

Клиническое значение полиморфных маркеров генов *TNF*, *IL6* и *IL10* при хроническом гломерулонефрите

Е.С. КАМЫШОВА¹, М.Ю. ШВЕЦОВ^{1,2}, И.М. КУТЫРИНА¹, А.М. БУРДЕННЫЙ^{3,4}, А. ЧЖЭН², В.В. НОСИКОВ⁴, И.Н. БОБКОВА¹

¹ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия; ²ФГБОУ ВПО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ³ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия; ⁴ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучить ассоциацию полиморфных маркеров (ПМ) G(-238)A гена *TNF*, G(-174)C гена *IL6* и G(-1082)A гена *IL10* с клиническими особенностями хронического гломерулонефрита (ХГН) и ответом на иммуносупрессивную терапию (ИСТ).

Материалы и методы. У 102 больных ХГН проанализировали клинические синдромы на момент установления диагноза, морфологические варианты нефрита и ответ на ИСТ в зависимости от носительства исследуемых ПМ генов *TNF*, *IL6* и *IL10*.

Результаты. Ассоциации ПМ G(-238)A гена *TNF* с особенностями клинической картины ХГН не обнаружено. У носителей аллеля С ПМ G(-174)C гена *IL6* по сравнению с гомозиготами GG чаще отмечалось нарушение функции почек на момент установления диагноза ($p=0,014$). У носителей генотипа AA ПМ G(-1082)A гена *IL10* чаще обнаруживали АГ ($p=0,023$); кроме того у них наблюдалась тенденция к более частому сочетанию нефротического синдрома и АГ ($p=0,082$). При анализе распределения морфологических вариантов ХГН обнаружено, что пролиферативные варианты чаще выявляли у больных с генотипом GG (ген *TNF*) по сравнению с носителями аллеля А ($p=0,067$), а непролиферативные формы — у гомозигот GG (ген *IL6*) по сравнению с носителями аллеля С ($p=0,067$). При изучении ответа на ИСТ обнаружено, что полный ответ к 12-му месяцу лечения чаще наступал у носителей аллеля С гена *IL6* ($p=0,045$) и генотипа GG гена *IL10* ($p=0,030$).

Заключение. Обнаружена ассоциация ПМ G(-174)C гена *IL6* и G(-1082)A гена *IL10* с клиническими особенностями ХГН и ответом на ИСТ.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, полиморфный маркер, ген *TNF*, ген *IL6*, ген *IL10*.

Clinical value of *TNF*, *IL-6*, and *IL-10* gene polymorphic markers in chronic glomerulonephritis

Е.С. КАМЫШОВА¹, М.Ю. ШВЕЦОВ^{1,2}, И.М. КУТЫРИНА¹, А.М. БУРДЕННЫЙ^{3,4}, А. ЧЖЭН², В.В. НОСИКОВ⁴, И.Н. БОБКОВА¹

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ²M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ³Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia; ⁴N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Aim. To study the association of the polymorphic markers (PMs) G(-238)A of the *TNF* gene, G(-174)C of the *IL-6* gene, and G(-1082)A of the *IL-10* gene with the clinical characteristics of chronic glomerulonephritis (CGN) and a response to immunosuppressive therapy (IST).

Subjects and methods. Clinical syndromes at the time of diagnosis, the morphological types of nephritis, and a response to IST were analyzed in relation to the carriage of the examined PMs of the *TNF*, *IL-6*, and *IL-10* genes in 102 patients with CGN.

Results. No association was found between the PM G(-238)A of the *TNF* gene and the clinical features of CGN. The carriers of the C allele of the PM G(-174)C of the *IL-6* gene versus the homozygous individuals were observed to have more frequently kidney dysfunction at the time of diagnosis ($p=0.014$). Hypertension was more common in the carriers of the AA genotype of the PM G(-1082)A of the *IL-10* gene ($p=0.023$); moreover, they tended to have a more frequent concurrence of nephrotic syndrome and hypertension ($p=0.082$). Analysis of the distribution of the morphological types of CGN disclosed that the proliferative variants were more common in the patients with the GG genotype (the *TNF* gene) as compared to the A allele carriers ($p=0.067$); and the nonproliferative forms were in the individuals homozygous for GG (the *IL-6* gene) as compared to the C allele carriers ($p=0.067$). Examination of an IST response showed that a complete response at 12 months of treatment occurred more frequently in the carriers of the C allele of the *IL-6* gene ($p=0.045$) and in those of the GG genotypes of the *IL-10* gene ($p=0.030$).

Conclusion. There was an association of the PMs G(-174)C of the *IL-6* gene and G(-1082)A of the *IL-10* gene with the clinical features of CGN and a response to IST.

Keywords: chronic glomerulonephritis, polymorphic marker, *TNF* gene, *IL-6* gene, *IL-10* gene.

АГ — артериальная гипертония
ГН — гломерулонефрит
ГУ — гематурия
ДАД — диастолическое артериальное давление
ИЛ-10 — интерлейкин-10
ИЛ-6 — интерлейкин-6
ИСТ — иммуносупрессивная терапия
НС — нефротический синдром
п.н. — пар нуклеотидов

ПУ — протеинурия
ПЦР — полимеразная цепная реакция
САД — систолическое артериальное давление
СКФ — скорость клубочковой фильтрации
ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания
ТПН — терминальная почечная недостаточность
ФСГС — фокально-сегментарный гломерулосклероз
ХБП — хроническая болезнь почек
ХГН — хронический гломерулонефрит

ЦФ — циклофосфан
 ЭУ — эритроцитурия
 IL13 — ген интерлейкина-13

IL1A — ген интерлейкина-1
 IL1R — ген антагониста рецептора интерлейкина-1

Неуклонный рост заболеваемости хронической болезнью почек (ХБП) и связанных с ней инвалидностью и смертностью представляет собой серьезную медико-социальную проблему во всем мире. В связи с этим по-прежнему актуален поиск новых факторов риска возникновения и прогрессирования почечной недостаточности. В структуре ХБП особое место занимает хронический гломерулонефрит (ХГН) как одна из причин терминальной стадии почечной недостаточности (ТПН). Несмотря на то что в последние годы достигнут значительный прогресс в понимании механизмов возникновения и прогрессирования этого многофакторного заболевания, молекулярно-генетические основы, определяющие разнообразие его клинических проявлений, различия в исходах и эффективности терапии, окончательно не установлены. Их изучение имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение, поскольку создает подходы для разработки персонализированной тактики лечения больных ХГН.

В последние годы особое внимание уделялось изучению роли воспалительного ответа, опосредуемого провоспалительными цитокинами и хемокинами, в поражении почек. В ряде исследований уточнены характеристики основных про- и противовоспалительных цитокинов и механизмы их действия, приводящие к формированию склероза клубочкового аппарата и интерстициальной ткани [1–8]. Это позволило рассматривать кодирующие их гены в качестве возможных генов-кандидатов, полиморфные маркеры которых могут быть ассоциированы с предрасположенностью к развитию и прогрессированию ХГН, определять особенности его клинического течения и ответ на терапию.

Опубликованы единичные работы, посвященные изучению ассоциаций полиморфных маркеров генов цитокинов с транскрипционной активностью и уровнем цитокинов, а также клиническими проявлениями заболеваний

почек, в том числе гломерулонефритов (ГН), эффективностью иммуносупрессивной терапии (ИСТ). Так, обнаружена ассоциация полиморфных маркеров С-889Т гена интерлейкина-1 (*IL1A*) и А-4257G гена интерлейкина-13 (*IL13*) с выраженностью протеинурии [9]. В другой работе генотип АА полиморфного маркера А-4257G гена *IL13* был ассоциирован с развитием нефротического синдрома с минимальными изменениями (НСМИ) у детей [10]. Получены данные о влиянии ряда полиморфных маркеров генов провоспалительных цитокинов интерлейкина-4 (*IL4*), интерлейкина-6 (*IL6*) и фактора некроза опухоли- α (*TNF*) на чувствительность к ИСТ при НСМИ у детей [11]. Для полиморфных маркеров С-592С гена интерлейкина-10 (*IL10*) и VNTR гена — антагониста рецептора интерлейкина-1 (*IL1R*) описана ассоциация с клиническими вариантами ХГН [12]. В то же время в ряде работ [13–15] подобные ассоциации отсутствовали, что объясняется, по-видимому, малым числом исследований, различием изучаемых популяций, в том числе неоднородностью групп по клиническим и морфологическим формам ХГН.

Цель работы состояла в изучении ассоциации полиморфных маркеров G(–238)A гена *TNF*, G(–174)C гена *IL6* и G(–1082)A *IL10* с клиническими особенностями ХГН и ответом на ИСТ.

Материалы и методы

Обследовали 102 больных ХГН (47 мужчин и 55 женщин), наблюдавшихся в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева УКБ №3 ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Клинические особенности ХГН на момент постановки диагноза проанализировали у всех больных. У 38,8% больных протеинурия (ПУ) не превышала 1 г/сут, у 16,3% наблюдалась выраженная (более 1 г/сут) ПУ, но без нефротического синдрома (НС), у 44,9% имелся НС. Прогностически наиболее благоприятное сочетание НС и артериальной гипертензии (АГ) отмечалось у 21,1% обследованных больных. Гематурия (ГУ) на момент постановки диагноза наблюдалась у 61% больных ХГН. Синдром АГ (систолическое артериальное давление — САД ≥ 140 и/или диастолическое артериальное давление — ДАД ≥ 90 мм рт.ст.) отмечался у 30 (35,7%) больных, в том числе у 13 тяжелая АГ (АД $> 160/110$ мм рт.ст.). Нарушение функции почек (скорость клубочковой фильтрации — СКФ СКД-ЕР1 < 60 мл/мин/1,73 м²) на момент установления диагноза ХГН наблюдалось у 19 пациентов, из них у 12 это расценивали как проявление активности нефрита.

На основании совокупности клинических данных на момент постановки диагноза ХГН выделены 4 степени активности ХГН. Минимальную активность ХГН констатировали при ПУ < 1 г/сут, эритроцитурии (ЭУ) < 30 в поле зрения, нормальном или стойко повышенном (выше верхней границы нормы для конкретной лаборатории) уровне креатинина ($n=45$). Умеренной активности

Сведения об авторах:

Швецов Михаил Юрьевич — к.м.н., в.н.с. научно-исследовательский отд. нефрологии НИЦ ПМГМУ им. И.М. Сеченова, доц., каф. внутренних болезней, факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

Кутырина Ирина Михайловна — д.м.н., проф. каф. нефрологии и гемодиализа Института профессионального образования ПМГМУ им. И.М. Сеченова

Бурденный Алексей Михайлович — к.б.н., м.н.с. лаб. постгеномных молекулярно-генетических исследований Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, с.н.с. лаб. патогеномики и транскриптомики НИИ общей патологии и патофизиологии

Чжэн Антай — аспирант каф. внутренних болезней, факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

Носиков Валерий Вячеславович — д.б.н., проф., зав. лабораторией постгеномных молекулярно-генетических исследований Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля

Бобкова Ирина Николаевна — д.м.н., зав. научно-исследовательским отд. нефрологии НИЦ ПМГМУ им. И.М. Сеченова

Контактная информация:

Камышова Елена Сергеевна — к.м.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела нефрологии НИЦ ПМГМУ им. И.М. Сеченова; 199991 Москва, ул. Россолимо, 11, стр. 4; e-mail: kamyshova-es@yandex.ru

ГН соответствовала ПУ от 1 до 3 г/сут в сочетании с сохранной функцией почек. Высокую активность ГН диагностировали при ПУ ≥ 3 г/сут или наличии НС и сохранной функцией почек. Очень высокая степень активности характеризовалась наличием ПУ ≥ 3 г/сут, НС либо ПУ 1–3 г/сут и ЭУ ≥ 30 в поле зрения в сочетании с нарушением функции почек в рамках активности нефрита.

У 56 пациентов диагноз ХГН подтвержден морфологически. Мезангиопролиферативный ГН выявлен у 17 больных, мезангиокапиллярный — у 5, мембранозная нефропатия — у 11, минимальные изменения — у 10, фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) — у 5, фибропластический гломерулонефрит — у 2, нефросклероз — у 5 больных и у 1 пациентки диагностирована С3-нефропатия. На момент проведения биопсии почки средний возраст больных составил $37,1 \pm 17,0$ года; длительность ХГН — $3,2 \pm 5,1$ года.

ИСТ проводилась у 62 больных с активными формами нефрита. Возраст начала ИСТ составил 35,3 (25,7; 52,7) года, длительность ХГН — 6,1 (1,3; 14,3) мес. Большинство пациентов получали стандартную ИСТ, которая включала прием преднизолона у 14 больных в виде монотерапии, у 32 в сочетании с пульс-терапией преднизолоном и циклофосфаном (ЦФ), у 7 в сочетании с приемом цитостатиков (ЦФ принимали 2 пациента, азатиоприн — 2 и препараты микофеноловой кислоты — 3), 9 пациентам назначали циклоспорин А.

Эффективность ИСТ оценивали к 12-му месяцу лечения после достижения полного ответа, которым у пациентов с НС считали купирование его со снижением ПУ до $<0,5$ г/сут (при полном восстановлении или сохранении функции почек), а у больных с активным ХГН без НС — снижение ПУ до $<0,5$ г/сут с полным восстановлением или сохранением функции почек. Частичным ответом считали уменьшение признаков НС или купирование НС с персистенцией ПУ $>0,5$ г/сут с улучшением или сохранением функции почек (для больных с НС) и снижение ПУ не менее чем на 50% с сохранением или восстановлением функции почек (для больных с активным ХГН без НС). Сохранение или нарастание выраженности НС и/или нарушения функции почек, персистенция ПУ $>0,5$ г/сут рассматривали как отсутствие ответа.

Данные об ответе на ИСТ получены у 35 больных: полный ответ к 12-му месяцу лечения достигнут у 31,4% пациентов, частичный — у 31,4% и ответ на ИСТ к 12-му месяцу отсутствовал у 37,1% больных.

Аллели полиморфных маркеров G(-238)A гена *TNF*, G(-174)C гена *IL6* и G(-1082)A гена *IL10* идентифицировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов.

Выделение геномной ДНК из венозной крови обследованных осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции после инкубации образцов крови с протеиназой К в 0,1% растворе SDS. Термостабильная ДНК-полимераза Taq получена от фирмы «Диалат» (Москва, Россия), протеиназа К — от фирмы «Диа-М» (Москва, Россия). Фрагменты геномной ДНК, содержащие полиморфные участки генов-кандидатов, амплифицировали с помощью ПЦР на термоциклере ABI 7500 Fast.

Амплификацию полиморфного участка G(-238)A (rs361525) гена *TNF* проводили с помощью ПЦР в реальном времени на термоциклере CFX96 («BioRad», США) в 10 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01% твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нМ каждого dNTP, 500 нМ праймеров (FJ, 5'-ССТАСАСАААТСАГТСА 3' и RJ, 5'-СААГСАТСААГГАТССС-3'), 100 нМ зондов (FAM, FAM-5'-ctGcTcCgAtTccc-3'-ВНQ1 и VIC, VIC-5'-ctGcTcTgAtTccg-3'-ВНQ2) 1,5 ед. Taq ДНК-полимеразы, 50–100 нг геномной ДНК. Условия амплификации фрагмента ДНК: 95 °С/2 мин — 1-й цикл; 94 °С/10 с, 60 °С/60 с — 40 циклов. Размер продукта амплификации 90 пар нуклеотидов (п.н.). Анализ продуктов амплификации проводили методом детекции «по конечной точке» с помощью встроенных средств программного обеспечения версии BioRad CFX Manager 3.0.

Амплификацию полиморфного участка G(-174)C (rs1800795) гена *IL6* осуществляли с помощью ПЦР на основе аллельспеци-

фичной ПЦР с использованием 3 пар праймеров (F-внеш., GACTTCAGCTTTACTCTTTGTCAAGACA R-внеш., GCACACA CAGAAGGCACTTGAATAGA, R-внутр., GAATGAGCCTCAGACATCTCCAGTCCSTA) в 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01% твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нМ каждого dNTP, 500 нМ праймеров. Условия амплификации фрагмента ДНК: 95 °С/2 мин — 1-й цикл; 92 °С/10 с, 62 °С/15, 72 °С/20 — 35 циклов. Размер продукта амплификации 326 и 205 и/или 176(С). Анализ продуктов амплификации проводили методом электрофоретического разделения.

Амплификацию полиморфного участка G(-1082)A (rs1800896) гена *IL10* выполняли с помощью ПЦР в реальном времени на термоциклере ABI 7500 Fast («Applied Biosystems», США) в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01% твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нМ каждого dNTP, 500 нМ праймеров (FJ, 5'-GGAAGAAGTTGAAATAACAAG-3' и RJ, 5'-CCAAGAC AACACTACTAAG-3'), 100 нМ зондов (FAM, FAM-5'-acttcCcc CtcCcaaa-3'-ВНQ1 и VIC, VIC-5'-acttcCccTtcCcaaa-3'-ВНQ2) 1,5 ед. Taq ДНК-полимеразы, 50–100 нг геномной ДНК. Условия амплификации фрагмента ДНК: 95 °С/2 мин — 1-й цикл; 94 °С/10 с, 60 °С/60 — 40 циклов. Размер продукта амплификации 126 п.н. Анализ продуктов амплификации проводили методом детекции «по конечной точке» с помощью встроенных средств программного обеспечения версии SDS 1.4.

При статистической обработке данных для протяженных переменных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение ($\text{mean} \pm SD$) или медиану, 25-й и 75-й квартили — Me (25%; 75%) в зависимости от соответствия данных нормальному распределению. Достоверность различий оценивали с помощью критерия U Манна—Уитни. Для проверки статистической значимости различий частотных показателей использовали критерий χ^2 по Пирсону. Достоверными считали различия при $p < 0,05$; $0,05 \leq p < 0,1$ рассматривали как тенденцию к различию.

Результаты

Генотипы исследуемых полиморфных маркеров генов распределялись следующим образом: частота генотипа GG полиморфного маркера G(-238)A гена *TNF* составила 72,5%, генотипа GA — 24,5%, генотипа AA — 3%. Генотип GG полиморфного маркера G(-74)C гена *IL6* выявлен у 72,5% больных, генотип GC — у 10,8% и генотип CC — у 16,7%. Генотип GG полиморфного маркера G(-1082)A гена *IL10* идентифицирован в 9,8% случаев, генотип GA — в 50% и генотип AA — в 40,2%.

В связи с малым количеством гомозигот по минорным аллелям исследуемых генов дальнейший анализ проводили в следующих группах: для гена *TNF* в группах GG и A (объединявшей носителей генотипов GA и AA); для гена *IL6* в группах GG и C (включавшей больных с генотипами GC и CC); для гена *IL10* в группах G (в которую объединили гомозигот GG с гетерозиготами GA) и AA.

Ассоциации исследуемых полиморфных маркеров с возрастом начала ХГН не обнаружено. Соотношение мужчин и женщин в выделенных группах также было сопоставимым.

При изучении особенностей клинической картины на момент диагностики ХГН в зависимости от полиморфного маркера G(-238)A гена *TNF* достоверных различий между группами не обнаружено.

Выявлена тенденция к различиям активности ХГН в зависимости от генотипов полиморфного маркера G(-174)C гена *IL6*: в группе больных с генотипом GG частота развития активного ГН (выраженная ПУ/НС с сохранной функцией почек) выше, чем у носителей аллеля C (41,9 и

Характеристика больных ХГН на момент проведения биопсии почки в зависимости от аллелей и генотипов исследуемых полиморфных маркеров генов TNF, IL6 и IL10

Показатель	Ген TNF			Ген IL6			Ген IL10		
	генотип GG (n=40)	аллель А (n=14)	p	генотип GG (n=27)	аллель С (n=8)	p	аллель G (n=19)	генотип AA (n=16)	p
Возраст начала ИСТ, годы	33,6 (25,5; 52,1)	38,6 (24,9; 58,9)	Нд	35,9 (25,9; 52,2)	29,2 (25,3; 55,4)	Нд	29,7 (25,3; 55,1)	35,9 (25,9; 51,6)	Нд
Длительность ХГН до начала ИСТ, мес	7,3 (1,5; 19,5)	3,7 (0,8; 7,5)	Нд	7,0 (1,9; 15,2)	4,0 (0; 9,9)	Нд	7,5 (1,9; 20,9)	4,0 (1,2; 9,5)	Нд
Полный ответ на ИСТ к 12-му месяцу, %	29,2	36,4	Нд	22,2	62,5	0,045	47,4%	12,5%	0,030

Примечание. Нд — недостоверно.

25% соответственно; $p=0,088$), в то время как у носителей аллеля С чаще обнаруживали очень высокую активность ХГН (выраженная ПУ/НС с нарушением функции почек) по сравнению с группой GG (21,4 и 8,1% соответственно; $p=0,069$). Кроме того, в целом у носителей аллеля С гена IL6 по сравнению с больными, гомозиготными по аллелю G, на момент постановки диагноза ХГН чаще отмечалось нарушение функции почек (в 35,7 и 13% случаев соответственно; $p=0,014$).

У носителей генотипа AA полиморфного маркера G(-1082)A гена IL10 чаще обнаруживали АГ в дебюте ХГН (у 56,3% по сравнению с 32,2% носителей аллеля G; $p=0,023$). У них же наблюдалась тенденция к более частому сочетанию НС и АГ в начале заболевания (29,7% по сравнению с 15,5% у больных из группы IL10G; $p=0,082$).

В зависимости от результатов морфологического исследования биоптата почки пациентов объединили в 2 группы. В 1-ю группу включили больных с пролиферативными вариантами ХГН (22 с мезангиопролиферативным и мембранопротролиферативным ГН), а во 2-ю группу — 26 пациентов с непролиферативными формами (мембранозной нефропатией, ФСГС, болезнью минимальных изменений); больных с нефросклерозом и фибропластическим ГН из этой части анализа исключили, поскольку на этой стадии определить первичную форму нефрита не представлялось возможным. Обнаружена тенденция к более высокой распространенности пролиферативных вариантов ХГН у больных с генотипом GG (ген TNF) по сравнению с носителями аллеля А (46,3 и 20% соответственно; $p=0,067$), тогда как у лиц с генотипом GG (ген IL6) несколько чаще наблюдались непролиферативные формы нефрита (53,7%) по сравнению с носителями аллеля С (26,7%; $p=0,067$).

При изучении ответа на ИСТ обнаружено, что у носителей аллеля С гена IL6 и генотипа GG гена IL10 частота достижения полного ответа к 12-му месяцу лечения достоверно выше (см. таблицу).

Обсуждение

Полиморфный маркер G(-238)A гена TNF, кодирующего фактор некроза опухоли- α , — мощный провоспалительный цитокин, продуцируемый активированными макрофагами, при заболеваниях почек практически не изу-

чен. Мы обнаружили только две работы, в которых обследуемые группы включали пациентов с ТПН в исходе различных первичных и вторичных нефропатий. В одной из этих работ ассоциация данного полиморфного маркера с предрасположенностью к почечной недостаточности и развитием сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) при ТПН отсутствовала [16], в то время как в другой носительство генотипа AA полиморфного маркера G(-238)A было ассоциировано с повышенным риском развития ТПН [17]. В нашем исследовании не обнаружена ассоциация данного полиморфного маркера с клиническими проявлениями ХГН. Однако выявлена тенденция к более высокой частоте выявления пролиферативных вариантов ХГН у больных с генотипом GG по сравнению с носителями аллеля А (46,3 и 20% соответственно; $p=0,067$). Вероятно, это может отражать более выраженное стимулирующее влияние TNF- α на пролиферацию мезангиальных клеток у носителя данного генотипа.

Ассоциация с поражением почек полиморфного маркера G(-174)C гена IL6, кодирующего другой медиатор воспаления — интерлейкин-6 (ИЛ-6), также изучена недостаточно. По данным одних исследований, с более высокими уровнями ИЛ-6 в крови ассоциировано носительство аллеля С [18], а по другим — аллеля G [19]. В нескольких работах носительство аллеля С ассоциировано с худшим прогнозом (например, более низкой выживаемостью почечного трансплантата [20]) и предрасположенностью к развитию ССЗ [21,22], в том числе при заболеваниях почек. Так, у пациентов, получающих диализную терапию, носительство аллеля С ассоциировано с высоким АД, гипертрофией левого желудочка и снижением функционального статуса [23]. По нашим данным, «неблагоприятным» оказалось носительство аллеля С, которое ассоциировано с более частым нарушением функции почек в дебюте ХГН. Однако при изучении ответа на ИСТ, оказалось, что у носителей аллеля С частота достижения ремиссии к 12-му месяцу терапии выше, чем у гомозигот GG. Этот результат отчасти согласуется с результатами исследования S. Agrawal и соавт. [11], которые обнаружили более высокую распространенность генотипа GG у детей со стероидрезистентным НС, что свидетельствовало об ассоциации между данным полиморфным маркером и ответом на стероиды. Поскольку мы не исследовали корреляции между носительством различных генотипов исследуе-

мого полиморфного маркера и уровнем ИЛ-6 в крови, механизмы, лежащие в основе выявленных ассоциаций, нуждаются в уточнении.

Активно изучаются ассоциации полиморфных маркеров гена *IL10*, кодирующего основной противовоспалительный цитокин — интерлейкин-10 (ИЛ-10), который угнетает секрецию Th1-клетками ИЛ-1, α -ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 [24–26] и снижает активность макрофагов. Ген *IL10*, кодирующий синтез ИЛ-10, состоит из 5 экзонов и содержит 3 однонуклеотидных полиморфизма: C(–592)A, C(–819)T и G(–1082)A [27, 28]. Из них наиболее исследован полиморфизм G(–1082)A; обнаружено, что носительство генотипа AA ассоциировано с низким уровнем ИЛ-10 и повышенной смертностью, связанной с ССЗ, у больных с ТПН [28, 29]. Полученные нами результаты свидетельствуют об ассоциации генотипа AA с АГ на момент диагностики ХГН, а также о тенденции к более частому сочетанию НС и АГ в начале заболевания. Кроме того, мы обнаружили ассоциацию между данным полиморфным маркером и эффективностью ИСТ: пациенты с генотипом AA гена *IL10* хуже отвечали на ИСТ по сравнению с носителями аллеля G (положительный ответ наблюдался в 12,5 и 47,4% случаев соответственно; $p=0,029$). В мировой литературе связь данного полиморфного маркера с ответом на ИСТ при первичном ГН не отражена. В работе Т.Н. Красновой и соавт. [30], оценивавших взаи-

мосвязь данного полиморфного маркера с течением волчаночного нефрита, носительство аллеля A оказалось связано с лучшим ответом на лечение. Таким образом, выявленная нами ассоциация между полиморфным маркером G(–1082)A гена *IL10* и эффективностью ИСТ нуждается в уточнении в последующих исследованиях, равно как и механизмы влияния ИЛ-10 на клинические особенности ХГН.

Заключение

На основании полученных результатов можно сделать вывод об ассоциации полиморфных маркеров G(–238)A гена *TNF*, G(–174)C гена *IL6* и G(–1082)A гена *IL10* с клиническими и морфологическими особенностями ХГН, а также ответом на ИСТ. Однако необходимы дальнейшие исследования в более крупных выборках, в том числе с использованием подходов, позволяющих уточнить совокупный вклад данных (и других) генов в развитие заболевания, персонифицировать прогноз и терапевтическую тактику.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №14-04-01819).

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вашурина Т.В., Сергеева Т.В. Цитокины и адгезивные молекулы в патогенезе хронического гломерулонефрита. *Нефрология и диализ*. 2002;3:171-181.
2. Богомазов С.Ю., Гладских О.П., Иванов А.А. и др. Цитокины и внеклеточный матрикс при экспериментальных гломерулопатиях. *Архив патологии*. 1997;59(6):45-50.
3. Chen A, Chen W, Sheu L, Lin C. Pathogenesis of IgA nephropathy: In vitro activation of human mesangial cells by IgA immune complex leads to cytokine secretion. *J Pathol*. 1994;173(2):119-126. doi:10.1002/path.1711730208.
4. Liang Y, Zhang J, Zhou Y, Xing G, Zhao G, Liu Z. Proliferation and Cytokine Production of Human Mesangial Cells Stimulated by Secretory IgA Isolated from Patients with IgA Nephropathy. *Cel Physiol Biochem*. 2015;36(5):1793-1808. doi:10.1159/000430151.
5. Couser W. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(90001):10-15. doi:10.1093/ndt/13.suppl_1.10.
6. Waldherr R, Noronha I, Niemi Z, Krnšić S, Stein H, Stumm G. Expression of cytokines and growth factors in human glomerulonephritides. *Pediatr Nephrol*. 1993;7(4):471-478. doi:10.1007/bf00857578.
7. Ifuku M, Miyake K, Watanebe M et al. Various Roles of Th Cytokine mRNA Expression in Different Forms of Glomerulonephritis. *Am J Nephrol*. 2013;38(2):115-123. doi:10.1159/000353102.
8. Чеботарева Н.В., Бобкова И.Н., Непринцева Н.В. и др. Молекулярные маркеры повреждения подоцитов: значение для оценки течения и прогноза хронического гломерулонефрита. *Терапевтический архив*. 2015;6:34-39.
9. Чурносоев М.И., Калмыкова Е.В., Некипелова Е.В., Рудых Н.А., Аристов И.К., Должников А.А. Аллельные варианты генов интерлейкинов при хроническом гломерулонефрите. *Цитокины и воспаление*. 2010;9(2):37-41.
10. Петросян Э.К., Цыгин А.Н., Шестаков А.Е., Носиков В.В. Роль генетического полиморфизма интерлейкинов 4 и 13 в развитии нефротического синдрома с минимальными изменениями у детей и подростков. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2006; 5: 7-10.
11. Agrawal S, Tripathi G, Jafar T et al. Does cytokine gene polymorphism affect steroid responses in idiopathic nephrotic syndrome? *Indian J Med Sci*. 2008;62(10):383. doi:10.4103/0019-5359.44017.
12. Калмыкова Е.В., Полякова И.С., Прошаев К.И. и др. Изучение взаимосвязей молекулярно-генетических маркеров интерлейкинов с клиническим течением хронического гломерулонефрита. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2009;4:619-620.
13. Parry R, Gillespie K, Parnham A, Clark A, Mathieson P. Interleukin-4 and interleukin-4 receptor polymorphisms in minimal change nephropathy. *Clin Sci*. 1999;96(6):665-668. doi:10.1042/cs0960665.
14. Vázquez-Huerta DI, Alvarez-Rodríguez BA, Topete-Reyes JF et al. Tumor necrosis factor alpha -238 G/A and -308 G/A polymorphisms and soluble TNF- α levels in chronic kidney disease: correlation with clinical variables. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(8):2111-2119.
15. Amoli MM, Martin J, Miranda-Filloo JA et al. Lack of association between interleukin-6 promoter polymorphism at position -174 and Henoch-Schönlein purpura. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(1 Suppl 44):S6-9.

16. Buraczynska M, Mierzicki P, Buraczynska K, Dragan M, Ksiazek A. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism correlates with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Mol Diag Ther.* 2007;11(4):257-263. doi:10.1007/bf03256247.
17. Ranganath P, Tripathi G, Sharma R, Sankhwar S, Agrawal S. Role of non-HLA genetic variants in end-stage renal disease. *Tissue Antigens.* 2009;74(2):147-155. doi:10.1111/j.1399-0039.2009.01276.x.
18. Brull D, Montgomery H, Sanders J et al. Interleukin-6 Gene -174G>C and -572G>C Promoter Polymorphisms Are Strong Predictors of Plasma Interleukin-6 Levels After Coronary Artery Bypass Surgery. *Arterioscler, Thrombos, Vasc Biol.* 2001;21(9):1458-1463. doi:10.1161/hq0901.094280.
19. Семенова Н.А., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Роль полиморфизма гена IL6 -174C/G в развитии хронической HCV-инфекции. *Бюллетень сибирской медицины.* 2010;5:93-97.
20. Muller-Steinhardt M, Hartel C, Muller B, Kirchner H, Fricke L. The interleukin-6 -174 promoter polymorphism is associated with long-term kidney allograft survival. *Kidney Int.* 2002; 62(5):1824-1827. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00609.x.
21. Chiappelli M, Tampieri C, Tumini E et al. Interleukin-6 gene polymorphism is an age-dependent risk factor for myocardial infarction in men. *Int J Immunogenet.* 2005;32(6):349-353. doi:10.1111/j.1744-313x.2005.00537.x.
22. Sie M. Interleukin 6 -174 G/C Promoter Polymorphism and Risk of Coronary Heart Disease: Results from the Rotterdam Study and a Meta-Analysis. *Arterioscler, Thrombos, Vasc Biol.* 2006;26(1):212-217. doi:10.1161/01.atv.0000194099.65024.17.
23. Losito A, Kalidas K, Santoni S, Jeffery S. Association of interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *Kidney Int.* 2003;64(2):616-622. doi:10.1046/j.1523-1755.2003.00119.x.
24. Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F et al. Human IL-10 is produced by both Type 1 Helper (Th1) and Type 2 Helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and Cytokine Production. *J Immunol.* 1993;150:353-360.
25. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR et al. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol.* 1991;147:3815-3822.
26. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R et al. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol.* 1993;1:165-190.
27. Turner D, Williams D, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott P, Hutchinson I. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogen.* 1997;24(1):1-8. doi:10.1111/j.1365-2370.1997.tb00001.x.
28. Eskdale J, Gallagher G, Verweij C, Keijsers V, Westendorp R, Huizinga T. Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95(16):9465-9470. doi:10.1073/pnas.95.16.9465.
29. Girndt M, Ulrich C, Kaul H, Sester U, Sester M, Kohler H. Uremia-associated immune defect: the IL-10-CRP axis. *Kidney Int.* 2003;63:S76-S79. doi:10.1046/j.1523-1755.63.s84.14.x.
30. Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Иваницкий Л.В., Корогодина А.Д., Борисов Е.Н., Никифорова Н.В., Новиков П.И., Камалов А.А., Мухин Н.А. Влияние полиморфизмов генов интерлейкина-10 и интерлейкина-28 на развитие и течение волчаночного нефрита. *Терапевтический архив.* 2015;87(6):40-44.

Поступила 25.02.2016