



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.12.2.021>
УДК 616.61-06-053.2:577.112.854



Базарова Н.С., Ахмедов Б.Х.✉, Олтибаева М.Г.

Самаркандский государственный медицинский университет, Узбекистан

Исследование взаимосвязи между полиморфными генами металлопротеиназ MMP9 (A-8202G) rs11697325 и уровнем цистатина С у детей с хроническим нефритическим синдромом

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование – Базарова Н.С.; концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Олтибаева М.Г., Ахмедов Б.Х.

Подана: 09.02.2024

Принята: 05.04.2024

Контакты: Bozorovanigina72@gmail.com, behzod.axmedov@bk.ru, asadbek03032018@gmail.com

Резюме

Анализ научной литературы последних лет достоверно указывает на значимость молекулярной диагностики в области нефрологии. В исследованиях имеется информация о роли генетических факторов в хронизации процесса нефритического синдрома; изыскания в данной области продолжаются. Патология развития объясняется тем, что хронизация процесса возникает, прежде всего, при генетической неполноценности частей нефрона, что приводит к изменению структуры белка. Результаты исследования показывают взаимосвязь изменения генотипа MMP9 (матриксная металлопротеиназа-9) (A-8202G) rs11697325 с развитием процесса хронизации. Наши результаты доказывают, что цистатин С является точным диагностическим и прогностическим маркером хронического нефритического синдрома среди педиатрической популяции. При этом хромосомные полиморфные гены MMP9 влияют на скорость клубочковой фильтрации путем увеличения количества цистатина С, который является золотым маркером в диагностике хронического нефритического синдрома у детей, определяющим прогноз заболевания. Это дает возможность своевременно лечить указанное заболевание и обуславливает дальнейшую тактику врача.

Ключевые слова: нефритический синдром, матриксная металлопротеиназа, цистатин С, полиморфные гены, прогноз

Bazarova N., Akhmedov B., Oltibaeva M.
Samarkand State Medical University, Samarkand, Uzbekistan

Study of the Relationship between the Polymorphic Genes of Metalloproteinases MMP9 (A-8202G) rs11697325 and the Level of Cystatin C in Children with Chronic Nephritic Syndrome

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study, editing – Bazarova N.; the concept and design of the study, collection of material, processing, writing of the text – Oltibaeva M., Akhmedov B.

Submitted: 09.02.2024

Accepted: 05.04.2024

Contacts: Bozorovanigina72@gmail.com, behzod.axmedov@bk.ru, asadbek03032018@gmail.com

Abstract

An analysis of the scientific literature in recent years reliably indicates the importance of molecular diagnostics in the field of nephrology. Research contains information on the role of genetic factors in the chronicization of the process of nephritic syndrome, ongoing research in this area. The pathology of development is explained by the fact that the chronicity of the process occurs primarily due to genetic inferiority of parts of the nephron, which leads to changes in the structure of the protein. The results of the study show the relationship between changes in the genotype of MMP9 (Matrix metalloproteinase-9) (A-8202G) rs11697325 with the development of the chronicization process. Our results provide evidence that cystatin C is an accurate diagnostic and prognostic marker of chronic nephritic syndrome in the pediatric population. At the same time, chromosomal polymorphic MMP9 genes affect the glomerular filtration rate by increasing the amount of Cystatin C, which is a gold marker in the diagnosis of chronic nephritic syndrome in children, determining the prognosis of the disease, which makes it possible for timely treatment and further tactics of the doctor.

Keywords: nephritic syndrome, matrix metalloproteinase, cystatin C, polymorphic genes, prognosis

■ ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день хронический нефритический синдром является одним из наиболее тяжелых заболеваний почек у детей, характеризующимся быстрым прогрессированием и развитием множества осложнений [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), «...хронический нефритический синдром занимает 2-е место среди основных форм патологии почек, характерных для детского возраста, и в последние 10 лет заболеваемость хроническим нефритическим синдромом неуклонно прогрессирует и составляет 36,8% всех заболеваний почек...»*.

* Информационный бюллетень ВОЗ. 2 августа 2019 г. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/нефрология>.



В настоящее время в связи со сложностью ранней диагностики заболевания у пациентов с хроническим нефритическим синдромом трудно прогнозировать продолжительность, своевременно выявить и выбрать наиболее адекватный метод для полноценной реализации лечебно-диагностического процесса, определения оптимальных сроков их применения и лечения пациентов с данными заболеваниями. Само по себе понятие не позволяет ни поставить правильный диагноз, ни назначить патогенетическое лечение, ни определить морфологическую основу заболевания. Эти различия, вероятно, связаны с генетической предрасположенностью [2].

Оценка результатов – проблема, требующая решения в практике нефрологии. Если эту патологию вовремя не диагностировать и не лечить, она может привести к тяжелым последствиям, инвалидности и огромным затратам, диализу и трансплантации почек. При любом клиническом варианте, включая нефритический и нефротический синдромы, можно выявить тяжелое хроническое заболевание почек, ведущее к терминальной почечной недостаточности [3].

Хронический нефритический синдром у детей имеет медицинское и социальное значение, при этом возникают различные представления о патогенезе заболевания, взаимосвязи иммунной системы организма, неблагоприятном прогнозе, трудностях диагностики и лечения [4].

Во всем мире проводится ряд научных исследований, направленных на совершенствование механизмов развития хронического нефритического синдрома у детей, методов диагностики, лечения и профилактики на ранней стадии. В настоящее время остается нерешенной проблема внедрения новых подходов к классификации, оценке тяжести, диагностике ранних ее стадий, основанных на новых данных о морфофункциональном состоянии почек [5].

По мнению авторов, доказана патогенетическая роль MMPs при острых и хронических заболеваниях почек [6].

В этом отношении определение клинико-лабораторных характеристик хронического нефритического синдрома у детей, своевременная диагностика, оценка факторов, определение роли аллеля и генотипа полиморфных генов, принадлежащих к группе металлопротеиназ, и проведение исследований, которые изучают связь между концентрацией цистатина С в сыворотке крови, являются своевременными.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить взаимосвязь между полиморфными генами металлопротеиназ MMP9 (A-8202G) rs11697325 и уровнем цистатина С у детей с хроническим нефритическим синдромом.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе Самаркандского областного детского многопрофильного медицинского центра и в Институте иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан.

Предметом исследования служили венозная кровь, сыворотка и моча пациентов для общеклинического, лабораторного, биохимического и ПЦР-метода (полимеразная цепная реакция) генотипирования. В исследовании использовали турбидометрические, молекулярно-генетические и статистические методы.

Выделение ДНК проводилось стандартным нуклеосорбным методом с использованием наборов фирмы Diatom™ DNAPrep 200 («Лаборатория ИзоГен», Москва, Россия). Количество цистатина С определялось в лаборатории SWISS-LAB набором KonelabT-Series CYSTATIN-C (Финляндия). Статистическую обработку результатов исследования проводили в автоматизированной программе Microsoft Excel Windows 10 и в пакетах программ для статистического анализа Statistica 8 и Statistics 17.0. SPSS, SISA9.17®, Arlequin 3.5.2.

Отбор пациентов для исследования проводился согласно критериям включения/исключения.

- Критерии включения в исследование:
- подписанное информированное согласие пациента;
 - возраст <18 лет;
 - подтвержденный ХНС клинико-лабораторными и функциональными методами.
- Критерии исключения: отказ пациента подписать информированное согласие на проведение исследования.

Обследованы 129 пациентов в возрасте от 5 до 15 лет, находившихся на лечении в нефрологическом отделении в период с 2020 по 2022 г.

В основной группе в данном исследовании были 102 пациента с хроническим нефритическим синдромом. Средний возраст пациентов с ХНС составил 10,28±3,76 с диапазоном 4–15 лет. Из них 65 (63,7%) пациентов мужского пола и 37 (36,3%) пациентов женского пола (табл. 1). Среди детей мужского пола с ХНС 24 (36,9%) пациента были в возрасте 5–7 лет, 18 (27,7%) – в возрасте 8–11 лет и 23 (35,4%) – в возрасте 12–15 лет. Среди детей женского пола с ХНС 13 (35,1%) пациентов были в возрасте 5–7 лет, 13 (35,1%) – в возрасте 8–11 лет и 11 (29,9%) – в возрасте 12–15 лет. Среди детей мужского и женского пола с ХНС при сравнении по возрастным группам статистически значимых различий не установлено (соответственно $p=0,13$, $p=0,36$ и $p=0,07$).

Контрольную группу составили 27 сравнительно здоровых пациентов. Средний возраст здоровых детей в контрольной группе – 7,96±2,28. Возраст здоровых пациентов варьировал в пределах 5–13 лет. Среди здоровых детей мужского пола в контрольной группе 8 (61,5%) пациентов были в возрасте 5–7 лет, 4 (30,8%) – в возрасте 8–11 лет и 1 (3,7%) мальчик в возрасте 12 лет. Среди здоровых детей женского пола в контрольной группе 6 (42,8%) пациентов были в возрасте 5–7 лет, 6 (42,8%) – в возрасте 8–11 лет и 2 (14,4%) – в возрасте 12–15 лет. Среди детей мужского и женского пола в контрольной группе при сравнении по возрастным группам статистически значимых различий не установлено (соответственно $p=0,27$, $p=0,51$ и $p=0,48$).

Общая характеристика включенных в исследование пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1
Демографическая характеристика включенных в исследование пациентов
Table 1
Demographic characteristics of the patients included in the study

Обследованные дети	Пол	Возраст, лет			Всего
		5–7	8–11	12–15	
С ХНС	Мальчики	24 (36,9%)	18 (27,7%)	23 (35,4%)	65 (100%)
	Девочки	13 (35,1%)	13 (35,1%)	11 (29,8%)	37 (100%)
Контрольная группа	Мальчики	8 (61,5%)	4 (30,8%)	1 (7,7%)	13 (100%)
	Девочки	6 (42,8%)	6 (42,8%)	2 (14,4%)	14 (100%)
Всего		51 (39,5%)	41 (31,8%)	37 (28,7%)	129 (100%)



Пациенты с ХНС (хронический нефритический синдром) были условно разделены на 3 группы в зависимости от формы ХНС. Первую группу составили 36 пациентов (35,3%) с протеинурической формой ХНС, вторую и третью группу – 35 (34,3%) и 31 (30,4%) пациент соответственно с макрогематурической и смешанной формой ХНС. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно цели и задачам исследования нами проведен анализ генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 в зависимости от уровня цистатина С. Судя по результатам, в общей группе пациентов уровень цистатина С был в 1,56 раза выше при генотипе AG и в 2,06 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. По сравнению с контрольной группой установлены достоверно высокие средние показатели уровня цистатина С у пациентов с генотипами AG и GG, при этом у пациентов с генотипом AA средний показатель уровня цистатина С статистически не отличался от контрольной группы (табл. 2).

При сравнении показателей цистатина С в зависимости от генотипов TIMP2 (C536T) rs11551797 у пациентов в общей группе и у здоровых детей существенных отличий не найдено.

Был проведен анализ уровня цистатина С в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 и TIMP2 (C536T) rs11551797 и различных форм ХНС. Согласно результатам, у пациентов с протеинурической и смешанной формой гломеруло-нефрита уровень цистатина С был в 1,57 и 1,92 раза выше при генотипе AG и соответственно в 2,42 и 2,27 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. При этом у пациентов с макрогематурической формой заболевания, а также среди здоровых детей контрольной группы в уровнях цистатина С значимых отличий в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 не выявлено (табл. 3).

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о наличии взаимосвязи между генотипами AG и GG гена MMP9 (A-8202G) rs11697325 и уровнем цистатина С у пациентов с ХНС, в частности более выраженные изменения наблюдаются у пациентов с протеинурической и смешанной формой заболевания. Выявленные ассоциации могут служить важным диагностическим и прогностическим маркером исследуемой патологии.

Таблица 2
Средние значения цистатина С в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 у пациентов с ХНС в общей группе и у здоровых детей

Table 2
The average values of cystatin C depending on the genotypes MMP9 (A-8202G) rs11697325 in patients with CNS in the general group and in healthy children

MMP9 (A-8202G) rs11697325	Основная группа (n=102)	Контрольная группа (n=27)	p-value
AA	1,64±2,31	1,23±2,55	0,57
AG	2,56±2,38	1,22±1,47	<0,001
GG	3,38±2,46	1,12±2,04	<0,001

Таблица 3
Средние значения цистатина С в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 у пациентов с ХНС и здоровых детей
Table 3
The average values of cystatin C depending on genotypes MMP9 (A-8202G) rs11697325 in patients with CNS and healthy children

MMP9 (A-8202G) rs11697325	Макрогематурическая форма (n=35)	Смешанная форма (n=31)	Протеинурическая форма (n=36)	Контрольная группа (n=27)
AA	1,94±2,34	1,81±2,41	1,89±2,35	1,23±2,55
AG	2,04±2,41	3,49±2,56**	2,98±1,34**	1,22±1,47
GG	1,85±2,39	4,11±2,67**	4,58±2,72**	1,12±2,04

Примечание: * p<0,05; ** p<0,01; p<0,001.

На следующем этапе мы провели анализ ассоциаций между генами MMP9 (A-8202G) rs11697325 и повышенным уровнем цистатина С (>2,0 мг/л vs <2,0 мг/л) у пациентов с протеинурической и смешанной формой заболевания. Как видно из табл. 4, в группе пациентов с протеинурической и смешанной формой заболевания выявлены достоверно значимый аллельный вариант G и генотип GG гена MMP9 (A-8202G) rs11697325. В группе пациентов аллельный вариант G выявлялся в 1,64 раза чаще, чем в контроле (OR=1,647; $\chi^2=3,94$ (p=0,046); 95% CI: 1,006>1,647>2,695). Кроме этого, генотип GG данного гена в группе пациентов выявлялся в 2,57 раза чаще, чем в контроле (OR=2,578; $\chi^2=4,46$ (p=0,034); 95% CI: 1,070>2,578>6,212). Также наши результаты показали, что наличие генотипа AA гена MMP9 (A-8202G) rs11697325 дает протективный эффект, встречается чаще в группе контроля (OR=0,387; $\chi^2=4,46$ (p=0,034); 95% CI: 0,161>0,387>0,934) и чаще у пациентов с низким уровнем цистатина С.

Согласно анализам, наличие генотипа AG гена MMP9 (A-8202G) rs11697325 не имеет значительной связи с заболеванием, но встречается незначительно чаще у здоровых лиц контрольной группы (OR=1,551; $\chi^2=0,91$ (p=0,337); 95% CI: 0,632>1,551>3,804).

Был проведен анализ генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 в зависимости от уровня креатинина. Согласно результатам, в общей группе пациентов уровень креатинина был в 1,28 раза выше при генотипе AG и в 1,46 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. По сравнению с контрольной группой установлены достоверно высокие средние показатели уровня креатинина у пациентов с генотипами AG и GG, при этом у пациентов с генотипом AA средний показатель креатинина статистически не отличался от контрольной группы (табл. 4).

Был проведен анализ уровня креатинина в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 и различных форм ХНС (табл. 5). Согласно результатам, у пациентов с протеинурической и смешанной формой болезни уровень цистатина С был в 1,57 и 1,92 раза выше при генотипе AG и соответственно в 2,42 и 2,27 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. При этом у пациентов с макрогематурической формой заболевания, а также среди здоровых детей контрольной группы в уровнях цистатина С значимых отличий в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 не выявлено.

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о наличии взаимосвязи между генотипами AG и GG гена MMP9 (A-8202G) rs11697325 и уровнем



Таблица 4
Средние значения креатинина в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 у пациентов с ХНС в общей группе и здоровых детей
Table 4
The average values of creatinine depending on genotypes MMP9 (A-8202G) rs11697325 in patients with CNS in the general group and healthy children

MMP9 (A-8202G) rs11697325	Основная группа (n=102)	Контрольная группа (n=27)	p-value
AA	119,7±21,48	89,3±18,51	0,39
AG	153,6±25,27	86,47±17,14	<0,001
GG	174,82±20,91	93,12±15,03	<0,001

Таблица 5
Средние значения цистатина С в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 у пациентов с ХНС и здоровых детей
Table 5
The average value of cystatin C depending on the genotypes MMP9 (A-8202G) rs11697325 in patients with CNS and healthy children

MMP9 (A-8202G) rs11697325	Макрогематурическая форма (n=35)	Смешанная форма (n=31)	Протеинурическая форма (n=36)	Контрольная группа (n=27)
AA	116,2±12,34	124,5±15,41	132,7±21,3	87,7±14,8
AG	114,84±13,71	152,93±25,76**	168,11±20,1**	92,67±16,47
GG	119,95±12,48	173,21±21,77**	172,85±28,7**	93,2±19,24

Примечание: * p<0,05; ** p<0,01.

креатинина у пациентов с ХНС, в частности более выраженные изменения наблюдаются у пациентов с протеинурической и смешанной формой заболевания. Выявленные ассоциации могут служить важным диагностическим и прогностическим маркером в исследуемой группе.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время большое внимание исследователей привлекает альтернативный маркер цистатин С, с помощью которого можно оценить фильтрационную функцию почек. Всем известно, что СКФ (скорость клубочковой фильтрации) рассчитывается с помощью сывороточного креатинина, количество которого зависит от массы тела и пола, и это дает недостоверный результаты анализов. Аналогичными свойствами цистатин С не обладает, поэтому применение этого анализа целесообразно [7].

Определение уровня цистатина С, одного или совместно с креатинином, позволяет более точно выявить СКФ и оценить риск развития почечной недостаточности. При определении СКФ с помощью креатинина СКФ при протеинурической форме была 73,6%, при смешанной форме – 72%, а при определении СКФ цистатином С уровень показателей был ниже, чем при креатинине (56,6; 52,3). Определение количества цистатина С является современным методом диагностики нефритического синдрома у детей и своевременного прогноза и лечения по сравнению

с аналогичными методами диагностики, поэтому цистатин С является более точным маркером СКФ [8].

Был проведен анализ генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 и TIMP2 (C536T) rs11551797 в зависимости от уровня цистатина С.

Согласно результатам, в общей группе пациентов уровень цистатина С был в 1,56 раза выше при генотипе AG и в 2,06 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. По сравнению с контрольной группой были установлены достоверно высокие средние показатели уровня цистатина С у пациентов с генотипами AG и GG, при этом у пациентов с генотипом AA средний показатель уровня цистатина С статистически не отличался от контрольной группы. Согласно результатам, у пациентов с протеинурической и смешанной формой нефритического синдрома уровень цистатина С был в 1,58 и 1,93 раза выше при генотипе AG и соответственно в 2,44 и 2,27 раза выше при патологическом генотипе GG по сравнению с пациентами, у которых был выявлен генотип AA. При этом у пациентов с макрогематурической формой заболевания, а также среди здоровых детей контрольной группы в уровнях цистатина С значимых отличий в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 не выявлено.

Наши результаты доказывают, что цистатин С является точным диагностическим и прогностическим маркером хронического нефритического синдрома среди педиатрической популяции. Кроме этого, у пациентов с протеинурической и смешанной формой ХНС уровень цистатина С был достоверно выше при наличии у пациентов патологических генотипов. В отличие от предыдущих форм ХНС, у пациентов с макрогематурической формой заболевания в уровнях цистатина С значимых отличий в зависимости от генотипов MMP9 (A-8202G) rs11697325 не выявлено.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все хронические заболевания, в том числе хронический нефритический синдром, слабо проявляют себя на начальных стадиях, когда лечение наиболее дешевое и эффективное, а в запущенном состоянии приводят к значительному снижению качества жизни и в итоге к ранней смерти. Сразу предупреждать все болезни невозможно, да в этом и нет необходимости, ведь каждый человек имеет шанс столкнуться лишь с несколькими из них. И этот набор болезней не случаен. Информация о состоянии нашего здоровья и будущих рисках содержится только в наших генах. У каждого человека своя генетическая карта здоровья. Определение генетического риска заболеваний – это превентивная профилактика, путь к созданию генетического паспорта, прогнозированию развития различных болезней [9]. Гены содержат информацию о структуре определенных белков, напрямую влияющих на биохимические процессы в организме. Мутации в генах могут изменить структуру белков и повлиять на физические показатели.

ДНК-анализ позволит узнать, к какому заболеванию с наибольшей вероятностью существует наследственная предрасположенность. На основе этой информации разрабатывается персональная программа, чтобы заранее предпринять меры по предотвращению этих болезней.



■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bayko S.V. Chronic kidney disease in children: definition, classification and diagnosis. *Nephrology dialysis*. 2020;22(1):53–70. (in Russian)
2. Naushabayeva B.A. Abeuova G.N. Chingaev Nephritic syndrome in children: morphological options and treatment. *Pediatric neurology*. 2012;(2):60–63. (in Russian)
3. Obuxova V.A. Pathogenetic mechanisms of development of idiopathic nephrotic syndrome with minimal changes. *Russian Perinatology Bulletin of Pediatrics*. 2014;59(4):10–15. (in Russian)
4. Chesnokova N.P., Morrison V.V., Jevak T.N., Bizenkova M.N. The pathogenesis of renal edema. Scientific review. *Medical sciences*. 2016;(1):75–77. (in Russian)
5. Vyalkova A.A., Zorin I.V., Chesnokova S.A., Plotnikova S.V. Chronic kidney disease in children. *Nephrology*. 2019;23(5):29. doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-5-29-46. (in Russian)
6. Krutova A.S., Luchaninova V.N., Semeshina O.V., Ni A., Быкова O.G. The role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pathophysiological processes in children with kidney diseases. *Pacific Medical Journal*. 2020;(1):11. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-11-15. (in Russian)
7. Bazarova N.S., Ziyadullayev Sh.X. Comprehensive assessment of various forms of chronic chronic nephritic syndrome in children. *Web of scientist: International scientific research journal. Indonesia*. 2022;5(3):12–17. doi: 10.17605/OSF.IO/P2BZX. (in Russian)
8. Sobirjonovna B.N. New aspects of the genetic disposition of various forms of chronic nephritic syndrome in children. *Journal of Universal Science Research*. 2023;1(6):778–782.
9. Bazarova N.S., Ziyadullayev Sh.X. The significance of polymorphic genes of matrix metalloproteinases (MMP) and their tissue inhibitors in the development of disorder of kidney function in chronic glomerulonephritis in children. *European Journal of Molecular medicine*. 2021 September;1:42–45.