

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК АССОЦИИРОВАННОЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

© Рустэм Закиевич Ахметшин, Петр Иванович Миронов

Башкирский государственный медицинский университет. 450000, г. Уфа (Башкортостан респ., Уфимский р-н), ул. Ленина, 3

Контактная информация: Петр Иванович Миронов — д.м.н., профессор кафедры детской хирургии с курсом ИДПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия. E-mail: mironovpi@mail.ru.

Резюме. Целью нашего исследования явилась сравнительная оценка генетической предрасположенности к злокачественному течению хронической болезни почек (ХБП) у детей с врожденными аномалиями мочевыводящих путей (ВАМП) и нефритом на основе изучения полиморфизма генов системы ренин-ангиотензин. **Методы.** Дизайн — проспективное, наблюдательное, контролируемое, одноцентровое исследование. В разработку включено 95 детей. Пациенты в зависимости от причины развития ХБП разделены на две группы — группа сравнения (n=52), дети с гломерулонефритом. Основная группа (n=43) пациенты, у которых развитие ХБП было ассоциировано с ВАМП. Проведено определение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов ренин-ангиотензиновой системы (ангиотензинпревращающего фермента (ACE, (Ins-Del)), ангиотензиногена (AGT, rs4762 (Thr174Met), rs699 (M235T)). **Результаты.** У детей с ХБП обусловленной ВАМП не выявляется ассоциированности с вариантами генов ответственных за прогрессирование ХБП. У детей с ХБП, ассоциированной с гломерулонефритом, отмечается достоверно высокая частота встречаемости аллеля C гена AGT. Какой-либо генетической предрасположенности к артериальной гипертензии у исследуемых нами детей выявлено не было. **Вывод.** У детей с ВАМП риск прогрессирования ХБП не связан с факторами наследственной предрасположенности по генам системы ренин-ангиотензин.

Ключевые слова: врожденные аномалии мочевыводящих путей; дети; генетическая предрасположенность.

POLYMORPHISM OF RENIN ANGIOTENZIN SYSTEM GENES IN CHRONIC DISEASES OF KIDNEY ASSOCIATED WITH CONGENITAL URINARY DEVIATION DISEASES

© Rustem Z. Akhmetshin, Petr I. Mironov

Bashkir state medical University. 450000, Ufa (Bashkortostan REP., Ufimskiy R-n), Lenin str., 3

Contact Information: Petr I. Mironov — Professor of Department Pediatric Surgery. E-mail: mironovpi@mail.ru.

Resume. The aim of our study was a comparative assessment of genetic predisposition to malignant course of chronic kidney disease (CKD) in children with congenital urinary tract abnormalities (CAKUT) and nephritis based on the study of gene polymorphism of the renin-angiotensin system. **Methods.** This was a prospective, observational, controlled, single-center study. The development includes 95 children. Patients, depending on the cause of CKD, were divided into two groups — comparison group (n=52), children with glomerulonephritis. The study group (n=43) included patients who had CPB development associated with CAKUT. a definition of the frequencies of alleles and genotypes of polymorphic loci of renin-angiotenzinovyh system (angiotensin-converting enzyme (ACE, (Ins-Del)), angiotenzinoguena (AGT, rs4762 (Thr174Met), rs699 (M235T)). **Results.** In children with CKD is not detected due to the CAKUT of assotsiirovannye with gene variants responsible for

the progression of CKD. Children with CKD associated with glomerulonephritis have a significantly high incidence of allele with the AGT gene. Any genetic predisposition to arterial hypertension in the studied children was not revealed. Conclusion. In children with CAKUT, the risk of progression of CKD is not associated with genetic predisposition factors in the genes of the renin-angiotensin system.

Key words: congenital urinary tract abnormalities; children; genetic predisposition.

Прогнозирование траектории течения хронической болезни почек (ХБП) и соответственно идентификация наиболее оптимальной тактики лечения у каждого конкретного пациента до настоящего времени остается сложной проблемой [1, 2.] При этом знание врачом соответствующих предикторов риска адверсивного течения заболевания имеет решающее значение для принятия адекватного клинического решения [3–6].

По современным представлениям, перспективность изучения генетических факторов для идентификации пациентов высокого риска очевидна. Однако их относительная значимость неясна. Известно, что гены, предрасполагающие к любому мультифакториальному заболеванию, обычно являются вариантами нормальных аллелей генов (полиморфизм) или результатом взаимодействия определенной совокупности генов, способных изменить уровень «порога риска» развития патологического состояния.

Данный подход к выделению пациентов группы риска по развитию врожденных аномалий мочевыводящих путей (ВАМП) может послужить одним из факторов, способных улучшить исходы лечения [3, 5, 6].

Известно, что мутации в генах, кодирующих несколько компонентов системы ренин-ангиотензин, таких как AGT (ангиотензиногена), почек (ренин), АПФ (ангиотензин-превращающего фермента) В значительной мере данные исследования были осуществлены на популяции пациентов с хронической болезнью почек обусловленной гломерулонефритом [3].

Целью нашего исследования явилась сравнительная оценка генетической предрасположенности к злокачественному течению ХБП у детей с врожденными аномалиями мочевыводящих путей и нефритом на основе изучения полиморфизма генов системы ренин-ангиотензин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования — проспективное, observational, контролируемое, одноцентровое исследование. Критерии включения — дети в

возрасте от 2 месяцев до 14 лет с диагнозом ХБП поступившие в клинику за период с февраля 2017 года по июль 2018 года. Критерий исключения — терминальная стадия заболевания, множественные врожденные пороки развития. В разработку включено 95 детей. Мальчиков 58, девочек 37. Средний возраст пациентов составил $50,3 \pm 58,9$ месяцев. Пациенты в зависимости от причины развития ХБП разделены на две группы — группа сравнения ($n=52$), дети с гломерулонефритом. Основная группа ($n=42$) пациенты, у которых развитие ХБП было ассоциировано с ВАМП (гидронефроз 21, мегауртер — 14, пиелозктазия — 6, пузырно-мочеточниковый рефлюкс — 2).

Нами осуществлялся анализ полиморфизма генов ренин-ангитензиновой системы (ангиотензинпревращающего фермента (ACE) и ангиотензиногена (AGT).) Анализ осуществлялся на базе лаборатории ПЦР кафедры генетики и фундаментальной медицины Башкирского государственного университета (зав. кафедрой Хуснутдинова Э.К.)

На первом этапе проводили выделение геномной ДНК лимфоцитов периферической крови у всех образцов группы больных ($n=52$) и контрольной группы ($n=43$) стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции по следующему протоколу:

На следующем этапе была проведена работа по амплификации кодирующих регионов генетических локусов AGT rs4762 (Thr174Met) ; AGT rs699 (M235T); ACE rs4646994 (определение инсерции и делеции), в группе сравнения ($n=52$) и основной группе ($n=43$) (табл.1).

Амплификацию изученных локусов проводили с помощью ДНК-амплификатора Gene Amp 2700 (Applied Biosystems, США).

Статистическая обработка результатов проводилась в операционной среде Windows 7 с использованием статистической программы «STATISTICA 6.0». Выборочные параметры представлены в виде M — среднее, s — стандартное отклонение, n — объем анализируемой подгруппы, p — достигнутый уровень значимости, ДИ — 95% доверительный интервал. Критическое значение уровня значимости при-

Таблица 1

Перечень локусов и способы генотипирования

Ген	Полиморфный локус	Способ генотипирования	Прозводитель
AGT	Thr174Met, rs4762	ПЦР в режиме реального времени в присутствии флуоресцентных зондов	ООО «Синтол»
AGT	M235T	Аллель-специфичная ПЦР в режиме реального времени с флуоресцентным красителем	ООО «Литех»
ACE	Определение инсерции и делеции	ПЦР классического типа с последующим разделением продуктов амплификации в полиакриламидном геле	—

нимали равным 5%. Нормальность распределения признаков проверяли критерием Колмогорова-Смирнова. Непрерывные переменные были оценены с помощью U-теста Манна-Уитни, категоризованные переменные с помощью χ^2 -теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены данные по анализу полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента у исследуемых детей с ХПБ.

Наиболее часто во всех исследованных группах встречался гетерозиготный генотип *ID* (группы 1 — 55,8%, группа 2 — 48,8%). Гомозиготный по делеции генотип *DD* чаще встречался в группе 2 (30,2%), чем в группе 1 (17,3%). Аллели *I* и *D* встречались примерно с одинаковой частотой. Частота аллеля *D* (ответ-

ственного за развитие нефропатии) была ниже в группе сравнения (45,2% хромосом) по сравнению с основной группой (54,7%), однако различия не достигли уровня статистической значимости.

Таблица 2 отражает данные по полиморфизму по гену ангиотензиногена (вариант rs4762 (Thr174Met) у исследуемых детей.

Редкий аллель *T* полиморфного варианта rs4762 в гене *AGT* обнаружен примерно с частотой 7,7 % в группе сравнения и с частотой 19,8% в основной группе, при этом гомозиготный генотип *TT* встречается только в основной группе с частотой 0,47%. При попарном сравнении частот генотипов исследуемых групп согласно доминантной ассоциативной модели различий между группами не обнаружено. При сравнении частот аллелей согласно мультипликативной модели обнаружены статистически

Таблица 1

Анализ полиморфного варианта Ins-Del в гене *ACE*

Генотипы, аллели, n		Группа сравнения, n=52		Основная группа, n=43		OR (95% доверительный интервал)	P
		%	n	%			
Генотипы	<i>II</i>	14	26,9	9	21,0	<i>II + ID vs DD:</i> 0,62 (0,25–1,54)	
	<i>ID</i>	29	55,8	21	48,8		
	<i>DD</i>	9	17,3	13	30,2		
Аллели	<i>I</i>	57	58,4	39	45,3	<i>I vs D:</i> 1,46 (0,82–2,59)	0,19
	<i>D</i>	47	45,2	47	54,7		

Таблица 2

Анализ полиморфного варианта rs4762 (Thr174Met) в гене *AGT*

Генотипы, аллели, n		Группа сравнения, n=52		Основная группа, n=43		OR (95% доверительный интервал)	P
		%	n	%			
Генотипы	<i>CC</i>	44	84,6	28	65,1	<i>CC + CT vs TT:</i> 6,33 (0,30–135,39)	0,12
	<i>CT</i>	8	15,4	13	30,2		
	<i>TT</i>	0	0	2	0,47		
Аллели	<i>C</i>	96	92,3	69	80,2	<i>C vs T:</i> 2,96 (1,21–7,24)	0,01*
	<i>T</i>	8	7,7	17	19,8		

Таблица 3

Анализ полиморфного варианта rs699 (Met235Thr) в гене *AGT*

Генотипы, аллели, n		Группа сравнения, n=52		Основная группа, n=43		OR(95% доверительный интервал)	p
		%	n	%			
Генотипы	<i>TT</i>	12	23,1	14	32,6	<i>TT + TC</i> vs <i>CC</i> : 0,62 (0,25–1,54)	0,3
	<i>TC</i>	25	48,1	17	39,5		
	<i>CC</i>	15	28,8	12	27,9		
Аллели	<i>T</i>	49	47,1	55	52,3	<i>T</i> vs <i>C</i> : 0,81 (0,46–1,44)	0,47
	<i>C</i>	55	52,9	41	47,7		

значимые различия между исследуемыми группами детей. Аллель *C* (ответственная за развитие нефропатии) чаще встречался в группе сравнения (92,3% хромосом), чем в основной группе (80,2% хромосом) — $\chi^2=6,01$, $p=0,01$, 95% CI 1,21–7,24, OR=2,96. Это свидетельствует о достоверно более высокой наследственной предрасположенности к развитию IgA-нефропатии у детей с ХБП ассоциированной с нефритом.

Таблица 3 отражает данные по полиморфизму по гену ангиотензиногена (вариант rs699 (Met235Thr) у исследуемых детей.

Наиболее часто во всех исследованных группах встречался гетерозиготный генотип *TC* (группа сравнения — 48,1%, основная группа — 39,5%), при этом наблюдается повышение частоты данного варианта в группе сравнения по сравнению с основной группой, но различия не достигли уровня статистической значимости. Также показано, что генотип *TT* чаще встречается в основной группе (32,6%), чем в группе сравнения (23,1%), различия также не достигли уровня статистической значимости. Частоты аллелей *T* и *C* встречались примерно с одинаковой частотой, подобная закономерность наблюдалась в обеих исследованных группах.

Известно, что выявление мутации *Alu Ins/Del* ангиотензинпревращающего фермента), как и выявление мутации *T704C* (Met235Thr) по гену ангиотензиногена используется для прогнозирования хронической почечной недостаточности при гломерулонефрите (IgA-нефропатия) [5]. Проведенное нами исследование показало, что у детей с ХБП ассоциированной с обструктивной уropатией не выявляется ассоциированности с вариантами генов ответственных за прогрессирование хронической болезни почек. В то время как у детей с ХБП ассоциированной с гломерулонефритом отмечается достоверно значимая генетическая предрасположенность к нефропатии по гену

AGT (аллель *C*). Наша работа имела некоторые ограничения, такие как небольшой объем выборки и отсутствие рандомизации и требует дальнейшего подтверждения на более значимой популяции больных. В целом она позволяет предполагать, что для детей с ХБП ассоциированной с врожденными пороками развития мочевыводящих путей значение генетических факторов прогрессирования хронической болезни почек играет менее значимую роль, чем у детей с гломерулонефритом. Все это свидетельствует о том, что выполнение ранней и адекватной хирургической коррекции врожденного порока развития мочевыводящих путей способствует более эффективной реабилитации данного контингента больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У детей с наличием ХБП ассоциированной с нефритом отмечается достоверно значимая генетическая предрасположенность к нефропатии по гену *AGT* (аллель *C*) по сравнению с детьми с ХБП ассоциированной с обструктивной уropатией

2. У детей с обструктивной уropатией риск прогрессирования ХБП в меньшей степени связан с факторами генетической предрасположенности.

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрович Ю.С., Пшениснов К.В., Гордеев В.И. Интенсивная терапия критических состояний у детей. СПб.: Изд-во Н-Л; 2014.
2. Александрович Ю.С., Гордеев В.И. Оценочные и прогностические шкалы в медицине критических состояний. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2015.

3. Даминова М.А. Хроническая болезнь почек у детей: этиология, классификация и факторы прогрессирования. Вестник современной клинической медицины. 2016; Т. 9(2): 36–41.
4. Паршин Е.В., Александрович Ю. С., Кушнерик Л.А., Блинов С.А., Пшенисннов К.В., Нурмагамбетова Б.К. Показатели кислородного статуса как маркеры дисфункции почек у новорожденных в критическом состоянии. Общая реаниматология. 2010; 1(2): 62–67.
5. Capone V.P., Morello W., Taroni F., Montini G. Genetics of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract: The Current State of Play. Int. J. Mol. Sci. 2017; 18: 796.
6. Weber S. Novel genetic aspects of congenital anomalies of kidney and urinary tract. Curr. Opin. Pediatr. 2012; 24: 212–218.
2. Aleksandrovich YU.S., Gordeev V.I. Ochenochnye i prognosticheskie shkaly v medicine kriticheskikh sostoyaniy. [Evaluative and predictive medicine of critical States]. SPb.: EHLBI-SPb; 2015. (in Russian).
3. Daminova M.A. Hronicheskaya bolezнь pochk u detej: ehtiologiya, klassifikaciya i faktory progressirovaniya. [Chronic kidney disease in children: etiology, classification and progression factors]. Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny. 2016; T. 9(2): 36–41. (in Russian).
4. Parshin E.V., Aleksandrovich YU. S., Kushnerik L.A., Blinov S.A., Pshenisnov K.V., Nurmagambetova B.K. Pokazateli kislorodnogo statusa kak markery disfunkcii pochk u novorozhdennyh v kriticheskom sostoyanii. [Indicators of the oxygen status as markers of renal dysfunction in newborns in critical condition]. Obshchaya reanimatologiya. 2010; 1(2): 62–67. (in Russian).
5. Capone V.P., Morello W., Taroni F., Montini G. Genetics of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract: The Current State of Play. Int. J. Mol. Sci. 2017; 18: 796.
6. Weber S. Novel genetic aspects of congenital anomalies of kidney and urinary tract. Curr. Opin. Pediatr. 2012; 24: 212–218.

REFERENCES