ISSN 1561-6274. Нефрология. 2001. Том 5. № 3.

© М.С.Игнатова, 2001
УДК 616.61-056.7+575.113

М.С.Игнатова

НЕФРОЛОГИЯ В АСПЕКТЕ СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКИ

M.S.Ignatova

NEPHROLOGY IN THE ASPECT OF MODERN GENETICS

Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии, Россия

Ключевые слова: генетика в нефрологии, синдром Альпорта, почечный дизэмбриогенез, синдром Фрайзера, хромосомные варианты, молекулярно-генетические, цитогенетические исследования.

Key words: genetics in nephrology, Alport syndrome, renal dysembryogenesis, Frasier syndrome, chromosome variants, molecular genetical, cytogenetical investigations.

На рубеже II и III тысячелетий произошло важнейшее событие — расшифровка генома человека. Это дало и дает возможность ответить на вопросы сущности многих заболеваний, которые длительно считались идиопатическими. Важность внедрения достижений клинической генетики в нефрологию связана с несколькими факторами:

— постоянным увеличением в популяции наследственной патологии почек, как ранее определенной в виде генетически детерминированных заболеваний, так и новой, впервые описываемой в литературе;

— появление наследственных болезней почек de novo, возможно в связи с нарастающим грузом неблагоприятных экологических воздействий;

— большой частотой развития хронической почечной недостаточности (ХПН) в детском возрасте при наследственных болезнях почек.

Роль генетики в развитии нефрологии не ограничивается возможностью определения наследственной природы заболеваний, сущность которых была неизвестна. На основании достижений теоретической и клинической генетики, дополнены факторы риска развития заболеваний почек мультифакториальной природы. Сформулирована гипотеза о сочетанном влиянии генетических и средовых факторов в индивидуализации течения нефропатий. Одним из важнейших достижений генетики в нефрологии можно считать определение генного контроля формирования базальных мембран при финском типе нефротического синдрома и наследственном нефрите, которые являются основой для разработки генно-инженерного лечения указанных заболеваний [22].

В данной работе представлены аспекты современной генетики в нефрологии, которые связаны с исследованиями, непосредственно выполняемыми коллективом отделения наследственных и приобретенных болезней почек МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ.

К началу XXI столетия среди наиболее изученных с генетических позиций оказался синдром Альпорта. В 1902 г. L.Guthrie дал первое описание семьи, в которой в нескольких поколениях имела место гематурия, а в 1927 г. A.Alport отметил, что у некоторых членов этой семьи развивается тугоухость, и уремия чаще наблюдается у мужчин, чем у женщин. Собственно с этого времени начато описание наследственного нефрита, который чаще в литературе представляется как синдром Альпорта. По мере изучения наследственного нефрита становилось очевидным, что это заболевание встречается чаще, чем диагностируется. По эпидемиологическим данным, полученным при исследовании российской популяции в 70—80-е годы XX в., оказалось, что наследственный нефрит определяется с частотой 17:100 000 детского населения [1]. 2,3% почечных трансплантаций в Европе проводятся больным с синдромом Альпорта [21].

При наблюдении за членами более 150 семей с наследственным нефритом нами была высказана гипотеза, что в основе заболевания лежит патология соединительной ткани и прежде всего коллагена базальных мембран [5]. В качестве оценки состояния коллагена базальных мембран клубочковых капилляров представлялись данные экскреции с мочой оксилизингликозидов и их фракций: глюкозилгалактозилоксилизина и галактозилоксилизина, соотношение которых изменяется в биологических жидкостях в зависимости от вида коллагена [24]. При наследственном нефрите наблюдалось пре-

обладание фракции оксилизингликозидов, входящих в состав базальных мембран (БМ) клубочков, канальцев почек, кортиева органа и капсулы хрусталиков глаз, поражение которых характерно для синдрома Альпорта. Проведение генетических исследований дало возможность L. Menlove и соавт. [20] идентифицировать ген на длинном плече Х-хромосомы в зоне 21–22q, ответственный за развитие синдрома Альпорта. Дальнейшие генетические, биохимические и иммуногистологические исследования привели к тому, что в настоящее время синдром Альпорта рассматривается как первичное генетическое заболевание базальных мембран, клинически манифестирующее как прогрессирующая нефропатия, нередко ассоциированная с тугоухостью и патологией зрения, для которой характерна фенотипическая и генотипическая гетерогенность [16].

Синдром Альпорта развивается в связи с мутацией генов, ответственных за структуру коллагена IV типа, который является основной коллагеновой частью БМ. Генетическая гетерогенность заболевания проявляется прежде всего в том, что мутация может произойти в нескольких генах. Около 80% больных имеют Х-сцепленные формы заболевания, связанные с мутацией гена COL4A5 [18]. Большинство из оставшихся больных имеют аутосомно-рецессивную форму болезни, связанную с мутациями генов COL4A3 или COL4A4, расположенных на длинном плече 2-й хромосомы. Аутосомно-доминантный вариант патологии, связанный с мутацией генов, ответственных за COL4A3 и COL4A4, встречается редко [15]. Клинико-генетические исследования, проведенные сотрудницей нашего отдела Ф.Д.Цаликовой, показали, что в 211 семьях с наследственным нефритом в 58% отмечался Х-сцепленный вариант заболевания, в 6% — аутосомно-рецессивный и в 16% — аутосомно-доминантный, что говорит о большем распространении этого варианта наследования в российской популяции. В 20% семей ограниченность фрагментов родословных не позволяла уточнить тип наследования, что не исключало наличие среди них отдельных случаев мутации de novo [9]. К настоящему времени описаны несколько сот вариантов мутации гена COL4A5, которые являются причиной развития синдрома Альпорта. В общую копилку вариан-

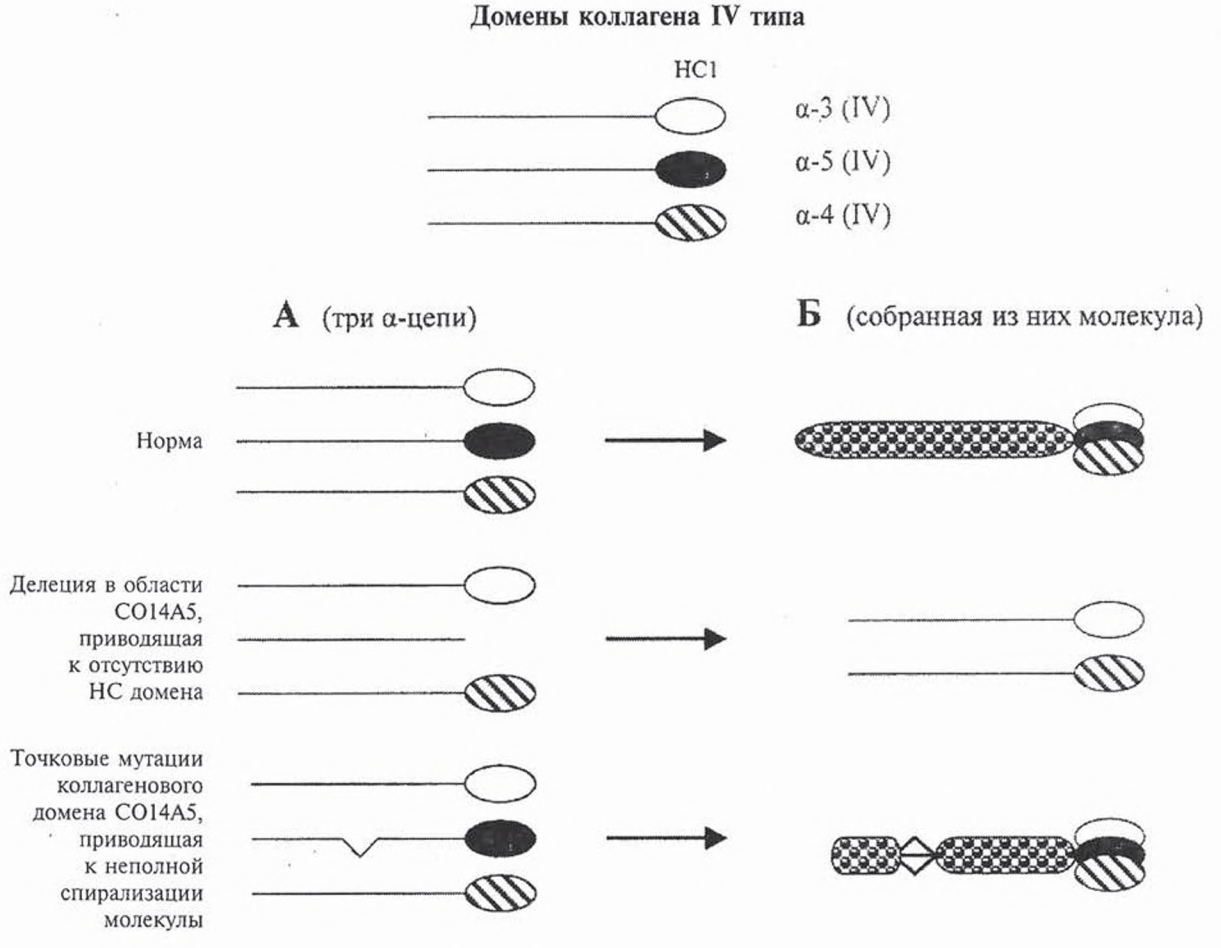

Рис. 1. Образование молекул коллагена IV типа из нормальных и поврежденных альфа-цепей, характерное для синдрома Альпорта.

тов мутации вошли и данные наших исследований [23]. Становится очевидным, что за малым исключением для каждой семьи характерна уникальная мутация гена COL4A5.

Определение места и характера мутации гена, ответственного за структуру и биохимию БМ-клубочков и канальцев почек, важно для понимания причин развития клинических проявлений болезненного процесса и его прогрессирования. В зависимости от варианта мутации отличается характер нарушения сборки молекулы коллагена БМ, что и является основой патологии наследственного нефрита (рис. 1).

По данным многочисленных исследований [14], 5–15% мутации гена COL4A5 проявляются крупными делециями. В остальных случаях это относительно нетяжелые мутации в виде замены аминокислот, так называемые точковые мутации. Наши исследования [8] подтверждали имеющиеся в литературе сведения, что обширные делеции гена проявляются тяжелым течением синдрома Альпорта, наличием экстраренальных проявлений, ранним развитием почечной недостаточности.

В семье С. гематурия определялась у двух двоюродных сибсов и у их матерей (рис. 2). Дед по линии матери пробанда, 8-летнего мальчика, а также его дядя — брат матери, погибли в возрасте 40 лет с явлениями уремии и тугоухости. У пробанда с первых лет жизни отмечалась гематурия, в возрасте 10 лет выявилось нейросенсорное снижение слуха. При морфобиоптическом исследовании почек на электронограмме определялось утолщение БМ, их деструкция с отложением гранулярного вещества в центре мембран, что типично для наследственного нефрита. Аналогичная картина отмечалась при электронно-микроскопическом исследовании биоптата почки кузины пробанда. ДНК-диагностика выявила обширную делецию многих экзонов гена, кодирующего альфа-5 цепь коллагена 4-го типа, у обоих детей и их матерей. Таким образом, в семье выявлена однотипная мутация гена COL4A5, что проявлялось не только наличием гематурии у пораженных членов семьи, но тугоухости и снижения почечных функций у представителей мужского пола (у пробанда с 10 лет отмечается нарастание уровня креатинина сыворотки крови).

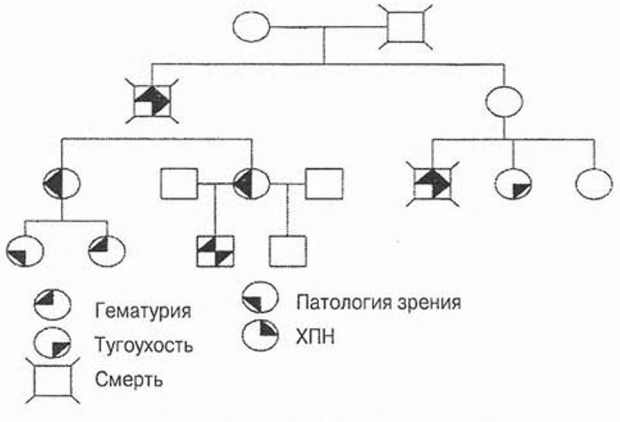

Рис. 2. Фрагмент родословной семьи С. (диагноз — синдром Альпорта).

При наличии точковой мутации, однонуклеотидной замены в 46-м или в 47-м экзоне, которая определена в двух различных семьях, у всех пораженных членов семей обнаруживалась только гематурия (рис. 3).

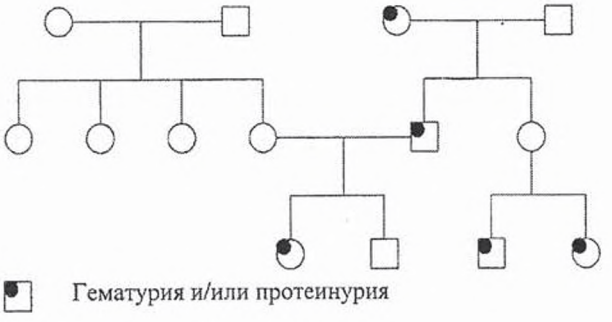

Рис. 3. Фрагмент родословной семьи Б. (диагноз — наследственный нефрит).

Молекулярно-генетическое исследование может не только подтвердить наличие наследственного заболевания, но в случаях невозможности раннего клинико-морфологического обследования ребенка из семьи, где имеются случаи наследственного нефрита, ответить на вопрос — поражен ли необследованный член семейства на основании идентификации Х-хромосомы у матери и ее детей. Такая пресимптоматическая диагностика была проведена в нашем отделе и позволила исключить поражение почек у одного из трех братьев (рис. 4).

С эффектом нарастающего снежного кома появляется информация о роли регуляторных молекул в онтогенезе почек [10]. Уже в 70-е годы XX в. нами представлялись клинические описания вариантов почечного поражения, связанные с различными типами дизэмбриогенеза почек [3].

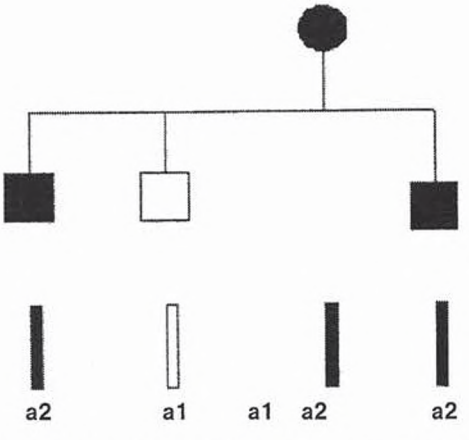

Рис. 4. Пресимптоматическая диагностика передачи Х-хромосомы в семье Хвт.

Мать, старший и младший сибсы имеют идентичную Х-хромосому, средний сибс — здоров. Диагноз у пораженных — синдром Альпорта.

Причем не редкостью оказывался вариант почечного дизэмбриогенеза, при котором отмечаются как признаки недоразвития, так и неправильного развития элементов почечной паренхимы, названный нами — гипопластическая дисплазия [4]. При гипопластической дисплазии относительно редко встречается нефротический синдром, однако, если он развивается, то, как правило, имеет характер гормонорезистентного.

К проблеме гормонорезистентного нефротического синдрома в настоящее время привлечено большое внимание. В определенной мере это связано с учащением случаев гормонорезистентности у детей, наблюдаемых в специализированных нефрологических стационарах [7]. В настоящее время уже выделен ген, ответственный за развитие аутосомно-рецессивного стероидрезистентного нефротического синдрома (НС). Этот ген расположен на хромосоме 1q25—q31 [12]. Три различных гена обнаружили B.Mathis и соавт. [19] и M.Winn и соавт. [25] при аутосомно-доминантном фокально-сегментарном гломерулосклерозе (ФСГС), клинически проявляющегося гормонорезистентным нефротическим синдромом. При гормонорезистентном НС считается необходимым исследовать и мутацию WT1-гена опухоли Вильмса, расположенного на хромосоме 11p [11]. WT1 ответствен за развитие почек и гонад, а также кодирует белок, действующий как регулятор транскрипции и супрессии опухоли, при его мутации развивается НС, при котором нецелесообразно использование ни стероидов, ни других иммуносупрессантов, так как они не только неэффективны, но могут способствовать бластогенезу. Danys-Drash- и Frasier-синдромы детерминированы мутациями одного и того же WT1, однако, мутация отмечается в различных фрагментах гена, что определяет фенотипические различия между указанными заболеваниями [17]. Для больных с указанными заболеваниями характерно при женском фенотипе и дизгенезии гонад наличие 46,XY. Выраженный мужской псевдогермафродитизм с женским фенотипом сочетается с НС, обусловленного либо ФСГС — при синдроме Фрайзера, либо диффузным мезангиальных склерозом — при Денис-Драш-синдроме. Для последнего более характерно развитие опухоли Вильмса. Под нашим наблюдением в настоящее время находится двое детей с синдромом Фрайзера и один ребенок предположительно с Денис-Драш-синдромом.

Аня А. от 11-й беременности у матери, у которой 7 беременностей закончились спонтанными абортами, а две — родами детьми, у которых наблюдались состояния, несовместимые с жизнью (рис. 5). С 2-летнего возраста после кратковременной анурии у Ани отмечалась постоянная протеинурия, достигающая 6—8 г в сутки, гипопротеинемия (альбумин сыворотки крови в пределах 20 г/л), гиперлипидемия. С диагнозом неполный (безотечный) НС девочка получала многократно преднизолон в дозе 2 мг/(кг · 24 ч) без эффекта. С 11 лет появилась нарастающая гипертензия. При обследовании в специализированной клинике в возрасте 13 лет выражен женский фенотип, поведение адекватно паспортному полу. Кариотип 46,XY со сбалансированной транслокацией 13-й и 16-й хромосом. Транслокация 13-й, 16-й хромосом выявлена также у матери и сестры пробанда. В результате молекулярно-цитогенетического исследования кариотип ребенка записан как 46,XY, t (13;16) (13 pter→13q 12.3;16 pter→13q 12.3→13 qter) mat., где отражена протяженность сегментов дериватных хромосом, вовлеченных в транслокацию материнского происхождения. При морфобиоптическом исследовании почки выявлен ФСГС. У больной при нормальных женских гениталиях выявлены тяжистые гонады, представленные тканью семенников. В связи с возможностью малигнизации гонад было проведено билатеральное их удаление с маточными трубами. При гистологическом исследовании выявлено, что левая труба имеет истонченную стенку с ангиоматозными структурами, рудиментарная гонада по строению близка к придатку яичка, ее канальцы резко диспластичны. Правая труба — обычного строения, рудиментарная гонада представлена соединительной тканью, миелобластами, сосудами. Таким образом, у пациентки с инфантильным НС, связанным с ФСГС, определен мужской псевдогермафродитизм с женским фенотипом, что является основанием для постановки диагноза: синдрома Фрайзера. Обнаружение этого синдрома предусматривало исключение в лечении различных иммуносупрессантов и диспансерное наблюдение в связи с начинающимся снижением почечных функций, которые могут привести на 2—3-десятилетии жизни к ХПН.

Молекулярно-цитогенетические исследования важны не только для обнаружения дефектов половых хромосом. Выявление у нефрологических больных патологии двух органов и более, кроме почек, наличие множественных малых аномалий развития, а также задержка психомоторных функций являются показаниями для проведения цитогенетического обследования. Чаще не почечная патология является основой синдрома, связанного с хромосомными аберрациями, однако, под нашим наблюдением находились больные, где именно аномалия хромосом была причиной тяжелого течения НС. В частности, у девочки Ц. НС развился на 2-м году жизни при кистозной дисплазии почек и привел к терминальной почечной недостаточности в 13-летнем возрасте. Цитогенетически выявлялся синдром Орбели, мозаичный вариант (46,XX/46,XX/13q) [6].

Особое место занимают цитогенетические исследования у больных, подвергающихся неблагоприятному воздействию экологических факторов. Показано, что хромосомы человека отличаются высокой чувствительностью к действию радиации и различных ксенобиотиков [13]. Проведенные нами исследования совместно с сотрудниками цитогенетической лаборатории института [2] показали, что в популяции детей, проживающих на территории, загрязненной тяжелыми металлами, на порядок чаще, чем в

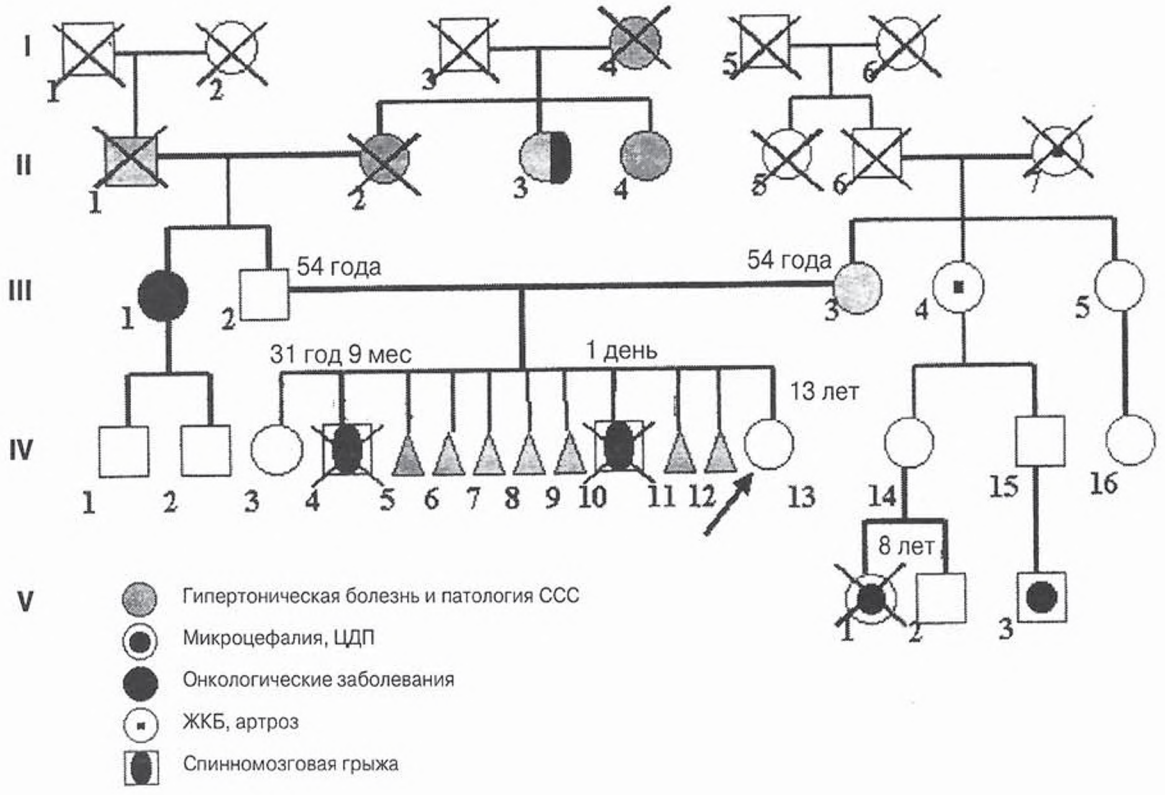

Рис. 5. Фрагмент родословной Ани А.

Диагноз — синдром Фрайзера: гормонорезистентный нефротический синдром, мужской пседогермафродитизм при женском фенотипе.

общей популяции, отмечаются хромосомные варианты в виде увеличения околоцентромерного гетерохроматина (С-гетерохроматина). Чаще это касается 9-й, 1-й и 15-й хромосом.

Случаи увеличения околоцентромерного гетерохроматина (С-гетерохроматина) и нормального кариотипа у детей, подверженных воздействию солей тяжелых металлов приведены ниже.

1.46,XX, 9phqh	22.46,XY,13 cenh+,14 cenh+, 15cenh+
2.46,XX,9qh +	23.46,XX,1phqh,9phqh,9qh+, 15cenh+,16qh+
3–10.46,XX	24.46,XX,9phqh,9qh+,15cenh+, 16qh+
11.46,XX,1qh+	25.46,XX,9phqh
12.46XX,9phqh	26.46,XX,9qh+,16qh+,21cenh+
13-18.46,XY	27.46,XY,9phqh,9qh+
19.46,XX,9phqh,15cenh+	28.46,XX,1phqh,9qh+
20.46,XX,9phqh,14cenh+	29.46,XX,9phqh
21.46,XY,9qh+	30.46,XY,9phqh

При обследовании родителей детей с хромосомными вариантами обнаружены в ряде случаев однотипные изменения.

1. *Семья Ч.*
Ребенок — 46,XY
Отец — 46,XY
Мать — 46,XX,1phqh

2. *Семья Д.*
Ребенок — 46,XY,9qh+
Отец — 46,XY,9qh+
Мать — 46,XX,9phqh

3. *Семья Ш.*
Ребенок — 46,XX,9qh+, 15cenh+,16qh+,21cenh+
Отец — 46,XY,16qh+,21cenh+
Мать — 46,XX,9qh+,15cenh+

4. *Семья Г.*
Ребенок — 46,XX,1phqh,9phqh, 9qh+,15cenh+,16qh+
Ребенок — 46,XX,9phqh, 9qh+,15cenh+,16qh+
Отец — 46,XY,1phqh,9phqh, 15cenh+
Мать — 46,XX,9qh+,16qh

Возникает вопрос: либо у родителей и детей, длительно проживающих в местности, загрязненной тяжелыми металлами, отмечаются однотипные изменения хромосом, либо, проявившись у родителей, они кодоминантно передаются их детям. Этот вопрос требует дальнейшего изучения, но уже в настоящее время можно сказать, что обнаруженные хромосомные изменения не только могут быть маркером торпидно развивающейся нефропатии у лиц, проживающих в загрязненном тяжелыми металлами регионе, но, по-видимому, свидетельствуют о мутагенном действии указанных ксенобиотиков, что требует соответствующих терапевтических и профилактических действий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Судя по многочисленным литературным и собственным наблюдениям, необходимо отметить, что в конце прошлого столетия произо-

шел кардинальный скачок в понимании роли генетических изменений в развитии патологии почек у человека. Это относится к таким распространенным заболеваниям, как наследственный нефрит, гормонорезистентный нефротический синдром. Стала очевидна их генетическая и фенотипическая гетерогенность, причем последняя непосредственно связана с генетическим полиморфизмом. Фундаментальные исследования осуществляются в мире для понимания молекулярно-генетической сущности мультифакториальной патологии почек. Важны и молекулярно-цитогенетические исследования, особенно в экологически загрязненных регионах, для раннего выявления мутагенного действия ксенобиотиков.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вельтищев Ю.Е., Игнатова М.С. Профилактическая и превентивная нефрология: Лекция для врачей.—М., 1996.—61 с.

2. Ворсанова С.Г., Ахмедова З.А., Демидова И.А., Игнатова М.С. и др. Цитогенетическая характеристика детей с нефропатиями из региона, загрязненного тяжелыми металлами // Нефрология и диализ.—2000, Т. 2, № 3.—С. 166–170.

3. Игнатова М.С., Вельтищев Ю.Е. Наследственные и врожденные нефропатии у детей.—Л.: Медицина, 1978.

4. Игнатова М.С., Клембовский А.И. Проблема почечных биопсий с позиции клинициста и морфолога // Тер. арх.—1978.—№ 6.—С. 11–18.

5. Игнатова М.С., Фокеева В.В. Наследственный нефрит // Наследственные и врожденные нефропатии у детей / М.С.Игнатова, Ю.Е.Вельтищев.—Л.: Медицина, 1978.—С. 104–131.

6. Игнатова М.С., Вельтищев Ю.Е. Детская нефрология: Руководство для врачей, 2-е изд.—Л.: Медицина.—455 с.

7. Игнатова М.С., Курбанова Э.Г. Иммуносупрессивная терапия нефротического синдрома у детей.—М.: Novartis.—101 с.

8. Цаликова Ф.Д., Игнатова М.С., Краснопольская К.Д. и др. Первый опыт использования ДНК-диагностики при синдроме Альпорта в семье со своеобразной морфологической картиной почечного поражения // Тер. арх.—1995.—№ 4.—С. 45–47.

9. Цаликова Ф.Д. Диагноз и прогноз наследственного нефрита у детей с учетом его клинико-морфологического полиморфизма и генетической гетерогенности: Автореф. дис. .... канд. мед. наук.—М., 1997.—19 с.

10. Burrow Ch. Regulatory molecules in kidney development // Pediatr Nephrol.—2000.—Vol. 14, № 3.—P. 240–253.

11. Denamur E., Bocquet N., Baudouin V. et al. WT1 splice-site mutations are rarely associated with primary steroid-resistant focal and segmental glomerulosclerosis // Kidney Int.—2000.—Vol. 57, № 5.—P. 1868–1872.

12. Furchshuber A., Jean G., Gribouval O. et al .Mapping a gene (SRNI) to chromosome 1q25–q31 in idiopathic nephrotic syndrome confirms a distinct entity of autosomal recessive nephrosis // Hum. Mol. Genet.—1995.—Vol. 4.—P. 2155–2158.

13. Hutner E., Gotze A., Nicolova T. Chromosomal aberrations in humans as genetic endpoints to assess the impact of pollution // Mutat. Res.—1999.—Vol. 30, № 445 (2).—P. 251–257.

14. Jais J., Knebelmann B., Giatras I. et al. X-linked Alport syndrome: natural history in 195 families and genotype-phenotype correlation in males // J. Amer. Soc. Nephrol.—2000.—Vol. 11.—P. 649–657.

15. Jefferson J., Lemmink H., Hughes A. et al. Autosomal dominant Alport syndrome linked to the type IV collagen alpha 3 and alpha 4 genes (COL4A3 and COL4A4) // Nephrol. Dial. Transplant.—1997.—Vol. 12.—P. 1595–1599.

16. Kashtan C. Alport syndromes: phenotypical heterogenity of progressive hereditary nephritis // Pediatr. Nephrol.—2000.—Vol. 16.—P. 502–512.

17. Koziell A., Grundy R., Barratt T. et al. Evidence for the genetic heterogenety of nephrotic phenotypes associated with Denys-Drash and Frasier syndromes // Amer. J. Hum. Genet.—1999.—Vol. 64.—P. 1778–1781.

18. Lemmink H., Schroder C., Minnens L. et al. Clinical spectrum of type IV collagen mutations // Hum. Mutat.—1997.—Vol. 9.—P. 477–499.

19. Mathis B., Kim S., Lynn K. et al. A locus for inherited focal segmental glomerulosclerosis maps to chromosome 19q13 // Kidney Int.—1998.—Vol. 53.—P. 282–286.

20. Menlove L., Kirschner N., Nguyen N. et al. Linkage between AS-like hereditary nephritis and X-linked RELPS // Cytogenet. Cell Genet.—1985.—Vol. 40, № 4.—P. 697–698.

21. Milliner D., Pieredes S. Renal transplantation in Alport syndrome: Antiglomerular basement membrane glomerulonephritis in the allograft // Mayo Clin. Proc.—1982.—Vol. 57.—P. 35–43.

22. Tryggvason K. The genetics of diseases of the glomerular filtration barriers — the potential for gene therapy. The XI Congress of the IPNA, Sept. 12–16, 1998, London, UK, Abstracts, 58.01/K/, c 37.

23. Tverskaya S., Tsalicova F., Ignatova M. et al. Substitution of alanine 1498 to asparate in non domain of L5(VI) collagen chain associated with adult onset X-linked Alport syndrome // J. Human Mutation.—1996.—Vol. 6, № 2.—P. 149–150.

24. Veltichev Yu. Ignatova M., Ananenko A. et al. Hereditary nephritis and hypoplastic dysplastic nephropathy: hydroxalisin glicoside excretion and glomerular basement membranes // Int. J. Pediatr. Nephrol.—1983.—Vol. 4, № 3.—P. 149–154.

25. Winn M., Conlon P., Kynn K. et al. Linkage of a gene causing familial focal segmental glomerulosclerosis to chromosome 11 and further evidence of genetic heterogenity // Genomics.—1999.—Vol. 17.—P. 467–470.

Поступила в редакцию 15.03.2001 г.