



## ЛИТЕРАТУРА

1. Mehrotra R. Similar outcomes with hemodialysis and peritoneal dialysis in patients with end-stage renal disease. / Mehrotra R., Chiu Y.W., Kalantar-Zadeh K. [et al] // Arch Intern Med – 2011 - №171 – p.110–118.
2. Robinson B.M. International haemodialysis patient outcomes comparisons revisited: the role of practice patterns and other factors. / Robinson BM, Port F. // Clin J Am Soc Nephrol – 2009 - № 4 (suppl 1) – p. S12–S17.
3. Weinhandl E.D. Propensity-matched mortality comparison of incident haemodialysis and peritoneal dialysis patients. / Weinhandl E.D., Foley R.N., Gilbertson D.T. [et al] // J Am Soc Nephrol – 2010 - № 21 – p.499–506.
4. Weiner D.E. Cardiovascular outcomes and all-cause mortality: exploring the interaction between CKD and cardiovascular disease. / Weiner D.E., Tabatabai S., Tighiouart H. [et al] // Am J Kidney Dis – 2006 -№ 48 – p.392–401.
5. Barclay G.R. Endotoxin-core antibodies: time for a reappraisal. / Barclay G.R. //Intensive Care Med.- 1999.- Vol.25,№5.- p. 427–429.
6. Mayr F.B. Effects of low dose endotoxaemia on endothelial progenitor cells in humans./ Mayr F.B., Spiel A.O., Leitner J.M., [et al] // Atherosclerosis - 2007- № 191- p.e202–e206.
7. Xiaoyuan Wang. Endotoxins: Structure, Function and Recognition./ Xiaoyuan Wang, Peter J. Quinn. - Springer Science+Business Media B.V., 2010 – 415 p.
8. Гордієнко А.І. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення змісту С-реактивного білка в крові./ Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Бакова А.А. // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №139.- К., УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2010.- 4 с.
9. Гордієнко А.І. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій./ Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. // Заявл. 29.12. 2003; Опубл.15.09. 2004. - Бюл. №9.
10. McIntyre C.W. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. / McIntyre C.W., Harrison L.E., Eldehni M.T. [et al] // Clin J Am Soc Nephrol. – 2011 - Jan;6(1) – p.133–41.
11. Cheuk-Chun Szeto. Endotoxemia is Related to Systemic Inflammation and Atherosclerosis in Peritoneal Dialysis Patients. / Cheuk-Chun Szeto, Bonnie Ching-Ha Kwan, Kai-Ming Chow, [et al] // Clin J Am Soc Nephrol -2008 -№ 3 – p. 431–436.

ПОСТУПИЛА: 20.05.2014

УДК 616.441-006.5:575.174.015.3+577.114:616-092

**В.А. Белоглазов, Ю.Ю. Кулагина**

## **С(-159)Т ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CD14 РЕЦЕПТОРОВ МОНОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ДТЗ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА НА ЭНДОТОКСИН**

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,  
Кафедра внутренней медицины №2,  
295006, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.  
E-mail: rozhkov\_alex@inbox.ru.*

Цель: изучение С(-159)Т полиморфизма гена CD14 рецептора моноцитов у больных диффузным токсическим зобом (ДТЗ) с различным типом гуморального ответа на эндотоксин (ЭТ).

Материалы и методы: содержание антиэндотоксиновых антител класса G (анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Генетический полиморфизм определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Из исследуемых больных ДТЗ были выделены 2 клинические группы: в I группу – антительных гипореспондеров – вошёл 21 человек, имеющий низкий уровень анти-ЭТ-IgG (меньше  $M \pm \sigma$  диапазона нормы); во II группу вошло 66 больных с гиперреспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в крови превышал  $M \pm \sigma$  от уровня здоровых доноров) и нормореспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в пределах  $M \pm \sigma$ ) гуморальным ответом на ЭТ. Для сравнительного анализа полученных результатов обследовано 33 здоровых донора.

Результаты: у гипореспондеров частота встречаемости аллели Т и аллельного сочетания ТТ достоверно выше, а аллели С и сочетания СС достоверно ниже, чем в группе гипер-/нормореспондеров и в контрольной группе. У носителей гомозиготного сочетания ТТ как в группе гипер-/нормореспондеров и особенно гипореспондеров риск развития ДТЗ достоверно выше, чем у носителей гомозиготного варианта СС.

*Ключевые слова:* диффузный токсический зоб, генетический полиморфизм, антитела.



V.A. Beloglazov, U.U. Kulagina

## C(-159)T GENETIC POLYMORPHISM OF CD14 MONOCYTES RECEPTORS AT GRAVE'S DISEASE PATIENTS WITH VARIOUS TYPE OF THE ANTIBODIES ENDOTOXIN RESPONSE

*Medical Academy n.a. SI St. George's FSAEI VPO «CFI them. IN AND. Vernadsky»,  
Department of internal medicine №2,  
5/7 Lenina st., Simferopol, Crimea, Russia, 295006.*

**Purpose:** studying of C(-159)T polymorphism of CD14 receptor gene at 87 GD patients with various type of the antibodies endotoxin (ET) response.

**Materials and methods:** the antiendotoxin Ig G (anti-ET-IgG) blood concentrations were studied by ELISA for subdivided group patients according antibodies response to ET. Genetic polymorphism defined by PCR. All patients with GD were divided into two groups. In the 1st group – 21 GD patients, which level of anti-ET-IgG was less than  $M \pm \sigma$  from normal range - ET antibodies hyporesponders; in the 2nd group – 66 GD patients hyperresponders (level of anti-ET-IgG was more than  $M \pm \sigma$  from normal range) and normoresponders (level of anti-ET-IgG was in diapasons of healthy persons ( $M \pm \sigma$ )). 33 healthy donors were investigated too.

**Results:** it was revealed that at hyporesponders the frequency of an T allele and TT combination are above, than in group normo- and hyperresponders and in control group. At patients with TT combination from group hyper / normoresponders and especially hyporesponders risk of development of GD is reliable higher, than at patients with CC combination.

**Key words:** Grave's disease, genetic polymorphism, antibodies.

### Введение

На сегодняшний день многие вопросы патогенеза диффузного токсического зоба остаются открытыми. Большое внимание учёных привлекает изучение полиморфизмов генов иммунорегуляторных молекул, предрасполагающих к развитию этого заболевания и определяющих его клиническое течение [1,2,3,4,5].

В наших предыдущих исследованиях мы изучили C(-159)T полиморфизм гена CD14 рецептора моноцитов у больных ДТЗ и установили, что у здоровых встречаемость аллели Т в этом локусе достоверно ( $p > 0,95$ ) ниже, чем у больных ДТЗ. Также было установлено, что у здоровых доноров сочетания СТ и особенно ТТ приводят к достоверному снижению жизнеспособности [6]. CD14 — белок-рецептор, компонент рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2, распознающего ЭТ. Существуют 2 формы этого рецептора: растворимая и мембраносвязанная. Несмотря на отсутствие у молекулы CD14 функции непосредственного проведения сигнала, при нарушении её структуры вследствие мутации в кодирующем её гене не формируется высокоаффинный рецепторный комплекс, и распознавание ЭТ нарушается. [7].

Цель исследования – изучение C(-159)T полиморфизма гена CD14 рецептора моноцитов у больных ДТЗ с различным типом гуморального ответа на эндотоксин (ЭТ).

### Материалы и методы

Обследована группа из 87 больных ДТЗ в возрастном диапазоне от 22 до 68 лет, находящихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении КРУ «Клиническая больница им. Н.А. Семашко» г. Симферополь. Диагноз ДТЗ устанавливали на основании клинических данных, лабора-

торных показателей (уровень ТТГ, тиреоидных гормонов (Т3 и Т4), антитела к ТПО, Ат-рТТГ) и данных инструментального исследования (УЗИ ЩЖ с определением её объёма и оценкой эхоструктуры ткани). Из исследуемых больных ДТЗ были выделены 2 клинические группы: в I группу – антителных гипореспондеров – вошёл 21 человек, имеющих низкий уровень анти-ЭТ-IgG (меньше  $M \pm \sigma$  диапазона нормы); во II группу вошло 66 больных с гиперреспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в крови превышал  $M \pm \sigma$  от уровня здоровых доноров) и нормореспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в пределах  $M \pm \sigma$ ) гуморальным ответом на ЭТ.

Для сравнительного анализа полученных результатов обследованы 33 здоровых донора (контрольная группа), достоверно не отличающихся от клинических групп ДТЗ по половому и возрастному распределению.

Содержание антиэндотоксиновых антител класса G (анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. В качестве антигена использовали ЭТ грамотрицательной энтеробактерии *Escherichia coli* K30 (09:K30:P12), выделенный из бактериальной биомассы методом водно-фенольной экстракции и дополнительно очищенный от примесей РНК обработкой цитавлоном («Serva», Германия) [8]. Генотипирование аллельных вариантов полиморфного участка гена осуществляли методом аллельной дискриминации с использованием праймеров, способных регистрировать однонуклеотидный аллельный полиморфизм в промоторной области C-159T CD14-рецептора моноцитов. Амплификацию осуществляли путем полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Терцик» («ДНК Технологии», Россия) с использованием набора реактивов и праймеров «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех» (г. Москва). Результаты амплификации регистрировали с помощью электрофореза в геле агарозы (3%) в присутствии



бромистого этидия после облучения в ультрафиолетовом свете. Частоты генотипов в группах больных, а также соответствие наблюдаемых распределений генотипов закону Харди-Вайнберга оценивали с использованием метода Пирсона с вычислением величины  $\chi^2$  (распределение суммы квадратов независимых стандартных нормальных случайных величин). Достоверность различий величины  $\chi^2$  в исследуемых группах оценивалась согласно таблице коэффициентов Пирсона.

Относительный риск (RR) = 1 рассматривался как отсутствие ассоциации, RR > 1 – как фактор риска развития

патологии, и RR < 1 – как устойчивость (защищенность) к патологии.

Статистические расчеты производились с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ТОВ «Альфа», г. Донецк.

### Результаты и их обсуждение

Данные о частоте аллельных вариантов и сочетаний у исследуемых больных представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 2.

**Частоты аллельных вариантов полиморфизма C(-159)T гена CD14 рецепторов моноцитов у больных ДТЗ и в контрольной группе**

| Аллель | Пациенты 1 группы (n=21) |                              | Пациенты 2 группы (n=66) |                | Здоровые (n=33) |                |
|--------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------|-----------------|----------------|
|        | случаи                   | частота аллели               | случаи                   | частота аллели | случаи          | частота аллели |
| С      | 8                        | 0,182<br>p<0,01<br>p1-2<0,01 | 87                       | 0,658          | 48              | 0,727          |
| Т      | 34                       | 0,818<br>p<0,01<br>p1-2<0,01 | 45                       | 0,342          | 18              | 0,273          |
| Всего  | 42                       | 1,000                        | 132                      | 1,000          | 66              | 1,000          |

Примечание: p – достоверность различий с нормой; p1-2 – достоверность различий между соответствующим показателем 1 и 2 группами.

На сегодняшний день изучается связь ДТЗ с полиморфными изменениями в структуре различных генов. Так установлено, что развитие ДТЗ ассоциировано с носительством полиморфизмов таких генов, как гены главного комплекса гистосовместимости (HLA-B8, HLA-Dw3, HLA-DR3, HLA-DPB1), ген, кодирующего белок тирозин фосфатазу -22 (PTPN22), ген секреторного утероглобин-связанного белка 1 (SCGB3A2), ген кластера дифференцировки лимфоцитов CD40, ген цитотоксического Т лимфоцитарного фактора (CTLA4), ген тиреоглобулина и рецептора тиреотропного гормона. Но ни один из известных полиморфных локусов генов не может полностью объяснить патогенез поражения щитовидной железы (ЩЖ) при ДТЗ [4,5].

В данной работе изучен C(-159)T полиморфизм гена CD14 рецепторов моноцитов у больных ДТЗ в зависимости от степени ответа на ЭТ. Из наших предыдущих исследований известно, что больные с гипореспондерным типом гуморального ответа на ЭТ характеризуются неблагоприятным течением (плохим ответом на тиреостатическую терапию, быстрым развитием рецидивов, наличием тяжёлых осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы), а также более высоким уровнем С реактивного белка (СРБ) и антител к рецепторам к ТТГ (Ат-рТТГ) по сравнению с больными с гипер- и нормореспондерным гуморальным ответом [9].

Анализ частот встречаемости аллелей изучаемого полиморфизма между группой гипер-/нормореспондеров и

контрольной группой показывает, что достоверных различий между ними не наблюдается.

Сравнение частот встречаемости изучаемых аллелей как между здоровыми и гипореспондерами, так и между группами больных -гипореспондеров и группой гипер-/нормореспондеров показывает достоверные различия. Так, аллель С, встречающаяся как у здоровых лиц, так и в группе гипер-/нормореспондеров в большей половине всех случаев, с некоторым недостоверным снижением ее частоты у гипер-/нормореспондеров, у гипореспондеров встречается исключительно редко. Аллель же Т, у здоровых лиц и в группе гипер-/нормореспондеров составляющая меньше половины всех случаев, в группе гипореспондеров – основная.

Анализ частот аллельных сочетаний, приведенных в табл. 2 также показывает значительные различия между сходными показателями у здоровых лиц и группой гипер-/нормореспондеров, с одной стороны, и небольшой группой гипореспондеров – с другой. Так, сравнение частот аллельных сочетаний между здоровыми лицами и группой гипер-/нормореспондеров не выявляет достоверных различий ни между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами аллельных сочетаний внутри обеих групп (равновесие Харди-Вайнберга не нарушено), ни между группами. Группа же гипореспондеров значительно отличается как от группы гипер-/нормореспондеров, так и от группы контроля. У представителей I группы аллельное сочетание СС встречается достоверно реже, а сочетание ТТ достоверно чаще как по сравнению со II, так и с контрольной группами.



Таблица 2.

Частоты аллельных сочетаний полиморфизма C(-159)T гена CD14 рецепторов моноцитов и относительный риск среди больных ДТЗ и в контрольной группе

| Ал. сочета-<br>ние | Пациенты 1 группы (n=21) |                             | Пациенты 2 группы<br>(n=66) |       | Здоровые<br>(n=33) |       | RR<br>1г./<br>зд | RR<br>2г./<br>зд | RR<br>1г<br>/2г |
|--------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|--------------------|-------|------------------|------------------|-----------------|
|                    | частота                  |                             | частота                     |       | частота            |       |                  |                  |                 |
|                    | набл.<br>(доля)          | ожд.                        | набл.<br>(доля)             | ожд.  | набл.<br>(доля)    | ожд.  |                  |                  |                 |
| CC                 | 0<br>(0,0)               | 0,29<br>p<0,01<br>p1-2<0,01 | 30<br>(0,46)                | 0,433 | 0,29<br>(0,54)     | 0,53  | 0,3              | 0,8              | 0,4             |
| CT                 | 8<br>(0,36)              | 1,0                         | 27<br>(0,39)                | 0,45  | 1,0<br>(0,36)      | 0,39  | 1,0              | 1,1              | 0,9             |
| TT                 | 13<br>(0,64)             | 3,14<br>p<0,01<br>p1-2<0,01 | 9<br>(0,14)                 | 0,12  | 3,14<br>(0,09)     | 0,074 | 3,1              | 1,1              | 2,8             |
| Всего              | 21<br>(1,0)              | 33                          | 66<br>(1,0)                 | 1,00  | 33<br>(1,0)        | 1,0   |                  |                  |                 |

Примечание: p – достоверность различий с нормой; p1-2– достоверность различий между соответствующим показателем I и II группами.

Анализ частот аллельных сочетаний, приведенных в табл. 2 также показывает значительные различия между сходными показателями у здоровых лиц и группой гипер-/нормореспондеров, с одной стороны, и небольшой группой гипореспондеров – с другой. Так, сравнение частот аллельных сочетаний между здоровыми лицами и группой гипер-/нормореспондеров не выявляет достоверных различий ни между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами аллельных сочетаний внутри обеих групп (равновесие Харди-Вайнберга не нарушено), ни между группами. Группа же гипореспондеров значительно отличается как от группы гипер-/нормореспондеров, так и от группы контроля. У представителей I группы аллельное сочетание CC встречается достоверно реже, а сочетание TT достоверно чаще как по сравнению со II, так и с контрольной группами.

Величина относительного риска развития заболевания (RR) говорит о тенденции увеличения риска развития рассматриваемой патологии в той или иной группе больных. У носителей гомозиготного сочетания TT (RR > 1) как в группе гипер-/нормореспондеров и особенно гипореспондеров, по сравнению со здоровыми риск развития ДТЗ, а при его появлении динамика развития по гипореспондерному типу достоверно выше, чем у носи-

телей гомозиготного варианта CC (RR < 1). Носители гетерозиготного варианта CT при этом не демонстрируют достоверных различий между пациентами и здоровыми (RR=1). Значительность различий между группами гипо- и гипер-/нормореспондеров в частотах аллельных сочетаний позволяет предложить использование варианта аллельного сочетания в качестве прогностического критерия реакции организма на вид антительного ответа на ЭТ по гипо- или гипер-/нормореспондерному типу.

#### Выводы:

1. У гипореспондеров частота встречаемости аллели Т достоверно выше, а аллели С достоверно ниже, чем в группе гипер-/нормореспондеров и в контрольной группе.
2. У гипореспондеров частота встречаемости аллельного сочетания TT достоверно выше, а сочетания CC достоверно ниже, чем в группе гипер-/нормореспондеров и в контрольной группе.
3. У носителей гомозиготного сочетания TT как в группе гипер-/нормореспондеров и особенно гипореспондеров риск развития ДТЗ достоверно выше, чем у носителей гомозиготного варианта CC.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Chen ML. Association between the IL1B (-511), IL1B (+3954), IL1RN (VNTR) polymorphisms and Graves' disease risk: a meta-analysis of 11 case-control studies /Chen ML, Liao N, Zhao H // PLoS One. 2014. Jan 21. 9(1).
2. Doğru-Abbasoğlu S Arg25Pro (c.915G>C) polymorphism of transforming growth factor  $\beta$ 1 gene increases the risk of developing Graves' disease / Doğru-Abbasoğlu S, Vural P, Baki M. // Int Immunopharmacol. 2014. Apr 14. p: S1567-5769(14)00124-6.
3. Ni J CTLA-4 CT60 (rs3087243) polymorphism and autoimmune thyroid diseases susceptibility: a comprehensive meta-analysis / Ni J, Qiu LJ, Zhang M, Wen PF. // Endocr Res. 2014. Apr 3.
4. Tsai KH. Association of Interleukin-16 Polymorphisms with Graves' Disease in a Taiwanese Population /Tsai KH, Chang CY, Tsai FJ, Lin HJ. // Chin J Physiol. 2014. Apr 30;57(2).
5. Chen ML. Lack of Association between the IL-13 C-1112T, G2044A Polymorphisms and Graves' Disease Risk: Evidence from a Meta-analysis /Chen ML, Liao N, Zhao H, Huang J. // Immunol Invest. 2014;43(4):337-48.



6. Liu X.Q. The association between C-159T polymorphism in promoter region of CD 14 polymorphism and coronary heart disease / Liu X.Q., Yang J.Y. // Yi Xue Xin Zhi Za Zhi 20.-2010.- P.427-429.
7. Кулагина Ю.Ю. Генетический полиморфизм CD14 рецепторов у больных диффузным токсическим зобом / Кулагина Ю.Ю., Малый К.Д. // Иммунология та алергологія. – 2011. – №4. – С. 23-26.
8. Пат. 70193 А Україна, МКІ 7 А61К31/01. Спосіб визначення антитіл до ліполісахаридів грам-негативних бактерій: Пат. 70193 А Україна, МКІ 7 А61К31/01 А. И. Гордиенко, В. А. Белоглазов; КГМУ им. С. И. Георгиевского; Завл. 29.12.03; Оpubл. 15.09.04, Бюл.№9.
9. Белоглазов В.А. Антиэндоксинный иммунитет и уровень С-реактивного белка у больных диффузным токсическим зобом с патологией сердца / Белоглазов В.А., Кулагина Ю.Ю.// Международный эндокринологический журнал.- №2 (58), -2014.- с. 15-20.

ПОСТУПИЛА: 14.05.2014

УДК 616.155.194-084-053.3

**Н.А. Белых**

## **ПРОФИЛАКТИКА ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА**

*Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,  
Кафедра педиатрии с курсами детской хирургии и педиатрии ФДПО,  
390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9. E-mail: nbelyh68@mail.ru*

Цель: оценить эффективность различных способов профилактики железодефицитных состояний у детей грудного возраста.

Материалы и методы: проведены анализ результатов скрининга на анемию 948 детей, анкетирование матерей, определена концентрация железа в грудном молоке. Эффективность профилактических мероприятий оценивали по показателям обеспеченности организма железом у 96 детей в зависимости от способа проведенной ферропрофилактики.

Результаты: употребление матерью во время лактации железосодержащих витаминно-минеральных комплексов не влияло на содержание железа в грудном молоке (2,1 мкмоль/л против 3,4 мкмоль/л,  $p=0,16$ ). Показатели обеспеченности организма железом были выше у детей, которые получали медикаментозную ферропрофилактику.

Выводы: у детей, находящихся на исключительно грудном вскармливании, применение гидроксид-полимальтозного комплекса железа (III) является более эффективным способом профилактики железодефицитных состояний, по сравнению с употреблением кормящими матерями железосодержащих витаминно-минеральных комплексов.

**Ключевые слова:** железодефицитная анемия; дети грудного возраста; ферропрофилактика.

**N.A. Belykh**

## **THE PREVENTION OF IRON DEFICIENCY IN INFANTS**

*Ryazan State Medical University,  
Department of pediatrics with a course of pediatric surgery and pediatric,  
9 Visokovoltnaya st., Ryazan, Russia, 390026.*

Purpose: to evaluate the different methods of prevention of iron deficiency anemia in breast-fed infants.

Materials and methods: studied questionnaires of 948 lactating mothers, determined the hemoglobin level in their infants, the serum ferritin and serum iron level, the total iron binding capacity of serum ( $n=96$ ), the breast milk iron concentration ( $n=88$ ).

Results: the median of breast milk iron concentration was independent of iron supplementation in lactating mother's (2.1  $\mu\text{mol/L}$  vs. 3.4  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p=0.16$ ). Iron status was better in breast-fed infants with iron supplementation.

Summary: iron supplementation with of 1 mg/kg, starting at 4 months of age during 2 months in exclusively breast-fed infants is more effective compared to iron-containing vitamin and mineral complexes intake in lactating mothers.

**Keywords:** iron deficiency anemia; infants; iron supplementation.