



УДК 575.17

## РОЛЬ КАНДИДАТНЫХ ГЕНОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

**О.Н. НОВАКОВА**  
**Е.В. НЕКИПЕЛОВА**  
**О.А. ЕФРЕМОВА**

*Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет*

*e-mail: litovkina@bsu.edu.ru*

В статье изложены данные о связи кандидатных генов с качественными и количественными патогенетически значимыми признаками хронического гломерулонефрита. Выявлены ассоциации полиморфизмов – 6A/G AGT и VNTR IL-1Ra с определёнными клиническими синдромами в дебюте заболевания. Установлено, что молекулярно-генетические маркеры 311SS PON2 и +46AA ADRB2 связаны с повышенным уровнем креатинина и гематурии у больных ХГН.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, кандидатные гены, клинические синдромы дебюта, уровень креатинина, гематурия.

Хронический гломерулонефрит (ХГН) является наиболее тяжёлым почечным заболеванием, которое занимает доминирующие позиции среди наиболее распространённых причин развития хронической почечной недостаточности [1]. По данным отчёта группы Российского регистра заместительной терапии почечной недостаточности ежегодно в России около 50% пациентов с почечными патологиями, которые получают заместительную почечную терапию, составляют больные ХГН [1, 2].

Одним из ведущих направлений развития современной нефрологии является молекулярно-генетическое изучение эндогенных/генетических факторов, которые приводят к болезни [3-5]. Одним из таких перспективных подходов при изучении генетической предрасположенности к заболеванию является использование так называемых "кандидатных генов" [3, 6]. Под генами-кандидатами понимают гены, чьи белковые продукты могут прямо или косвенно быть вовлечены в развитие заболевания [6-8].

В качестве генов-кандидатов продукты, экспрессии которых могут определять скорость прогрессирования почечной патологии, рассматривают в первую очередь гены, кодирующие компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и системы синтеза азота (NO) [3]. Так в отечественной и зарубежной литературе описаны случаи взаимосвязи полиморфных маркеров генов I/D ACE, M235T AGT и – 344T/C CYP11B2, – 1166A/C AT1R1, C3123A AT1R2 с различными почечными патологиями, в том числе и с хроническим гломерулонефритом [7-9]. В работе Камышова Е.С. с соавт. (2005г.) представлены результаты исследования маркеров генов вазоактивных гормонов (I/D ACE, -344C/T CYP11B2 и 4a/4b eNOS) с особенностями клинической картины хронического гломерулонефрита. У больных ХГН носительство комбинации аллеля D гена ACE, аллеля C гена CYP11B2 и аллеля 4a гена eNOS ассоциировалось с более частым сочетанием нефротического синдрома и артериальной гипертензии в дебюте заболевания. Течение ХГН у больных с генотипом DD (ген ACE) осложнялось частым присоединением повышенного артериального давления, а у больных с генотипом CC (ген CYP11B2) и у носителей аллеля 4a (ген eNOS) – более тяжелой формой артериальной гипертензии.

Появляются в последнее время и работы, связанные с изучением альдостерона, как фактора способствующего развитию гломерулосклероза, независимо от действия ангиотензина II. Поэтому усилилось активное изучение гена синтазы альдостерона CYP11B2 у пациентов с почечными патологиями [8, 10-11].

Следует отметить и немалую роль генов цитокинов в развитии и прогрессировании хронических заболеваний почек [12-14]. Так в некоторых исследованиях показано, что полиморфизм -889C/T IL-1A взаимосвязан с уровнем протеинурии, а генетический маркер -4257G/A IL-13 ассоциирован с формированием тяжелой артериальной гипертензии в течении заболевания и развитием умеренной протеинурии у больных с хроническим гломерулонефритом [13]. В работе Дудник В.М. и соавт. (2012) установлено, что у детей с ХГН достоверно чаще встречается генотип C/T гена IL – 1b (-511) (p<0,05). При обнаружении генотипа G/G IL – 10 (-1082) и C/T, C/C генотипов IL – 1b (-511) отмечалась в 1,2 раза более низкая скорость клубочковой фильтрации (p<0,05) [12].

Следует отметить, что клинико-генетические работы, посвященные молекулярно-генетическим аспектам ХГН, в России немногочисленны. Имеющиеся результаты отечественных и зарубежных исследований о роли кандидатных генов на характер развития и прогрессирования хронического гломерулонефрита, проведенные для отдельных популяций, переносить на популяцию Центральной России можно лишь в ориентировочном плане, так как данная популяция, как и любая другая, имеет свою исторически сформировавшуюся структуру населения



и в том числе по генам-кандидатам мультифакториальных заболеваний, которая отличается от генетических характеристик других популяций [7].

**Цель исследования** – выявить ассоциации полиморфных маркеров генов-кандидатов с качественными (клинические синдромы в дебюте) и количественными (уровень креатинина, гематурии и протеинурии, возраст манифестации заболевания) патогенетически значимыми признаками хронического гломерулонефрита.

**Материалы и методы исследования.** В работе представлены результаты исследования 238 больных ХГН и 304 человек популяционного контроля. Средний возраст больных составил  $39,58 \pm 14,58$  лет, в контрольной группе –  $42,20 \pm 6,28$  лет. Обе выборки формировались сплошным методом и включали индивидумов русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья и не имеющие родства между собой. Клинико-диагностическое обследование осуществляли специалисты отделения нефрологии ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа».

Критериями исключения для группы больных ХГН являлись сахарный диабет (в анамнезе или выявленный по результатам обследования), гипертоническая болезнь.

Всем пациентам и популяционному контролю проведено молекулярно-генетическое типирование следующих генов-кандидатов: параоксоназы-2 (S311C PON2), ангиотензиногена (-6A/G AGT), рецептора ангиотензина-II первого типа (-1166A/C AT1R1),  $\alpha$ -аддуктина (G460W ADD1),  $\beta$ 2-адренорецептора (+46G/A ADRB2), эндотелина-1 (K198N ET-1), интерлейкина 5 (C-703T IL-5), антагониста рецептора интерлейкина 1 (VNTR IL-1Ra), интерлейкина 13 (-4257G/A IL-13).

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови стандартными методами [15].

Генотипирование ДНК-маркеров производили следующими методами: анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (локусы S311C PON2, -6A/G AGT, -1166A/C AT1R1, C-703T IL-5, VNTR IL-1Ra, -4257G/A IL-13), анализ дискриминации аллелей методом Tag Map зондов (локусы K198N ET-1, G460W ADD1, +46G/A ADRB2).

Формирование базы данных и статистическая обработка осуществлялись с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 6.0» и «Microsoft Excel 2010».

Изучение клинических синдромов при возникновении ХГН выявило, что у 26,7% больных заболевание начиналось остроснефритическим синдромом, у 30,4% – нефротическим синдромом, у 24,4% – мочевым синдромом, гематурический синдром наблюдался у 18,5% больных ХГН.

В ходе исследования получены сведения о статистически значимых взаимосвязях двух изученных полиморфных маркеров генов-кандидатов (-6A/G AGT, VNTR IL-1Ra) с преобладанием определенного клинического синдрома при развитии заболевания (рис. 1,2).

Так у больных ХГН с остроснефритический синдром частота генетического варианта -6AG AGT составила 67,2%, что существенно превысило частоту данного генотипа как в контрольной группе (43,9%,  $\chi^2=9,72$ ,  $p=0,003$ ,  $p_{cor}=0,009$ , OR=2,62, 95%CI 1,40-4,96), так и среди больных ХГН с другими синдромами в дебюте заболевания: мочевого (43,4%,  $\chi^2=5,46$ ,  $p=0,020$ ,  $p_{cor}=0,060$ ), нефротический (44,6%,  $\chi^2=5,47$ ,  $p=0,019$ ,  $p_{cor}=0,057$ ), гематурический (47,5%,  $\chi^2=3,05$ ,  $p=0,08$ ) (рис. 1).

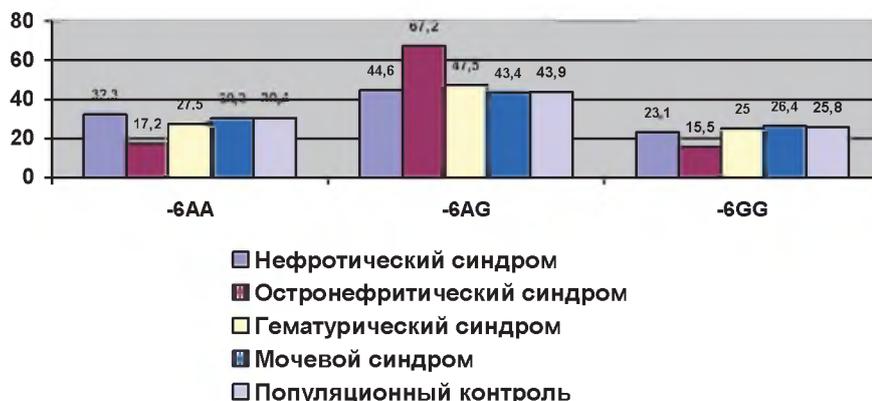


Рис. 1. Частота клинических синдромов в дебюте ХГН в зависимости от генотипа полиморфного маркера гена -6A/G AGT (в %)



Также установлена ассоциация генотипов 2R/2R, 2R/4R гена VNTR IL-1Ra с развитием гематурического синдрома в дебюте ХГН. У пациентов с генотипами 2R/2R, 2R/4R данный синдром был зарегистрирован в 2,5 раза чаще, чем у больных ХГН с генотипом 4R/4R (28,4% против 11,4%;  $\chi^2=8,15$ ,  $p=0,005$ ) (рис. 2).

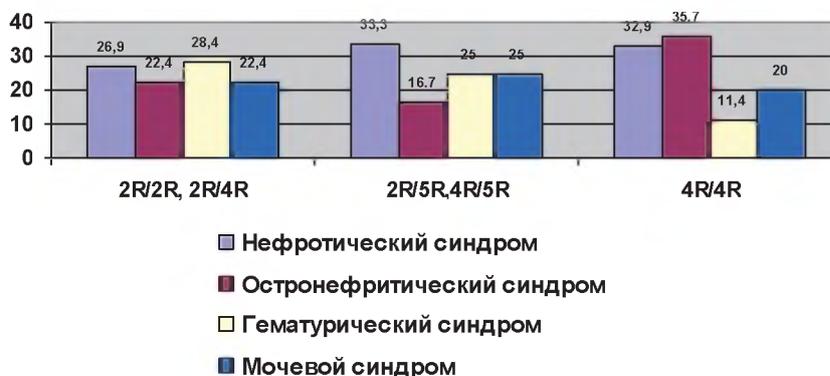


Рис. 2. Частота клинических синдромов в дебюте ХГН в зависимости от генотипа полиморфного маркера гена VNTR IL-1Ra (в %)

На следующем этапе работы были рассмотрены количественные показатели у больных ХГН: возраст манифестации заболевания, уровень креатинина, гематурии и протеинурии. Следует отметить, что распределение данных показателей не соответствовало закону нормального распределения, согласно критерию Шапиро-Уилка ( $p < 0,05$ ). Поэтому для описания количественных показателей применяли медиану (Me), интерквартильный размах (Q25-Q75) и критерий Манна-Уитни при сравнительном анализе генотипов по этим показателям [16].

Взаимосвязь полиморфных маркеров генов-кандидатов с количественными патогенетически значимыми показателями ХГН была выявлена для двух локусов: параоксоназы-2 (S311C PON2),  $\beta$ 2-адренорецептора (+46G/A ADRB2) с уровнем креатинина и гематурии соответственно (табл. 1, 2).

Так для гена S311C PON2 были получены следующие результаты: у пациентов с генетическим вариантом 311SS уровень креатинина достоверно выше (медиана 127,00 мкмоль/л, Q25-98,30 мкмоль/л, Q75-537,00 мкмоль/л) по сравнению с группой больных ХГН, имеющих генотипы 311SC, 311CC (медиана 103,00 мкмоль/л, Q25-Q75 92,00-336,00 мкмоль/л,  $p=0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1

**Ассоциации S311C полиморфизма гена параоксоназы-2 с патогенетически значимыми количественными показателями у больных ХГН, Me (Q25-Q75)**

Показатели	Генотипы		P
	311SS	311SC, 311CC	
N	133	103	
Возраст манифестации, лет	28,0 (17,5-40,0)	24,0 (15,0-40,0)	0,3
Уровень креатинина, мкмоль/л	127,00 (98,30-537,00)	103,00 (92,00-336,00)	0,05
Уровень гематурии, ед	6,0 (2,0-15,0)	5,0 (2,0-12,0)	0,9
Уровень протеинурии, г/сут	0,50 (0,20-2,00)	0,50 (0,20-1,30)	0,5

Выявлены взаимосвязи полиморфного маркера гена  $\beta$ 2-адренорецептора (+46G/A ADRB2) с уровнем гематурии. У пациентов, являющихся носителями генотипа +46AA, медиана уровня гематурии – 11,00 ед., интерквартильный размах 3,0-25,0 ед., что достоверно выше, чем в группе пациентов с генетическими вариантами +46GG и +46GA по данному полиморфизму (Me – 5,0 ед., Q25-Q75 5,0-12,0 ед.,  $p=0,03$ ).

Согласно литературным данным, в почках при повышении экспрессии  $\beta$ 2-адренорецепторов юктагломерулярного аппарата происходит высвобождение ренина [17] и, как следствие, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, основной компонент



которой – ангиотензин II, ведёт к системному и локально-почечному спазму артериол с повышением как общего периферического сопротивления сосудов, так и сопротивления сосудов почки; вызывает усиление реабсорбции натрия, действуя непосредственно на почечные канальцы; увеличивает гипертрофию почечных структур и усиливает протеинурию [18]. Что в конечном итоге ослабляет почечную функцию и может стать причиной снижения почечной выживаемости.

Таблица 2

### Ассоциации +46G/A полиморфизма $\beta$ 2-адренорецептора с патогенетически значимыми количественными показателями у больных ХГН, Me (Q25-Q75)

Показатели	Генотипы		p
	+46GA,+46GG	+46AA	
N	209	27	
Возраст манифестации, лет	26,0 (16,0-40,0)	28,0 (15,0-38,0)	0,7
Уровень креатинина, мкмоль/л	115,00 (95,00-522,00)	102,50 (89,00-281,00)	0,3
Уровень гематурии, ед	5,0 (2,0-12,0)	11,0 (3,0-25,0)	0,03
Уровень протеинурии, г/сут	0,51 (0,21-1,57)	0,42 (0,13-0,83)	0,3

Резюмируя полученные результаты, следует отметить:

1. Маркером развития остроснефритического синдрома в дебюте ХГН следует считать генотип -6AG гена AGT, а генотипы 2R/2R, 2R/4R гена VNTR IL-1Ra являются маркером формирования гематурического синдрома.

2. Генотип 311SS гена PON2 связан с более высоким уровнем креатинина у больных ХГН, а генотип +46AA ADRB2 ассоциирован с повышенным уровнем гематурии в данной группе пациентов.

#### Литература

1. Корякова, Н. Н. Патогенетические механизмы ренопротективного действия статинов при хроническом гломерулонефрите / Н.Н. Корякова // Нефрология. – 2005. – Т. 9. – № 3. – С. 55-159.
2. Бикбов, Б. Т. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 2000 г. Ежегодный отчет по данным Российского регистра / Б. Т. Бикбов, Н. А. Томилина // Нефрология и диализ. – 2002. – № 3. – С. 148-170.
3. Роль генетического маркера эндотелиальной дисфункции гена ACE в патогенезе гломерулонефрита / С.В. Зяблицев [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15. – № 3. – С. 105-108.
4. Оценка роли генетических и иммунологических факторов в формировании хронической почечной недостаточности на фоне хронического гломерулонефрита / И. А. Юпина [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – № 2. – С. 117-125.
5. Genes involved in the regulation of vascular homeostasis determine renal survival rate in patients with chronic glomerulonephritis / O. Litovkina [et al.] // Gene. – 2014. – № 546 (1). – С. 112-116.
6. Изучение ассоциации полиморфных маркеров Val762Ala и Leu54Phe гена ADPRТ1 с хроническим гломерулонефритом у русских пациентов города Москвы / А. Е. Шестаков [и др.] // Генетика. – 2007. – Т. 43. – № 2. – С. 261-264.
7. Изучение популяционно-генетических характеристик генов кандидатов среди больных хроническим гломерулонефритом / О. Н. Литовкина [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – Т. 4. – № 13. – С. 146-152.
8. Камышева, Е. С. Значение полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов в оценке клинических особенностей хронического гломерулонефрита / Е. С. Камышева // Терапевтический архив. – 2005. – Т. 77. – № 6. – С. 16-20.
9. Калиев, Р. Р. Взаимосвязь I/D полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента с прогрессированием хронического гломерулонефрита / Р. Р. Калиев, А. Б. Будаичева, А. А. Алдашев // Терапевтический архив. – 2005. – Т. 77. – № 6. – С. 12-15.
10. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in end-stage renal disease // E. Lovati [et al.] // Kidney Int. – 2001. – № 60 (1). – P. 46-54.
11. Шестаков, А. Е. Исследование ассоциации ряда генов-кандидатов с хроническим гломерулонефритом / А. Е. Шестаков // Автореферат дисс. ... к.м.н. – М., 2006. – 25 с.
12. Дудник, В. М. Оценка нарушений гемопоэза и состояния функции почек у детей с хроническим гломерулонефритом в зависимости от аллельного полиморфизма генов интерлейкинов-10 и -1b / В. М. Дудник, А. Ю. Звенигородская // Здоровье ребенка. – 2012. – № 3. – С. 18-21.
13. Аллельные варианты генов интерлейкинов при хроническом гломерулонефрите / М. И. Чурносков [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9. – № 2. – С. 37-41.
14. Дудник, В. М. Диагностика и прогнозирование течения хронического гломерулонефрита у детей при нарушении гемопоэза и наличии полиморфизма генов интерлейктинов 1b и 10 / В. М. Дудник, А. Ю. Звенигородская // Перинатология и педиатрия. – 2013. – № 1. – С. 92-100.



15. Mathew, C. C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C. C. Mathew // *Methods in Molecular Biology*/Ed. Walker J.M.N.Y.: Human Press. – 1984. – Vol. 2. – P. 31-34.
16. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю Реброва. – М.: Медиасфера, 2006. – 311 с.
17. Феохромоцитома / Д. Г. Бельцевич [и др.] // *Consilium Medicum*. – 2007. – Т. 9. – № 9. – С. 88-94.
18. Шейман, Д. А. Патофизиология почки / пер. с англ. Д. А. Шейман. – М. – СПб.: БИНОМ – Невский диалект, 1999. – 206 с.

## THE ROLE OF CANDIDATE GENES IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

**O.N. NOVAKOVA**  
**E.V. NEKIPELOVA**  
**O.A. EFREMOVA**

*Belgorod National Research University*

*e-mail: litovkina@bsu.edu.ru*

The article presents data on the relationship of candidate genes with quantitative and qualitative pathogenetically significant signs of chronic glomerulonephritis. The association of polymorphisms -6A/G AGT and VNTR IL-1Ra with certain clinical syndromes at the onset of the disease. It was found that the molecular genetic markers 311SS PON2 and +46AA ADRB2 associated with increased serum creatinine and hematuria in patients with CGN.

Key words: chronic glomerulonephritis, candidate genes, clinical syndromes debut, serum creatinine, hematuria.