіпоксії на клітинному рівні, який супроводжується активацією неферментативного вільнорадикального окислення та накопиченням продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в крові привертає увагу дослідників. На патогенетичну роль ушкодження ліпідного компоненту мембран ниркового епітелію при існуванні тканинної гіпоксії вказує ряд авторів [27, 36,183]. Проте, досліджень процесів ПОЛ при дизметаболічній нефропатії дуже мало [23].

Охарактеризувати активність процесів перекисного окислення ліпідів в організмі і зумовленої ними мембранодеструкції, зокрема, в паренхімі нирок можна за допомогою таких маркерів, як вміст дієнових кон'югатів в плазмі

крові, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції продуктів ПОЛ та полярних ліпідів (уламків цитомембран ниркового епітелію) з сечею [90].

Аналіз дослідження процесів перекисного окислення ліпідів у дітей з дизметаболічною нефропатією встановив, що в плазмі крові практично у всіх дітей обох груп (96,15% і 98,21% обстежених двох груп) був достовірно підвищений вміст дієнових кон'югатів, проміжних продуктів реакції ПОЛ ($14,2 \pm 1,3$ мкмоль/л та $13,8 \pm 0,97$ мкмоль/л при його значенні у здорових дітей $9,78 \pm 0,70$ мкмоль/л). Вміст малонового діальдегіду, кінцевого продукту процесу ПОЛ був достовірно вищим за дані здорових дітей як в плазмі крові ($1,87 \pm 0,08$ мкмоль/л, 94,23% обстежених I-ї групи та $1,28 \pm 0,17$ мкмоль/л, 92,86% обстежених II групи, при його значенні у здорових дітей $0,82 \pm 0,03$ мкмоль/л), так і в еритроцитах ($17,09 \pm 1,6$ мкмоль/л, 98,08% дітей та $13,85 \pm 1,53$ мкмоль/л, 96,43% дітей, при його значенні у здорових дітей $9,54 \pm 0,4$ мкмоль/л). При ускладненому перебігу дизметаболічної нефропатії вміст МДА і в плазмі і в еритроцитах був достовірно вищим.

Екскреція продуктів ПОЛ з добовою сечею була достовірно вищою у дітей з ДН обох груп при дещо вищих показниках у дітей I-ої групи ($1,54 \pm 0,01$ ум. од., 100,0% обстежених I-ї групи і $1,27 \pm 0,02$ ум. од, 98,46% дітей II-ї групи, при даних дітей контрольної групи $0,09 \pm 0,01$ ум. од.), що вказує на інтенсифікацію перекисного окислення ліпідів і мембранодеструкції клітин вже безпосередньо у тканині нирок.

Екскреція полярних ліпідів, яка вказує не тільки на наявність кальцифікації в організмі дітей, але й є основним показником мембранодеструкції ниркового епітелію, була достовірно вищою у практично всіх дітей обох груп ($1,02 \pm 0,02$ ум. од, 96,15% обстежених і $0,66 \pm 0,03$ ум.од., 92,86% дітей II-ї групи) при достовірно вищих цифрах у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії. Зважаючи на достовірну різницю даних між двома групами дітей, можна говорити, що показники перекисного окислення ліпідів та мембранодеструкції нефротелію є чутливими

прогностичними маркерами більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

Швидкість процесів ліпопероксидації в організмі регулюється антиоксидантною системою організму [69], одним з показників активності якої є активність фермента каталази [174]. Отримавши переконливі свідчення про активацію процесів ПОЛ в організмі дітей з ДН, доцільним було дослідити активність каталази в крові та сечі, як маркера антиоксидантної системи організму.

Результати дослідження активності каталази вказують на виснаження антиоксидантного захисту і достовірне зниження активності каталази як в крові ($0,57 \pm 0,14$ к. ч. і $0,63 \pm 0,23$ к.ч.) у 100% обстежених обох груп, так і в сечі ($0,17 \pm 0,04$ к. ч. у 100% обстежених дітей I-ї групи і $0,45 \pm 0,09$ к.ч. у 98,21% обстежених дітей II-ї групи). При цьому недостатність активності каталази в сечі достовірно відрізнялась у дітей двох груп спостереження, не тільки від даних здорових дітей ($0,87 \pm 0,04$ к. ч.), але й між собою ($p_1 < 0,01$).

Виявлений факт дозволяє стверджувати, що на фоні інтенсифікації процесів ліпопероксидації і мембранодеструкції в організмі дітей з ДН виснажуються можливості антиоксидантного захисту, що, в свою чергу, призводить до ще більшої інтенсивності процесів ПОЛ. А показник активності каталази в сечі є інформативним, достовірним і чутливим маркером не тільки результату впливу на організм дитини епігенетичних чинників, але й прогностичним маркером більш важкого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

Літературні джерела вказують, що ниркові каналці і гломерули дуже вразливі до різних негативних епігенетичних чинників, включаючи їх наслідки, такі як дисплазія сполучної тканини паренхіми, тканинна гіпоксія та порушення обміну речовин, в тому числі порушення фосфорно-кальцієвого обміну [62, 178]. У відповідь на пошкодження, відбувається трансформація епітеліоцитів каналців та продукуванням ними різних біологічно активних

молекул, що призводить до розвитку інтерстиційного запалення та фіброзу [68].

Оскільки у роботі була доведена наявність недиференційованої дисплазії сполучної тканини нирок, тканинної гіпоксії паренхіми нирок, інтенсифікація в ній процесів ПОЛ і виникнення мембранодеструкції з порушенням фосфорно-кальцієвого обміну у обстежуваних дітей, необхідним виявилось дослідити парціальні функції нефронів ниркової паренхіми, як тубулярного, так і гломерулярного відділів і стану сполучної тканини нирок.

Канальцеву реабсорбцію як парціальну функцію проксимального відділу нефронів оцінювали за даними тестів урінолізісу, а саме, за рівнем екскреції неорганічних фосфатів, протеїнурії, амінокислот, редукованих цукрів – мальтози, сахарози, фруктози (за пробою Бенедикта), глюкози (за пробою Гайнеса) і кальцію (за пробою Сулковича).

Дослідження показало достовірно високу частоту гіперфосфатурії (94,23% та 96,42% відповідно груп спостереження), кальційурії (94,23% і 89,28%), глюкозурії (78,85% та 67,85%), підвищеної екскреції із сечею амінокислот (40,38% та 37,5%), мікропротеїнурії (32,69% та 28,57%) і підвищення екскреції редукованих цукрів (28,85% та 26,79%), що в порівнянні з даними дітей контрольної групи дає можливість діагностувати у дітей з ДН наявність дисфункції тубулярного епітелію паренхіми нирок, а саме проксимального відділу нефронів, який перебігає у вигляді описаного у літературі синдрому Фанконі [36]. Звертав на себе увагу той факт, що показники кальційурії і глюкозурії достовірно відрізнялись між даними дітей двох груп: у дітей I групи частота ураження проксимального відділу нефронів була достовірно вищою, ніж у дітей II групи.

Отримані дані свідчать про порушення функції проксимального відділу нефрону за тубулярним типом у дітей з ДН, що є наслідком дисплазії сполучної тканини нирок, тканинної гіпоксії паренхіми нирок в результаті впливу на дитячий організм численних епігенетичних факторів як в анте- так і у постнатальному житті.

Проведені дослідження переконливо демонструють, що показники тестів урінолізису відображають наявність парціальної ниркової недостатності за тубулярним типом у дітей з дизметаболічною нефропатією, а гіперкальціурія і глюкозурія є не тільки чутливими тестами парціальної ниркової недостатності за тубулярним типом, але й прогностичними маркерами її більш важкого перебігу.

Про парціальне порушення функції гломерул нефрона у дітей, за даними літератури, можна судити за показниками рівня креатиніну (Кр) та структурного компоненту сполучної тканини - глікозоаміногліканів (ГАГів) у сечі [39].

Маркером скрозування гломерул може виступати оксипролін, оскільки він є основною амінокислотою колагену і рівень його зростає при збільшенні обсягу колагену в паренхімі нирок, що й відбувається під час процесу вторинного зморщення нирок, тобто процеси склерозування сполучної тканини нирок [126, 162].

З метою уточнення функціонального стану гломерулярної частини нефронів, виявилось доцільним визначити рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів (ГАГів) з добовою сечею у дітей з дизметаболічною нефропатією в порівнянні з даними здорових дітей контрольної групи.

Дослідження показало достовірно знижений рівень креатиніну в добовій сечі у переважної більшості дітей I групи ($0,56 \pm 0,19$ г/л, 80,77% обстежених) та більше, ніж у половини дітей II групи ($0,83 \pm 0,08$ г/л, 57,14% обстежених) в порівнянні із даними здорових дітей групи контролю ($1,25 \pm 0,75$ г/л, 0,0%). Разом з тим, екскреція креатиніну з добовою сечею у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії була достовірно нижче, ніж його екскреція у дітей II групи як за частотою, так і за середніми значеннями. Відомо, що екскреція креатиніну з сечею зменшується внаслідок погіршення процесу фільтрації у гломерулі через склерозування судинної стінки гломерулярних судин [19], отже можна сказати, що за даними показника екскреції креатиніну з сечею, у дітей з дизметаболічною нефропатією наявна

парціальна дисфункція нирок за гломерулярним типом, яка значно більш виражена у дітей з ускладненим перебігом ДН.

Екскреція глікозоаміногліканів з добовою сечею достовірно відрізнялось як між даними дітей з різним перебігом дизметаболічної нефропатії - у 84,62% дітей I групи - $282,6 \pm 38,41$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну і у 35,71% дітей II групи - $250,37 \pm 35,2$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну, так і від даних дітей контрольної групи ($135,0 \pm 75,0$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну). Отриманий результат дозволяє встановити наявність у дітей з дизметаболічною нефропатією порушення процесів фільтрації у гломерулі, що вказує на парціальну недостатність за гломерулярним типом при даній патології, що достовірно більше виражено у дітей з ускладненим перебігом ДН.

Аналогічний результат отримано і щодо достовірно підвищеної екскреції оксипроліну з добовою сечею у дітей з ДН: у дітей з ускладненим перебігом ДН екскреція оксипроліну діагностувалась достовірно частіше і була вище ($0,64 \pm 0,02$ ммоль/л у 78,85% обстежених), ніж у дітей II групи ($0,17 \pm 0,01$ ммоль/л у 46,43% обстежених) при значеннях у дітей контрольної групи - $0,08 \pm 0,02$ ммоль/л, що вказує на початок процесу склерозування не тільки каналців і гломерул, а й сполучної тканини паренхіми нирок при ДН у дітей, який більше виражений у дітей з ускладненим перебігом ДН. [20]

Таким чином, аналіз функціонального стану тканини нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей дозволяє засвідчити наявність тубулярної і гломерулярної парціальної недостатності тканини нирок, про що говорить достовірне зменшення екскреції креатиніну і достовірне підвищення екскреції глікозоаміногліканів з сечею, а також достовірно вищий рівень оксипроліну у сечі, що говорить не тільки про наявність дисплазії сполучної тканини нирок у дітей при даній патології, а й про початок процесу її склерозування. Наявність вказаних змін у переважної більшості обстежених дітей першої групи в періоді клініко-лабораторної ремісії запального процесу, вказує на пріоритетність саме дисплазії сполучної тканини нирок і паціальної ниркової недостатності в патогенезі дизметаболічної нефропатії і важкості її перебігу у

дітей. А показники екскреції оксипроліну, глікозоаміногліканів та оксипроліну можна використовувати як епігенетичні маркери схильності до дизметаболічної нефропатії взагалі і до більш важкого її перебігу зокрема.

Отже, у дисертаційній роботі представлений консолідований підхід до послідовних ланок патогенезу формування дизметаболічної нефропатії у дітей: під впливом негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід анте-, а в подальшому, постнатально, дисплазії сполучної тканини нирок у дітей, що проявляється підвищенням вмістом оксипроліну в крові і сечі практично у всіх дітей з ДН; формування на цьому фоні тканинної гіпоксії паренхіми нирок, на що вказує зниження антикристалутворюючої здатності сечі і збільшення екскреції оксалатів з добовою сечею; формування патології фосфорно-кальцієвого обміну з порушенням клітинного гомеостазу кальцію внаслідок розвитку енергодефіцитного стану клітин при тканинній гіпоксії, про що говорить позитивний тест на кальцифілаксію у більшості обстежених, гіпокальціємія, гіперкальциурія та гіперфосфатурія і, як наслідок, підвищення активності паратиреоїдного гормону в крові дітей; як наслідок - посилення процесів перекисного окислення ліпідів з появою підвищеного вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах та появою значної екскреції сумарних продуктів ПОЛ у добовій сечі; виснаження антиоксидантного захисту організму внаслідок інтенсифікації ліпопероксидації із зменшенням активності каталази; означені процеси призводять до мембранодеструкції клітин ниркового епітелію, що супроводжується екскрецією сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею; в кінцевому всі вищевказані процеси призводять до порушення функціонального стану нирок з парціальними недостатностями за тубулярним і гломерулярним типом і початку процесу склерозування паренхіми нирок, на що вказують зміни тестів уринолізісу, екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів і оксипроліну з добовою сечею.

Отримані дані дають підставу стверджувати, що показники оксипроліну в сечі, добової екскреції солей, антикристалутворюючої здатності сечі, рівень

кальцію та фосфору в сечі і крові, активність паратгормону в крові, вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею, тести на гіпераміноацидурію, глюкозурію, мікропротеїнурію, рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів з сечею є високоінформативними та чутливими епігенетичними маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

Крім того, зважаючи на достовірну різницю між даними двох груп дітей з різним перебігом дизметаболічної нефропатії, можна говорити, що показники вмісту оксипроліну в крові, екскреції оксипроліну з сечею, екскреції полярних ліпідів з сечею, показники малонового діальдегіду в плазмі і еритроцитах, екскреції сумарних продуктів ПОЛ з сечею, активності каталази в сечі, тести на кальціурію, глюкозурію, рівень креатинурії, екскреції ГАГів з сечею є чутливими прогностичними маркерами більш важчого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

На сьогоднішній день аутосомно-рецесивна природа дизметаболічної нефропатії доведена у 8,0% - 10% випадків, решта 90% варіантів захворювання розглядаються у рамках мультифакторної патології з полігенним типом успадкування. У літературі описані різноманітні чинники, що грають роль у патогенезі ДН, це дозволяє розглядати її як мультифакторне захворювання, яке є результатом поєднаного впливу спадкових і середовищних факторів [25]. Проте, який із них має більший вплив на виникнення і перебіг ДН залишається до кінця не з'ясованим. Відомо, що для розвитку мультифакторного захворювання необхідно накопичення генів схильності більше певного порогового значення і провокуюча дія епігенетичних факторів зовнішнього середовища. Гени схильності — це генетично поліморфні рецесивні алелі, кожний з яких окремо не є патологічним і не призводить до розвитку хвороби. Гени схильності у різних людей часто відрізняються одонуклеотидними замінами. Одонуклеотидний поліморфізм може спричиняти функціональні відмінності відповідних білків і впливати на різний рівень схильності до

захворювання [91, 160].

Тестування генів схильності до різних захворювань дозволяє встановити асоціацію між функціонально неповноцінними алелями та схильністю людини до певних мультифакторних захворювань. В залежності від особливостей геному, різні індивідууми можуть зберігати стійкість або, навпаки, виявляти підвищену чутливість до пошкоджуючих епігенетичних факторів [160], функціонально неповноцінні варіанти генів схильності створюють схильність до різних захворювань [91].

Вивчення взаємодії генів схильності показало наявність генів двох типів. Одні гени визначають розвиток ознаки або властивості (гени-кандидати), а інші (гени-модифікатори), не визначаючи розвиток цієї ознаки, підсилюють або послаблюють дію основного гена. Ген-кандидат – це ген, який може бути пов'язаний з проявом складної ознаки або з виникненням захворювання [172]. Так звані гени-кандидати обумовлюють підвищену схильність людини до різних мультифакторних захворювань [25, 68].

Ген рецептора вітаміну D (*VDR*) кодує ядерний гормональний рецептор вітаміну D₃. Відомо більш ніж 30 його однонуклеотидних поліморфізмів (single nucleotide polymorphism, SNP), з них найбільш вивченими є *ApaI* (rs7975232), *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570) та *TaqI* (rs731236) [25]. Встановлено, що ген *VDR* пов'язаний з розвитком таких захворювань як сечокам'яна хвороба, цукровий діабет, остеопороз, псоріаз, ниркова остеодистрофія, новоутворення, а також з різними серцево-судинними хворобами [44].

З метою встановлення ролі генетичної компоненти у розвитку дизметаболічної нефропатії, було виконано молекулярно – генетичне дослідження поліморфного локусу *Taq I* у 55-ти дітей із різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії: у 35 дітей – із ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії та у 20 дітей із неускладненим перебігом ДН, результати порівнювали із даними 44-х здорових дітей, що теж проживали у Івано-Франківській області.

Результати дослідження частоти різних алелів поліморфного локусу Таq I гена *VDR3* у пацієнтів з різним перебігом дизметаболічної нефропатії не показали відмінностей між даними досліджуваних груп пацієнтів щодо розподілу частот алелів поліморфного локусу Таq I гена *VDR3*. Це свідчить про генетичну подібність досліджуваних груп пацієнтів.

Проте, для формулювання коректних висновків щодо ролі даного поліморфного локусу у формуванні клінічного фенотипу доцільним є проведення аналізу не алелів, а генотипів у пацієнтів із різними варіантами перебігу дизметаболічної нефропатії у порівнянні із даними здорових дітей.

Проведено порівняльний аналіз розподілу генотипів одонуклеотидного поліморфізму локусу Таq I гена *VDR3* у обстежених дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією та здоровими особами. Отримані результати вказують на те, що частоти гомозигот ТТ та tt у дітей з ДН були вірогідно нижчими у порівнянні з даними здорових дітей (ТТ - 38,18% і tt – 9,09% проти 56,82 і 13,64% здорових дітей контрольної групи), а частота гетерозиготного носійства Тt у дітей з ДН була достовірно, в 1,8 разів більша (52,73%), ніж у здорових дітей – 29,54%, що вказує на асоціацію гетерозиготного носійства Тt поліморфного локусу Таq I гена *VDR3* з ризиком формування дизметаболічної нефропатії у дитини, а носійство гомозиготних генотипів ТТ та tt володіє протекторними властивостями. При аналізі частоти носійства поліморфних локусів у дітей з різним по важкості перебігом ДН, можна побачити, що частоти як гомозиготного носійства ТТ (37,14% і 40,00%) та tt (8,57% і 10,00%), так і гетерозиготного носійства Тt (54,29% і 50,00%) відрізнялись від даних здорових дітей і мали тенденцію до різниці частоти між собою, причому в більшій мірі у дітей з важчим перебігом ДН. Отже, різниця частоти гетерозиготного носійства Тt може свідчити про асоціацію поліморфізму локусу Таq I гена *VDR3* не тільки з ризиком виникнення дизметаболічної нефропатії, але й виступати маркером більш важкого її перебігу, а сам ген можна вважати геном-кандидатом у патогенезі дизметаболічної нефропатії і важкості її перебігу у дітей.

Підрахунок відношення шансів достовірної різниці досліджуваних генотипів у дітей основних груп до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини генотипу Tt поліморфного локусу TaqI гена *VDR3* достовірно збільшує ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у 2,66 разів (OR, 95% CI – 2,66, $p < 0,05$) і збільшує ризик розвитку саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії в 2,83 разів (OR, 95% CI – 2,83, $p < 0,05$) у порівнянні з ризиком здорових дітей. Гомозиготне носійство генотипів TT та tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* асоціюється з їх протекторними властивостями відносно ризику захворіти на ДН. Отримані дані дозволяють розглядати ген *VDR3* в якості гена-кандидата щодо мультифакторного успадкування дизметаболічної нефропатії.

Аактуальним для прогнозування схильності до соматичної патології за даними літератури є дослідження і інших поліморфних локусів гена *VDR3*, а саме локусу ApaI в інтроні 8 в 3' області екзону 2, який може впливати на стабільність матричної РНК (мРНК) [44].

Проведений аналіз частоти генотипів поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* у 55-ти дітей із різним за важкістю перебігом дизметаболічної нефропатії методом ПЛР. Результати аналізу особливостей розподілу генотипів поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* показали, що частота гомозиготного носійства генотипів AA і aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* у дітей з ДН була вірогідно, в 2-3 рази вищою, ніж у здорових дітей: AA - 78,18% проти 38,64% у здорових дітей, у дітей з УДН - 82,86% і з неускладненим варіантом ДН - 80,00%, проти 38,64 % у здорових дітей. Частота гомозиготного генотипу aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* була вірогідно вищою, як у всіх дітей з ДН (7,27%), так і у дітей з УДН - 5,71% та з ДН - 5,00%, проти 2,27 % у здорових дітей.

Частота гетерозиготного носійства Aa у дітей з ДН (14,55%) була достовірно в 4 рази менша, ніж у здорових дітей – 59,09%, що може свідчити про протективні властивості гетерогизотного генотипу щодо розвитку у дітей дизметаболічної нефропатії. І навпаки, частота гомозиготного генотипу AA

поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* у групі всіх дітей з ДН була вірогідно в 2,02 рази вищою. Отже, доведено, що частота гомозиготних генотипів AA та aa поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* в усіх групах дітей з ДН була у 2-3 рази більшою, ніж частота даних генотипів у групі здорових дітей, що свідчить про асоціацію даних гомозиготних генотипів із розвитком у дітей дизметаболічної нефропатії.

Цей висновок підтверджуються й підрахунком відношення шансів достовірної різниці досліджуваних генотипів у дітей з дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи: наявність у дитини в генотипі гетерозиготного носійства Aa поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* достовірно володіє протекторними властивостями по відношенню до можливості формування дизметаболічної нефропатії у дітей (OR, 95% CI – 0,12, $p < 0,01$), а наявність гомозиготного генотипу AA не тільки достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і збільшує ризик її виникнення в 5,69 разів (OR, 95% CI – 5,69, $p < 0,01$).

Аналогічні результати дав підрахунок відношення шансів частоти носійства досліджуваних генотипів поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* у дітей з різною за важкістю перебігу дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи. Наявність у дитини в генотипі гомозиготного носійства AA поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* не тільки асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і збільшує ризик виникнення її ускладненого перебігу у 7,68 разів (OR, 95% CI – 7,68 $p < 0,01$), а наявність гетерозиготного генотипу Aa поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* достовірно володіє протекторними властивостями по відношенню до можливості формування ускладненого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей (OR, 95% CI – 0,09, $p < 0,01$). Наявність у дитини гетерозиготного носійства генотипу Aa поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* достовірно володіє протекторними властивостями по відношенню до можливості формування дизметаболічної нефропатії у дітей (OR, 95% CI – 0,12, $p < 0,01$).

Таким чином, у роботі показана достовірна висока асоціація певних

генотипів гена *VDR3* з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію в порівнянні з генотипом у здорових дітей: носійство дитиною гетерозиготного генотипу Tt поліморфного локусу Taq1 збільшує цей ризик в 2,66 разів і в 2,83 разів збільшує ризик розвитку саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії і носійство гомозиготного генотипу AA поліморфного локусу ApaI збільшує ризик захворіти дизметаболічною нефропатією у 7,5 разів і в 5,69 разів ризик виникнення саме важчого варіанту дизметаболічної нефропатії. Гомозиготне носійство генотипів TT та tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і гетерозиготне носійство генотипу Aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* достовірно асоціюються з протекторними властивостями відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію.

Отже, отримані дані вказують на значний вплив продуктів гену *VDR3* на формування дизметаболічної нефропатії у дітей, а ген *VDR3* можна вважати геном-кандидатом у патогенезі мультифакторного успадкування дизметаболічної нефропатії.

При розподілі частот гаплотипів за двома поліморфними варіантами Taq I та ApaI гена *VDR3* виявлена статистично значуща відмінність між даними дітей з дизметаболічною нефропатією і здорових дітей за рахунок достовірної різниці частоти гетерозиготних гаплотипів Tt і AA: у дітей з важчим перебігом ДН такий гаплотип зустрічався частіше, ніж у дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії, отже гетерозиготне носійство Tt поліморфного локусу Taq1 гена *VDR3* та гомозиготне носійство генотипу AA поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* асоціюється з дуже високим ризиком захворіти дизметаболічною нефропатією, а наявність гетерозиготного носійства Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR* і AA поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* може розглядатись, як маркер не тільки схильності дитини до формування в неї дизметаболічної нефропатії, а й більш важчого її перебігу.

Гомозиготне носійство генотипів TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і гетерозиготне Aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* достовірно асоціюється з протекторними властивостями цих гаплотипів відносно ризику

захворіти на дизметаболічну нефропатію.

Встановлено, що ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA (OR 95% CI = 10,79)

Відомо, що детоксикація при допомозі глутатіон-S-трансферази (GST) відіграє ключову роль в забезпеченні резистентності клітин до ПОЛ, вільних радикалів, алкілюванню білків та у попередженні пошкоджень ДНК [25]. GST присутні в найрізноманітніших тканинах, особливо висока їх концентрація в печінці, нирках, легенях, головному мозку, кишківнику [91]. Синтез GST контролюється генами (*GSTM*, *GSTT*, *GSTP*), що розміщені на різних хромосомах. *GSTM*₁ існує в трьох алельних варіантах, два з яких кодують білки, що різняться між собою дещо зміненою активністю, і третій - *GSTM*₁0 – в якому, внаслідок протяжної делеції РНК фермент взагалі не синтезується [91].

Дизметаболічна нефропатія відноситься до мультифакторних захворювань, які є результатом аддитивного ефекту численної кількості генетичних локусів та великого числа середовищних епігенетичних факторів [25]. Мультифакторний тип успадкування ДН дає можливість припустити вплив генів-кандидатів та генів-модифікаторів у розвитку захворювання, при цьому вклад кожного з них у розвиток захворювання варіює [91].

Одним із потенційних генів-модифікаторів для ДН можуть виступати гени системи біотрансформації. Система біотрансформації ксенобіотиків бере участь як в захисті організму від впливу шкідливих епігенетичних факторів довкілля, так і може виступати генами схильності до дисплазії сполучної тканини, яка є наслідком такого впливу [68].

Враховуючи вищесказане, доцільним видавалось встановити особливості розподілу серед дітей з дизметаболічною нефропатією поліморфних, а саме делеційних варіантів генів *GSTM*₁ та *GSTT*₁, які можуть виступати генами-модифікаторами схильності до даної патології.

Методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (МПЛР) обстежено 55 дітей із дизметаболічною нефропатією, на предмет наявності

носійства ними делеційних алелів генів *GSTM1* та *GSTT1*, продукти яких, ферменти глутатіон-S-трансферази класу М і Т, відповідають за детоксикаційну здатність організму і забезпечують резистентність клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, та попереджають поломки ДНК [25], з них у 35-ти був діагностований ускладнений перебіг дизметаболічної нефропатії, а у 20-ти – її неускладнений перебіг. Отримані дані порівнювали з частотою розподілу делеційних алелів генів *GSTM1* та *GSTT1* у здорових дітей із того ж регіону Західної України (44 особи). Визначали частоту нульових алелів *GSTM1* 0/0 та *GSTT1* 0/0 та їх поєднання, при яких не виробляються повноцінні ферменти глутатіон-S-трансфераз класу М і Т, що можуть виступати генами-модифікаторами схильності дітей до дизметаболічної нефропатії.

Делеційний нульовий алель *GSTT1* 0/0 зареєстровано у 40,00% всіх обстежених, делеційний нульовий алель *GSTM1* 0/0 – у 45,45% обстежених, а поєднання двох делеційних алелів в одному генотипі *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 - у 23,64% дітей з ДН, що статистично достовірно відрізнялось від даних здорових дітей – 22,73%, 27,27% і 6,82% відповідно. Отже, делеційні алелі генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 у генотипі дитини були достовірно асоційовані зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії.

Відсотковий розподіл поліморфізму делеційних алелів генів *GSTM1* 0/0 та *GSTT1* 0/0 серед здорових дітей – 22,73% і 27,27% обстежених, а їх поєднання - у 6,82% обстежених відповідає частоті нуль-алелів, встановлений для європеїдної раси для *GSTM1* 0/0 -30-45%, для *GSTT1* 0/0 -15-30% і для *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 – 5-10% (за даними OMIM).

Частота делеційних нульових алелів *GSTT1* 0/0, *GSTM1* 0/0 та особливо, поєднання двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 у генотипі дітей з різним перебігом ДН достовірно відрізнялась від частоти таких алелів у здорових дітей при тенденції до більшої частоти делеційних алелів і їх комбінації в одному генотипі у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії (*GSTT1* 0/0 - 42,86% і 35,00%, *GSTM1* 0/0 - 48,57% і 40,00% та

GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 - 25,71% і 20,00% відповідно до I та II групи обстежених дітей).

Проведений підрахунок відношення шансів достовірної різниці неосійства досліджуваних делеційних нульових алелів у всіх дітей з дизметаболічною нефропатією до частоти тих же генотипів в генотипі дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини комбінованого носійства двох делеційних алелів *GSTT1 0/0+GSTM1 0/0* не тільки достовірно асоціюється з ризиком захворіти на ДН, а і достовірно збільшує ризик її виникнення у 4,73 рази (OR, 95% CI – 4,73, $p < 0,05$).

В дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії підрахунок відношення шансів частоти носійства досліджуваних делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* до частоти тих же генотипів в дітей контрольної групи показав, що наявність у дитини в генотипі комбінованого носійства двох делеційних алелів *GSTT1 0/0+GSTM1 0/0* достовірно асоціюється з ризиком захворіти на важкий варіант дизметаболічної нефропатії, збільшуючи ризик виникнення її ускладненого перебігу в 4,73 рази (OR, 95% CI – 4,73 $p < 0,05$) у порівнянні з даними здорових дітей, в той час, як в дітей з неускладненим перебігом ДН підрахунок відношення шансів не показав достовірної різниці (OR, 95% CI – 3,42, $p \geq 0,05$).

Отримані результати дозволяють зробити висновок не тільки про достовірну асоціацією дизметаболічної нефропатії з наявністю делеційних алелів *GSTM1 0/0* та *GSTT1 0/0* у генотипі дитини, а й достовірну асоціацію частоти одночасного носійства делеційних алелів *GSTT1 0/0+GSTM1 0/0* з більш важким перебігом ДН у дітей. Отримані дані дозволяють, з огляду на здатність продуктів цих генів забезпечити резистентність клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів та попереджати поломки ДНК, зробити висновок про те, що нульові алелі *GSTM1 0/0* *GSTT1 0/0* та, особливо, їх поєднання *GSTT1 0/0+GSTM1 0/0* можуть бути генами-модифікаторами у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

Загалом, за результатами молекулярно-генетичного дослідження,

наведеними у роботі, можна стверджувати ген *VDR3* володіє властивостями гена-кандидата, а делеційний генотип *GSTT1 0/0+GSTM1 0/0* гену *GST* - гена-модифікатора у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей.

Таким чином, у дисертаційній роботі представлений консолідований інтегрований підхід до послідовних ланок патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей з визначенням генетичним фоном і під впливом встановлених негативних епігенетичних факторів, що діяли на ембріон і плід антенатально, а в подальшому, на дитину і постнатально:

- ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у другої дитини в сім'ї, де вже є хвора дитина за моделлю G. Edward's та G. Smith's є дуже високим – до 50%. Цей ризик стає в 3,5 разів більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс.

- коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії за моделлю D. Falconer для родичів I ступеню спорідненості є дуже високим – до 22%, а для родичів II ступеню - 20,9%. Ймовірність мати дизметаболічну нефропатію для дитини, яка має обтяжений генетичний анамнез за обмінною патологією за моделлю D. Falconer суттєво збільшується - в 3,5 – 5 разів.

- носійство дитиною гетерозиготного генотипу поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* Tt достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує ризик її виникнення у 2,66 разів, а ризик захворіти ускладненням її варіантом збільшує в 2,83 разів;

- носійство дитиною гетерозиготного генотипу поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* AA: достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує ризик її виникнення в 5,69 разів, збільшуючи ризик виникнення її ускладненого перебігу у 7,68 разів.

- ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA;

- носійство делеційних алелів генів *GSTT1 0/0* та *GSTM1 0/0* у генотипі дитини достовірно асоціюються зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії. Одночасна наявність у генотипі дитини 2 делеційних алелів *GSTT1*

0/0+*GSTM1* 0/0 не тільки достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію, а і достовірно збільшує ризик її виникнення у 4,73 разів;

- носійство гомозиготного генотипу TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і гетерозиготного - Aa поліморфного локусу ApaI гена *VDR3* достовірно асоціюється з протекторними властивостями цих гаплотипів відносно ризику захворіти на дизметаболічну нефропатію;

- найбільш значущими антенатальними епігенетичними факторами, які впливали на плід, а в постнатальному періоді зумовили більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії, виявились: загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої та II-ої половин вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом і шумом та важка фізична праця, що призводять до гіпоксії плода;

- провідними постнатальними епігенетичними факторами, які зумовили не тільки появу, але й більш важкий перебіг дизметаболічної нефропатії виявились: низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ, atopічний діатез та фізіологічна жовтяниця, а в подальшому житті - наявність супутніх захворювань, таких як хронічний тонзиліт, карієс зубів, часті ГРЗ, хронічний гастрит, atopія та хронічний холецистит, що викликало відставання значної кількості дітей з важчим перебігом дизметаболічної нефропатії у фізичному розвитку.

- під впливом множинних епігенетичних чинників у плода з визначеним генотипом формується дисплазія сполучної тканини, в тому числі нирок, що доведено підвищенням вмістом оксипроліну в крові і сечі практично у всіх обстежених дітей з ДН;

- на фоні недиференційованої дисплазії сполучної тканини виникає тканинна гіпоксія паренхіми нирок, на що вказує зниження

антикристалутворюючої здатності сечі і збільшення екскреції оксалатів з добовою сечею;

- недиференційована дисплазія сполучної тканини ініціює порушення фосфорно-кальцієвого обміну з порушенням клітинного гомеостазу кальцію на що вказує позитивний тест на кальцифілаксію у більшості обстежених, гіпокальціємія, гіперкальциурія та гіперфосфатурія і, як наслідок, підвищення активності паратиреоїдного гормону в крові дітей;

- тканинна гіпоксія і кальцифілаксія призводять до посилення процесів перекисного окислення ліпідів з появою підвищеного вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах та значної екскреції сумарних продуктів ПОЛ у добовій сечі з виснаженням антиоксидантного захисту організму із зменшенням активності каталази в крові і в сечі;

- означені процеси призводять до мембранодеструкції клітин ниркового епітелію, що доведено високою екскрецією сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею;

- усі вищевказані процеси призводять до порушення функціонального стану нирок з парціальними недостатностями за тубулярним і гломерулярним типом, на що вказують позитивні тести урінолізісу, зниження екскреції креатиніну та підвищення екскреції глікозоаміногліканів з початком процесу склерозування паренхіми нирок, про що говорить висока екскреція оксипроліну з добовою сечею.

Отримані у дисертаційній роботі дані дають підставу стверджувати, що показники оксипроліну в сечі, добової екскреції солей, антикристалутворюючої здатності сечі, рівень кальцію та фосфору в сечі і крові, активність паратгормону в крові, вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівень екскреції сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею, тести на гіпераміноацидурію, глюкозурію, мікропротеїнурію, рівень екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів з сечею є відображенням послідовних процесів, що розвиваються в організмі дитини

при дизметаболичній нефропатії, а також є високоінформативними та чутливими маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболичної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

Крім того, зважаючи на достовірну різницю між даними двох груп дітей з різним перебігом дизметаболичної нефропатії, можна говорити, що показники вмісту оксипроліну в крові, екскреції оксипроліну з сечею, екскреції полярних ліпідів з сечею, показники малонового діальдегіду в плазмі і еритроцитах, екскреції сумарних продуктів ПОЛ з сечею, активності каталази в сечі, тести на кальціурію, глюкозурію, рівень креатинурії, екскреції ГАГів з сечею є чутливими прогностичними маркерами більш важчого перебігу дизметаболичної нефропатії у дітей.

Отже, дисертаційне дослідження дозволило виокремити специфічні епігенетичні та генетичні фактори, які стали індукторами формування в дітей синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, наявність якого зіграла провідну роль у маніфестації дизметаболичної нефропатії в дітей та схильності до її важчого перебігу. Результати роботи дозволили запропонувати нові обґрунтовані діагностичні біохімічні та молекулярно-генетичні маркери дизметаболичної нефропатії у дітей, які дають можливість віднести дітей до групи високого ризику маніфестації дизметаболичної нефропатії у дитини і спрогнозувати важкість її перебігу.

Ці послідовні ланки патогенезу дизметаболичної нефропатії у дітей можна представити графічно наступним чином (рис. 5.1):

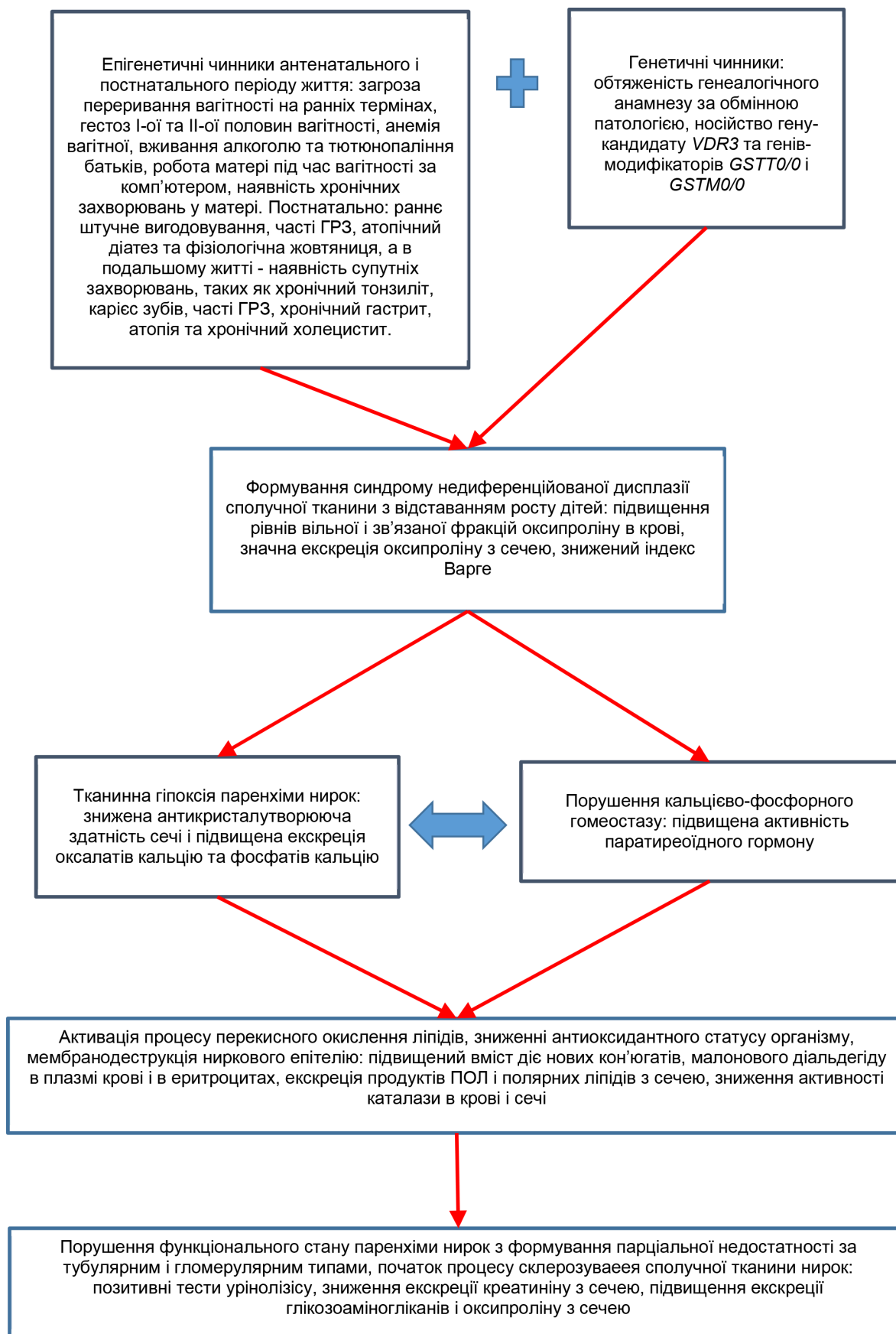


Рис. 5.1 – Схема патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей за даними дисертаційної роботи.

Дослідження молекулярно-генетичних особливостей поліморфних локусів гена-кандидата *VDR3* та делеційних алелів гена-модифікатора *GSTT0/0* і *GSTM0/0* може бути використане при медико-генетичному консультування родин з обмінною патологією в анамнезі для прогнозування маніфестації дизметаболічної нефропатії у дітей з цих родин.

Отримані дані показників тканинної гіпоксії, особливостей фосфорно-кальцієвого обміну, мембранодеструкції нефротелію, маркерів функціонального стану паренхіми нирок і оксипроліну в сечі дозволяють стверджувати, що діти з дизметаболічною нефропатією вимагають антигіпоксанта, мембранопротекторної та антисклеротичної терапії в комплексному лікуванні дизметаболічної нефропатії.

Біомаркери, що пропонуються для використання у науково-практичній діяльності мають перевагу над відомими маркерами, оскільки володіючи високою чутливістю та специфічністю, вони з високою ймовірністю характеризують наявність тканинної гіпоксії, порушення кальцієвого обміну, інтенсивність процесу перекисного окислення ліпідів і мембранодеструкції нефротелію, важкість ушкодження паренхіми нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей, мають прогностичне значення, корелюють із важкістю дизметаболічної нефропатії, є доступними, методика їх виконання проста, не потребує дорогих реактивів та високої кваліфікації лабораторного працівника і може бути відтворена в лабораторії будь-якого рівня акредитації.

Запропоновані неінвазивні маркери тканинної гіпоксії, порушення кальцієвого обміну, інтенсивності процесу перекисного окислення ліпідів і мембранодеструкції нефротелію, порушення функції нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією можуть бути використані в якості уточнюючих показів до метаболічної корекції антигіпоксанта, мембранопротекторної та антисклеротичної дії та в роботі педіатричної служби для удосконалення діагностики і профілактики дизметаболічної нефропатії, що підвищить ефективність лікувально-профілактичних заходів при даній патології у дітей.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування та нове вирішення актуального наукового завдання у галузі педіатрії, що полягає у підвищенні ефективності профілактики, ранньої діагностики та прогнозування маніфестації і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей шляхом уточнення генетичних та епігенетичних факторів у її патогенезі та встановлення нових молекулярно-генетичних та біохімічних прогностичних критеріїв схильності дітей до реалізації дизметаболічної нефропатії і її важчого перебігу.

1. Для дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії у порівнянні з даними дітей з її неускладненим перебігом була притаманна в 1,5 – 2 рази більша частота скарг і клінічних проявів, які характерні для синдрому хронічної неспецифічної інтоксикації, їх сімейний анамнез в 1,2 рази більше був обтяженим за обмінною патологією, вони в 3 рази частіше відставали в масі тіла, в них вдвічі частіший діагностувався знижений індекс Варги.

2. Найбільш значущими антенатальними епігенетичними факторами, які ініціювали розвиток дизметаболічної нефропатії і більш важкого її перебігу виявились: загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз І-ої половини вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом, шумом та важка фізична праця, що призвели до гіпоксії плода. Найбільш вагомими постнатальними епігенетичними факторами виявились: низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ, atopічний діатез та фізіологічна жовтяниця, а в подальшому житті - наявність супутніх захворювань, таких як хронічний тонзиліт, карієс зубів, часті ГРЗ, хронічний гастрит, atopія та хронічний холецистит.

3. Важливою ланкою патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей, в більшій мірі з її ускладненим перебігом, є синдром недиференційованої

дисплазії сполучної тканини, наявність якого доведена підвищенням в 5-6 разів вмістом вільної та зв'язаної фракцій оксипроліну в плазмі крові і в 15-17 разів вищим його вмістом в сечі у порівнянні з даними здорових дітей.

4. На фоні недиференційованої дисплазії сполучної тканини у всіх дітей з дизметаболічною нефропатією виникла тканинна гіпоксія паренхіми нирок, на що вказує зниження в 5-10 разів антикристалутворюючої здатності сечі до оксалатів кальцію і збільшення екскреції оксалатів з добовою сечею у всіх дітей. Недиференційована дисплазія сполучної тканини і тканинна гіпоксія проініціювали порушення фосфорно-кальцієвого обміну з порушенням клітинного гомеостазу кальцію на що вказує позитивний тест на кальцифілаксію у всіх обстежених, гіпокальціємія, гіперкальциурія та гіперфосфатурія і, як наслідок, підвищення в 2 рази активності паратиреоїдного гормону в крові у більшості дітей з дизметаболічною нефропатією.

5. Встановлено посилення процесів перекисного окислення ліпідів на ґрунті тканинної гіпоксії у більшості дітей з дизметаболічною нефропатією, на що вказують в 1,5 раза підвищений вміст дієнових кон'югатів і в 2 рази вищий вміст малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах та в 15-20 разів вищою екскрецією сумарних продуктів ПОЛ з добовою сечею, ніж у здорових дітей групи контролю. Означені процеси призвели до мембранодеструкції клітин ниркового епітелію, що доведено високою екскрецією полярних ліпідів з сечею. На фоні інтенсифікації процесів ліпопероксидації відбулось виснаження антиоксидантного захисту організму із зменшенням в 2-5 разів активності каталази в.

6. У більшості дітей з дизметаболічною нефропатією описаний каскад послідовних процесів призводить до порушення функціонального стану нирок з парціальною недостатністю за тубулярним і гломерулярним типом, на що вказують позитивні тести урінолізісу (гіперфосфатурія – 94,23% і 96,42% обстежених, кальційурія - 94,23 і 89,28%, глюкозурії - 78,85% і 67,85%, підвищеної екскреції із сечею амінокислот - 40,38% і 37,5%, мікропротеїнурія

- 32,69% і 28,57% і екскреція редукованих цукрів - 28,85% і 26,79%), а також зниження в 4,5 рази екскреції креатиніну та підвищення в 7-8 разів екскреції глікозоаміногліканів з добовою сечею з початком в більшості дітей процесу склерозування паренхіми нирок, на що вказує підвищена в 8 - 6 разів екскреція оксипроліну з добовою сечею.

7. Частка спадковості у розвитку дизметаболічної нефропатії в сім'ях дітей з ускладненим її перебігом складе 36,76%, а в сім'ях дітей з неускладненим її перебігом - 48,81%. Ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у другої дитини в сім'ї, де вже є хвора дитина за моделлю G. Edward's та G. Smith's є дуже високим – до 50%. Цей ризик стає в 3,5 разів більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс. Коефіцієнт успадкування схильності до дизметаболічної нефропатії за моделлю D. Falconer для родичів I ступеню спорідненості є дуже високим – до 22%, а для родичів II ступеню - 20,9%. Ймовірність мати дизметаболічну нефропатію для дитини, яка має обтяжений генетичний анамнез за обмінною патологією за моделлю D. Falconer збільшується в 3,5 – 5 разів.

8. Наявність у генотипі дитини гетерозиготного генотипу Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує шанс її маніфестації у пацієнта у 2,66 рази, а також збільшує ризик захворіти ускладненим її варіантом у 2,83 рази. Носійство дитиною гетерозиготного генотипу AA поліморфного локусу AраI гена *VDR3* достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує шанс її виникнення в 5,69 разів, збільшуючи шанс її ускладненого перебігу у 7,68 разів. Ризик розвитку дизметаболічної нефропатії є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA. Носійство у генотипі дитини делеційних алелів генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 достовірно асоціюються зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії. Одночасна наявність у генетипі дитини двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 достовірно збільшує шанс її виникнення у 4,73 рази. Носійство гомозиготного генотипу TT поліморфного локусу Taq I гена *VDR3* і

гетерозиготного - Аа поліморфного локусу АраІ гена *VDR3* достовірно асоціюється з протекторними властивостями цих генотипів відносно шансу маніфестації дизметаболічної нефропатії.

Таким чином, у дисертаційній роботі деталізовані ланки патогенезу дизметаболічної нефропатії з розвитком функціональних порушень нирок у дітей внаслідок формування під впливом численних епігенетичних чинників синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, яка ініціює каскад взаємопов'язаних послідовних процесів у вигляді тканинної гіпоксії, порушення фосфорно-кальцієвого обміну, інтенсифікації ліпопероксидації з виснаженням антиоксидантного захисту організму і мембранодеструкції ниркового епітелія, що призводять до парціальної ниркової недостатності за тубулярним і гломерулярним типами і склерозуванню сполучної тканини нирок у дітей з визначеним гаплотипом ТtАА поліморфних локусів Таq І та Ара І гена *VDR3*, який збільшує ризик розвитку дизметаболічної нефропатії в 10,79 разів та одночасним носійством двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 генів *GSTM* і *GSTT*, яке достовірно збільшує шанс її виникнення у 4,73 раза.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

I. Сімейним лікарям та педіатрам первинної ланки охорони здоров'я:

Амбулаторно-поліклінічний етап (1-й рівень):

- відносити до групи «високого ризику» формування дизметаболічної нефропатії дітей із наявністю в анамнезі комплексу епігенетичних антенатальних та постнатальних факторів, таких, як загроза переривання вагітності на її ранніх термінах, гестоз I-ої половини вагітності, анемія вагітної, вживання алкоголю та тютюнопаління батьків, робота матері під час вагітності за комп'ютером, наявність більше 3-х хронічних захворювань у матері, контакт батьків з промисловим пилом, шумом та важка фізична праця, низька маса тіла при народженні, раннє штучне вигодовування, часті ГРЗ в анамнезі, atopічний діатез та фізіологічна жовтяниця в ранньому віці, а в подальшому житті - наявність супутніх захворювань, таких як хронічний тонзиліт, карієс зубів, часті ГРЗ, хронічний гастрит, atopія та хронічний холецистит.

- проводити збір генеалогічного анамнезу у дітей з дизметаболічною нефропатією та заносити його у форму №112/о.

- при клінічному обстеженні дітей з підозрою на наявність дизметаболічної нефропатії проводити дослідження рівня екскреції оксипроліну з сечею і при його збільшенні вище $0,08 \pm 0,02$ ммоль/л діагностувати у дітей наявність синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини оскільки його наявність є важливою ланкою патогенезу дизметаболічної нефропатії у дітей, а ступінь підвищення екскреції оксипроліну з сечею є чутливим прогностичним маркером більш важчого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей.

II. На рівні районних та обласних медичних закладів:

Стационарний етап (2–3-й рівень):

- з метою діагностики патогномонічних патологічних змін з боку нирок при дизметаболічній нефропатії у дітей і прогнозування більш важкого її перебігу з можливим нашаруванням запального процесу органів сечовидільної

системи в майбутньому дітям з дизметаболічною нефропатією, крім визначення вмісту оксипроліну в крові і екскреції оксипроліну з сечею, пропонується проводити визначення антикристалутворюючої здатності сечі, рівнів кальцію та фосфору в сечі і крові, активності паратгормону в крові, вмісту дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в плазмі крові і еритроцитах, рівнів екскреції сумарних продуктів перекисного окислення ліпідів і полярних ліпідів з сечею, тести на гіпераміноацидурію, глюкозурію, мікропротеїнурію, рівнів екскреції креатиніну та глікозоаміногліканів з сечею, які є відображенням послідовних патологічних процесів, що розвиваються в організмі дитини при дизметаболічній нефропатії, а також є високоінформативними та чутливими маркерами схильності дітей до маніфестації дизметаболічної нефропатії, не залежно від важкості її перебігу.

- додатковими критеріями, що дозволяють спрогнозувати важчий перебіг дизметаболічної нефропатії у дітей з напшаруванням в майбутньому запального процесу органів сечовидільної системи доцільно вважати зростання вмісту вільної фракції оксипроліну в крові в 5-6 разів (вище $57,16 \pm 0,03$ мкмоль/л) та зв'язаної фракції оксипроліну в плазмі крові (вище $38,12 \pm 0,03$ мкмоль/л) та в 15-17 разів вищою його екскрецією з сечею (вище $0,64 \pm 0,02$ ммоль/л), екскреції полярних ліпідів з сечею вище $1,02 \pm 0,02$ ум.од., вмісту малонового діальдегіду в плазмі вище $1,87 \pm 0,08$ мкмоль/л і еритроцитах вище $17,09 \pm 1,6$ мкмоль/л, екскреції сумарних продуктів ПОЛ з добовою сечею вище $1,54 \pm 0,01$ ум.од., активності каталази в сечі нижче $0,17 \pm 0,04$ к.ч., наявність позитивних тестів на кальціурію, глюкозурію, рівень креатинурії, зростання екскреції глікозоаміногліканів більше, ніж $282,6 \pm 38,41$ Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну з сечею та зменшення екскреції креатиніну з добовою сечею до $0,56 \pm 0,19$ г/л.

III. На рівні обласних медико-генетичних центрів:

Медико-генетичний центр (3-й рівень):

- З метою своєчасного призначення профілактичних заходів при дизметаболічній нефропатії у дітей необхідно враховувати, що ризик виникнення дизметаболічної нефропатії у другої дитини в сім'ї, де вже є хвора

дитина складає до 50%. Цей ризик стає в 3,5 разів більшим, якщо в пробанда є хворий на дизметаболічну нефропатію рідний сибс.

- З метою прогнозування важкого перебігу дизметаболічної нефропатії у дітей з обтяженим генеалогічним анамнезом за обмінною патологією з загрозою розвитку в подальшому сечокам'яної хвороби пропонується для детальнішого обстеження скеровувати їх в Міжобласний медико-генетичний центр та проводити молекулярно-генетичні дослідження наявності у генотипі дитини наступних алелів:

- гетерозиготного генотипу Tt поліморфного локусу Taq I гена *VDR3*, який асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує шанс її маніфестації у пацієнта у 2,66 разів, а також збільшує ризик захворіти ускладненим її варіантом у 2,83 разів;

- гомозиготного генотипу AA поліморфного локусу ApaI гена *VDR3*, носійство якого достовірно асоціюється з ризиком захворіти на дизметаболічну нефропатію і збільшує шанс її виникнення в 5,69 разів, збільшуючи ризик її ускладненого перебігу у 7,68 разів;

- делеційних алелів генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0, носійство яких достовірно асоціюються зі схильністю дітей до дизметаболічної нефропатії. Одночасна наявність у генотипі дитини двох делеційних алелів *GSTT1* 0/0+*GSTM1* 0/0 достовірно збільшує шанс її виникнення у 4,73 разів.

У разі виявлення носійства цих молекулярно-генетичних маркерів, дитина підлягає активній профілактиці та корекції тканинної гіпоксії, порушення фосфорно-кальцієвого обміну, інтенсивної ліпопероксидації, порушення функціонального стану паренхіми нирок антигіпоксантами, антиоксидантами та протисклеротичними препаратами.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Айб НР. Етіологічні та патогенетичні чинники дисметаболічних нефропатій у дітей. Український медичний часопис. 2018; 1(123): 1-3.
2. Айб НР. Клініко-анамнестична характеристика дітей із аліментарно-конституційним ожирінням в поєднанні з дизметаболічною нефропатією Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2019: 31.
3. Айб НР. До питання про дисбаланс окремих про- та протизапальних цитокінів у дітей із дизметаболічною нефропатією Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2019: 28-9.
4. Айб НР. Метаболічна нефропатія в дітей: гендерні особливості екскреції оксалатів, зв'язок із вираженістю оксидативного стресу й системою антиоксидантного захисту. Здоров'я дитини. 2019; 14(4): 229-35.
5. Айб НР, Гнатейко ОЗ, Лук'яненко НС Епігенетичні чинники у патогенезі і важкості перебігу дизметаболічної нефропатії з оксалато-кальцієвою кристалурією у дітей. Збірник тез VII міжнародного конгресу «Медицина України Європейський вибір» м. Яремче 2023. С. 2.
6. Айб НР, Лук'яненко НС, Чайковська ГС, Волосянко АБ. Genetic and environmental components in the pathogenesis of dysmetabolic nephropathy with oxalate-calcium crystalluria. Клінічна та профілактична медицина. 2024; 6: 38-43.
7. Айб НР, Лембрик ІС. Поширеність дизметаболічних нефропатій серед дитячого населення Івано-Франківській області. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017; 11(1): 48-52. <http://ijpog.org/downloads/26/7.pdf>
8. Айб Н. Метаболічна нефропатія у дітей: гендерні особливості екскреції оксалатів, зв'язок із тяжкістю оксидативного стресу та системою антиоксидантного захисту. Здоров'я дитини. 2021;14(4):229–35. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.4.2019.174036>. Айб НР. Етіологічні та патогенетичні чинники дисметаболічних нефропатій у

дітей. *Український медичний часопис*. 2018;(1(2)):27-9. [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=UMCh_2018_1\(2\)__6](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=UMCh_2018_1(2)__6)

9. Глогусь ВС, Айб НР, Кенс КА, Лук'яненко НС. Сечокам'яна хвороба: генетичні та епігенетичні предиктори. Національна науково-практична конференція «Нефрологія, діаліз, трансплантація нирки: UP TO DATE» (14-15 листопада 2024 р., м. Чернівці). Чернівці: БДМУ, 2024.
10. Антипкін ЮГ, Лапшин ВФ, Уманець ТР, Березенко ВС. Шляхи удосконалення спеціалізованої медичної допомоги. дитячому населенню України. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2019. Том 13(3): 5.
11. Бабінець ЛС, Галабіцька ІМ. Оксидативний стрес і система антиоксидантного захисту в патогенезі формування терапевтичної патології. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. 2013; 1: 7–10
12. Вакуленко ЛІ. Дисметаболічна нефропатія як фактор ризику розвитку пієлонефриту в дітей. *CHILDS HEALTH*. 2018; 13(1): 35-9.
13. Гойко ОВ, Мохначов СІ. Аналіз сучасного програмного забезпечення для статистичного оброблення й аналізу біомедичних досліджень. Медична інформатика та інженерія. 2012; 4: 49–52.
14. Добрик ОО, Няньковський СЛ, Іськів МЮ. Заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького. Спосіб діагностики дисплазій сполучної тканини. Патент України № u 2014 07921. 2014 25 груд.
15. Заремба ЄХ, Рак НО. Прояви недиференційованої дисплазії сполучної тканини з боку серцево-судинної системи у хворих на артеріальну гіпертензію. *Acta medica Leopoliensia*. 2015; 21(2): 14-8.

16. Захарченко НА. Фактори хронізації та прогнозування перебігу запальних захворювань сечовидільної системи у дітей. [дисертація]. Запоріжжя. Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. 2024. 166 с.
17. Іванов ДД, Корж ОМ. Нефрологія в практиці сімейного лікаря: Навчально-методичний посібник. Донецьк: Видавець Заславський О.Ю. 2012. 400 с.
18. Іськів МЮ. Особливості перебігу пієлонефриту у дітей з недиференційованою дисплазією сполучної тканини. [дисертація]. 2019. Львів. Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. 237 с.
19. Іськів МЮ, Лук'яненко НС. Роль ендотеліальної дисфункції у дітей з пієлонефритом на фоні порушення фібрилогенезу. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. 2019; 38: 14-25.
20. Інструкція для визначення рівню паратгормону h-PTH 120 min — IRMA, Biosource Europe S.A. — Nivelles, Belgium, Інструкція для визначення рівню кальцитоніну СТ—U.S. — IRMA, Biosource Europe S.A. — Nivelles, Belgium.
21. Казимирко ВК, Іваницька ЛМ, Дубкова АГ, Сілантьєва ТС, Іванова ГП, і інші. Труднощі діагностики недиференційованої дисплазії сполучної тканини у практиці лікаря-ревматолога. Український ревматологічний журнал. 2013; 3 (53): 96- 100.
22. Квашніна ЛВ, Апуховська ЛП, Радіонов ВП. Особливості кальцій-фосфорного обміну у здорових дітей в сучасних умовах та оптимізація методів профілактики його порушень. Перинатологія та педіатрія. 2004; 1: 29-32.
23. Кенс КА. Неінвазивні маркери порушення функції нирок у дітей раннього віку з міхурово-сечовідним рефлюксом в динаміці хірургічного та метаболічного лікування [дисертація]. Київ «Інститут урології НАМН України». 174 с.

24. Кірієнко ТВ, Бойко АІ. Коморбідність каменів верхніх сечовивідних шляхів та кардіоваскулярної патології: фактори ризику та спільні патофізіологічні механізми. Буковинський медичний вісник. 2023; 27(4 (108): 106-11.
25. Ковальчук ТА. Генетичні аспекти розвитку дисплазії сполучної тканини серця у дітей. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2014; 2: 81-6.
26. Король ЛВ, Мигаль ЛЯ. Спосіб інтегральної оцінки оксидантно-антиоксидантного балансу у сироватці крові. Патент України UA No 102192;. 10. 06. 2013. 4 с.
27. Коршун ММ. Використання малонового діальдегіду як біомаркера шкідливої дії на організм пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2003; 1-2: 79-85.
28. Кущенко ОІ. Історія статистичної думки: навчально-методичний посібник. Харків: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2015. 88 с.
29. Лембрик ІС, Айб НР. Поширеність дизметаболических нефропатій серед дитячого населення Івано-Франківській області. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017; 11(1): 48-52.
30. Лобода ВФ, Кінаш МІ. Участь печінки в підтриманні кальцій-фосфорного гомеостазу в організмі. Перинатологія та педіатрія. 2003; 1: 52-55.
31. Лук'яненко НС, Гнатейко ОЗ, Кеч НР. Алгоритм діагностики та медико-генетичного консультування екологічно детермінованої патології у дітей, що постійно проживають в умовах підвищених концентрацій солей металів та фтору. Метод. рекомендації. Київ. 2012. 37 с.
32. Лук'яненко НС, Кенс КА, Петріца НА. Оцінка діагностичної цінності маркування тканинної гіпоксії, мембранодеструкції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини у дітей з міхурно-мисковим рефлюксом. Здоров'я дитини. 2016; 6(74): 86-92
33. Лук'яненко НС, Кенс КА, Петріца НА. Тканинна гіпоксія паренхіми нирок у дітей раннього віку в періоді повної ремісії гострого

- неускладненого пієлонефриту без порушення функції нирок. Нирки. 2016: 33–9.
34. Лук'яненко НС, Іськів МЮ, Кенс КА, Макух ГВ. Маркери порушення фібрилогенезу у дітей з різними варіантами перебігу пієлонефриту. Нирки. 2017; 2(7): 39-46.
35. Лук'яненко НС. Екологічно детермінована патологія у дітей: клініко-генетичний поліморфізм та принципи медико-генетичного консультування автореф. [автореферат]. Львів. 2011. 36 с
36. Майданник ВГ, Бурлака ЄА. Стан метаболічно-гіпоксичних порушень при діабетичній нефропатії у дітей. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2015; 4: 47–55.
37. Макарчук ОМ, Римарчук ОМ, Драгомирецький ЛВ. Недиференційована дисплазія сполучної тканини як фактор імовірних гестаційних ускладнень. Акушерство. Гінекологія. Генетика. 2015; 2: 18-19.
38. Маркін ЛБ, Прокіп УЄ. Функціональна істміко-цервікальна недостатність як прояв недиференційованої дисплазії сполучної тканини. Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. 2014: 1 – 2
39. Назаренко ОА, Сергєєва ТА. Креатинін та методи його визначення. *Biotechnologia Acta*. 2009; 1: 107–16
40. Наказ МОЗ України №627 від 03.11.2008 «Про затвердження протоколу лікування дітей з інфекціями сечової системи і тубуло-інтерстиціальним нефритом»
41. Опря АТ. Статистика (модульний варіант з програмованою формою контролю знань). Навч. посіб. К.: Центр учбової літератури. 2012. 448 с.
42. Осипенко ІП, Солейко ОВ. Вісцеральні маркери дисплазії сполучної тканини у чоловіків з ідіопатичним пролапсом мітрального клапана. Кінічна та експериментальна патологія. 2011; 2: 36.
43. Процайло МД, Чорномидз ЮА, Гнатьо НМ, Воронцова ТО, Чорномидз ІБ. Поліморфізм проявів дисплазії сполучної тканини у дітей. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2024; 2: 49-56.

44. Починок ТВ, Васюкова ММ, Горобець НІ. Недиференційована дисплазія сполучної тканини у дітей: діагностика і тактика лікування. Медицина транспорту України. 2007; 1: 23-7.
45. Сем'янчук ВБ. Поширеність проявів недиференційованої дисплазії сполучної тканини у дітей Прикарпаття, хворих на бронхіальну астму. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2015; 2 (50): 145-9
46. Солєнко ОВ, Рикало НА, Осипенко ІП, Солейко ЛП. Синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини: від концепції патогенезу до стратегії лікування. Навчальний посібник. Вінниця: Нова Книга, 2014. 166 с.
47. Солейко ОВ, Осипенко ІП, Солейко ЛП. «Біохімічне обличчя» синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини. Ліки України. 2014; 1: 6-14
48. Степанова НМ, Король ЛВ, Кундін ВЮ. Оксидативні процеси у хворих на ПН з рецидивуючим перебігом та їх взаємозв'язок з вогнищами склерозу ниркової паренхіми. Укр. журнал нефрології та діалізу. 2012; 3: 12-7.
49. Тимочко-Волошин Р, Мухін В. До питання дисплазії сполучної тканини у дітей: засоби фізичної реабілітації. Фізична активність, здоров'я і спорт. 2014; 1(15): 46-53.
50. Фролова ТВ, Охалкіна ОВ, Сороколат ЮВ, Коліушко КГ. Популяційний ризик виникнення порушень фібрилогенезу у дітей. Експериментальна і клінічна медицина. 2013; 1(58): 131-5.
51. . Фролова ТВ, Охалкіна ОВ, Терещенкова ІІ, Берус АВ. Доцільність використання та оцінка ефективності препарату Кардонат у лікуванні диспластичної патології у дітей з порушенням фібрилогенезу. Ліки України. 2010; 139: 73-76
52. Черненко ВВ. Патогенез, діагностика і лікування кристаллурій. Family medicine. 2019; (5-6): 54-8.

53. Шевченко НС, Лебець ІС, Кашкалда ДА. Зміни біохімічних показників сполучної тканини у дітей і підлітків при запальних захворюваннях суглобів. Вісник Харківського національного університету імені Каразіна ВН. 2016; 26: 11–5.
54. Щербина МО, Алайя Л. Маркери розпаду колагену в розвитку пролапсу геніталій у жінок в перименопаузі. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2016; 2: 111-114.
55. Юрьєва ЕА, Длин ВВ. Діагностичний довідник нефролога. М.: Оверлей. 2002. 95 с.
56. Abdelmaksoud NM, Al-Noshokaty TM, Abdelhamid R, Abdellatif N, Mansour A, et al. Deciphering the role of MicroRNAs in diabetic nephropathy: Regulatory mechanisms and molecular insights. Pathology-Research and Practice. 2024; 256: 155237.
57. Abod KS, Mohammed MT, Taay YM. Evaluation of total oxidant status and antioxidant capacity in sera of acute-and chronic-renal failure patients. In Journal of Physics: Conference Series. 2021; 1853(1): 012038.
58. Aib NR. Metabolic nephropathy in children: gender features of oxalate excretion, relationship with oxidative stress severity and antioxidant defense system. Child's health. 2019; 14(4): 229–35.
59. Aib N, Lukianenko N, Petritsa, N., & Iskiv, M. Processes of Lipid Peroxidation, Antioxidant Protection and Membrane Destruction of Renal Epithelium in the Pathogenesis of Dysmetabolic Nephropathy in Children. Archive of Clinical Medicine. 2024; 30(1): 5-8.
60. Aib NR, Lukianenko NS, Kens KA, Petritsa NA, Volosianko AB. Functional state of renal parenchyma in children with dysmetabolic nephropathy. Art of Medicine. 2024; 3(31): 8-12.
61. <https://nauka.meduniv.lviv.ua/wp-content/uploads/2020/07/kandidatska-disertatsiya-iskiv-m.yu.pdf>.

62. Ajala MO, Ogunro PS, Odun A. Effect of hemodialysis on total antioxidant status of chronic renal failure patients in government hospitals in Lagos Nigeria. *Niger J. Clin. Pract.* 2011; 14: 154–8. DOI:10.4103/1119-3077.84005
63. Annesley SJ, Fisher PR. Mitochondria in health and disease. *Cells.* 2019; 8: 680
64. Arafa A, Eshak ES, Iso H. Oxalates, urinary stones and risk of cardiovascular diseases. *Medical Hypotheses.* 2020; 137: 109570.
65. Asejeje FO, Gabriel GO, Abiola MA. Monosodium glutamate aggravates lipopolysaccharide-induced liver injury via inflammation and oxidative stress in rats. *Nutrire.* 2023; 48(1): 5.
66. Askari Z, Boskabadi J, Kargar-Soleimanabad S, Gholami F. Roux-en-Y gastric bypass surgery induced oxalosis and acute kidney injury: A case report. *Annals of Medicine and Surgery.* [Internet]. 2021; 72: 103088. Available from:
67. Bao D, Zhang H, Wang J, Wang Y, Wang S, Zhao MH. Determinants on urinary excretion of oxalate and other key factors related to urolithiasis among patients with chronic kidney disease: a single center study. *Urolithiasis.* 2023; 51(1): 88
68. Barros SP, Offenbacher S. Epigenetics: connecting environment and genotype to phenotype and disease. *J Dent Res.* 2009; 88(5): 400-8.
69. Bayır H, Anthonymuthu TS, Tyurina YY, Patel SJ, Amoscato AA, et al. Achieving life through death: redox biology of lipid peroxidation in ferroptosis. *Cell chemical biology.* 2020; 27(4): 387-408.
70. Bima C, Parasiliti-Caprino M, Rumbolo F, Ponzetto F, Gesmundo I, et al. Asymmetric and symmetric dimethylarginine as markers of endothelial dysfunction in cerebrovascular disease: A prospective study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2024; 34(7): 1639-1648.
71. Buysschaert B, Aydin S, Morelle J et al. Etiologies, clinical features, and outcome of oxalate nephropathy. *Kidney Int Rep.* 2020; 5: 1503–9.
72. Caimi G, Carollo C, Hopps E, Montana M, Lo Prest R. Protein oxidation in chronic kidney disease. *Clin Hemorheol.* [Internet]. 2013. 54(4): 409-413.

Available from: <https://content.iospress.com/articles/clinical-hemorheology-and-microcirculation/ch1739> Capillary rarefaction from the kidney point of view.

73. Čapek J, Roušar, T. Detection of oxidative stress induced by nanomaterials in cells—the roles of reactive oxygen species and glutathione. *Molecules*. 2021; 26(16): 2-20.
74. Cao B, Daniel R, McGregor R, Tasian GE. Pediatric Nephrolithiasis. *Healthcare*. 2023; 11(4):552-9.
75. Capusa C, Stoian I, Rus E, Lixandru D, Barbulescu C, e al. Does dialysis modality influence the oxidative stress of uremic patients. *Kidney Blood Press. Res*. 2012; 35: 220–5.
76. Ceban E, Banov P, Galescu A, Botnari V. Oxidative stress and antioxidant status in patients with complicated urolithiasis. *J Med Life*. 2016; 9:259–62
77. Chaiyarit S, Thongboonkerd V. Mitochondrial Dysfunction and Kidney Stone Disease. *Front Physiol*. 2020; 11: 566-76.
78. Chaiyarit S, Thongboonkerd V. Mitochondria-derived vesicles and their potential roles in kidney stone disease. *J Transl Med*. 2023 May 2; 21(1): 294-8
79. Chen CH, Huang SC, Huang SW, Tsai SF, Huang YC. Trace elements status and their associations with related antioxidant enzyme activities in patients receiving peritoneal dialysis and hemodialysis. *Journal of Renal Nutrition*. 2024; 34(3): 243-51.
80. Coaccioli S, Standoli ML, Biondi R, Panaccione A, Landucci P, et al. Open comparison study of oxidative stress markers between patients with chronic renal failure in conservative therapy and patients in haemodialysis. *Clin. Ther*. 2010; 161: 435–439.
81. Coe FL, Evan A, Worcester E. Pathogenesis and treatment of nephrolithiasis. In Seldin and Giebisch's the kidney. Academic Press. 2013: 2311-49.
82. Colombo G, Reggiani F, Angelini C, Finazzi S, Astori E, et al. Plasma protein carbonyls as biomarkers of oxidative stress in chronic kidney disease, dialysis,

- and transplantation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. [Internet] 2020 (1): 2975256. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2020/2975256>
83. Cilva Gaspar SR, Mendonça T, Oliveira P, Oliveira T, Dias J, et al. Urolithiasis and crohn's disease. *Urology annals*. 2016; 8(3): 297-304.
 84. Day BJ. Antioxidant therapeutics: Pandora's box. *Free Radic. Biol. Med*. 2014; 66: 58–64.
 85. Drito JS, Borges NA, de Vargas Reis DCM, da Silva GS, dos Santos Fonseca L, et al. Effects of intradialytic bicycle ergometer exercise on transcription factors NF- κ B and Nrf2 in patients with chronic kidney disease: A randomized crossover clinical trial. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*. 2024; 40: 1492-9.
 86. Demir M, Ulas T, Tutoglu A, Boyaci A, Karakas EY, et al. Evaluation of oxidative stress parameters and urinary deoxypyridinoline levels in geriatric patients with osteoporosis. *Journal of Physical Therapy Science*, (2014). 26(9), 1405-1409.
 87. Dennis JM, Witting PK. Protective role for antioxidants in acute kidney disease. *Nutrients*. 2017 Jul 7; 9(7): 718-24.
 88. Dirican M, Sarandol E, Serdar Z, Ocak N, Dilek K. Oxidative status and prevalent cardiovascular disease in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Clin. Nephrol*. 2007; 68: 144–50.
 89. Destro F, Selvaggio GGO, Lima M, Ricciettoni G, Klersy C, et al. Minimally invasive approaches in pediatric urolithiasis. The experience of two Italian Centers of Pediatric Surgery. *Frontiers in Pediatrics*. 2020; 8: 371-7.
 90. Djordjević VV, Kostić J, Krivokapić Ž, Krtinić D, Ranković M, Petković M, Ćosić V. Decreased Activity of Erythrocyte Catalase and Glutathione Peroxidase in Patients with Schizophrenia. *Medicina*. 2022; 58(10): 1491.
 91. Downie M, Lopez Garcia S, Kleta R, Bockenhauer D. Inherited tubulopathies of the kidney: insights from genetics. *Clin J Am Soc. Nephrol*. 2021; 16: 620–30

92. Ebert T, Neytchev O, Witasz A, Kublickiene K, Stenvinkel P, et al. Inflammation and oxidative stress in chronic kidney disease and dialysis patients. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2021; 35(17): 1426-1448.
93. Edwards CH. Familial predispositions in man. *Brit. Med. Bull.* 1969; 25(1): 58–64.
94. Edwards A, Kurtcuoglu V. *Pflugers Arch.* Renal blood flow and oxygenation. 2022; 474: 759–70.
95. El-Ghamrawy M, Soliman NA. Hematological involvement in nephropathic cystinosis: new insights. *Journal of Rare Diseases*. 2024; 3(1): 27-32.
96. Ergin K, Çetinkaya R. Regulation of microRNAs. *miRNomics: MicroRNA. Biology and Computational Analysis*. 2022; 2257: 1-32.
97. Eren E, Abuhandan M, Solmaz A. Serum Paraoxonase/Arylesterase Activity and Oxidative Stress Status in Children with Metabolic Syndrome. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. [Internet]. 2014; 6(3):163-8. Available from: https://jag.journalagent.com/jcrpe/pdfs/JCRPE_6_3_163_168.pdf
98. Esterbauer H, Cohen G, De Smet R, Rodriguez M, Jankowski J, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012; 23: 1258–70
99. Evan AP, Coe FL, Lingeman JE, et al. Renal crystal deposits and histopathology in patients with cystine stones, *Kidney Int* 2006; 69: 2227-35.
100. Evans RG, Goddard D, Eppel GA. Factors that render the kidney susceptible to tissue hypoxia in hypoxemia. *Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011; 300: 931–40.
101. Evans, RG, Ince C, Joles JA, Smith DW, May CN, et al. Haemodynamic influences on kidney oxygenation: clinical implications of integrative physiology. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2013; 40(2): 106-22.
102. Falconer DS. The inheritance of liability to certain diseases, estimated from the incidence among relatives. *Ann. of Human Genetics*. 1965; 29(1): 51–76.

103. Fan Y, Chen H, Huang Z, Zheng H, Zhou J. Emerging role of miRNAs in renal fibrosis. *RNA biology*. 2020; 17(1): 1-12.
104. Fontecha-Barriuso M, Lopez-Diaz AM, Guerrero-Mauvecin J, Miguel V, Ramos AM, et al. Tubular mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and progression of chronic kidney disease. *Antioxidants*. 2022; 11(7): 1356-9.
105. Fomina S. Координація з педіатром: гострий постстрептоковий гломерулонефрит. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*. 2024; 2(82): 74-88.
106. Forman HJ, Davies KJ, Ursini F. How do nutritional antioxidants really work: Nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radic. Biol. Med*. 2014; 66: 24–35.
107. Fritz KS, Petersen DR. An overview of the chemistry and biology of reactive aldehydes. *Free Radic. Biol. Med*. 2013; 59: 85–91.
108. Gadomska-Prokop K, Jobs K. Kamica układu moczowego u dzieci. *Standardy Medyczne*. 2015; 5: 714–23.
109. García JB, Corrales JAH. Urinary lithiasis in pediatrics. *Urinary and Renal Research*. 2023; 4(2): 2062-9.
110. Gras C, Ratuszny D, Hadamitzky C, Zhang H, Blasczyk R, Figueiredo C. miR-145 Contributes to Hypertrophic Scarring of the Skin by Inducing. *Molecular Medicine*. 2015; 21: 296–04.
111. Grimes JA, Lourenço BN, Coleman AE, Rissi DR, Schmiedt CW. MicroRNAs are differentially expressed in the serum and renal tissues of cats with experimentally induced chronic kidney disease: a preliminary study. *American Journal of Veterinary Research*. 2022; 83(5): 426-33.
112. Gluba-Sagr A, Franczyk B, Rysz-Górzyńska M, Ławiński J, Rysz J. The role of miRNA in renal fibrosis leading to chronic kidney disease. *Biomedicines*. 2023; 11(9): 2358-62.
113. Goldfarb DS. The search for monogenic causes of kidney stones. *J Am. Soc. Nephrol*. 2015; 26(3): 507-15.

114. Gronda E, Palazzuoli A, Iacoviello M, Benevenuto M, Gabrielli D, et al. Renal Oxygen Demand and Nephron Function: Is Glucose a Friend or Foe?. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(12): 9957-62.
115. González J, Valls N, Brito R, Rodrigo R. Essential hypertension and oxidative stress: New insight. *J Cardiol*. 2014 Jun 26; 6(6): 353-66.
116. Han H, Segal AM, Seifter JL, Dwyer JT. Nutritional management of kidney stones. *Clin Nutr Res*. 2015; 4:137–52.
117. Hesp AC, Schaub JA, Prasad PV, et al. The role of renal hypoxia in the pathogenesis of diabetic kidney disease: a promising target for newer renoprotective agents including SGLT2 inhibitors. *Kidney International*. 2020 Sep.; 98(3): 579-89.
118. Hansson E, Mansourian A, Farnaghi M, Petzold M, Jakobsson K. An ecological study of chronic kidney disease in five Mesoamerican countries: associations with crop and heat. *Public Health*. 2021; 21(1): 840-9.
119. Hill AJ, Basourakos SP, Lewicki P, Wu X, Arenas-Gallo C, et al. Incidence of kidney stones in the United States: the continuous national health and nutrition examination survey. *The Journal of urology*. 2022; 207(4): 851-56.
120. Himmelfarb J, Phinney S, Ikizler TA, Kane J, McMonagle E, et al. Gamma-tocopherol and docosahexaenoic acid decrease inflammation in dialysis patients. *J. Ren. Nutr*. 2007;17: 296–04.
121. Huang Y, Zhang YH, Chi ZP, Huang R, Huang H, et al. The handling of oxalate in the body and the origin of oxalate in calcium oxalate stones. *Urologia internationalis*. 2020; 104(3-4): 167-76.
122. Huang HS, Chen CF, Chien CT. Possible biphasic changes of free radicals in ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats. *BJU Int*. 2000; 85: 1143-49.
123. Imran K, Zafar M, Ozair U, Khan S, Rizvi S. Metabolic risk factors in pediatric stone formers: a report from an emerging economy. *Urolithiasis*. 2017: 379-86.
124. Issler N, Dufek S, Kleta R. Epidemiology of paediatric renal stone disease: a 22-year single centre experience in the UK. *Nephrol*. 2017: 136-42.

125. Ito F, Sono Y, Ito, T. Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants*. 2019; 8: 72.
126. Jia Z, Li W, Bian P, Yang L, Liu H, et al. Ursolic acid treats renal tubular epithelial cell damage induced by calcium oxalate monohydrate via inhibiting oxidative stress and inflammation. *Bioengineered*. 2021; 12(1): 5450-61.
127. Joyce E, Glasner P, Ranganathan S, Swiatecka-Urban A. Tubulointerstitial nephritis: diagnosis, treatment, and monitoring. *Pediatr Nephrol*. 2017; 32(4): 577-87.
128. Kamgar M, Zaldivar F, Vaziri ND, Pahl MV. Antioxidant therapy does not ameliorate oxidative stress and inflammation in patients with end-stage renal disease. *J. Natl. Med. Assoc*. 2009; 101: 336–44
129. Kang BS, Choi BY, Kho AR, Lee SH, Hong DK, et al. An inhibitor of the sodium–hydrogen exchanger-1 (NHE-1), amiloride, reduced zinc accumulation and hippocampal neuronal death after ischemia. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(12): 4232-38.
130. Kaufman KP, Eudy AM, Harris N, Neil L, Clowse ME. Pregnancy outcomes in undifferentiated connective tissue disease compared to systemic lupus erythematosus: a single academic center's experience. *Arthritis care & research*, 2022; 74(10): 1631-39.
131. Kittanamongkolchai W, Mara KC, Mehta RA, Vaughan LE, Denic A, et al. Risk of Hypertension among First-Time Symptomatic Kidney Stone Formers. *Soc. Nephrol*. 2017 Mar 7; 12(3): 476-82.
132. Kermond R, Mallett A, McCarthy H. A clinical approach to tubulopathies in children and young adults. *Pediatr Nephrol*. 2023; 38 (3): 651-62.
133. Khan S. R. Reactive oxygen species as the molecular modulators of calcium oxalate kidney stone formation: evidence from clinical and experimental investigations // *J. Urol*. 2013. №189. p. 803–811
134. Kleta R, Bockenhauer D. Salt-losing tubulopathies in children: what's new, what's controversial. *Nephrol*. 2018; 29: 727–39.

135. Kopańko M, Zabłudowska M, Pawlak D, Sieklucka B, Krupa A, et al. The Possible Effect of β -Blocker Use on the Circulating MMP-2/TIMP-2 System in Patients with Chronic Kidney Disease on Conservative Treatment. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(7):1847-54.
136. Kuczeriszka M, Wąsowicz K. Animal models of hypertension: the status of nitric oxide and oxidative stress and the role of the renal medulla. *Nitric Oxide*. 2022; 125: 40-6.
137. Kumar J, Gupta A, Dev K, Kumar S, Kataria D. Prevalence and Causes of Hyperuricemia in Children. *Cureus*. 2021 May 28;13(5):1507-13.
138. Kumar S, Pollok R, Goldsmith D. Renal and urological disorders associated with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2023; 29(8): 1306-16.
139. Kyo CK, Halawani A, Wong VK, Lange D, Ben H. Monogenic features of urolithiasis: A comprehensive review. *Asian Journal of Urology*. 2023: 2214-82.
140. Koyuncu S, Sipahioğlu H, Koçyiğit İ, Oymak O, Tokgöz, B., & Sipahioğlu, M. The Evaluation of the Effect of the Treatments on Oxidative Stress and Inflammation in Patients Receiving Different Dialysis Modalities. *Journal of Contemporary Medicine*. 2023; 13(4): 580-85.
141. Laher AE, McDowall J, Gerber L, Aigbodion SJ, Enyuma CO, et al. The ultrasound ‘twinkling artefact’ in the diagnosis of urolithiasis: hocus or valuable point-of-care-ultrasound? A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Emergency Medicine*. 2020; 27(1): 13-20.
142. Li B, Clayton DB. Epidemiology of Pediatric Nephrolithiasis. In *Diagnosis and Management of Pediatric Nephrolithiasis*. Cham: Springer International Publishing. 2022: 1-13.
143. Li Y, Ding T, Hu H, Zhao T, Zhu C, et al. LncRNA-ATB participates in the regulation of calcium oxalate crystal-induced renal injury by sponging the miR-200 family. *Molecular Medicine*. 2021; 27: 1-15.

144. Ling XC, Kuo KL. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Renal Replacement Therapy*. 2018; 4(1): 1-9.
145. Liu X, Hong Q, Wang Z, Yu Y, Zou X, et al. Transforming growth factor- β /sphingosine kinase 1/S1P signaling upregulates microRNA-21 to promote fibrosis in renal tubular epithelial cells. *Experimental Biology and Medicine*. 2016; 241: 265–72.
146. Liakopoulos V, Varouktsi G, Tsinari A, Veljkovic A, Lazarevic G, et al. Implications of oxidative stress in end-stage kidney disease patients: a review of causative mechanisms, current concepts. *Acta Medica Medianae*. [Internet]. 2022; 61(2). Available from: <https://asestant.ceon.rs/index.php/amm/article/view/36664>.
147. Lucato P, Trevisan C, Stubbs B, Zanforlini BM, Solmi M, et al. Nephrolithiasis, bone mineral density, osteoporosis, and fractures: a systematic review and comparative meta-analysis. *Osteoporosis International*. 2016; 27: 3155-64.
148. Lumbreras J, Madariaga L, Rodrigo MD. Pediatric renal lithiasis in Spain: research, diagnostic and therapeutic challenges, and perspectives. *Frontiers in pediatrics*. [Internet]. 2023; 11: 1294319. Available from: [https:// www.frontiersin. org/journals/pediatrics/articles/10.3389/fped.2023.1294319/full](https://www.frontiersin.org/journals/pediatrics/articles/10.3389/fped.2023.1294319/full).
149. Ma M-C, Chen Y-S, Huang H-S. Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis. *Transl. Androl. Urol.*, 2014; 3: 256-76.
150. Ma M-C, Chen YS, Huang HS. Erythrocyte oxidative stress in patients with calcium oxalate stones correlates with stone size and renal tubular damage. *Urology*. [Internet]. 2014; 83(2): 510-e9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0090429513013812>.
151. Martinez Valenzuela L, Draibe J, Fulladosa X, Torras J. New biomarkers in acute tubulointerstitial nephritis: a novel approach to a classic condition. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(13): 4690-6.
152. Marzuillo P, Iafusco D, Zanfardino A, Guarino S, Piscopo A, et al. Acute kidney injury and renal tubular damage in children with type 1 diabetes mellitus

- onset. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. [Internet]. 2021; 106(7): e2720-e2737. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/106/7/e2720/6141374?login=false>.
153. Matsubayashi Y. Dynamic movement and turnover of extracellular matrices during tissue development and maintenance. *Fly*. 2022 Dec.; 16(1): 248-74.
 154. Mehjabin A, Kabir M, Micolucci L, Akhtar MM, Moniruzzaman AKM et al. MicroRNA in Fibrotic Disorders: A Potential Target for Future Therapeutics. *Front. Biosci. (Landmark Ed)*. 2023; 28(11): 317.
 155. Miguel V, Lamas S. MicroRNA control of kidney disease. In *MicroRNA*. Academic Press. 2022: 401-28.
 156. Miguel V, Rojo A. Hypoxia-Driven Responses in Chronic Kidney Disease. *Oxygen*. 2023; 3: 300-21.
 157. Miguel V, Shaw IW, Kramann R. Metabolism at the crossroads of inflammation and fibrosis in chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2024: 1-18.
 158. Monico CG, Milliner DS. Genetic determinants of urolithiasis. *Nat. Rev. Nephrol*. 2011 Dec 20; 8(3): 151-62.
 159. Moore JP, Mauler DJ, Narang GL, Stern KL, Humphreys MR, et al. Etiology, urine metabolic risk factors, and urine oxalate patterns in patients with significant hyperoxaluria and recurrent nephrolithiasis. *International Urology and Nephrology*. 2022; 54(11): 2819-25.
 160. Musiała A, Donizy P, Augustyniak-Bartosik H, Jakuszkó K, Banasik M, et al. Biomarkers in primary focal segmental glomerulosclerosis in optimal diagnostic-therapeutic strategy. *Journal of Clinical Medicine*. 2022; 11(12): 32-9
 161. Naylor RW, Morais MRPT, Lennon R. Complexities of the glomerular basement membrane. *Nat Rev Nephrol*. 2021; 17:112–27.
 162. Nazmy MN, Abdalla MA, Mahmoud AS, El A. Epidemiology of pediatric urinary tract stones in Assiut Urology and Nephrology Hospital and its management. *The Egyptian Journal of Surgery*. 2022; 41(1).

163. Nensén O, Hansell P, Palm F. Intrarenal oxygenation determines kidney function during the recovery from an ischemic insult. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2020; 319(6): 1067-72.
164. Nourbakhsh N, Singh P. Role of Renal Oxygenation and Mitochondrial Function in the Pathophysiology of Acute Kidney Injury. *Nephron Clin. Pract.* 2014; 127: 149–52.
165. Öner N, Baştuğ F, Özkan B, Özçatal M, Karakükçü Ç. Urolithiasis in children; The importance of stone localization in treatment and follow-up. *Urolithiasis*. 2024; 52(1): 17.
166. Patel M, Yarlaga V, Adedoyin O, Saini V, Assimos DG, et al. Oxalate induces mitochondrial dysfunction and disrupts redox homeostasis in a human monocyte derived cell line. *Redox Biol.* 2018; 15: 207–15.
167. Petrović A, Kizivat T, Bilić Ćurčić I, Smolić R, Smolić M. In vitro cell culture models of hyperoxaluric states: Calcium oxalate and renal epithelial cell interactions. *Crystals*. 2021; 11(7): 735-9
168. . Protsiuk R. Актуальні питання нефрології та внутрішньої медицини. *Actual Problems of Nephrology*. 2021; 29: 74–78.
169. Piko N, Bevc S, Hojs R, Ekart R. The Role of Oxidative Stress in Kidney Injury. *Antioxidants*. 2023; 12; 1772-9.
170. Quinlan C, Rheault Michelle N. Genetic Basis of Type IV Collagen Disorders of the Kidney. *CJASN*. 2021; 16(7): 1101-9.
171. Rashid H, Jali A, Akhter MS, Abdi SAH. Molecular Mechanisms of Oxidative Stress in Acute Kidney Injury: Targeting the Loci by Resveratrol. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25: 3-9.
172. Recknagel RO, Glende EA, Britton RS. Free radical damage and peroxidation. *Hepatotoxicology*. 2020: 401-36.
173. Rivetti G, Gizzone P, Di Sessa A, Guarino S, Miraglia Del Giudice E, et al. Renin angiotensin aldosterone inhibitors in the treatment of proteinuria in children with congenital anomalies of the kidney and urinary tract: more

- evidence needed. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2023; 16(9): 791-8.
174. Rivetti G, Gizzone P, Petrone D, Di Sessa A, del Giudice M, et al. Acute Kidney Injury in Children: A Focus for the General Pediatrician. *Children*. 2024; 11(8): 1004-8.
 175. Rosenbloom J, Macarak E, Piera-Velazquez S, Jimenez SA. Human Fibrotic Diseases: Current Challenges in Fibrosis Research. *Methods Mol Biol*. 2017; 1627: 1-23.
 176. Rashed T, Menon M, Thamilselvan S. Molecular mechanism of oxalate-induced free radical production and glutathione redox imbalance in renal epithelial cells: Effect of antioxidants. *J Nephrol*. 2004; 24: 557-68.
 177. Rupaimoole R, Calin GA, Lopez-Berestein G, Sood AK. miRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment. *Cancer Discovery*. 2016; 6(3): 235–46.
 178. Rysz J, Franczyk B, Ławiński J, Gluba-Brzózka A. Oxidative stress in ESRD patients on dialysis and the risk of cardiovascular diseases. *Antioxidants*. 2020; 9(11): 1079-87.
 179. Saenz-Medina J, Muñoz M, Rodriguez C, Contreras C, Sánchez A, et al. Hyperoxaluria Induces Endothelial Dysfunction in Preglomerular Arteries: Involvement of Oxidative Stress. *Cells*. 2022; 11(15): 23-9.
 180. Sasaki K, Shoji T, Kabata D, Shintani A, Okute Y, et al. Oxidative stress and inflammation as predictors of mortality and cardiovascular events in hemodialysis patients: the DREAM cohort. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2021; 28(3): 249-60.
 181. Schiffer TA, Friederich-Persson M. Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Kidney Hypoxia in the Development of Diabetic Nephropathy. *Front Physiol*. 2017; 8: 211-9.
 182. Siener R, Bangen U, Sidhu H, Hönow R, Von Unruh G, et al. The role of *Oxalobacter formigenes* colonization in calcium oxalate stone disease. *Kidney international*. 2013; 83(6): 1144-49.

183. Spivacow FR, Del Valle EE, Boailchuk JA, Díaz S, Rodríguez G, et al. Metabolic risk factors in children with kidney stone disease: an update. *Pediatric Nephrology*. 2020; 35: 2107-12.
184. Stamatelou K, Goldfarb DS. Epidemiology of kidney stones. *Healthcare* 2023; 11(3): 424-9.
185. Sternberg K, Greenfield SP, Williot P, Wan J. Pediatric stone disease: an evolving experience. *The Journal of urology*. 2005; 174(4): 1711-14.
186. Stenvinkel P, Chertow GM, Devarajan P, Levin A, Andreoli SP, et al. Chronic inflammation in chronic kidney disease progression: role of Nrf2. *Kidney international reports*. 2021; 6(7): 1775-87.
187. Stiegel MA, Pleil JD, Sobus JR, Angrish MM, Morgan MK. Kidney injury biomarkers and urinary creatinine variability in nominally healthy adults. *Biomarkers*. 2015; 20: 436–52.
188. Stewart DJ, Marks SD. Renal Development and Dysfunction. *Essentials of Pediatric Urology*. 2021: 13-22.
189. Sun Y, Sun H, Zhang Z, Tan F, Qu Y, et al. New insight into oxidative stress and inflammatory responses to kidney stones: Potential therapeutic strategies with natural active ingredients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 179: 117-33.
190. Supriyadi R, Koswara MIA, Soelaeman MA, Huang I. The effect of antioxidants supplementation on oxidative stress and proinflammatory biomarkers in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 2023; 27(4): 1413-26.
191. Suryavanshi MV, Bhute SS, Jadhav SD, Bhatia MS, Gune RP, et al. Hyperoxaluria leads to dysbiosis and drives selective enrichment of oxalate metabolizing bacterial species in recurrent kidney stone endures. *Scientific reports*. 2016; 6(1): 1-15.
192. Tasian GE, Kabarriti AE, Kalmus A, Furth SL. Kidney Stone Recurrence among Children and Adolescents. *J Urol*. 2017 Jan.; 197(1): 246-52.

193. Thongprayoon C, Krambeck AE, Rule AD. Determining the true burden of kidney stone disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2020; 16(12): 736-46.
194. Trionfini P, Benigni A, Remuzzi G. MicroRNAs in kidney physiology and disease. *Nat Rev Nephrol*. 2014; 11: 23–33.
195. Tripathi, P. Lipid Profile, Oxidative Stress and Homocysteine in Chronic Renal Failure. *Int. J. Trop. Med*. 2020; 15: 113-117.
196. Tomás-Simó P, D'Marco L, Romero-Parra M, Tormos-Muñoz MC, Sáez G, et al. Oxidative stress in non-dialysis-dependent chronic kidney disease patients. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021; 18(15): 70-6.
197. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal. Biochem*. 2017; 524: 13–30
198. Tucker PS, Dalbo VJ, Han T, Kingsley MI. Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease. *Biomarkers*. 2013; 18: 103-15.
199. Vakulenko, L. I. Дисметаболична нефропатія як фактор ризику розвитку пієлонефриту в дітей. *CHILDS HEALTH*. 2018; 13(1): 35-9.
200. Velásquez-Forero F, Esparza M, Salas A, Medeiros M, Toussaint G, Llach F. Risk factors evaluation for urolithiasis among children. *Bol Méd. Hosp Infant Mex*. 2016: 228-236
201. Vind S, Agarwal V, Agarwal KC. Clinical presentation, etiological factors, and outcome in children diagnosed with urolithiasis in Ghaziabad, Uttar Pradesh. *Santosh University Journal of Health Sciences*. 2022; 8(1): 57-61.
202. Vodošek HN, Bevc S, Ekart R, Hojs R. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy. *Antioxidants*. 2020; 9(10): 925-31.
203. Wang X, Xue N, Zhao S, Shi Y, Ding X, et al. Upregulation of miR-382 contributes to renal fibrosis secondary to aristolochic acid-induced kidney injury via PTEN signaling pathway. *Cell death & disease*. 2020; 11(8): 620-7.

204. Wang X, Jia P, Ren T, Zou Z, Xu S, et al. MicroRNA-382 promotes M2-like macrophage via the SIRP- α /STAT3 signaling pathway in aristolochic acid-induced renal fibrosis. *Frontiers in Immunology*. 2022; 13: 82-9.
205. Wang Z, Zhang Y, Zhang J, Deng Q, Liang H. Recent advances on the mechanisms of kidney stone formation. *International journal of molecular medicine*. 2021; 48(2): 1-10.
206. Wang B, Li ZL, Zhang YL, Wen Y, Gao YM, Liu BC. Hypoxia and chronic kidney disease. *Medicine*. 2022 Mar. 77: 129-35
207. Wang Z, Li MX, Xu CZ, Zhang Y, Deng Q, et al. Comprehensive study of altered proteomic landscape in proximal renal tubular epithelial cells in response to calcium oxalate monohydrate crystals. *BMC urology*. 2020; 20: 1-12.
208. Wei X, Zhu X, Jiang L, Huang X, Zhang Y, et al. Recent advances in understanding the role of hypoxia-inducible factor 1 α in renal fibrosis. *International urology and nephrology*. 2020; 52: 1287-95.
209. Williams J, Holmes RP, Assimos DG, Mitchell T. Monocyte mitochondrial function in calcium oxalate stone formers. *Urology*. 2016; 93: 224–6.
210. Witting C, Langman CB, Assimos D, Baum MA, Kausz A. Pathophysiology and Treatment of Enteric Hyperoxaluria. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*, 2021; 16: 487–95.
211. Ward JB. Pediatric Urinary Stone Disease in the United States. *The Urologic Diseases*. 2019:180 – 7
212. Woźniak P, Kontek B, Skalski B, Król A, Róžański W, Olas B. Oxidative Stress and Hemostatic Parameters in Patients With Nephrolithiasis Before and After Ureteroscopic Lithotripsy. *Front Physiol*. 2019 Jun 21; (10): 791-9.
213. Yasui K, Sumida Y, Mori Y, Mitsuyoshi H, Minami M. Nonalcoholic steatohepatitis and increased risk of chronic kidney disease. *Metabolism*. 2011; 60(5): 735-9.
214. Yasui T, Okada A, Hamamoto S, Ando R, Taguchi K To. Pathophysiology-based treatment of urolithiasis. *Int. J. Urol*. 2017; 24: 32–8.

215. Zhai W, Zheng J, Yao X, Peng B, Liu M. Catechin prevents the calcium oxalate monohydrate induced renal calcium crystallization in NRK-52E cells and the ethylene glycol induced renal stone formation in rat. *Altern. Med.* 2013; 13: 228-36.
216. Zhang L, Liu L, Bai M, Liu M, Wei L. Hypoxia-induced HE4 in tubular epithelial cells promotes extracellular matrix accumulation and renal fibrosis via NF- κ B. *The FASEB Journal*. 2020; 34(2): 2554-67.
217. Zhang X, Agborbesong E, Li X. The Role of Mitochondria in Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease and Its Therapeutic Potential. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 1125-34.
218. Zhang Q, Wang C, Xu. MitoTEMPO prevents oxalate induced injury in NRK-52E cells via inhibiting mitochondrial dysfunction and modulating oxidative stress *Oxid. Med. Cell Longev.* [Internet]. 2017. Available from: [https:// onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2017/7528090](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2017/7528090)
219. Zeng X, Xi Y, Jiang W. Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2013; 59: 2125–35
220. Zanotti S, Gibertini S, Curcio M, Savadori P, Pasanisi B, Morandi L, et al. Opposing roles of miR-21 and miR-29 in the progression of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2015; 1852: 1451–64.
221. Zucchi D, Tani C, Monacci F, Elefante E, Carli L, et al. Pregnancy and undifferentiated connective tissue disease: outcome and risk of flare in 100 pregnancies. *Rheumatology*. 2020; 59(6): 1335-39.

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Лембрик ІС, Айб НР. Поширеність дизметаболических нефропатій серед дитячого населення Івано-Франківській області. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017; 11(1): 48-52. <http://ijpog.org/downloads/26/7.pdf>
2. Айб НР. Метаболічна нефропатія в дітей: гендерні особливості екскреції оксалатів, зв'язок із вираженістю оксидативного стресу й системою антиоксидантного захисту. Здоров'я дитини. 2019; 14(4): 229-35. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.4.2019.174036>.
3. Айб НР, Лук'яненко НС, Чайковська ГС, Волосянко АБ. Genetic and environmental components in the pathogenesis of dysmetabolic nephropathy with oxalate-calcium crystalluria. Клінічна та профілактична медицина. 2024; 6: 38-43. (Scopus) <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2024.05>
4. NR Aib, NS Lukianenko, NA Petritsa, M Yu Iskiv. Processes of lipid peroxidation, antioxidant protection and Membrane destruction of renal epithelium in the pathogenesis Of dysmetabolic nephropathy in children. Архів клінічної медицини. 2024;1(30):5-8 <https://ifnmujournal.com/acm/article/view/acm2024114/1476>
5. Айб НР, Лук'яненко НС, Кенс КА, Петріца НА, Волосянко. АБ. Функціональний стан паренхіми нирок у дітей із дисметаболическою нефропатією. Art of Medicine. 2024;3(31):8-12. <https://art-of-medicine.ifnmu.edu.ua/index.php/aom/issue/view/31/43>

Наукові праці, які засвідчують апробацію:

6. Айб НР, Гнатейко ОЗ, Лук'яненко НС. Епігенетичні чинники у патогенезі і важкості перебігу дизметаболическої нефропатії з оксалато-кальцієвою

кристалурією у дітей. м. Яремче. 2023, с. 2.

7. Глогусь ВС, Айб НР, Кенс КА, Лук'яненко НС. Сечокам'яна хвороба: генетичні та епігенетичні предиктори. Національна науково-практична конференція «Нефрологія, діаліз, трансплантація нирки: UP TO DATE» (14-15 листопада 2024 р., м. Чернівці). Чернівці: БДМУ, 2024.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати
дисертації:**

8. Айб НР. Етіологічні та патогенетичні чинники дисметаболічних нефропатій у дітей. Український медичний часопис. 2018; 1(123): 1-3. (огляд літератури) <https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.123.122314>

Відомості про апробацію результатів дисертації

- науково-практична конференція «Нефрологія, діаліз, трансплантація нирки: UP TO DATE» 14-15 листопада 2024 року, м. Чернівці – *усна доповідь*.

ДОДАТОК Б

ІНДИВІДУАЛЬНА ТЕМАТИЧНА КАРТА № _____
 ОБСТЕЖЕННЯ ДИТИНИ З ЗАХВОРЮВАННЯМ СЕЧОВИДІЛЬНОЇ
 СИСТЕМИ (ВІДПОВІДНО ДО ДАНИХ
[HTTPS://NAUKA.MEDUNIV.LVIV.UA/WP-
 CONTENT/UPLOADS/2020/07/KANDIDATSKA-DISERTATSIYA-ISKIV-
 M.YU.PDF](https://nauka.meduniv.lviv.ua/wp-content/uploads/2020/07/KANDIDATSKA-DISERTATSIYA-ISKIV-M.YU.PDF))

1. Прізвище, ім'я, по батькові _____
2. Домашня
адреса _____
3. Дата народження _____, вік _____
4. Від якої по рахунку вагітності дитина _____, як протікала
вагітність: (нормально, ні), захворювання під час вагітності (так, ні),
які: _____
5. Токсикоз першої (так, ні) половини вагітності, його прояви: нудота,
блювота, набряки, підвищення артеріального тиску, головні болі, анемія,
білок в сечі _____
6. Загроза викидню: так, ні. Захворювання в першій половини вагітності:
грип, ГРЗ, краснуха та інш. _____, в другій половині
вагітності _____
7. Стан дитини при народженні: задовільний, середньої важкості, важкий.
8. Вага при народженні _____, Група крові _____, Резус-
фактор _____
9. Годування на першому році життя: грудне до ____ міс., змішане ____ міс.,
штучне
10. Вік появи перших зубів _____ міс., скільки зубів в даний
час _____
11. Дані про розвиток дитини: сидить з ____ міс., ходить з ____ міс.
12. Розвиток на першому році життя: нормальний, відставання у вазі, рості,
моторному та психічному розвитку, перенесені
захворювання _____
13. Перенесені захворювання до даного обстеження: рахіт, ексудативний
діатез, часті розлади стільця, кір., вітряна віспа, паротит, скарлатина,
коклюш, краснуха, гепатит, часті простуди та ГРЗ, бронхіти, часті
пневмонії, часті ангіни, повторні отити, набряк Квінке, лярінгіти,

бронхіальна астма, нейродерміт, гастрит, гепатит, холецистит, ревматизм, артрит, судоми, пієлонефрит, гломерулонефрит, перенесені операції
 _____ інші захворювання _____

14. Наявність нічного (денного) нетримання сечі: так, ні, до _____ років.
15. Побутові та матеріальні умови сім'ї: незадовільні, задовільні, добрі.
16. Умови харчування дитини: незадовільні, задовільні, добрі.
17. Скільки ще дітей в сім'ї _____, чим хворіли _____
18. Стан здоров'я матері: здорова, хворіє (чим) _____
19. Мати дитини: вік _____ років, освіта _____, професія _____
20. Мати дитини: курить – так, ні, вживає алкоголь – так, ні.
21. Професійні шкідливості у батьків: мати - хімічні, солі важких металів, гіпотермія, гіпертермія, вібрація, неіоніз. радіація, ультразвук, промисл. шум, промисл. пил, важкий фізичний труд, рентгенівське ви промін., інші _____
22. Стан здоров'я батька: здоров, хворіє (чим) _____
23. Батько дитини: вік _____ років, освіта _____, професія _____
24. Батько дитини: курить – так, ні, вживає алкоголь – так, ні.
25. Професійні шкідливості у батьків: батько - хімічні, солі важких металів, гіпотермія, гіпертермія, вібрація, неіоніз. радіація, ультразвук, промисл. шум, промисл. пил, важкий фізичний труд, рентгенівське ви промін., інші _____
26. Які захворювання наявні в сім'ї по лінії матері та батька: нирок, шлунка, печінки, серця, гіпертонія, цукровий діабет, хвороби щитовидної залози, стан зубів _____
27. Шлюб родинний (кривний): так, ні, ступінь спорідненості _____
28. Чи була виявлена вада розвитку нирок у плода при УЗД під час вагітності _____, якщо так, то на якому тижні вагітності _____, яка динаміка УЗ-даних протягом спостереження плода _____

29. Генеалогічне древо:

Найчастіші клініко-морфофункціональні та вісцеральні порушення, характерні для недиференційованої дисплазії сполучної тканини, що наявні у дитини (необхідне підкреслити)

Системи організму	Клініко-морфофункціональні та вісцеральні порушення
Клініко-морфологічні відхилення	
Фізичний розвиток	Відставання у фізичному розвитку астенічна конституція, дефіцит маси тіла;
Шкіра	Ніжна, оксамитова , формування псевдопухлинних утворень, витончення підшкірного шару , в'ялість, підвищена еластичність, симптом «сигаретного паперу», геморагічні прояви;
Нігті	Крихкі, розщеплюються на пластинки , з ділянками вогнищевої аплазії, аноніхія, пахіоніхія, лейконіхія
Волосся	Тонке , крихке, тускле, ділянки алопеції або гіпотрихозу
Зуби	Мікроаномалії: гіподентія, парадонтоз, карієс, мікродентизм , олігодентія, тріми
Вушні раковини	М'які, звертаються в трубочку , відвисла мочка, збільшені у розмірах
Органи зору	Міопія, гіперметропія, астигматизм, порушення рефракції, дистопія кришталика; відшарування сітківки; дегенеративні зміни очного дна; макрокornea, плоска рогівка; іридодонез райдужної оболонки; стафілома; блакитні склери
М'язова система	Порушення статури; аплазія, атрофія; діастаз м'язів черевної стінки ; килеві випинання; гіпотонія м'язів ; атонія; збільшення обсягу пасивних рухів
Скелетні аномалії	Подовження та витончення кінцівок; деформації грудної клітки, хребта, кінцівок; різні кістково-хрящові дисплазії ; патологія кінцівок — арахнодактилія, гіпермобільність суглобів, деформація та викривлення кінцівок (вальгусна та варусна деформація); деформація стоп (кінська, п'ятова, еквіновальгусна, еквіноварусна, плоска, плосковальгусна, кальканеовальгусна, кальканеоварусна); плоскостопість (поздовжня та поперечна);
Кістково-хрящові дисплазії	Епі-, метафізарні, фізарні, спондилоепіметафізарні; укорочення дистальних відділів нижніх кінцівок (акромелія), середніх відділів (мезомелія) і проксимальних (ризомелія)
Вісцеральні порушення	
Нервова система	Вегетосудинна дистонія, вроджені мальформації судин головного мозку, гемікранія, енурез, міотонічний синдром
Система крові	Гемоглобінопатія, тромбоцитопатія, підвищена кровоточивість
Сечовидільна система	Анатомічні аномалії органів сечовивідної системи, аномалії формування ниркової тканини з дефіцитом паренхіми, аномалії диференціації (структури) нирок , природжені та спадкові гломерулопатії
Серцево-судинна система	Пролапси клапанів, хибні хорди , розширення кореня аорти та легеневої артерії, дистопія папілярних м'язів, порушення серцевого ритму та провідності, вегетосудинна дистонія,
Органи дихання	Вроджені трахеобронхомегалія та трахеобронхомаліяція; бронхоектатична емфізема Лешке; Вільямса — Кемпбела; гіпоплазія легень; аномалія поділу бронхіального дерева; рецидивуючі ателектази легень; ідіопатичний спонтанний пневмоторакс та ін.
Шлунково-кишковий тракт	Езофагіт; хронічний гастрит, що супроводжується дуоденогастральним, гастроезофагеальним рефлюксом; гастроптоз; панкреатизм; дискінезія жовчовивідних шляхів; функціональні та анатомічні дефекти жовчного міхура (мембрани, перегини) ; синдром подразненої товстої кишки; мегаколон, доліхосигма та ін.
ЛОР-органи	Нейросенсорна туговухість, отосклероз

Інформована згода батьків на обстеження дитини:

Я, _____

_____,
погоджуюсь взяти участь в молекулярно-генетичному дослідженні та встановленні функціонального стану нирок у моєї дитини.

Я розумію, що взірєць крові та сечі, взяті у моєї дитини будуть використані для встановлення наявності дисплазії сполучної тканини та ступеню порушення функції нирок, що призводять до розвитку ниркової недостатності, обумовленої наявністю пієлонефриту та/або природженої вади розвитку сечовивідної системи для подальшої розробки методів профілактики та лікування знайдених відхилень.

Результати дослідження будуть доведені до мого відома. Результати всіх аналізів є таємними, ознайомитись з ними можуть лише медичні працівники.

Участь в проведенні досліджень є добровільною.

Особистий підпис батьків обстежуваної дитини _____

Висновок лікаря: Я пояснив даній особі мету та зміст досліджень, що проводитимуться, обмеження у доступі до результатів та відповів на всі запитання.

Лікар _____ (_____) « ____ » 20 ____ р.
(підпис) (Ім'я .ПРИЗВИЩЕ)

Виконавець НДР _____
(підпис)

Дата заповнення « ____ » _____ 20 ____ р.

ДОДАТОК В

ТАБЛИЦІ ДО РОЗДІЛУ 3

Таблиця 3.1

Розподіл обстежених дітей за віком і статтю

Групи дітей	Кількість, N	Вік						Стать			
		6-8 років		8-12 років		12-17 років		Хлопчики		Дівчата	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-УДН	52	8	15,38	19	36,54	25	48,08	21	40,38*	31	59,62*
II-ДН	56	6	10,71*	20	35,71	30	53,58*	29	51,79	27	48,21
III- Здорові-Контроль	65	11	16,92	25	38,46	29	44,62	34	52,31	31	47,69

Примітка: * – вірогідна різниця показника між даними дітей з дисметаболічною нефропатією та даними здорових дітей групи контролю, $p < 0,05$

Таблиця 3.4

Оцінка фізичного розвитку дітей з дисметаболічною нефропатією

Неспецифічні фактори ризику:	Групи дітей:					
	I – УДН, $N = 52$		II-ДН, $N = 56$		III- Здорові-Контроль, $N = 65$	
	n	%	n	%	n	%
Знижений індекс Варги	9	17,31*,#	4	7,14	4	6,15
Знижений індекс маси тіла	8	15,38*,#	5	8,93	4	6,15

Примітки: * - вірогідна різниця показників між даними дітей з різними варіантами перебігу дисметаболічної нефропатії та контрольної групи, $p < 0,05$.

- вірогідна різниця показників між даними дітей двох груп з дисметаболічною нефропатією, $p < 0,05$.

Таблиця 3.5

Маса тіла при народженні обстежених дітей з дисметаболічною нефропатією

Маса тіла при народженні:	Групи дітей:					
	I – УДН, $N = 52$		II-ДН, $N = 56$		III- Здорові-Контроль, $N = 65$	
	n	%	n	%	n	%
Низька	3	5,77*,#	0	0,00	0	0,00
Ниже середньої	8	15,38*,#	5	8,93	4	6,15
Середня	39	75,00*,#	48	85,71	58	89,23
Вище середньої	2	3,85	3	5,36	3	4,62

Примітки: * - вірогідна різниця показників між даними дітей з різними варіантами перебігу дисметаболічної нефропатії та контрольної групи, $p < 0,05$.

- вірогідна різниця показників між даними дітей двох груп з дисметаболічною нефропатією, $p < 0,05$.

Таблиця 3.6

**Частота антенатальних епігенетичних факторів ризику формування
патології у дітей з дизметаболічною нефропатією**

Антенатальні епігенетичні фактори ризику:	Групи дітей:					
	I – УДН, N = 52		II-ДН, N = 56		III- Здорові-Контроль, N = 65	
	n	%	n	%	n	%
Загроза переривання вагітності	8	15,83*,#	5	8,93	6	9,23
Гестоз I половини вагітності	28	53,85*,#	16	28,57*	10	15,38
Гестоз II половини вагітності	14	26,92*,#	9	16,07*	5	7,69
Анемія матері під час вагітності	31	59,62*,#	11	16,93*	5	7,69

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 3.8

**Характер вигодовування і його тривалість у обстежених дітей з
дизметаболічною нефропатією**

Тривалість грудного вигодовування, міс.	Групи дітей:					
	I-УДН, N = 52		II-ДН, N = 56		III-Здорові-Контроль, N = 65	
	n	%	n	%	n	%
0	18	34,62*,#	3	5,36*	1	1,54
3	17	32,69*,#	5	8,93	5	7,69
6	14	26,92*,#	35	62,5	38	58,46
12	3	5,77*	13	23,21	16	24,62
18	0	0,00*	0	0,00*	5	7,69
24	0	0,00	0	0,00	0	0,00

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 3.12

**Частота обмінної патології серед родичів I, II та III ст. спорідненості дітей з
дизметаболічною нефропатією**

Тип родичів, ступінь спорідненос- ті	Кількість родичів у дітей з дизметаболічною нефропатією:								
	I – УДН, N = 52			II-ДН, N = 56			III- Здорові-Контроль, N = 65		
	Заг.	Хв.	%	Заг.	Хв.	%	Заг.	Хв.	%
I ст. всього	104	19	18,26*	156	24	15,38*	101	4	3,96
в т.ч. батьки	66	12	18,18*	102	15	14,71*	80	3	3,75
в т. ч. сібси	38	7	18,42*, #	54	9	16,66*	21	1	4,76
II ст.	139	9	6,47*	115	7	6,09*	564	16	2,83
III ст.	391	9	2,30*	171	4	2,34*	111	1	0,90
Всього	634	41	6,47*	442	35	7,92*	676	21	3,11

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 3.13

**Співвідношення здорових та хворих на дизметаболічну нефропатію сібсів в
групах обстежуваних дітей**

Групи дітей	К-сть сімей з 2 та > дітей	Сібси			
		Здорові		Хворі	
		n	%	n	%
I – УДН, N = 52	38	31	81,58*	7	18,42*
II-ДН, N = 56	54	45	83,34*	9	16,66*
III- Здорові-Контроль, N = 65	21	20	95,24	1	4,76

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

ДОДАТОК Д

ТАБЛИЦІ ДО РОЗДІЛУ 4

Таблиця 4.1

Антикристалутворююча здатність сечі обстежених дітей до оксалатів кальцію, фосфатів кальцію та трипельфосфатів

Показники антикристалутворюючої здатності сечі до:	Групи дітей:					
	I – УДН, N = 52		II-ДН, N = 56		III- Здорові- Контроль, N = 65	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
оксалатів Са, ум. од	0,66±0,06*	100,0	0,53±0,06*	100,0	0,08±0,03	7,69
фосфатів Са, ум. од	0,45±0,09*	100,0	0,45±0,05*	98,08	0,05±0,01	4,62
трипельфосфатів, ум. од	0,43±0,09*	87,55	0,45±0,05*	80,77	0,02±0,01	1,52

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.2

Показники добової екскреції солей з сечею у обстежених дітей

Показники добової екскреції солей:	Групи дітей:					
	I – УДН, n = 52		II-ДН, n = 56		III- Здорові- Контроль, n = 65	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Оксалатів Са, моль/добу	47,3±9,05*	100,0	35,19±8,7*	100,0	19,5±0,03	9,23
Фосфатів Са, моль/добу	21,97±1,56*, #	98,07	15,09±2,05*, #	92,85	11,5±0,04	4,62
Уратів, ммоль/добу	6,37±0,64*	87,55	5,29±0,94	80,77	4,5±0,01	3,08

* - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.3

**Вміст оксипроліну у крові та добовій сечі у дітей з дизметаболічною
нефропатією**

Показники:	Групи дітей:					
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65	
	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%
Вільний оксипролін в крові, мкмоль/л	57,16±0,03 ^{*,#}	100,0	27,65±0,01 ^{*,#}	57,14	12,67±0,03	3,08
Зв'язаний оксипролін в крові, мкмоль/л	38,12 ±0,03 ^{*,#}	98,08	21,22±0,02 ^{*,#}	51,79	8,34±0,03	1,54
Оксипролін в сечі, ммоль/л	0,64±0,02 ^{*,#}	78,85	0,17±0,01 ^{*,#}	46,43	0,08±0,02	4,62

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

[#] - вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.4

**Показники рівня кальцію в крові та сечі у дітей з дизметаболічною
нефропатією, (*M* ± *m*)**

Показники кальцію:	Групи дітей:					
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65	
	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%
Рівень Са в крові, ммоль/л	1,51±0,22 [*]	96,15	1,63±0,32 [*]	96,42	2,50 ± 0,25	3,07
Рівень Са в сечі, ммоль/л	2,19±0,27 [*]	94,23	1,93±0,35	89,28	1,78 ± 0,12	1,54

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

[#] - вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

+ - показник частоти відхилення показника від норми (%) вважався відхиленням в крові в бік зниження, а в сечі – в бік підвищення

Таблиця 4.5

**Показник наявності полярних ліпідів у сечі дітей з дизметаболічною
нефропатією, (*M* ± *m*)**

Показник полярних ліпідів:	Групи дітей:					
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65	
	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%
ПЛ в сечі, ум.од.	1,02±0,02 ^{*,#}	96,15	0,66±0,03 ^{*,#}	92,86	0,22±0,15	2,6

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

[#] - вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.6

Показники рівня фосфору в крові та сечі у дітей з дизметаболічною нефропатією

Показники фосфору:	Групи дітей:					
	I – УДН, $n = 52$		II-ДН, $n = 56$		III- Здорові-Контроль, $n = 65$	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Рівень фосфору в крові, ммоль/добу	$1,49 \pm 0,24$	100,0	$1,41 \pm 0,33$	100,0	$1,52 \pm 0,29$	6,15
Рівень фосфору в сечі, ммоль/добу	$29,9 \pm 2,87^*$	94,23	$27,4 \pm 3,56^*$	96,42	$19,2 \pm 2,31$	4,62

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

+ - показник частоти відхилення показника від норми (%) вважався відхиленням в крові в бік зниження, а в сечі – в бік підвищення

Таблиця 4.7

Показник активності паратгормону паращитоподібних залоз у дітей з дизметаболічною нефропатією, ($M \pm m$)

Показники активності паратгормону:	Групи дітей:					
	I – УДН, $n = 52$		II-ДН, $n = 56$		III- Здорові-Контроль, $n = 65$	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Рівень паратгормону в крові, пг/мл	$14,5 \pm 3,25^*$	94,23	$11,2 \pm 1,14^*$	92,86	$7,7 \pm 1,26$	3,07

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.8

Показник активності гормону щитоподібної залози кальцитоніну у дітей з дизметаболічною нефропатією ($M \pm m$)

Показники активності кальцитоніну:	Групи дітей:					
	I – УДН, $n = 52$		II-ДН, $n = 56$		III- Здорові-Контроль, $n = 65$	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Рівень кальцитоніну в крові, пг/мл	$6,8 \pm 1,78$	94,23	$6,3 \pm 1,27$	92,86	$4,1 \pm 1,21$	7,69

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.9

Показники активності процесів перекисного окислення ліпідів та мембранодеструкції у дітей з дизметаболічною нефропатією

Показники:	Групи дітей:					
	I – УДН, $n = 52$		II-ДН, $n = 56$		III- Здорові-Контроль, $n = 65$	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Дієнові кон'югати кмоль/л	14,2±1,3*	96,15	13,83±0,97*	98,21	9,78±0,70	1,54
МДА плазми, мкмоль/л	1,87±0,08*,#	94,23	1,28±0,17*,#	92,86	0,82±0,03	4,62
МДА еритроцити, мкмоль/л	17,09±1,6*,#	98,08	13,85±1,53*,#	96,43	9,54±0,4	3,08
Продукти ПОЛ в сечі, ум.од.	1,54±0,01*	100,0	1,27±0,02*	98,46	0,09±0,01	1,54
ПЛ в сечі, ум.од.	1,02±0,02*,#	96,15	0,66±0,03*,#	92,86	0,22±0,15	2,6

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.10

Показник активності каталази в крові і сечі дітей з дизметаболічною нефропатією

Показники:	Групи дітей:					
	I – УДН, $n = 52$		II-ДН, $n = 56$		III- Здорові-Контроль, $n = 65$	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Каталаза крові, к.ч.	0,57±0,14*	100,0	0,63±0,23*	100,0	2,2±0,04	0,0
Каталаза сечі, к. ч.	0,17±0,04*,#	100,0	0,45±0,09*,#	98,21	0,87±0,04	1,54

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.11

**Частота позитивних показників ураження проксимального відділу нефронів
нирок у дітей з дизметаболічною нефропатією**

Показники тестів урінолізису	Групи дітей:		
	I – УДН, <i>n</i> = 52	II-ДН, <i>n</i> = 56	III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65
	%	%	%
Гіперфосфатурія	94,23*	96,42*	1,54
Гіпераміноацидурия	40,38*	37,5*	0,0
Мікропротеїнурия	32,69*	28,57*	0,0
Кальційурия (проба Сулковича)	94,23*,#	89,28*,#	1,54
Глюкозурия, (проба Гайнеса)	78,85*,#	67,85*,#	0,0
Редуковані цукри (проба Бенедикта)	28,85*	26,79*	0,0

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.12

**Добова екскреція креатиніну, глікозоаміногліканів та оксипроліну з сечею
дітей з дизметаболічною нефропатією**

Показники:	Групи дітей:					
	I – УДН, <i>n</i> = 52		II-ДН, <i>n</i> = 56		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 65	
	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%	<i>M</i> ± <i>m</i>	%
Креатинін, г/л	0,56±0,19*,#	80,77	0,83±0,08*,#	57,14	1,25±0,75	0,00
ГАГи, Од.ЦПХ/на 1 г креатиніну, (діти 6–18 р.)	282,6±38,41 *,#	84,62	250,37±35,2 *,#	35,71	135,0±75,0	1,54
Оксипролін, ммоль/л	0,64±0,02*,#	78,85	0,17±0,01*,#	46,43	0,08±0,02	4,62

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.13

**Особливості розподілу алелів поліморфного локусу Taq I гена VDR
3 у дітей з дизметаболічною нефропатією**

Алель:	Групи дітей:							
	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		I – УДН, <i>n</i> = 35		II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
T	39	70,91	25	71,43	14	70,00	31	70,45
t	16	29,09	10	28,57	6	30,00	13	29,55

Таблиця 4.14

**Розподіл алелів поліморфного локусу Таq I гена VDR 3 в дітей всіх груп з
дизметаболічною нефропатією**

Алелі	Всі діти з ДН, $n = 55$		III- Здорові- Контроль, $n = 44$		χ^2	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
T	39	70,91	31	70,45	0,00	$\geq 0,05$	1,02 (0,43 – 2,44)
t	16	29,09	13	29,55	0,00	$\geq 0,05$	0,98 (0,41 – 2,34)

Таблиця 4.15

**Розподіл алелів поліморфного локусу Таq I гена VDR 3 в дітей з
ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії**

Генотипи	I – УДН,		III- Здорові-		χ^2	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
T	25	71,43	31	70,45	0,01	$\geq 0,05$	1,05 (0,39 –
t	10	28,57	13	29,55	0,01	$\geq 0,05$	0,95 (0,36 –

Таблиця 4.16

**Розподіл алелів поліморфного локусу Таq I гена VDR 3 в дітей з
неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії**

Генотипи	II-ДН, $n = 20$		III- Здорові- Контроль, $n = 44$		χ^2	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
T	14	70,00	31	70,45	0,00	$\geq 0,05$	0,98 (0,31 – 3,11)
t	6	30,00	13	29,55	0,00	$\geq 0,05$	1,02 (0,32 – 3,24)

Таблиця 4.21

Особливості розподілу генотипів поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* в дітей з дизметаболічною нефропатією

Частота генотипу	Групи дітей:							
	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		I – УДН, <i>n</i> = 35		II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові-Контроль, <i>n</i> = 44	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
AA	43	78,18*	29	82,86*	16	80,00*	17	38,64
Aa	8	14,55*	4	11,43*	3	15,00*	26	59,09
aa	4	7,27*	2	5,71*	1	5,00*	1	2,27

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.22

Розподіл генотипів поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* в дітей всіх груп з дизметаболічною нефропатією

Генотипи:	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		III- Здорові-Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
AA	43	78,18*	17	38,64	16,01	< 0,01	5,69 (2,36 – 13,75)
Aa	8	14,55*	26	59,09	21,51	< 0,01	0,12 (0,05 – 0,31)
aa	4	7,27*	1	2,27	1,27	$\geq 0,05$	3,37 (0,36 – 31,32)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Таблиця 4.23

Розподіл генотипів поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* в дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії

Генотипи:	I – УДН, <i>n</i> = 35		III- Здорові-Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
AA	29	82,86*	17	38,64	15,67	< 0,01	7,68 (2,64 – 22,34)
Aa	4	11,43*	26	59,09	18,8	< 0,01	0,09 (0,03 – 0,3)
aa	2	5,71*	1	2,27	0,63	$\geq 0,05$	2,61 (0,23 – 29,99)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Таблиця 4.24

Розподіл генотипів поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* в дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії

Генотипи:	II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
AA	16	80,00*	17	38,64	9,42	< 0,01	6,35 (1,82 – 22,23)
Aa	3	15,00*	26	59,09	10,79	< 0,01	0,12 (0,03 – 0,48)
aa	1	5,00*	1	2,27	0,34	≥0,05	2,26 (0,13 – 38,12)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Таблиця 4.25

Особливості розподілу делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* серед дітей з дизметаболічною нефропатією

Розподіл генотипів:	Групи дітей:							
	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		I – УДН, <i>n</i> = 35		II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>GSTT1</i> 0/0 генотип	22	40,00*	15	42,86*	7	35,00*,#	10	22,73
<i>GSTM1</i> 0/0 генотип	25	45,45*	17	48,57*	8	40,00*,#	12	27,27
<i>GSTT1</i> 0/0 + <i>GSTM1</i> 0/0 генотип	13	23,64*	9	25,71*	4	20,00*,#	3	6,82

Примітки: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

- вірогідна різниця показника між двома групами дітей з дизметаболічною нефропатією; $p_1 < 0,01$

Таблиця 4.26

Розподіл делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* у дітей всіх груп з дизметаболічною нефропатією

Генотипи:	Всі діти з ДН, <i>n</i> = 55		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>GSTT1</i> 0/0	22	40,00*	10	22,73	3,33	≥0,05	2,27 (0,93 – 5,51)
<i>GSTM1</i> 0/0	25	45,45*	12	27,27	3,45	≥0,05	2,22 (0,95 – 5, 2)
<i>GSTT1</i> 0/0 + <i>GSTM1</i> 0/0	13	23,64*	3	6,82	5,1	< 0,05	4,23 (1,12 – 15,95)

Примітка* - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; $p < 0,05$

Таблиця 4.27

Розподіл делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* у дітей з ускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії

Генотипи:	I – УДН, <i>n</i> = 35		III- Здорові-Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>GSTT1</i> 0/0	15	42,86 ^{*,#}	10	22,73	3,65	≥0,05	2,55 (0,96 – 6,74)
<i>GSTM1</i> 0/0	17	48,57 ^{*,#}	12	27,27	3,81	≥0,05	2,52 (0,99 – 6,43)
<i>GSTT1</i> 0/0 + <i>GSTM1</i> 0/0	9	25,71 ^{*,#}	3	6,82	5,4	< 0,05	4,73 (1,17 – 19,11)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; *p* < 0,05

Таблиця 4.28

Розподіл делеційних генотипів генів *GSTT1* та *GSTM1* у дітей з неускладненим перебігом дизметаболічної нефропатії

Генотипи:	II-ДН, <i>n</i> = 20		III- Здорові- Контроль, <i>n</i> = 44		χ^2	<i>p</i>	OR, 95% CI
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>GSTT1</i> 0/0	7	35,00 [*]	10	22,73	1,06	≥0,05	1,83 (0,57 – 5,83)
<i>GSTM1</i> 0/0	8	40,00 [*]	12	27,27	1,04	≥0,05	1,78 (0,58 – 5,41)
<i>GSTT1</i> 0/0 + <i>GSTM1</i> 0/0	4	20,00 [*]	3	6,82	2,45	≥0,05	3,42 (0,69 – 17,0)

Примітка: * - вірогідна різниця показника між даними дітей з дизметаболічною нефропатією та здорових групи контролю; *p* < 0,05

Акти впровадження

Додаток З1



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб оцінки клінічної характеристики стану здоров'я дітей з екологічно забрудненого хімічними чинниками району
найменування пропозиції для впровадження
2. Установа, її адреса, виконавці: ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», 79000, м. Львів, вул. М. Лисенка, 31а, Лук'яненко Н.С., Іськів М.Ю., Петріца Н.А, Айб Н.Р., ЛНМУ імені Данила Галицького, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69, Кенс К.А.
установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові авторів
3. Джерело інформації: Порівняльна клінічна характеристика стану здоров'я дітей з екологічно забрудненого району хімічними чинниками / Гнатейко О.З., Чайковська Г.С., Лук'яненко Н.С., Кеч Н.Р. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2023. Том 23, Випуск 3 (83). С. 15-20. Лук'яненко Н.С., Петріца Н.А., Кенс К.А. Оцінка діагностичної цінності маркерів тканинної гіпоксії, мембранодеструкції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини при міхурово-сечовідному рефлюксі у дітей раннього віку. Здоров'я ребенка. 2016. №6(74). С.86-92.
назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № а. с. і т. п.
4. Впроваджено: в Івано-Франківському нсц мед. ун-ту
назва лікувально-профілактичного закладу
5. Термін впровадження: з січня 2024 по грудень 2024 рр.
6. Загальна кількість спостережень: 30
7. Ефективність впровадження: у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п. 3).

Показники	За даними	
	Авторів	Організації, що впровадила
Антикристалутворююча здатність сечі, добова екскреція оксалатів, фосфатів, уратів, тести урінолізису (фосфатурия, аміноацидурия, глюкозурия, кальциурия), екскреція продуктів перекисного окислення ліпідів та полярних ліпідів.	82%	78%

8. Зауваження, пропозиції: Вважаємо за доцільне використання способу у дітей, що проживають в екологічно забруднених регіонах для ранньої діагностики уражень органів сечовидільної системи.

Відповідальний за впровадження



Автори:

Зав. від. клін. генетики ДУ «ІСП НАМНУ»

проф. Наталія ЛУК'ЯНЕНКО
ст. н. с. відділення клінічної генетики
ДУ «ІСП НАМН України»к. м. н. Назар ПЕТРИЦАк. м. н. Мар'яна ІСЬКІВ
Роб.: 032 276 54 99, моб.: 099 227 68 89
асистент кафедри дитячої хірургії ЛНМУ
імені Данила Галицького, к. м. н.Костянтин КЕНС
асист. каф. педіатрії Івано-Франківського
національного медичного університетуНадія АЙБ

«09» жовтня 2024 р.

«14» ЖОВТНЯ 2024 р.

« 30 » жовтня 2024 р.

« 30 » жовтня 2024 р.