

# Ассоциация мочекаменной болезни у пациентов с различными состояниями семейного анамнеза по уролитиазу с полиморфизмами его кандидатных генов в российской популяции

**Link between urolithiasis in patients with various types of familial history and single nucleotide polymorphisms in Russian population**

**O.I. Apolikhin, A.V. Sivkov, O.V. Konstantinova, T.V. Tupitsina, P.A. Slominskiy, D.N. Kalinichenko**

In this study we have evaluated the link between the urolithiasis and burdened familial history and single nucleotide polymorphisms (SNP) of the candidate genes without familial anamnesis. We have investigated 125 adult patients with urolithiasis (main study group) from Central Russia and 188 healthy adults from the same region (control group). Among the patients from the main group 43 had healthy relatives (27 male and 16 female patients) and 82 with familial history of urolithiasis (52 male and 30 female patients). Material for investigations was venous blood. Using real-time polymerase chain reaction with assays from “Applied Biosystems” three SNPs were evaluated for the following genes: solute carrier family 26 (anion exchanger), member 2 (*SLC26A6*, *rs2310996*), tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11 (*TNFSF11*, *rs9525641*), ORAI calcium release-activated calcium modulator 1 (*ORAI1*, *rs7135617*). Using angle transformation method of Fisher we have determined the connection between SNPs of *ORAI1* and urolithiasis in patients from Russian population both with and without urolithiasis familial history. No such connection was found for *SKC26A6* and *TNFSF11*. The results obtained from the study show that independent of the familial history the presence of the certain SNPs (*ORAI1*) could influence the morbidity with urolithiasis.

**О.И. Аполихин<sup>1</sup>, А.В. Сивков<sup>1</sup>, О.В. Константинова<sup>1</sup>, Т.В. Тупицына<sup>2</sup>, П.А. Сломинский<sup>2</sup>, Д.Н. Калининченко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>НИИ урологии Минздрава России, Москва

<sup>2</sup>Институт молекулярной генетики РАН, Москва

**М**очекаменная болезнь (МКБ) занимает одно из ведущих мест в структуре урологических заболеваний по частоте встречаемости, частоте обращений за скорой медицинской помощью и госпитализаций [1, 2]. По данным официальной статистики, в 2012 году показатель заболеваемости уролитиазом на 100 тыс. населения по Российской Федерации составил 550,5, а абсолютное число зарегистрированных пациентов – 787 555, при этом прирост количества заболевших по сравнению с 2002 г. составил 25,1% [3]. Рецидивы мочекаменной болезни после различных оперативных вмешательств в течение 5 лет могут иметь место у половины пациентов [4, 5]. Несмотря на то, что известен немалый перечень причин, ведущих к развитию уролитиаза, увеличение его распространенности практически во всех странах мира указывает на необходимость поиска новых факторов риска камнеобразования [6].

Считается, что в основе любого патологического процесса лежит взаимодействие генов человека и факторов внешней среды [7]. Давно изучено возникновение МКБ при наследственно детерминированных нарушениях обмена веществ: глицинурии, ксантинурии, первичной оксалурии, цистинурии, однако эти заболевания встречаются редко [8]. В то же время по данным литературы у 40-50% пациентов с МКБ обнаруживаютотягощенный семейный анамнез по этому заболеванию [1, 9].

В последнее десятилетие основным направлением изучения генетических факторов риска развития МКБ стало выявление ассоциации полиморфизма того или иного гена с МКБ. Ре-

зультатами подобных исследований является установление наличия или отсутствия ассоциации полиморфизма гена с МКБ. Изучение таких ассоциаций имеет большое значение для понимания патогенеза заболевания и выбора тактики ведения больных уролитиазом.

В нашей стране в ФГБУ «НИИ урологии» Минздрава России в течение нескольких лет проводится исследование по поиску полиморфных вариантов кандидатных генов мочекаменной болезни и выявлена связь между полиморфизмом гена *VDR* и мочекаменной болезнью в российской популяции. Для генов *TNFRSF11B*, *ESR1*, *KL*, *CASR* такой зависимости обнаружено не было [10].

Monico C. et al. [11] и Soleimani M. [12] исследовали ген *SLC26A6* (*rs2310996*) и роль его полиморфизмов в развитии МКБ. Chou Y. et al. [13] изучали ген *ORAI1* (*rs7135617*) и показали, что полиморфизм гена *ORAI1* может являться генетическим фактором риска возникновения и рецидива МКБ. При этом авторы не изучали роль полиморфизмов генов при различных состояниях семейного анамнеза указанного заболевания. Однако среди пациентов с уролитиазом есть больные, имеющие здоровых родственников, и пациенты с отягощенным семейным анамнезом. Изучение связи МКБ с полиморфизмами ее кандидатных генов с учетом выше названных анамнестических данных имеет большое значение для выявления групп риска, прогнозирования, профилактики и метафилактики заболевания.

**Целью** данного исследования явился поиск полиморфных вариантов генов, ассоциированных с мочекаменной болезнью в российской популяции

у больных без и с семейной кластеризацией уролитиаза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С помощью методов генетического анализа обследовано 125 пациентов с МКБ (основная группа) и 188 соматически здоровых человек из общей российской популяции (контрольная группа). В основной группе выделены 43 пациента со здоровыми родственниками (первая подгруппа) и 82 – с отягощенной наследственностью по МКБ (вторая подгруппа). В первой подгруппе было 27 мужчин (62,8%) и 16 женщин (37,2%), во второй подгруппе – 52 мужчин (63,4%) и 30 женщин (36,6%).

Для проведения анализа полиморфных ДНК-маркеров в кандидатных генах у пациентов с уролитиазом и в контрольной группе были созданы две коллекции ДНК, выделенной из венозной крови обследуемых лиц, посредством стандартного фенолхлороформного метода или с использованием набора AxyPrepBlood Genomic DNA Miniprep Kit («Axygene», США). Осуществлен анализ полиморфных вариантов трех кандидатных генов МКБ: гена мембранного анионного транспортера семейства 26 (*SLC26A6*, *rs2310996*), гена фактора некроза опухолей 11 (*TNFSF11*, *rs9525641*), гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (*ORAI1*, *rs7135617*).

Полиморфные варианты анализируемых генов определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-систем компании «Applied Biosystems» в контрольной группе и у больных уролитиазом: в подгруппе пациентов со здоровыми родственниками и в подгруппе больных с семейной кластеризацией МКБ. При расчетах объединяли генотипы по аллелю Т. Статистический анализ осуществляли с помощью метода углового преобразования Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить спектр и частоты встречаемости вариантов генотипов и аллелей 3 кандидатных генов мочекаменной болезни в общей российской популяции (контрольной группе) и в двух подгруппах пациентов с уролитиазом: со здоровыми родственниками и с отяго-

щенным семейным анамнезом и провести их сравнительный анализ.

**В общей российской популяции** (контрольная группа) при определении полиморфизма гена *SLC26A6* встречаемость генотипов следующая: Т/Т и Т/С – 99,5%, С/С – 0,5%. Встречаемость аллелей: Т – 88,6%; С – 11,4%. Для гена *TNFSF11* встречаемость генотипов составляет: Т/Т и С/Т – 74,5%; С/С – 25,5%. Встречаемость аллелей: Т – 48,9%; С – 51,1%. Для гена *ORAI1* встречаемость генотипов следующая: G/Т и Т/Т – 86,8%; G/G – 13,2%. Встречаемость аллелей: Т – 61,4%; G – 38,6% (табл. 1).

**У пациентов с МКБ со здоровыми родственниками** (первая подгруппа) при определении полиморфизма гена *SLC26A6* встречаемость генотипов следующая: Т/Т и Т/С – 100,0%; С/С – 0%. Встречаемость аллелей: Т – 91,9%; С – 8,1%. При статистическом анализе для полиморфизма гена *SLC26A6* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ являются недостоверными:  $p=0,815$ , отличия в частоте аллелей недостоверны:  $p=0,112$ . Для гена *TNFSF11* встречаемость генотипов составила: Т/Т и С/Т – 74,4%; С/С – 25,6%. Встречаемость аллелей:

Т – 47,7%; С – 52,3%. При статистическом анализе для гена *TNFSF11* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ безсемейной отягощенности в анамнезе являются недостоверными:  $p=0,153$ , отличия в частоте аллелей недостоверны:  $p=0,833$ . Для полиморфизма гена *ORAI1* встречаемость генотипов следующая: G/Т и Т/Т – 76,7%; G/G – 23,3%. Встречаемость аллелей: Т – 54,7%; G – 45,3%. При статистическом анализе для гена *ORAI1* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ являются достоверными:  $p=0,048$ , отличия в частоте аллелей недостоверны:  $p=0,250$  (табл. 2).

**У пациентов с отягощенным семейным анамнезом по МКБ** (вторая подгруппа) при определении полиморфизма гена *SLC26A6* встречаемость генотипов следующая: Т/Т и Т/С – 100,0%; С/С – 0%. Встречаемость аллелей: Т – 86,6%; С – 13,4%. При статистическом анализе для гена *SLC26A6* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ с семейной кластеризацией являются недостоверными:  $p=0,697$ , отличия в частоте аллелей недостоверны:  $p=0,697$ .

**Таблица 1. Спектр и частота встречаемости генотипов и аллелей кандидатных генов уролитиаза в общей российской популяции (контрольной группе) с объединением генотипов по аллелю Т**

№	Ген	Варианты генотипов и аллелей	Встречаемость	
			Абс. число	Частота, %
1	<i>SLC26A6</i>	T/T; T/C	188	99,5
		C/C	1	0,5
		T	335	88,6
2	<i>TNFSF11</i>	C	43	11,4
		C/C	48	25,5
		C/T; T/T	140	74,5
3	<i>ORAI1</i>	C	192	51,1
		T	184	48,9
		G/G	25	13,2
		G/T; T/T	164	86,8
		G	146	38,6
		T	232	61,4

**Таблица 2. Спектр и частоты встречаемости генотипов с объединением генотипов по аллелю Т и аллелей кандидатных генов уролитиаза у пациентов с МКБ без семейной отягощенности анамнеза**

№	Ген	Варианты генотипов и аллелей	Встречаемость		Достоверность различий с контрольной группой (p)
			Абс. число	Частота, %	
1	<i>SLC26A6</i>	T/T; T/C	43	100	0,815
		C/C	0	0	
		T	79	91,9	0,112
2	<i>TNFSF11</i>	C	7	8,1	
		C/C	11	25,6	0,153
		C/T; T/T	32	74,4	
3	<i>ORAI1</i>	C	45	52,3	0,833
		T	41	47,7	
		G/G	10	23,3	0,048
G/T; T/T	33	76,7			
		G	39	45,3	0,250
		T	47	54,7	

Таблица 3. Спектр и частоты встречаемости генотипов с объединением генотипов по аллелю Т и аллелей кандидатных генов уролитиаза у больных МКБ с семейной отягощенностью анамнеза

№	Ген	Варианты генотипов и аллелей	Встречаемость		Достоверность различий с контрольной группой (р)
			Абс. число	Частота, %	
1	SLC26A6	T/T; T/C	82	100	0,697
		C/C	0	0	
		T	142	86,6	0,089
		C	22	13,4	
2	TNFSF11	C/C	17	20,7	0,088
		C/T; T/T	65	79,3	
		C	72	43,9	0,126
		T	92	56,1	
3	ORAI1	G/G	20	24,4	0,012
		G/T; T/T	62	75,6	
		G	77	47	0,070
		T	87	53	

$p=0,089$ . Для гена *TNFSF11* встречаемость генотипов следующая: T/T и C/T – 79,3%; C/C – 20,7%. Встречаемость аллелей: T – 56,1%; C – 43,9%. При статистическом анализе для гена *TNFSF11* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ с семейной кластеризацией являются недостоверными:  $p=0,088$ , отличия в частоте аллелей недостоверны:  $p=0,126$ . Для гена *ORAI1* встречаемость генотипов следующая: G/T и T/T – 75,6%; G/G – 24,4%. Встреча-

емость аллелей: T – 53,0%; G – 47,0%. При статистическом анализе для гена *ORAI1* выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с МКБ с семейной кластеризацией являются достоверными:  $p=0,012$ , отличия в частоте аллелей недостоверны  $p=0,070$  (табл. 3).

Таким образом, отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборках пациентов с МКБ в российской популяции являются достоверными только в случае полиморфизма в гене

*ORAI1*. Связь выявлена для групп пациентов без семейной и с семейной кластеризацией уролитиаза.

## ВЫВОДЫ

Существует связь между полиморфными вариантами гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (*ORAI1*, *rs7135617*) и мочекаменной болезнью у пациентов со здоровыми родственниками и больных с отягощенным семейным анамнезом по уролитиазу в российской популяции. Зависимости между мочекаменной болезнью и полиморфизмами гена мембранного анионного транспортера семейства 26 (*SLC26A6*, *rs2310996*) и гена фактора некроза опухолей 11 (*TNFSF11*, *rs9525641*) не обнаружено. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в развитии уролитиаза в российской популяции независимо от состояния семейного анамнеза заболевания могут играть роль генетические факторы, в частности, полиморфные варианты гена *ORAI1*. ■

## Резюме:

Проведено изучение ассоциации мочекаменной болезни с отягощенным семейным анамнезом и без семейной кластеризации заболевания с полиморфизмами кандидатных генов уролитиаза в российской популяции. Обследовано 125 взрослых пациентов с мочекаменной болезнью (основная группа) из Центральной России и 188 здоровых взрослых (контрольная группа) из этого же региона. Среди больных было 43 пациента со здоровыми родственниками (27 мужчин и 16 женщин), и 82 – с отягощенной наследственностью по МКБ (52 мужчин и 30 женщин).

Материалом для исследований служили образцы венозной крови. С помощью метода ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-систем компании «Applied Biosystems» определяли спектр и частоты встречаемости полиморфных вариантов трех кандидатных генов МКБ: гена мембранного анионного транспортера семейства 26 (*SLC26A6*, *rs2310996*), гена фактора некроза опухолей 11 (*TNFSF11*, *rs9525641*), гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (*ORAI1*, *rs7135617*). С помощью метода углового преобразования Фишера установлена связь между полиморфными вариантами гена *ORAI1* и мочекаменной болезнью у пациентов со здоровыми родственниками и больных с отягощенным семейным анамнезом по уролитиазу в российской популяции. Для генов *SLC26A6* и *TNFSF11* такой зависимости обнаружено не было.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в развитии уролитиаза в российской популяции независимо от состояния семейного анамнеза заболевания могут играть роль генетические факторы, в частности, полиморфные варианты гена *ORAI1*.

**Ключевые слова:** мочекаменная болезнь, отягощенный семейный анамнез уролитиаза, мочекаменная болезнь без отягощенного семейного анамнеза, генетические факторы риска уролитиаза.

**Key words:** urolithiasis, families with multiple urolithiasis cases, sporadic form of urolithiasis, genetic risk factors in urolithiasis.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Тиктинский О.Л., Александров В.П. Мочекаменная болезнь. СПб.: Питер, 2000. 384 С.
2. Избранные лекции по урологии [Под ред. Лопаткина Н. А., Мартова А. Г.] М.: Литтерра; 2008. 573 с.
3. Аполихин О.И., Сивков А.В., Москалева Н.Г., Солнцева Т.В., Комарова В.А. Анализ урологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации за десятилетний период (2002-2012 гг.). // Экспериментальная и клиническая урология. 2014. N 2. С. 4-12.
4. Tiselius HG. Patients attitudes on how to deal with the risk of future stone recurrences. // Urol Res. 2006. Vol.34, N 4. P. 255-260.
5. Pasch A. Metaphylaxis of recurrent renal calcium stones. // Ther Umsch. 2007. Vol. 64, N 5. P. 253-258.
6. Яненко Э.К., Константинова О.В. Современный взгляд на лечение больных мочекаменной болезнью. // Урология. 2009. N 5. С. 61-64.
7. Лимборская С.А., Сломинский П.А. Молекулярная генетика человека: Медико-генетические и популяционные исследования. // В кн.: Проблемы и перспективы молекулярной генетики. Том 1. М.: Наука, 2003. С. 307-371.
8. Варганян М.Е., Снежневский А.В. Клиническая генетика болезней с наследственным предрасположением. // Вестник АМН СССР. 1976. N 7. С. 76-83.
9. Attanasio M. The genetic components of idiopathic nephrolithiasis. // Pediatr Nephrol. 2011. Vol. 26, N 3. P. 337-346.
10. Аполихин О.И., Сивков А.В., Константинова О.В., Сломинский П.А., Тупицына Т.В., Калинин Д.Н. Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов мочекаменной болезни в российской популяции. // Экспериментальная и клиническая урология, 2013. N 3. С. 56-60.
11. Monico C, Weinstein A, Jiang Z. Phenotypic and functional analysis of human SLC26A6 variants in patients with familial hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. // Am J Kidney dis. 2008. Vol. 52, N 6. P. 1096-1103.
12. Soleimani M. The role of SLC26A6-mediated chloride/oxalate exchange in causing susceptibility to nephrolithiasis. // J Physiol. 2008, Volume 586, N 5. P. 1205-1206.
13. Chou Y, Juo S, Chiu Y. A polymorphism of the ORAI1 gene is associated with the risk and recurrence of calcium nephrolithiasis. // J Urol. 2011. Vol. 185, N 5. P. 1742-1746.