

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ**Н. С. Базарова, Ш. Х. Зиядуллаев, Б. А. Юлдашев**

Самаркандский государственный медицинский институт, Самарканд, Узбекистан

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, матриксная металлопротеиназа, тканевый ингибитор.**Таянч сўзлар:** сурункали гломерулонефрит, матриксли металлопротеиназа, тўқимавий ингибитор.**Key words:** chronic glomerulonephritis, matrix metalloproteinase, tissue inhibitor.**СУРУНКАЛИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ БИЛАН ОФРИГАН БОЛАЛАРДА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПОЛИМОРФ ГЕНЛАРИ, ҲАМДА УНИНГ ТЎҚИМАВИЙ ИНГИБИТОРЛАРИНИНГ ПАТОГЕНЕТИК АҲАМИЯТИ****Н. С. Базарова, Ш. Х. Зиядуллаев, Б. А. Юлдашев**

Самарканд давлат тиббиёт институти, Самарканд, Ўзбекистон

PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF POLYMORPHIC GENES OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN**N. S. Bazarova, Sh. Kh. Ziyadullaev, B. A. Yuldashev**

Samarkand state medical institute, Samarkand, Uzbekistan

Заболееаемость хроническим гломерулонефритом за последние 10 лет неуклонно прогрессирует и составляет 36,76% всех заболеваний почек

Болезни органов мочевой системы, по данным ВОЗ, в настоящее время занимают 2-е место среди основных форм почечной патологии, свойственных детскому возрасту. В структуре заболеваний почек у детей, госпитализированных в нефрологическое отделение, гломерулонефрит занимает второе место [1]. Актуальность проблемы хронического гломерулонефрита объясняется не распространённостью болезни, а течением болезни и развитием почечной недостаточности [2]. Хронический гломерулонефрит - одно из тяжелых заболеваний почек у детей, которое отличается частым развитием осложнений и прогрессированием течения болезни.

Хронический гломерулонефрит вначале это иммунно-воспалительное заболевание почек с поражением клубочков, канальцев и межклеточной ткани, но в дальнейшем достаточно быстро включаются неиммунные факторы прогрессирования, которые приводят к системному поражению органов, в том числе и сердечно-сосудистой системы.[3] Внеклеточный матрикс присутствует во всех тканях организма, поэтому сбой в его функционировании ведёт к развитию болезней соединительной ткани, преждевременному старению и гибели клеток. Самый очевидный стимул для изучения ВКМ — необходимость лечения заболеваний, связанных с нарушениями структуры соединительной ткани. Таких болезней много, они могут протекать тяжело и значительно ухудшать качество жизни пациентов. Объединяющими патогенетическими механизмами хронического гломерулонефрита можно считать активацию системной воспалительной реакции с образованием избытка продуктов окислительного стресса и дисбаланса в системе «протеолиз-антипротеолиз», что может усиливать процессы тканевого ремоделирования [4,5].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) считаются ключевыми эффекторами тканевого ремоделирования в силу целого ряда причин. Это белки, экспрессия которых присутствует во всех тканях на различных этапах онтогенеза и тонко регулируется, и активируется в условиях интенсивной тканевой перестройки. Они секретируются как на поверхности клеток, так и в межклеточное пространство и функционируют в физиологических и патологических условиях. Как полифункциональные белки ММП участвуют в механизмах ангиогенеза и апоптоза. ММП могут самостоятельно воздействовать на основные компоненты со-

единительно-тканного матрикса, а также влиять на межклеточные взаимодействия, на различные пути передачи сигнала в клетке, а также способствовать продукции некоторых биологически активных молекул. Активность ММР в тканях зависит от уровня экспрессии их генов и от наличия активаторов и специфических тканевых ингибиторов – TIMPs. TIMPs продуцируются одновременно и совместно с ММР. Одной из главных причин развития патологии является нарушение баланса между синтезом и деградацией компонентов внеклеточного матрикса, который, в свою очередь, зависит от равновесия между активностью ММР и TIMPs. При патологических условиях происходит изменение экспрессии, продукции и активности ММР, которые регулируются транскрипционной активностью соответствующих генов, что может привести к усилению воспалительной реакции и разрушению тканей [6,7].

Актуальность изучения роли матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМП) в патологии органов мочевой системы определяется ее значительной распространенностью, склонностью к рецидивирующему течению заболеваний почек у детей. Известно, что ММП-1 обладает противовоспалительным действием, а ММП-2 и ММП-9 препятствуют воспалению. ТИМП-1 и ТИМП-2 ограничивают расщепление коллагена. Нарушение равновесия между ММП и ТИМП сопровождается накоплением внеклеточного матрикса, увеличивает риск развития осложнений хронического гломерулонефрита. Участие ММП в патогенезе заболеваний делает их привлекательной мишенью для лекарственных препаратов.[7,8,9] Ученые из Манчестерского университета (Великобритания) выявили 35 генов, которые связаны с хроническими заболеваниями почек. Команда считает, что открытие позволит сделать долгожданный шаг вперед в изучении генетически обусловленных заболеваний, которые без лечения приводят к потере органов, сообщается на сайте университета. Исследователи применили метод секвенирования РНК последнего поколения, который помог проанализировать генетические особенности почек в одной из самых больших выборок. Команда уверена, что идентифицированные гены станут привлекательными объектами для разработки новых методов ранней диагностики и лечения. Многие заболевания почек в настоящее время имеют морфологическую, иммунологическую и клиническую классификацию, которая зачастую не объясняет основные патофизиологические механизмы. Несмотря на свои сильные стороны, морфологическая оценка ограничена в интерпретации поражений почек с неспецифическими этиологическими ассоциациями. Эти ограничения ставят под угрозу возможность установить точный диагноз и назначить эффективное лечение.

В современной медицине сформировались фундаментальные научные установки, необходимость активного развития методов молекулярной диагностики заболеваний почек, которые не только дополняют традиционные методы, но и дают понимание с точки зрения молекулярной патофизиологии. Активное развитие методов молекулярной диагностики заболеваний почек открывает большой раздел медицины, который можно назвать «молекулярной нефропатологией». Дальнейшее изучение заболеваний почек с позиции молекулярной биологии позволит заново взглянуть на патогенез многих заболеваний и решить ряд проблем с позиций персонализированной терапии, которая учитывает генетические особенности пациента.

Развитие методов молекулярной диагностики все больше открывает перспективы персонализированного подхода к изучению патологии на различных уровнях взаимодействия, эти достижения дают качественную оценку ДНК, РНК, белкам и их метаболитам, что позволяет определять новые биомаркеры [10,11,12]. Таким образом, необходимость молекулярной диагностики постепенно переходит в повседневную клиническую практику обследования нефрологических больных. В многочисленных исследованиях последних лет детально изучены механизмы развития и прогрессирования хронического гломерулонефрита. Большинство заболеваний обусловлено генетически, но прогресс в разработке новых тестов идет очень медленным до настоящего времени. Современная стратегия борьбы за увеличение

продолжительности жизни направлена на поиск значимых и воспроизводимых биологических маркеров, позволяющих осуществлять раннюю и точную диагностику риска и прогноза развития осложнений.

Тем не менее число работ, посвященных изучению молекулярной биологии при патогенезе хронического гломерулонефрита у больных детей, все еще невелико, а их результаты противоречивы.

Результаты экспериментальных и клинических исследований, полученные настоящий момент, подтверждает роль системы ММП/ТИМП в патогенезе заболеваний. В почки идентифицировано шесть представителей ММП-1,2,3,9,13,14. Тканевые ингибиторы регулирует ММП и находится в соотношении 1:1. ТИМП-2 является универсальным ингибитором [13].

Для генов ММП-9, как и для многих других генов, характерен полиморфизм. Полиморфные генетические локусы могут не вызывать никаких изменений в фенотипе, а могут иметь функциональный эффект, оказывая влияние на уровень экспрессии гена и количество белкового продукта. По данным многочисленных исследований, однонуклеотидные замены участках гена значительным образом влияют на изменение структуры белка, приводящей к нарушению кодируемого белка, что может сопутствовать к развитию заболевания. [14]. Если мутация встречается с частотой более 1,5-3% и не приводит к явным фенотипическим проявлениям болезни, ее рассматривают как полиморфизм. Генетический полиморфизм в геноме человека в 95% случаев связан с однонуклеотидными заменами - SNP (от англ. single nucleotide polymorphism - полиморфизм одного нуклеотида) [13]. На сегодняшний день известно более 10 млн. однонуклеотидных замен.

ММП-1 имеет следующие полиморфные варианты:
rs5854, rs4707474, rs470221, rs11799750, rs484915.

ММП-2 rs2285053, rs243865

ММП-9 имеет следующие полиморфные варианты:
Rs2274755, rs2664538, rs2236416, rs2274756, rs13925

Мутации в семействе белков нефрина – NPH1, NPH2, NPH3 – приводят к развитию врожденного нефротического синдрома, сопровождающегося резистентностью к стероидной терапии. Также немаловажную роль в развитии нефротического синдрома играет интегральный мембранный белок подоцин, который входит в состав щелевидной мембраны, замыкая нефрин в подоцитах. Этот белок кодируется геном NPHS2, расположенным в хромосоме 1, в регионе 1q25–q31. При гистологическом исследовании биоптатов почек у пациентов с нефротическим синдромом, вызванным мутацией гена подоцина, как правило, отмечался фокальный сегментарный гломерулосклероз [12]

Нефрин первый геном подоцитов (NPHS1), обнаруженным у пациентов с врожденным нефротическим синдромом, был что явилось революционным открытием в понимании патогенеза болезни почек [12].

Подоцин — член семейства стоматиновых белков, кодируется геном NPHS2, расположенным на 1q25-q31-хромосоме Мутации NPHS2 впервые были описаны у детей с семейным стероидрезистентным идиопатическим нефротическим синдромом. [13].

CD2-ассоциированный белок (CD2AP) представляет собой молекулу, первоначально идентифицированную как лиганд для Т-клеточного адгезивного белка, который экспрессируется во всех тканях, кроме мозга. Играет ключевую роль в почках, где он необходим для функционирования щелевой диафрагмы для обеспечения фильтрационных функций. (13)

Определено полиморфизм генов IL-4 в промотерной области (C-590T) и IL-13 в 4-м экзоне (G4257A), NPHS1 в 3-м экзоне (G349A), NPHS2 в 5-м экзоне (G755A) у больных с нефротическим синдромом. Изучены полиморфный маркер 4G/5G гена PAL-1 у детей с хроническим гломерулонефритом и сделано вывод, что аллел 4G влияет на развитие пролиферативных нефритов и прогрессирование заболевания. [15]

Многочисленные молекулярно-генетические исследования посвящены изучению полиморфизма генах, принимающих участие в процессах, связанных с развитием хронизации

заболеваний. Наиболее изучены слудующие полиморфные гены ММП, который патогенетический играет рол, а патогенезе данных заболеваний:

ММП1 полиморфный локус -rs1799750, Хронический панкреатит, эндометриоз, периапикальная гранулема, глаукома, идиопатический легочный фиброз, острая лимфобластная лейкемия, рак легких, карцинома почек, рак желудка, рак мочевого пузыря.

ММП-2 полиморфный локус-rs2285053, Снижение риска плоскоклеточного рака пищевода, снижение риска рака молочной железы, снижение риска рака носоглотки.

ММП-9 полиморфный локус-rs3918242 Фиброз почки, центрилобулярная эмфизема, инфаркт миокарда, изолированная систолическая гипертензия, ишемический инсульт, хроническая обструкция легких, ишемическая болезнь сердца, диабет 2-го типа, диабетическая стопа, детская артериальная гипертензия [13].

На современном этапе активно изучается полиморфизм генов-кандидатов как один из потенциальных факторов риска развития патологического процесс. Таким образом, изучение ассоциации генетических полиморфизмов в патогенезе данной патологии представляется наиболее актуальным. Принимая во внимание доказанное участие системы матриксных металлопротеиназ в развитии ХГ, мы сочли важным в своей работе изучить полиморфные варианты генов ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-2.

При острых воспалительных процессах заболевании почек, ТИМП-1 является ингибитором ММП-9, он связывается с активным каталитическим центром фермента и блокирует его активность и соотношение между ними изменяется. При хронизации процесса в процесс включается ТИМП-2, потому что оно является универсальным ингибитором.

ТИМП-2 – препятствуют расщеплению белков экстраклеточного матрикса. Нарушение равновесия между активностью ММП и их ингибиторов приводит к накоплению внеклеточного матрикса и облитерации клубочков, способствует развитию фиброза и склероза сосудов почек. Эти нарушения могут влиять на процессы фильтрации и реабсорбции. (17). Поэтому нами было изученно и количество Цистатина С- который является золотым маркером в диагностики заболевании почек. Нам было интересно как ведёт себя Цистатин С, известно, что количество Цистатина С в крови увеличивается до появления клинических симптомов. Чем тяжелее ренальная патология, тем хуже Цистатин С фильтруется в почках, тем выше его уровень в крови. Связь ММП и ТИМП с Цистатином С разъясняет утяжеления процесса. Определении Цистатина С- скорости клубочковой фильтрации проводиться в Лаборатории SWISS-LAB в Ташкенте в аппарате «ЦИСТОМЕР».

Чтобы оценить роль ММП и ТИМП, участвующих в процессах воспаления и приводящих к нарушению функции почек при хроническом гломерулонефрите нами проводиться исследование полиморфных генов ММП-9 и ТИМП-2 у детей хроническим гломерулонефритом в возрасте от 7 до 15 лет, находившихся на лечении в нефрологическом отделении ОДММЦ, города Самарканда.

Генетические исследования генов ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-2 будут проведены в лаборатории иммунорегуляции Института иммунологии и геномики человека АН РУз. В ДНК лейкоцитов крови больных и практически здоровых будет определяться полиморфизм генов. Выделенные ДНК будет проводиться стандартным нуклеосорбным методом с использованием наборов фирмы Diatom™ DNAPrep 200 (“Лаборатория ИзоГен”, Москва, Россия). Типирование образцов ДНК будет проводиться с использованием специфического олигонуклеотидного праймера с участками гена. ПЦР анализ с использованием набора реагентов для ПЦР амплификации ДНК GenePak™ PCRCore (ООО“Лаборатория ИзоГен”).

Целью данной работы является определение корреляционной взаимосвязи между показателями полиморфных генов ММП-9 и ТИМП-2.

Полученные данные могут быть использованы для ранней диагностики склеротического процесса в оценки прогноза и исхода заболевания, контроля за проводимой терапией у детей хроническим гломерулонефритом.

Определение патогенетического значения полиморфных генов ММП-9 и ТИМП-2 в развитии хронического гломерулонефрита у детей является базой для дальнейшего изучения генов ММП и ТИМП.

Использованная литература:

1. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Е., Асеев М.В. Геном человека и гены «предрасположенности»: введение в предиктивную медицину. СПб.: Интермедика; 2000.
2. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы в развитии фиброза почек при сахарном диабете // Проблемы эндокринологии. 2012. (1). С. 39–44. 8
3. Григорьевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 2. – С. 3–16. DOI: 10.24411/2587-7836-2019.
4. Ли О., Бобкова И.Н., Козловская Л.В. Концентрация в моче матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов как показатель, характеризующий течение хронического гломерулонефрита // Клиническая нефрология. 2009. (1). С. 50–54.
5. Мельник А.А. Фокально-сегментарный гломерулосклероз, генетический анализ и целевая терапия. 2018.7 (1);35-49
6. Морозов С.Л., Длин В.В., Сухоруков В.С., Воронкова А.С. Молекулярная нефропатология: новые возможности в диагностике заболеваний почек. Рос вестн перинатол и педиатр 2017; 62:(3): 32-36.
7. Э.К.Петросян, Т.В.Белинская, Л.И.Ильинко, А.Н.Цугин, В.В. Носиков. Полиморфный маркер 4G/5G Г РА1 -1 гена у детей с хроническим гломерулонефритом у детей. ISSN 1561-6274. Нефрология. 2006. Том 10. №4.
8. Рахманова Л.К., Даминов Б.Т., Каримова У.Н. Методическое пособия. Хронический гломерулонефрит у детей. 2017
9. Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В., Фастова И.А. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор). Вестник новых медицинских технологий. 2011;8 (2):86–9. [Rogova LN, 6. Shesternina NV, Zamechnik TV, Fastova IA. Matrix metalloproteinases, their role in physiological and pathological processes (Review). Bulletin of New Medical Technologies. 2011;8(2):86–9 (In Russ).]
10. Спицына Е.М., Трошкина И.М. Морфологические изменения сердечно-сосудистой системы у больных с хроническим гломерулонефритом. Современные проблемы науки и образования. 2006. № 2.;
11. Суханова Г.А., Терентьева А.А., Кувшинов Н.Н. Роль матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии осложнений при заболеваниях почек у детей. Бюллетень сибирской медицины 2015;14 (3):35–9.
12. О.В. Тирикова, И.А. Филатова; под ред. Н. М. Козловой / Гломерулонефриты: учебное пособие ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра факультетской терапии. – Иркутск: ИГМУ, 2017. – 44с.
13. Шадрин А.С. Плиева Я.З. Кушлинский Д.Н.3 Морозов А.А. Филипенко М.Л. Чанг В.Л. Кушлинский Н.Е. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. Альманах клинической медицины. 2017 Июнь; 45 (4): 266–279
14. Benjamin A., Michael M. Molecular nephropathology: ready for prime time? Am J Physiol Renal Physiol 2015; 309: F185-F188, DOI: 10.1152/ajprenal.00153.2015.
15. Levin M, Udi Y, Solomonov I, Sagi I. Next Generation Matrix Metalloproteinase Inhibitors – Novel Strategies Bring New Prospects. Biochim Biophys Acta. 2017. pii: S0167-4889(17)301611. doi: 1016/j.bbamcr.2017.06.009.
16. Nagase H., Woessner J.F., Jr. Matrix metalloproteinases // J. Biol Chem. 1999. Jul. 30. 274(31). P. 21491–21494.
17. Sabbatini AR, Barbaro NR, Faria AP, Ritter AMV, Modolo R, Correa NB et al. Matrix metalloproteinase-2–735C/T polymorphism is associated with resistant hypertension in a specialized outpatient clinic in Brazil. Gene. 2017; 620:23–29. doi:10.1016/j.gene.2017.04.004