

КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА *AGER* В ПАТОГЕНЕЗЕ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

Достанко Н. Ю.¹, Ягур В. Е.¹, Гончарова Р. И.², Синявская Е. С.²

*¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*² Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Конечные продукты гликирования являются важным компонентом экзогенного и эндогенного происхождения, вовлеченным в патогенез многих хронических метаболических и воспалительных заболеваний, в том числе аутоиммунных, таких как системная красная волчанка. Конечные продукты гликирования обладают провоспалительным потенциалом, способствуют развитию патологического повреждения сосудов, хронической болезни почек. Их влияние на риск развития и прогрессирование заболеваний опосредуется сложным взаимодействием с рецептором к конечным продуктам гликирования, который существует в разных изоформах. Уровень и активность рецептора зависят от гена *AGER*, у которого описано порядка двадцати полиморфизмов с разной клинической значимостью. Нами изучена частота встречаемости однонуклеотидного полиморфизма rs1035798 гена *AGER* у женщин с системной красной волчанкой по сравнению с контрольной группой здоровых женщин-доноров и показана защитная роль минорного аллеля А полиморфизма rs1035798 *AGER* в отношении риска развития систем-

ной красной волчанки у женщин в белорусской популяции, что согласуется с данными других авторов по rs1035798 *AGER* при ревматоидном артрите.

Ключевые слова: конечные продукты гликирования, системная красная волчанка, *AGER*, rs1035798.

Введение. Конечные продукты гликирования или гликации (Advanced Glycation End products — AGE) представляют собой стабильные посттрансляционные модификации белков, а также липидов и нуклеиновых кислот с сахарами с образованием поперечно-сшитых агрегатов. Так, AGE могут быть пищевого и эндогенного происхождения, при повышении уровня глюкозы, при старении и многих хронических заболеваниях, связанных со старением, их образование увеличивается, и они обладают мощным провоспалительным потенциалом. Наиболее важными из них с количественной точки зрения являются гидроимидазолон (производное метилглиоксаля), N-карбоксиметил-лизин и глюкозепан, которые вносят существенный вклад в развитие хронической болезни почек. Ключевым предшественником AGE является дикарбонильный метаболит метилглиоксаля, а совокупность белков, восприимчивых к модификации метилглиоксалем, называют дикарбонильным протеомом. При клеточном протеолизе таких модифицированных белков глиоксалазой-1 в цитоплазме образуются аддукты и гликированные аминокислоты, которые выводятся почками. Подавление почечной глиоксалазы-1, снижение клубочковой фильтрации приводит к накоплению AGE в плазме, дикарбонильному стрессу и способствует развитию ХБП [1].

Многие исследователи подчеркивали значимость AGE у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ). Было показано, что пациенты с СКВ имеют риск повышения процессов гликации и активации рецептора к конечным продуктам гликации, что может ухудшать течение болезни [2, 3]. Повышение уровня AGE ассоциировалось с ускоренным развитием атеросклероза при СКВ и снижением эластичности стенки мелких артерий [2].

Рецептор конечных продуктов гликирования (RAGE), связывающий AGE, является важным компонентом в системе поддержания гомеостаза и уровня воспаления, играет значимую роль в развитии ХБП, но его слож-

ное взаимодействие с AGE остается не полностью понятным. Описаны различные варианты или изоформы рецептора RAGE, имеющие разнонаправленное влияние на уровень воспаления, а также полиморфизмы в гене *AGER*, кодирующем RAGE, которые могут влиять на взаимодействие лиганд-рецептор (AGE-RAGE) или на уровне рецептора RAGE, кроме того, возможны изменения концентрации RAGE и AGE под влиянием различных причин. Все эти факторы могут вносить определенный вклад в развитие и прогрессирование многих метаболических заболеваний, связанных с воспалением (диабет, ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени, сердечно-сосудистая патология), а также аутоиммунных воспалительных заболеваний. Вариации всех перечисленных составляющих могут существенно изменять и поддерживать воспалительную среду в организме человека и служить предиктором развития патологии сосудов [4, 5].

Было отмечено, что концентрации растворимого RAGE в сыворотке у пациентов с СКВ ниже, чем у здоровых лиц, что может приводить к более выраженному взаимодействию между AGE и мембранным RAGE. Например, в исследовании на мышах было показано, что растворимый RAGE может предупреждать активацию провоспалительных процессов. В группе пациентов с пролиферативным люпус-нефритом концентрации RAGE в сыворотке были значимо выше, чем в группе с непролиферативным нефритом. В группе с плохим ответом на иммуносупрессивную терапию уровень RAGE в сыворотке был ниже, чем в группе с хорошим ответом, т. е. низкие уровни RAGE в сыворотке могут служить независимым фактором риска субоптимального ответа на иммуносупрессивную терапию. Кроме того, полиморфизмы гена *AGER* могут быть ассоциированы с риском развития СКВ и люпус-нефрита [2].

Ген AGER — это ген, впервые описанный в 1994 г., который кодирует рецептор RAGE на поверхности клеток. Этот ген расположен на коротком плече 6 хромосомы в

положении бр21.3. Этот локус является также местом расположения главного комплекса гистосовместимости III и участвует в воспалительных и иммунологических реакциях. Ген полиморфный — было описано около 20 его полиморфизмов, в опубликованной литературе рассматриваются в основном следующие пять — rs2070600, rs1800624, rs1800625, rs184003 и 63bp делеция [5]. Было показано, что полиморфизмы в гене *AGER* связаны с риском развития СКВ, но не с вовлечением в процесс почек [6]. Так, например, в перекрестном исследовании, где проводили генотипирование у 97 пациентов с СКВ, 114 пациентов с люпус-нефритом и у 429 здоровых контрольных лиц было выявлено, что аллель С полиморфизма *RAGE* rs1800625, аллель Т полиморфизма rs1800624 и аллель G полиморфизма rs3134940 значимо чаще встречались при СКВ и люпус-нефрите. В течение первых двух лет лечения аллель С rs1800625, аллель А rs1800624 и аллель G rs3134940 гена *RAGE* значимо ассоциировались с более выраженной протеинурией и ухудшением функции почек при люпус-нефрите. Оба полиморфизма *RAGE* rs1800625 и rs1800624 значимо влияли на экспрессию гена *RAGE*, при этом аллель А rs1800624 приводил к меньшей экспрессии, снижая воспалительный ответ. Присутствие аллеля G в полиморфизме rs3134940 может приводить к увеличению оксидативного стресса и воспаления [2].

В опубликованной литературе имеются также единичные публикации по полиморфизму rs1035798 в третьем интроне гена *AGER*. Например, было показано, что данный полиморфизм является независимым фактором риска, ассоциированным с сердечно-сосудистой смертностью [7], а также были отмечены его ассоциации с ишемическим инсультом у женщин, средним диастолическим давлением за 24 ч и патологией мелких сосудов [5]. Кроме того, данный полиморфизм оказался в числе немногих маркеров главного комплекса гистосовместимости (МНС) III, помимо региона *DRB1*, полученных в результате исследования всего генома с использованием чипа Illumina 550K Beadchip, которые ассоциировались с риском А-ССР положительного ревматоидного артрита (РА) в исследовании случай-контроль, при этом данный полиморфизм был защит-

ным для риска развития РА (OR 0.7, 95% ДИ 0,55–0,89, $p = 0,0051$). III регион расположен между регионами I и II, содержит гены *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-C*, *DPA*, *DPB*, *DQA*, *DQB*, *DRA* и *DRB1* и не включает в себя гены, участвующие в представлении антигена. Некоторые гаплотипы МНС могут быть ассоциированы с определенными вариантами гена *AGER*. Так, в исследовании по ревматоидному артриту была показана ассоциация rs2070600 *AGER* с *HLA DRB1*0401* [5].

Цель работы — определить встречаемость полиморфизма rs1035798 гена *AGER* у женщин с СКВ в сравнении с контрольной группой лиц.

Материалы и методы. Исследование было проведено в рамках НТП Союзного государства «ДНК-идентификация», раздел «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний» на базе Минского Научно-практического центра (МНПЦ) хирургии, трансплантологии и гематологии и было одобрено этическим комитетом МНПЦ. Письменное информированное согласие на участие в исследовании было получено от всех пациентов с СКВ и лиц контрольной группы (здоровые доноры). Диагноз СКВ у всех женщин соответствовал классификационным диагностическим критериям Американской коллегии ревматологов (ACR, пересмотр от 1997 г.) [8].

Так, ДНК выделяли из образцов периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Определение аллельного статуса по полиморфному локусу rs1035798 гена *AGER* осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени с флуоресцентно мечеными TaqMan-зондами (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси). Для оценки результатов и присвоения генотипов использовали программное обеспечение Bio-Rad CFX Maestro 1.0.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Значимость различий в распределении частот аллелей и генотипов в исследуемых выборках оценивали с помощью χ^2 критерия Пирсона, двухстороннего точного метода Фишера ($T_{M\Phi}$, p_{2-t}). Для оценки значимости тестов для прогноза вычисляли прогностическое отношение шансов (dOR/pOR), отношение правдоподобия положительного (LR^+) и отрицательного (LR^-) тестов с соответству-

ющими 95% ДИ. Кроме того, описательную статистику по генотипам и аллелям, тест на соответствие закону Hardy – Weinberg, различные модели наследования (кодминантную, доминантную, рецессивную, сверхдоминантную и лог-аддитивную) для данного полиморфизма, а также информационные критерии Akaike (AIC) и Bayesian (BIC) анализировали с помощью программного обеспечения SNPStats web tool [9].

Результаты и их обсуждение. В исследовании были включены 59 женщин с СКВ в возрасте от 21 до 72 лет (средний возраст составил 39,8 года 95% ДИ 36,6–43,1 года, медиана возраста 38,1 года) и 257 женщин кон-

трольной группы в возрасте от 18 до 63 лет (средний возраст — 38,1 года 95% ДИ 36,8–39,5 года, медиана возраста 37,4 года). Значимых различий в группах по возрасту выявлено не было (*U*-критерий Манна – Уитни, $p = 0,558$).

Соответствие распределения генотипов закону Hardy – Weinberg оценивали с помощью точного теста Фишера, при этом значимых отклонений для исследованного SNP в группе СКВ ($p = 1,0$) и контрольной группе ($p = 0,8$) выявлено не было.

Распределение частот аллелей гена *AGER* в основной и контрольной группах представлено в таблице 1.

Таблица 1 — Частоты аллелей гена *AGER* в исследуемых группах

Аллель	Все исследуемые		Контрольная группа		Группа СКВ	
	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота
G	406	0,65	320	0,62	86	0,75
A	220	0,35	192	0,38	28	0,25

Минорный полиморфный аллель А встречался у пациентов с СКВ реже, чем в контрольной группе, и данное различие было статистически значимым (ТМФ, $p_{2-t} 0,009$). Прогностическое отношение шансов (pOR), отношение правдоподобия положительного (LR⁺) и отрицательного (LR⁻) тестов для ми-

норного А по полиморфизму rs1035798 в отношении риска СКВ составили соответственно 0,54 (95% ДИ 0,34–0,86), 0,66 (95% ДИ 0,46–0,91) и 1,21 (95% ДИ 1,05–1,34).

Распределение частот генотипов гена *AGER* в группе пациентов с СКВ и контрольной группе представлено в таблице 2.

Таблица 2 — Частоты генотипов гена *AGER* в основной и контрольной группах

Генотип	Все испытуемые		Контрольная группа		Группа СКВ	
	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота
A/A	40	0,13	37	0,14	3	0,05
G/A	140	0,45	118	0,46	22	0,39
G/G	133	0,42	101	0,39	32	0,56
NA	3	—	1	—	2	—

Примечание — NA — генотип не определен; *n* — число выявленных генотипов в группе испытуемых.

Частоты генотипов гена *AGER* в основной и контрольной группах, значения отношения шансов наличия СКВ, соответствующие *p* и информационные критерии AIC и BIC для разных моделей наследования при-

ведены в таблице 3.

Таблица 3 — Ассоциации генотипов гена *AGER* с риском развития СКВ для разных моделей наследования

Модель наследования	Генотип	Контрольная группа	Группа СКВ	OR (95% ДИ)	<i>p</i>	AIC	BIC
Кодоминантная	G/G	101 (39,5 %)	32 (56,1 %)	1,0	0,027	295,9	307,1
	G/A	118 (46,1 %)	22 (38,6 %)	0,59 (0,32–1,08)			
	A/A	37 (14,4 %)	3 (5,3 %)	0,26* (0,07–0,89)			

Окончание табл. 3

Модель наследования	Генотип	Контрольная группа	Группа СКВ	OR (95% ДИ)	<i>p</i>	AIC	BIC
Доминантная	G/G	101 (39,5 %)	32 (56,1 %)	1,0	0,022	295,8	303,3
	G/A-A/A	155 (60,5 %)	25 (43,9 %)	0,51* (0,28–0,91)			
Рецессивная	G/G-G/A	219 (85,5 %)	54 (94,7 %)	1,0	0,04	296,9	304,4
	A/A	37 (14,4 %)	3 (5,3 %)	0,33 (0,10–1,11)			
Сверхдоминантная	G/G-A/A	138 (53,9 %)	35 (61,4 %)	1,0	0,3	300	307,5
	G/A	118 (46,1 %)	22 (38,6 %)	0,74 (0,41–1,32)			
Лог-аддитивная	–	–	–	0,55* (0,34–0,87)	0,008	294	301,5

* Значимые различия между группами.

Из данных таблицы 3 следует, что значимые различия в генотипах основной и контрольной групп были выявлены для кодоминантной, доминантной и лог-аддитивной моделей наследования, при этом лог-аддитивная модель наследования обладала лучшими показателями AIC and BIC в отношении предсказания риска СКВ. Таким образом, анализ моделей наследования генотипов гена *AGER* также подтвердил защитную роль минорного аллеля А по полиморфизму rs1035798 гена *AGER* в отношении риска развития СКВ у женщин с OR = 0,55 (95% ДИ 0,34–0,87), *p* = 0,008.

Результаты, полученные в нашем исследовании, согласуются с ранее опубликованными данными, где также была показана защитная роль полиморфизма rs1035798, но у пациентов с другим системным аутоиммунным заболеванием — ревматоидным артритом [10].

Заключение. В результате проведенного исследования полученные данные свидетельствуют о защитной роли аллеля А полиморфизма rs1035798 *AGER* в отношении риска развития системной красной волчанки в белорусской популяции пациентов.

Список цитированных источников

1. Rabbani, N. Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease / N. Rabbani, P. J. Thornalley // *Kidney Int.* — 2018. — Vol. 93, № 4. — P. 803–813.
2. The Potential Influence of Advanced Glycation End Products and (s)RAGE in Rheumatic Diseases / C. Delrue [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2023. — Vol. 24, № 3. — P. 2894.
3. Advanced Glycation End-Products (AGEs) and Their Soluble Receptor (sRAGE) in Women Suffering from Systemic Lupus Erythematosus (SLE) / A. Nowak [et al.] // *Cells.* — 2021. — Vol. 10, № 12. — P. 3523.
4. Shaw, G. Gene Polymorphisms of the Receptor for Advanced Glycation End Products and Its Role in the AGE-RAGE Pathway and Inflammation [Electronic resource] / G. Shaw. — Mode of access: <https://hdl.handle.net/1920/10854>. — Date of access: 20.04.2023.
5. Pathological Implications of Receptor for Advanced Glycation End-Product (*AGER*) Gene Polymorphism Disease Markers / M. Serveaux-Dancer [et al.] // *Dis. Markers.* — 2019. — Feb. — № 4. DOI: 10.1155/2019/2067353.
6. Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) Polymorphisms Are Associated with Systemic Lupus Erythematosus and Disease Severity in Lupus Nephritis / H. A. Martens [et al.] // *Lupus.* — 2012. — Vol. 21. — P. 959–968.
7. Association between the Advanced Glycosylation End Product-Specific Receptor Gene and Cardiovascular Death in Older Men / E. Biros [et al.] // *PLoS ONE.* — 2015. — Vol. 10, № 7. — P. e0134475. DOI: 10.1371/journal.pone.0134475.
8. Hochberg, M. C. Updating the American College of Rheumatology Revised Criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus / M. C. Hochberg // *Arthritis Rheum.* — 1997. — Vol. 40. — P. 1725.
9. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies / X. Solé [et al.] // *Bioinformatics.* — 2006. — Vol. 22, № 15. — P. 1928–1929.
10. Several regions in the major histocompatibility complex confer risk for anti-CCP-antibody positive rheumatoid arthritis, independent of the DRB1 locus / H. S. Lee [et al.] // *Mol. Med.* — 2008. — Vol. 14, № 5–6. — P. 293–300.



Advanced glycation end products and ager gene polymorphisms in the pathogenesis of lupus erythematosus

Dostanko N. Y.¹, Yagur V. E.¹, Goncharova R. I.², Siniauskaya E. S.²

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;

² Institute of Genetic and Cytology of NASB, Minsk, Republic of Belarus

Advanced glycation end products (AGEs) are substances involved in pathogenesis of chronic metabolic and inflammatory diseases, including autoimmune one such as systemic lupus erythematosus (SLE). AGEs possess a pro-inflammatory potential and contribute to the development of vascular damage, chronic kidney disease. Their influence on risk and progression of diseases is mediated by a complex interaction with AGE receptor which exists in different isoforms. This receptor level and activity depends on *AGER* gene for which about 20 polymorphisms with different clinical significance have been described. We studied frequency of rs1035798 *AGER* polymorphism in women with SLE compared with healthy female donors and revealed protective role of minor allele A in relation to the risk of SLE in women, which is consistent with the published data of other authors on rs1035798 in rheumatoid arthritis.

Keywords: advanced glycation end products, systemic lupus erythematosus, *AGER*, rs1035798.

Поступила 20.06.2023