



ГЕНЕТИКА

УДК 575.17

ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ СРЕДИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

**О.Н. Литовкина
Е.В. Некипелова
Е.Н. Крикун
И.С. Полякова
М.И. Чурнов**

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: litovkina@bsu.edu.ru

В статье изложены данные о популяционно-генетических характеристиках генов вазоактивных гормонов среди больных хроническим гломерулонефритом и в контрольной группе. Представлены результаты оценки функции почек в дебюте хронического гломерулонефрита. Установлено, что аллель 311C PON2 и генотип 311SC PON2 являются протективными факторами развития нарушений функций почек при возникновении заболевания, а аллель A TNFR1 и генотип AA TNFR1 – факторами риска.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, гены вазоактивных гормонов, цитокины, сохранная и сниженная функция почек.

Введение. Хронический гломерулонефрит (ХГН) – это сборная группа заболеваний разных по происхождению и морфологическим проявлениям.

ХГН характеризуется генетически обусловленным иммуно-опосредованным воспалением почечных клубочков, которое может сопровождаться вовлечением в патологический процесс всех почечных структур [1], развитием почечной недостаточности, сморщиванием почки, развитием артериальной гипертензии, а также может приводить к смерти от хронической почечной недостаточности [2].

Быстрое развитие генетики и молекулярной биологии заложило основу для успешного изучения молекулярной генетики широко распространенных заболеваний. В настоящее время основной концепцией молекулярной генетики заболеваний является представление об ассоциации полиморфного маркера гена с предрасположенностью или устойчивостью развития патологии.

Данные крупнейших мета-анализов, проведенных по результатам исследований ассоциаций генетических маркеров с предрасположенностью к мультифакториальным заболеваниям, свидетельствуют о крайне низкой их воспроизводимости в различных популяциях мира [3].

Низкая продуктивность генетических исследований обусловлена не только сложностью межгенных взаимодействий, генетической гетерогенностью и выраженным клиническим полиморфизмом данного класса болезней, но и эволюционно сложившимися взаимодействиями генотип-среда, специфичными для каждой человеческой популяции.

Особое внимание уделяется изучению полиморфных маркеров генов-кандидатов [4], т.е. генов, продукты экспрессии которых могут участвовать в развитии и прогрессировании заболевания.



Таблица 1

Распределение генотипов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекса фиксации полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов среди больных ХГН и в популяционном контроле

Локусы, показатели			Больные ХГН (n=238)	Контрольная группа (n=304)
I/D ACE	ΣN		234	302
	N _o (N _e)	II	44 (47,57)	72 (70,10)
		ID	123 (115,87)	147 (150,80)
		DD	67 (70,54)	83 (81,10)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		0,87 (>0,05)	0,19 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,53 (0,50)	0,49 (0,50)
	D (t)		+0,06 (0,92)	-0,03 (0,44)
4a/4b eNOS	ΣN		234	300
	N _o (N _e)	4a4a	12 (10,68)	14 (11,41)
		4a4b	76 (78,63)	89 (94,18)
		4b4b	146 (144,68)	197 (194,41)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		0,26 (>0,05)	0,90 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,32 (0,34)	0,30 (0,31)
	D (t)		-0,03 (0,30)	-0,06 (0,52)
S311C PON2	ΣN		236	304
	N _o (N _e)	311SS	13 (14,25)	21 (24,05)
		311SC	90 (87,49)	129 (122,91)
		311CC	133 (134,25)	154 (157,05)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		0,19 (>0,05)	0,75 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,38 (0,37)	0,42 (0,40)
	D (t)		+0,03 (0,28)	+0,05 (0,62)
-6A/G AGT	ΣN		238	303
	N _o (N _e)	-6AA	65 (64,09)	92 (82,91)
		-6AG	117 (118,83)	133 (151,18)
		-6GG	56 (55,09)	78 (68,91)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		0,06 (>0,05)	4,38 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,49 (0,59)	0,44 (0,50)
	D (t)		-0,01 (0,24)	-0,12 (2,10)
G460W ADD1	ΣN		236	304
	N _o (N _e)	460WW	14 (6,28)	10 (6,96)
		460GW	49 (64,44)	72 (78,08)
		460GG	173 (165,28)	222 (218,96)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		13,55 (>0,05)	1,84 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,27 (0,24)	0,24 (0,26)
	D (t)		-0,24 (1,87)	-0,08 (0,63)
+46G/A ADRB2	ΣN		236	303
	N _o (N _e)	+46GG	89 (94,07)	114 (109,32)
		+46GA	120 (109,86)	136 (145,36)
		+46AA	27 (32,07)	53 (48,32)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		2,01 (>0,05)	1,26 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,51 (0,47)	0,45 (0,48)
	D (t)		+0,09 (1,24)	-0,04 (1,04)
K198N ET1	ΣN		235	302
	N _o (N _e)	198KK	163 (161,81)	202 (200,38)
		198KN	64 (66,38)	88 (91,23)
		198NN	8 (6,81)	12 (10,38)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		0,30 (>0,05)	0,38 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,27 (0,28)	0,29 (0,30)
	D (t)		-0,04 (0,27)	-0,04 (0,33)
+6986 G/A CYP3A5	ΣN		235	304
	N _o (N _e)	+6986GG	199 (200,31)	270 (269,07)
		+6986GA	35 (32,38)	32 (33,87)
		+6986AA	0 (1,31)	2 (1,07)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		1,53 (>0,05)	0,93 (>0,05)
	H _o (H _e)		0,15 (0,14)	0,11 (0,11)
	D (t)		+0,08 (0,36)	-0,08 (0,25)



Исследования, посвященные молекулярно-генетическим аспектам хронического гломерулонефрита в России малочисленны, тогда как зарубежные работы достаточно детально описывают роль полиморфизмов генов-кандидатов в возникновении и течении данного заболевания. Однако переносить результаты зарубежных исследователей на население России можно лишь в ориентировочном плане, так как русский этнос имеет свою своеобразную структуру генофонда и в том числе по «кандидатным» генам мультифакториальных заболеваний, которая отличается от генетических характеристик других народов [5].

В нефрологии в качестве кандидатных генов рассматривают гены, кодирующие компоненты гормональных систем, например вазоактивные гормоны, которые регулируют гемодинамические процессы, а также процессы синтеза и деградации межклеточного матрикса, влияют на скорость развития гломерулосклероза.

Цель исследования – провести популяционно-генетический анализ распределения полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов и цитокинов среди больных ХГН и в популяционном контроле.

Выборка больных (238 человек) формировалась на базе отделения нефрологии Белгородской областной клинической больницы, группа контроля составила 304 индивидуума, являющихся уроженцами Центрального Черноземья. Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из цельной венозной крови стандартными методами.

Генотипирование ДНК-маркеров производили следующими методами: анализ полиморфизма длин амплифицируемых фрагментов (ПДАФ), анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ), анализ дискриминации аллелей методом Tag Man зондов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 6.0» и «Microsoft Excel 2007».

В работе были исследованы полиморфизмы восьми генов вазоактивных гормонов: ангиотензин-превращающего фермента (I/D ACE), эндотелиальной синтазы окиси азота (4a/4b eNOS), параоксоназы-2 (S311C PON2), ангиотензиногена (-6A/G AGT), α -аддуктина (G460W ADD1), β 2-адренорецептора (+46G/A ADRB2), эндотелина-1 (K198N ET-1), цитохрома 3A5 (+6986G/A CYP3A5) и четырех генов цитокинов: фактора некроза опухоли α (TNF α -308), лимфотоксина α (L α -250), рецептора фактора некроза опухоли 1 типа (TNFR1-36), трансформирующего фактора роста β 1 (TGF β 1-869).

Исследование частот генотипов изучаемых полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов, результаты которого представлены в таблице 1, показало, что практически для всех изученных локусов в группе больных ХГН и в популяционной выборке эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Среди больных ХГН по локусу G460W ADD1 выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга за счет снижения наблюдаемой гетерозиготности по сравнению с ожидаемой ($\chi^2 = 13,55$, $p < 0,001$, $D = -0,24$).

При сравнении частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов в контрольной группе и среди больных ХГН статистически достоверных различий выявлено не было. Результаты проведенного сравнительного анализа представлены в табл. 2. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что полиморфизм генов вазоактивных гормонов ACE, eNOS, PON2, AGT, ADD1, ADRB2, ET-1, CYP3A5 не ассоциирован с развитием ХГН. Это согласуется с литературными данными о том, что гены вазоактивных гормонов не являются этиологическими факторами ХГН, но играют определенную роль в патогенезе хронического гломерулонефрита [6, 7, 8].

Выявлены различия в распространенности генотипа 311SC PON2 между больными со сниженной функцией почек и контрольной группой: среди больных концентрация данного маркера была более чем в 1,7 раза ниже, чем в контрольной группе ($\chi^2 = 6,12$, $p = 0,01$, $p_{\text{кор}} = 0,03$, $OR = 0,42$, $95\%CI$ 0,21-0,85).



Таблица 2

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов у больных ХГН и в контрольной группе

Локусы	Аллели, генотипы	Больные ХГН (n=238)	Контрольная группа (n=304)	OR (95% CI); χ^2 (p)
		%	%	
1	2	3	4	5
I/D ACE	I	45,09	48,18	0,88 (0,69-1,13); $\chi^2=0,89$; p=0,35
	D	54,91	51,82	
	II	18,80	23,84	0,74 (0,48-1,15); $\chi^2=1,69$; p=0,19
	ID	52,56	46,68	1,17 (0,82-1,67); $\chi^2=0,65$; p=0,42
	DD	28,64	27,48	1,06 (0,71-1,58); $\chi^2=0,04$; p=0,84
4a/4b eNOS	4a	21,37	19,50	1,12 (0,82-1,53); $\chi^2=0,46$; p=0,50
	4b	78,63	80,50	
	4a4a	5,13	4,67	1,10 (0,47-2,59); $\chi^2=0,01$; p=0,97
	4a4b	32,48	29,67	1,14 (0,78-1,68); $\chi^2=0,36$; p=0,55
	4b4b	62,39	65,66	0,87 (0,60-1,26); $\chi^2=0,48$; p=0,49
S311C PON2	311C	24,58	28,12	0,83 (0,63-1,11); $\chi^2=1,54$; p=0,22
	311S	75,42	71,88	
	311CC	5,51	6,91	0,79 (0,36-1,69); $\chi^2=0,24$; p=0,63
	311SC	38,14	42,43	0,84 (0,58-1,20); $\chi^2=0,85$; p=0,36
	311SS	56,35	50,66	1,26 (0,88-1,80); $\chi^2=1,51$; p=0,22
-6A/G AGT	-6A	51,89	52,31	1,01 (0,79-1,30); $\chi^2=0,01$; p=0,94
	-6G	48,11	47,69	
	-6AA	27,31	30,36	0,86 (0,58-1,28); $\chi^2=0,46$; p=0,50
	-6AG	49,16	43,89	1,24 (0,87-1,76); $\chi^2=1,28$; p=0,26
	-6GG	23,53	25,75	0,89 (0,59-1,34); $\chi^2=0,24$; p=0,62
G460W ADD1	460W	16,31	15,13	1,09 (0,78-1,54); $\chi^2=0,20$; p=0,66
	460G	83,69	84,87	
	460WW	5,93	3,29	1,85 (0,76-4,59); $\chi^2=0,61$; p=0,21
	460GW	20,76	23,68	0,84 (0,55-1,30); $\chi^2=0,50$; p=0,48
	460GG	73,31	73,03	1,01 (0,68-1,52); $\chi^2=0,01$; p=1,01



Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
-46G/A ADRB2	+46G	63,14	60,07	1,14 (0,88-1,47); $\chi^2=0,93$; $p=0,34$
	+46A	36,86	39,93	
	+46GG	37,71	37,62	1,00 (0,70-1,45); $\chi^2=0,01$; $p=1,01$
	+46GA	50,85	44,88	1,27 (0,89-1,81); $\chi^2=1,66$; $p=0,20$
	+46AA	11,44	17,50	0,61 (0,36-1,03); $\chi^2=3,38$; $p=0,07$
K198N ET1	198K	82,98	81,46	0,90 (0,65-1,25); $\chi^2=0,32$; $p=0,57$
	198N	17,02	18,54	
	198KK	69,36	66,89	1,12 (0,76-1,64); $\chi^2=0,27$; $p=0,61$
	198KN	27,23	29,14	0,91 (0,61-1,35); $\chi^2=0,15$; $p=0,70$
	198 NN	3,41	3,97	0,85 (0,31-2,28); $\chi^2=0,01$; $p=0,91$
+6986G/A CYP3A5	+6986G	92,52	94,08	0,78 (0,47-1,29); $\chi^2=0,80$; $p=0,37$
	+6986A	0,07	5,92	
	+6986GG	85,04	88,81	0,72 (0,42-1,22); $\chi^2=1,36$; $p=0,24$
	+6986GA	14,96	10,53	1,50 (0,87-2,58); $\chi^2=1,99$; $p=0,16$
	+6986AA	0	0,66	0,01 (0,57-5,27); $\chi^2=0,28$; $p=0,60$

Обнаружена более высокая частота аллеля 311S в группе больных со сниженной функцией почек (84,55%), по сравнению как с группой пациентов с сохранной функцией почек (72,17%, $\chi^2=5,48$, $p=0,02$) так и с контролем (71,88%, $\chi^2=7,10$, $p=0,009$, OR=2,14, 95%CI 1,20-3,84). Распределение аллеля 311S PON2 в группах больных ХГН с сохранной и сниженной функцией почек в дебюте заболевания и в контроле представлено на рис. 1.

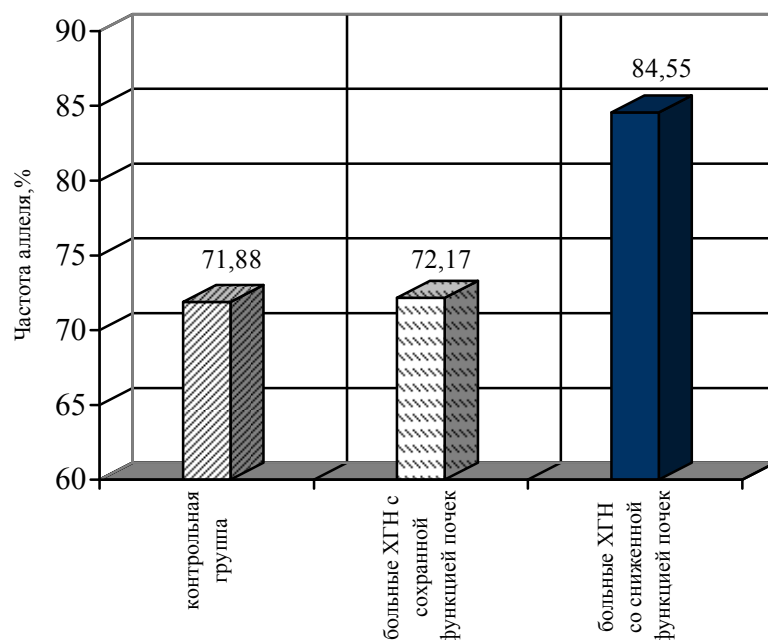


Рис. 1. Распределение аллеля 311S PON2 в группах больных ХГН с сохранной и сниженной функцией почек в дебюте заболевания и в контроле

Установлено увеличение частоты провоспалительных аллеля А (67,39%) и генотипа АА (47,83%) гена TNFR1 у больных ХГН со сниженной функцией почек на момент первого обследования, как в сравнении с контрольной группой (45,52% и 22,46% соот-

ветственно), так и с группой больных с сохранной функцией почек (52,57% и 33,71% соответственно) в дебюте заболевания ($p < 0,01$; $OR = 2,38$ и $3,09$). По полиморфным маркерам генов $TNFR\alpha$ -308, Lta -250, $TGF\beta 1$ -869 статистически значимых различий между рассматриваемыми группами больных и контрольной группой не получено. На рис. 2 представлено распределение аллеля А $TNFR1$ в группах больных ХГН в зависимости от функции почек в дебюте заболевания и в контроле.

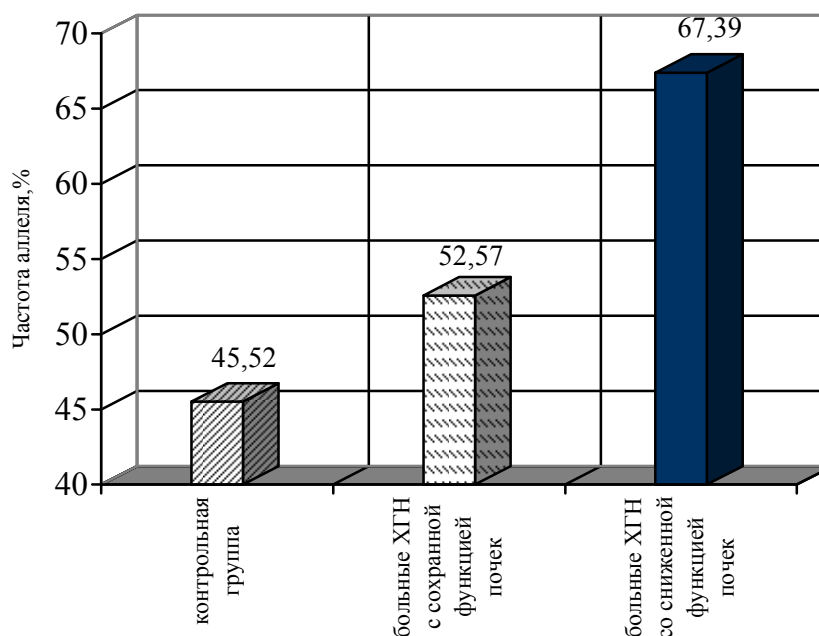


Рис. 2. Распределение аллеля А $TNFR1$ в группах больных ХГН с сохранной и сниженной функцией почек в дебюте заболевания и в контроле

Нами была проведена оценка функции почек в дебюте хронического гломерулонефрита, для этого были сформированы две группы: первую группу составили пациенты с сохранной функцией ($n = 107$ человек), вторую – больные со сниженной функцией почек ($n = 55$ человек). При изучении распределения полиморфных генетических маркеров среди больных ХГН с сохранной и сниженной функцией почек, а также в контрольной группе выявлены статистически достоверные различия только в частотах генотипов и аллелей по локусу $S311C$ параоксоназы-2. Установлено, что среди больных ХГН со сниженной функцией почек, концентрация генотипа $311SS$ составила 72,72% и была наибольшей по сравнению как с контролем, где данный показатель составил 50,66% ($\chi^2 = 8,27$, $p = 0,005$, с учётом поправки Бонферрони $p_{\text{кор}} = 0,015$, $OR = 2,60$, 95%CI 1,32-5,15), так и с пациентами с ХГН с сохранной функцией почек (52,83%, $\chi^2 = 5,16$, $p = 0,02$, $p_{\text{кор}} = 0,06$).

Резюмируя полученные результаты, следует отметить:

1. Полиморфизм генов вазоактивных гормонов не ассоциирован с развитием хронического гломерулонефрита, что полностью согласуется с современными представлениями о функциональной роли данных вазоактивных гормонов.
2. Генетические маркеры $311S$ и $311SS$ $PON2$, А и АА $TNFR1$ являются факторами риска снижения почечной функции у больных ХГН в дебюте заболевания. Аллель $311C$ $PON2$ и генотип $311SC$ $PON2$ можно считать протективными факторами развития нарушений функций почек при возникновении заболевания ($OR = 0,47$ и $0,42$), а аллель А $TNFR1$ и генотип АА $TNFR1$ – факторами риска ($OR = 2,38$ и $3,09$).

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013гг (Государственный контракт №ПЗ84).



Литература

1. Аксенович, Т.И. Картирование генов, детерминирующих распространенные болезни человека / Т.И. Аксенович // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 11-15.
2. Балановская, Е.В. Русский генофонд на Русской равнине/Е.В. Балановская, О.П. Балановский – М.: Луч, 2007. – 416 с.
3. Ермоленко, В.М. Значение малобелковой диеты в замедлении прогрессирования хронической почечной недостаточности: обзор литературы / В.М. Ермоленко, Т.А. Козлова, Н.А. Михайлова // Нефрология и диализ. – 2006. – Т. 8, № 4. – С. 310-321.
4. Значение полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов в оценке клинических особенностей хронического гломерулонефрита/Е.С Камышева [и др.] / Терапевтический архив. – 2005. – Т. 77, № 6. – С. 16-20.
5. Шулутко, Б.И. Хронический пиелонефрит – он есть или его нет? / Б.И. Шулутко, С.В. Макаренко // Нефрология. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 113-119.
6. Buraczynska, M. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease / M. Buraczynska, P. Ksiazek, A. Drop et al. // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2006. – № 21 (4). – P. 979-983.
7. Hirschhorn, J. A comprehensive review of genetic association studies/J. Hirschhorn, K. Lohmueller, E. Byrne et al. // Genet. Med. – 2002. – Vol. 4, № 2. – P. 45-61.
8. Stratta, P. Interaction between gene polymorphisms of nitric oxide synthase and renin-angiotensin system in the progression of membranous glomerulonephritis/P. Stratta, F. Bermond, S. Guarrera et al. // Nephrol. Dial. Transplant. – 2004. – Vol. 19. – P. 587-595.

STUDY OF POPULATION GENETIC-CHARACTERISTICS OF CANDIDATE GENES AMONG PATIENTS WITH CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

O.N. Litovkina
E.V. Nekipelova
E.N. Krikun
I.S. Polyakova
M.I. Churnosov

*Belgorod
State University*

e-mail: litovkina@bsu.edu.ru

The article presents data of population- genetic characteristics of vasoactive hormones genes in patients with chronic glomerulonephritis and in the control group. Presents the results of evaluation of renal function at the onset of chronic glomerulonephritis. It was established that the allele 311C PON2 and genotype 311SC PON2 are protective factors in the development of renal dysfunction in case of disease, and allele A TNFR1 and genotype AA TNFR1 are the risk factors.

Key words: chronic glomerulonephritis, the genes of vasoactive hormones, cytokines, saved and decreased kidney function.